Utjecaj antibiotske rezistencije Helicobacter pylori na postojeće eradikacijske metode

Nikić, Sara

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:421400

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Sara Nikić

Utjecaj antibiotske rezistencije *Helicobacter pylori* na postojeće eradikacijske metode

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Farmakologija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za farmakologiju pod stručnim vodstvom dr. sc. Lidije Bach-Rojecky.

Zahvaljujem svojoj mentorici dr. sc. Lidiji Bach-Rojecky na strpljenju, velikoj pomoći i stručnom vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.
Najveće hvala mojoj obitelji, posebice najboljoj mami i tati na svijetu, najdivnijoj sestri Ines i baki jer su uvijek bili tu za mene. Hvala im na svoj ljubavi, molitvama, razumijevanju i bezuvjetnoj podršci. Hvala mojoj Nikolini, mom dragom Puški, Viktoru na zajedničkom učenju te svim ostalim prijateljima koji su mi najljepše godine odrastanja učinili nezaboravnima. Hvala Vam na svim zajedničkim trenucima, potpori, ljubavi i sreći koja mi je pružena tijekom mog studija, a koji su me formirali osobom kakva sam danas.

1. UVOD 1
1.1. *HELICOBACTER PYLORI* 3
1.1.1. Bakteriološke značajke *H. pylori* 3
1.1.2. Transmisija *H. pylori* infekcije 4
1.1.3. Patogeneza *H. pylori* 5
1.2. EPIDEMIOLOGIJA *H. PYLORI* 7
1.2.1. Stope infekcije u svijetu i RH 8
1.3. DIJAGNOSTIKA 10
1.3.1. Dijagnostika *H. pylori* infekcije 10
1.3.2. Dijagnostika *H. pylori* rezistencije 14
1.4. ERADIKACIJA *H. PYLORI* 16
1.4.1. Pregled dosadašnjih terapijskih preporuka 17
1.4.2. Nove terapijske preporuke 18
1.4.3. Druga i treća linija terapije 20
2. OBRAZLOŽENJE TEME 21
3. MATERIJALI I METODE 23
4. REZULTATI I RASPRAVA 25
4.1. TERAPIJA *H. PYLORI* INFEKCIJE 26
4.2. MEHANIZMI ANTIBIOTSKOG DJELOVANJA I MEHANIZMI REZISTENCIJE 29
4.2.1. Klaritromicin 29
4.2.2. Metronidazol 31
4.2.3. Amoksicilin 32
4.2.4. Levofloksacin 33
4.2.5. Ostali antibiotici 34
4.3. GEOGRAFSKE RAZLIKE ANTIBIOTSKE REZISTENCIJE 36
4.4. INHIBITORI PROTONSKE PUMPE (IPP) 39
4.5. BUDUĆNOST TERAPIJE 40
4.5.1. Adjuvantna terapija - dodatak probiotika 41
4.5.2. Cjepivo protiv *H. pylori* 42
4.6. ULOGA FARMACEUTA U ERADIKACIJI *H.PYLORI* 43
5. ZAKLJUČCI 44
6. LITERATURA 47
7. SAŽETAK 52
SUMMARY 54

1. UVOD

Helicobacter pylori (H. pylori) je gram-negativna bakterija prvi put izolirana i identificirana 1983. godine. Infekcija *H. pylori* jedna je od najčešćih infekcija u ljudi. Procjenjuje se da ova bakterija živi u gastričkoj sluznici oko polovice svjetske populacije, a povezana je s razvojem kroničnog gastritisa, želučanog karcinoma, želučanog i duodenalnog ulkusa, MALT-limfoma te s nekim ekstragastričnim manifestacijama (Katičić i sur., 2002).

Iako se već samim otkrićem povezala sa želučanim ulkusima i kroničnim gastritisom, 70-80% populacije nema simptoma vezanih za infekciju ovom bakterijom, što igra veliku ulogu u odabiru same terapije.

Eradikacija *H. pylori* važna je za liječenje želučanog ulkusa (osnovne bolesti uzrokovane *H. pylori* infekcijom) i za prevenciju pojave recidiva ulkusa. Eradikacijom ujedno smanjujemo rizik razvoja gastričkog karcinoma i ostalih *H. pylori*-vezanih poremećaja. Eradikacijom možemo spriječiti širenje infekcije, reducirajući time buduće terapijske troškove (Shiota i sur., 2014).

Terapija infekcije danas je i jednostavan i kompleksan problem. Osim konvencionalne prve linije terapije (trojna terapija), također su predložene i druge terapijske opcije (tzv. sekvencijska, istodobna, četverostruka, hibridna) da bi se suprostavili rastućem problemu antibiotske rezistencije. Niti za jednu drugu infekciju nema toliko velikog broja predloženih terapijskih opcija. Rezultati su, međutim, često oprečni, pri čemu jedan terapijski pristup može pokazivati visoku učinkovitost u jednom geografskom području, dok je istovremeno nezadovoljavajuće učinkovitosti u drugom. Iako mnogi stručnjaci smatraju da ne postoji infekcija *H. pylori* koja se ne može liječiti, za sada rezultati pokazuju da niti jedno kliničko ispitivanje nije pokazalo 100%-tnu eradikacijsku uspješnost (Ierardi i sur., 2013).

Antibiotska rezistencija na *Helicobacter pylori* predstavlja velik globalni zdravstveni problem koji utječe na uspješnost postojećih terapijskih metoda. Procjenjuje se da je s *H. pylori* inficirano oko 50% odraslih u razvijenim zemljama i 80-90% odraslih u zemljama u razvoju. Prosječna stopa prevalencija u Hrvatskoj iznosi 60,4% (Katičić i sur., 2002).

Zbog ograničenog uspjeha eradikacijske terapije i porasta broja rezistentnih sojeva *H. pylori* na antibiotske komponente dosadašnjih terapijskih protokola, traže se novi pristupi u liječenju i novi djelotvorniji lijekovi. Isto tako velika očekivanja polažu se u razvoj cjepiva protiv *H. pylori* koji bi imao veliki značaj u prevenciji želučanog karcinoma kao i značajan utjecaj na zdravlje populacije.

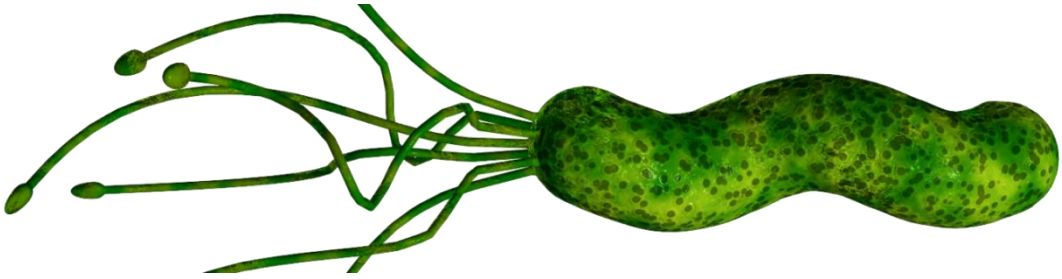
1.1. *HELICOBACTER PYLORI*

Godine 1983. australski znanstvenici B. Marshall i R. Warren prvi puta su uspješno izolirali i identificirali spiralnu bakteriju iz želučanog bioptičkog tkiva, te njenom inkubacijom dokazali da raste vrlo sporo i bakteriji dali naziv CLO (engl. *Campylobacter*-like organisms), kasnije *Campylobacter pyloridis*. Daljnjim istraživanjima došlo je do povezivanja bakterije s temeljnim razlogom razvoja želučanih i duodenalnih ulkusa kao i kroničnog gastritisa, a uslijedilo je i otkriće njene etiološke uloge u patogenezi želučanih karcinoma. Na temelju tih otkrića, Marshall i Warren nagrađeni su Nobelovom nagradom 2005. godine. U novi rod, *Helicobacter*, svrstana je 1989.godine (Kalenić i sur., 2002).

1.1.1. BAKTERIOLOŠKE ZNAČAJKE H. PYLORI

Rod *Helicobacter* čini 19 vrsta, a samo su dvije povezane sa želucem čovjeka – *H. pylori* i *H. bizzozeronii*. Pet nalazimo u crijevima čovjeka, a ostale sojeve u životinjskim vrstama (želudac, jetra ili crijeva). Osnovno prebivalište bakterije *H. pylori* je sluznica želuca, a može se naći i u zubnom plaku, slini, stolici, a spominje se i njena prisutnost u oku (Katičić i sur., 2002).

Bakterija *H. pylori* je gram-negativna, zavojita (spiralna), flagelarna bakterija, dugačka 1,5–5,0 μm, širine 0,3–1,0 μm (Slika 1). S obzirom da je flagelarna, vrlo je pokretljiva (sadrži oko 5 bičeva smještenih na polovima stanice). Raste vrlo sporo, optimalno na 37°C i potrebna joj je bogata podloga za uzgoj. Acidofilna je bakterija te na višem pH (alkalnijem) ugiba. Osjetljiva je na dezinficijense (Katičić i sur., 2002).



Slika 1. Mikroskopski prikaz bakterije *H. pylori* (http://helicobacterpylori.net.au/helicobacter-pylori-therapies-and-treatments/)

Svi sojevi *H. pylori* proizvode enzime: ureaze, citokrom-oksidaze, katalaze, superoksid dismutaze, fosfolipazu, mucinazu, a tek dio dva virulentna proteina naziva CagA i VacA (vakuolizirajući citotoksin). Postoji određena razlika u distribuciji VacA i CagA gen-pozitivnih sojeva u Aziji naspram Europe – ova pojava odgovara adaptaciji bakterije pojedinoj etničkoj populaciji. Na taj način je moguće i klonalno širenje sojeva rezistentnih na antibiotike (Kalenić i sur., 2002).

Bakterija sadrži i hidrogenazu koja pomaže bakteriji održavati energiju, koristeći molekulski vodik dobiven crijevnim bakterijama. Stvara brojne enzime i može se čak pretvoriti iz spiralnog oblika u potencijalno održiv kuglasti ili sferoidan oblik i time vjerojatno održavati svoj opstanak. Genom *H. pylori* prvi put je 1997. godine sekvencioniran i objavljen. *H. pylori* sadrži veliku različitost sojeva te su samo genomi od 3 soja u potpunosti sekvencionirana. Utvrđeno je da je samo 7% genoma specifično za pojedini soj. To doprinosi otprije poznatoj činjenici iznimne genetske različitosti sojeva. Primjerice, genom soja oznake 26695 sadrži 1,67 Mb s otprilike 1500 gena (National Center for Biotechnology Information, 2008). Čini se da je glavni razlog nastanka raznolikosti rekombinacija bakterijskih gena u prirodnim uvjetima (Katičić i sur., 2002).

1.1.2. TRANSMISIJA H. PYLORI INFEKCIJE

Prema većini studija ni alkohol ni duhan nisu rizični faktori za *H. pylori* infekciju. Adekvatan nutritivni status, naročito česta konzumacija voća i povrća i vitamina C, čine dobru zaštitu od infekcije *H. pylori*. Hrana pripremljena u nepropisnim uvjetima ili hrana izložena kontaminiranoj vodi/ulju mogu povećati rizik infekcije. Također, rizik od infekcije povećavaju svi neadekvatni sanitarni uvjeti, loš socijalni status i život u napučenom okruženju, odnosno loša higijena i napučeni uvjeti života koji uzrokuju prenošenje infekcije između članova obitelji. Za opću populaciju, najraširenij oblik transmisije je od čovjeka do čovjeka: oralno-oralno (putem povraćanja ili sline) ili feko-oralni (Brown 2000).

Na mogućnost oralno-oralnog načina prenošenja ukazuje nekoliko činjenica:

- članovi obitelji u kojoj postoji zaražena osoba znatno su češće zaraženi od obitelji bez zaražene osobe;

- usna šupljina mogući je rezervoar za *H. pylori;*
- medicinski djelatnici koji češće dolaze u dodir sa sekretom gornjeg dijela probavnog sustava češće su zaraženi od drugih djelatnika (Strnad i sur., 2002; Presečki i sur., 1997).

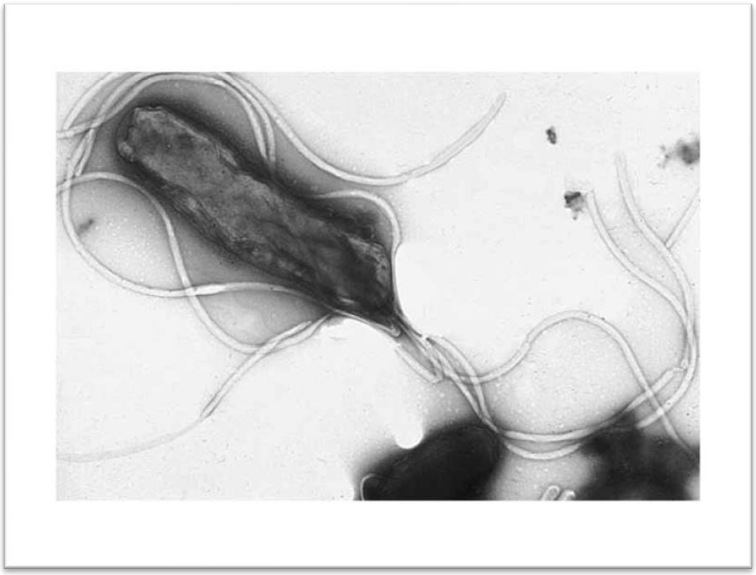
Poznavanje epidemiologije i načina transmisije *H. pylori* od velike je važnosti u prevenciji njenog širenja i može biti korisno u identifikaciji populacija visokog rizika, naročito u područjima koje imaju velik postotak želučanih limfoma, karcinoma i ulkusa (Brown 2000).

1.1.3. PATOGENEZA H. PYLORI

Nakon ulaska *H. pylori* u želudac dolazi do kolonizacije sluznice želuca. Zatim se bakterija na sluznici mora održati (perzistirati) i konačno dolazi do indukcije same bolesti.

Kolonizacija

Svrdlasto kretanje, odnosno dobra pokretljivost *H. pylori,* nužna je za preživljavanje kod vrlo niskog pH u želucu (pH želuca= 1-3). Osim svojim oblikom, bakterija je pokretljiva zahvaljujući i snopu bičeva pomoću kojih se brzo ulazi u sloj između epitela i sluzi (Slika 2). Ujedno je ovo i važan čimbenik njenog širenja na druge dijelove sluznice.



Slika 2. Snop bičeva *H. pylori*
(http://wikipremed.com/image_science_archive_68/040202_68/268750_EMpylori_68.jpg)

H. pylori proizvodi velike količine enzima ureaze koja se nalazi na površini bakterijske stanice i u okolini kad bakterije uginu te utječe na smanjenje kiselosti u bakterijskom okruženju. Poznato je nekoliko adhezina među proteinima vanjske membrane (BabA, AlpA, AlpB) bakterije pomoću kojih ona prijanja na epitelne stanice. Adherencija je povezana s težom promjenom sluznice jer je nužna za stimuliranje produkcije citokina i učinak citotoksina. Opisani su i brojni lipoproteini s ulogom adhezina (Kalenić i sur., 2002).

Perzistencija

Aktivnost ureaze presudna je u održavanju *H. pylori* u želučanoj sluznici, što omogućuje bakterijskoj stanici trajno povoljan pH u neposrednoj okolini. Djelovanje ureaze pojačavaju proteini toplinskog šoka (engl. *heat-shock protein A*) koji ureazi osiguravaju nikal. Nikal je potreban za enzimatsko djelovanje ureaze. Za perzistenciju bitna je i pokretljivost. Budući da je *H. pylori* anaerobna bakterija, idealno je prilagođena za život na površini sluznice na kojoj je koncentracija kisika niska, a koncentracija ugljikovog dioksida dovoljna za preživljavanje (Kalenić i sur., 2002).

Indukcija bolesti

Najvažniji čimbenik u indukciji bolesti je VacA protein (vakuolirajući citotoksin). Svi sojevi ga posjeduju, no nije u svim sojevima aktivan. Aktivnost se povezuje s prisutnošću drugog, srodnog gena – *CagA*. Sojevi koji proizvode VacA i sojevi koji su CagA pozitivni, povezani su s težim oblicima bolesti (atrofični gastritis, karcinom želuca, MALT-limfom, peptički ulkus). U Europi i Sjevernoj Americi rasprostranjenost sojeva koji proizvode citotoksin VacA je znatno viša. Toksin ulazi u epitelnu stanicu, pozicionira se uz lizosome na kojima stvara pore. To dovodi do nastanka vakuola u stanici i oštećenja epitela kako u želucu tako i u dvanaesniku. Inhibira se proliferacija epitelnih stanica te stimulira nekoliko sustava sekundarnih glasnika i oslobađanja pepsinogena. Sam upalni odgovor organizma sastoji se od regrutacije neutrofila, a zatim B- i T-limfocita, plazma stanica i makrofaga što, također, dovodi do oštećenja epitelnih stanica. *CagA* se vodi kao marker patogenosti, s obzirom da samo on tvori oko 40 gena povezanih s patogenošću sojeva. Taj skup gena naziva je CagA-PAI (engl. pathogenicity island) i čini se da kodira sekrecijski sustav tip IV koji omogućava izlazak iz bakterijske stanice ili ekspresiju drugih proteina na površini bakterije koji uzrokuju patogenost. Sam CagA protein nije dio toga sustava (Katičić i sur., 2002; Katičić i sur., 2014).

U indukciji bolesti sudjeluju i ureaza, čiji produkt razgradnje ureje, amonijev ion, može direktno oštetiti epitelne stanice. Od ostalih čimbenika indukcije bolesti su i fosfolipaza i mucinaza (oštećuju epitelne stanice i sluz), potom N-metil-histamin - agonist H3 i H2 histaminskih receptora (dovodi do hipo-/hiperklorhidrije). Važni su i HspA i HspB te lipopolisaharid. Za razvoj bolesti vrlo je važna mogućnost induciranja medijatora upalne reakcije želučane sluznice. Bakterija *H. pylori* uzrokuje i sistemski i sluznički humoralni odgovor, ali ta protutijela ne dovode do eradikacije infekcije, već doprinose oštećenju tkiva (Kalenić i sur., 2002).

1.2. EPIDEMIOLOGIJA *H. PYLORI*

Najmanje 50% svjetske populacije zaraženo je bakterijom *H. pylori*, što je čini najraširenijom infekcijom u svijetu. Stvarna stopa infekcije razlikuje se u različitim dijelovima svijeta. Godine starosti također igraju ulogu u patogenezi, pa će tako ljudi zaraženi u ranijoj dobi vjerojatnije razviti intenzivnije upale. Infekcije se događaju najčešće u ranom djetinjstvu u svim zemljama (Kusters i sur., 2006).

Čimbenici infekcije *H. pylori*

Rizični čimbenici za infekciju *H. pylori* su sljedeći:

- dob – povećanje prevalencije s dobi može biti rezultat dvaju procesa: stalne akumulacije infekcije tokom života ili viših stopa zaraze u starijim kohortama stanovništva (osobe rođene prije 1950. godine imaju znatne više stope infekcije; prevalencija za stariju dob biti će niža kad sadašnji 40-godišnjaci dosegnu dob od 60 godina, kao posljedica kohortnog fenomena);
- spol – u nekim razvijenim zemljama muškarci imaju više stope infekcije nego žene, dok u drugim zemljama stope infekcije su približno jednake;
- rođenje u zemljama u razvoju;
- socijalno-ekonomski aspekt – najvažniji je prediktor prevalencije u bilo kojoj populacijskoj skupini, visok životni standard, viši stupanj edukacije i bolji sanitarni uvjeti koreliraju s nižom prevalencijom infekcije te vrijedi i obrnuto;

- genetički aspekt – monozigotni blizanci odgajani zajedno imaju slične stope infekcije i to mnogo više nego dizigotni blizanci također odgajani zajedno;

- obitelj - velika obitelj, prisutnost dojenčeta u kući, roditelj inficiran sa *H. pylori* i roditelj s bolesti želuca ili bolesti digestivnog trakta imaju veće prevalencije infekcije s *H. pylori;*

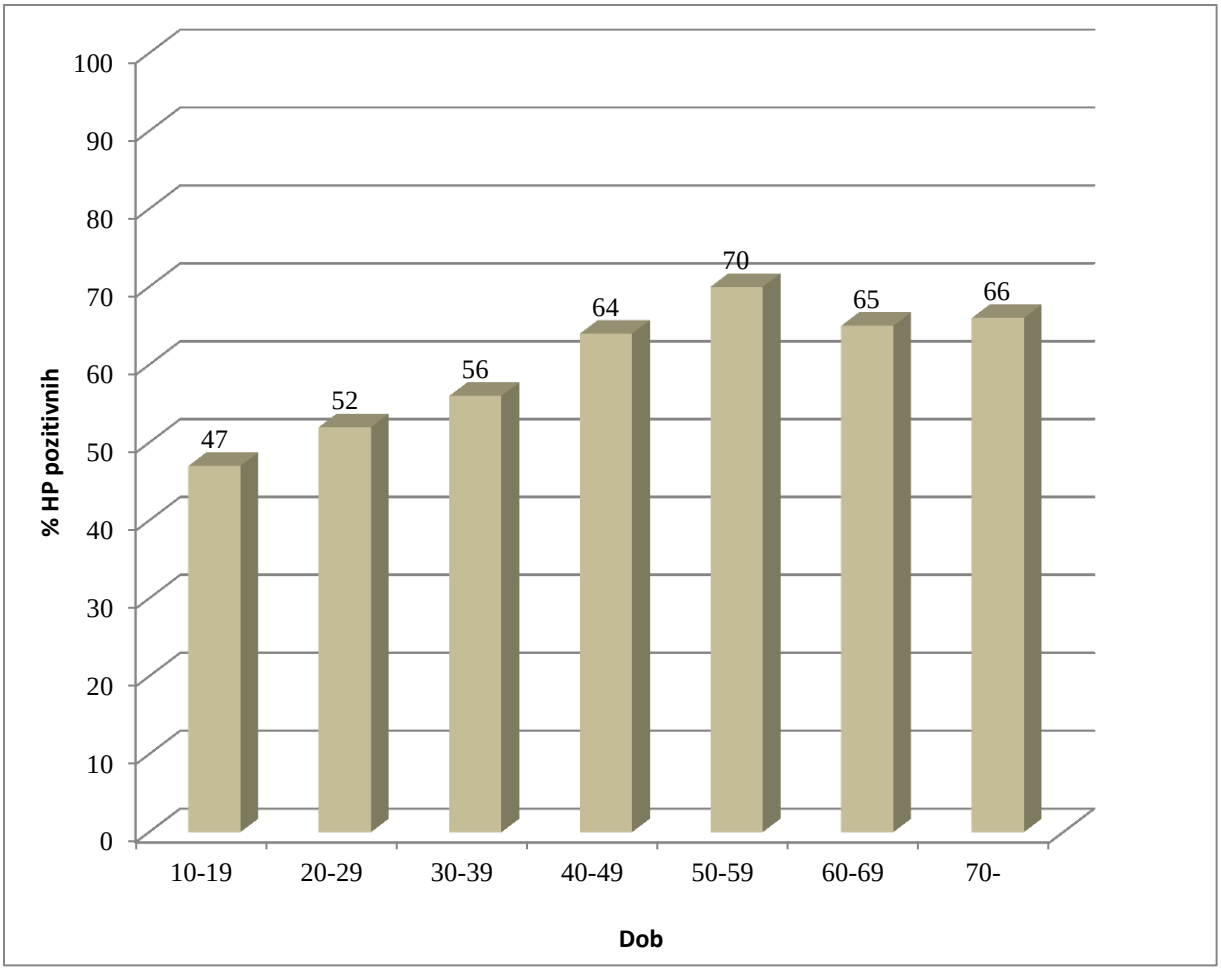
- izloženost želučanom sadržaju inficirane osobe – već spomenuta veća stopa infekcije kod medicinskih djelatnika, posebice na gastroenterološkim odjelima (Strnad i sur. 2002).

1.2.1. STOPE INFEKCIJE U SVIJETU I RH

Infekcija *H. pylori* stječe se najčešće u djetinjstvu, ali isto tako može i nestati. Nejasno je nestaje li nakon primjene antibiotika ili je to prirodni tijek infekcije. U zemljama u razvoju većina je djece inficirana prije 10-e godine života, s maksimumom infekcije populacije (<80%) prije 50. godine, za razliku od stanovništva razvijenih zemalja gdje su serološki podaci infekcije vrlo rijetko pozitivni u djece mlađe od 10 godina, a maksimum od 50% inficiranosti doseže se tek nakon 60. godine života. To značajno utječe na razlike u epidemiološkoj situaciji između razvijenih zemalja i zemalja u razvoju (Strnad i sur., 2002; Katičić 2006).

U razvijenim zemljama do navršenih 10 godina postotak infekcije djece je nizak (npr. Francuska 3,5%) za razliku od nerazvijenih (npr. Nigerija 50%). Razlike su prisutne i u unutar same zemlje (npr. u Njemačkoj je do 10. godine inficirano 6,3% djece njemačke i 66,7% djece turske nacionalnosti). Zbog navedenih razlika u postotku infekcije u djetinjstvu, razvijene zemlje imaju nižu prevalenciju u odrasloj dobi: Engleska 15%, Švicarska 24%, Danska 25,5%, SAD 35%, Australija 38%, Irska 43% u donosu na: jug Italije 63%, Turska i Nigerija 80-85%; vrlo visoko Kina (Strnad i sur.,2002).

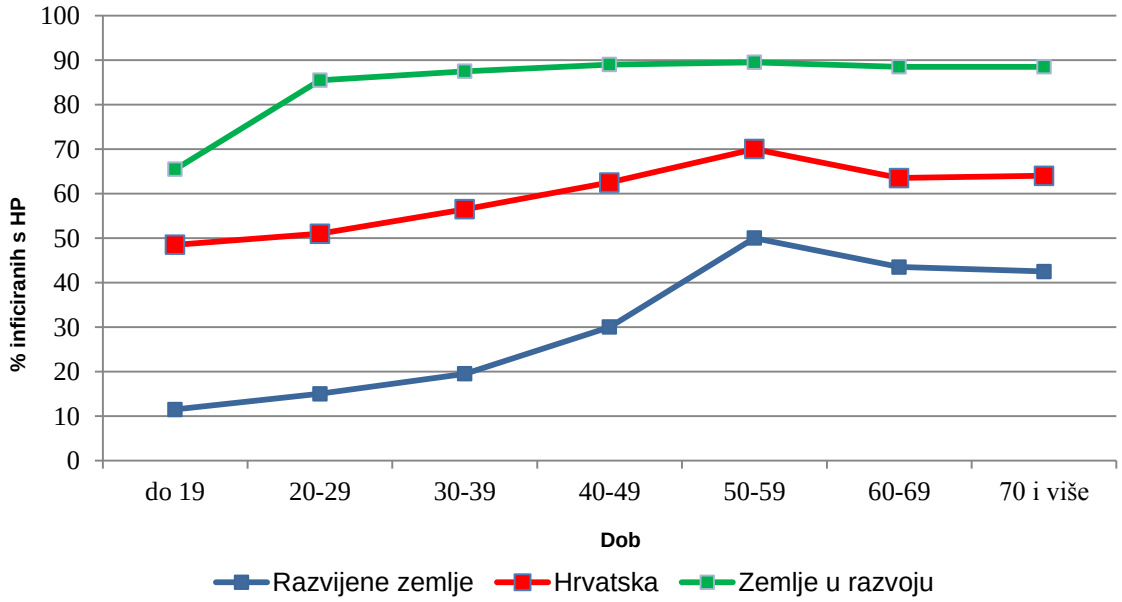
Što se tiče Republike Hrvatske, prosječna stopa prevalencije infekcije *H. pylori* je 60,4% (u dobi između 20 i 70 godina), tj. između učestalosti utvrđene u razvijenim stopama svijeta (20-30%) i one u zemljama u razvoju (50-98%). Podaci o učestalosti infekcije *H. pylori* u RH dani su slikom 3.



Slika 3. Učestalost pozitivnih seroloških nalaza za *H. pylori* infekciju u različitim dobnim skupinama u zdravoj populaciji u Hrvatskoj (Strnad i sur., 2002)

Stopa zaraze bakterijom raste s dobi do gotovo 70% u šestoj dekadi. Prosječna stopa kod muške populacije RH je 58,9%, a kod žena 65,9%. Ova razlika nije statistički značajna. Što se tiče Zagreba, prosječne stope prevalencije su 58,4%, a znatno veće su stope (71,3%) u južnom dijelu RH (Babuš i sur., 1997; Katičić i sur., 2002).

Različitost učestalosti infekcije između zemalja u razvoju i razvijenih zemalja prikazana je slikom 4.



Slika 4. Učestalost pozitivnih seroloških nalaza za infekciju *H. pylori* u različitim dobnim skupinama u zdravoj populaciji u Hrvatskoj, razvijenim zemljama i zemljama u razvoju (Katičić i sur., 2002)

U današnje vrijeme prevalencija infekcije je u padu, zbog poboljšanja kvalitete života, poboljšanja higijene te korištenja antimikrobne terapije i u druge svrhe (Suzuki i sur., 2007).

1.3. DIJAGNOSTIKA

1.3.1. DIJAGNOSTIKA H. PYLORI INFEKCIJE

Dijagnostika *H. pylori* infekcije danas uključuje niz invazivnih i ne-invazivnih metoda.

Neinvazivne metode otkrivaju prisutnost *H. pylori* dokazivanjem njene specifične aktivnosti (ponajprije enzima ureaze - ureja izdisajni test), prisutnosti specifičnih protutijela u slini i/ili serumu inficirane osobe ili dokazivanjem antigena *H. pylori* u stolici bolesnika.

Invazivnim metodama otkrivaju se prisutnost *H. pylori* (mikrobiološki pregled, histološki pregled) ili njezina aktivnost (brzi ureazni test) u bioptičkim uzorcima želučane sluznice dobiveni endoskopskim pregledom. Postupci dijagnostike *H. pylori* infekcije dani su tablicom 1.

Tablica 1. Postupci dijagnostike infekcije *H. pylori* (Katičić 2006)

Neinvazivni postupci	Invazivni postupci
Serologija	Endoskopija – biopsija
Urejni izdisajni testovi	Brzi ureazni test (CLO test)
Antigen u stolici	Histologija
PCR (u stolici)	Izolacija i kultura
	Molekularni postupci

Legenda: PCR (engl. Polimerase Chain Reaction) - lančana reakcija polimeraze

Serološka dijagnostika

Serološkim postupcima otkrivamo prisutnost specifičnih IgG-protutijela u inficiranom pacijentu koja nastaju kao imunološki odgovor na infekciju *H. pylori*. Serološki su postupci važni jer su jeftini, brzi, dostupni, jednostavni za izvođenje te su visoke osjetljivosti (94%) i specifičnosti (98%). Iako se serološka dijagnostika još uvijek primjenjuje u rutinskoj dijagnostici infekcije *H. pylori* kod neliječenih bolesnika, posebno mjesto ima u epidemiološkim studijama, jer su cijelim tijekom infekcije razine IgG-protutijela stabilne ili se tek neznatno mijenjaju. Preporuke *European Helicobacter Study Group* iz 2005. godine obuhvaćene izvješćem *Maastricht 3 Consensus* potvrđuju dijagnostičku vrijednost serologije u posebnim situacijama kao što je dijagnostika infekcije *H. pylori* u bolesnika s krvarećim ulkusom, atrofijom želučane sluznice kakva prati maligne bolesti (karcinome i limfome), pod aktualnom terapijom antibioticima ili inhibitorima protonske pumpe. No, serološki testovi nisu primjenjivi za praćenje post-eradikacije, odnosno vrijednost seroloških testova u utvrđivanju eradikacije *H. pylori* donekle je ograničena, jer razina specifičnih protutijela pri postignutoj eradikaciji znatno pada (približno 50% od početne vrijednosti utvrđene prije liječenja) tek nakon 6-12 mjeseci. Serološki postupci dosta se koriste za dijagnostiku prije primjene eradikacijske terapije, no ne primjenjuju se u evaluaciji eradikacije ni u dijagnostici male djece (Yaxley i Chakravarty, 2014; Katičić 2006; Suerbaum i Michetti 2002).

Ureja izdisajni test

Ureja izdisajnim testovima (engl. Urea Breath Test – **UBT**) otkriva se postojanje infekcije *H. pylori* dokazivanjem prisutnosti enzima ureaze u želucu zaraženog bolesnika.

Pacijent peroralno unosi radioaktivno-označenu ureju (^{13}C), bakterija *H. pylori* razgradi ureju, oslobađa se radioaktivno-obilježeni bikarbonat te amonijak. Bikarbonat prelazi u krv, izdiše se preko pluća kao radioaktivno-obilježeni ugljični dioksid (CO2), a ^{13}C određuje se spekrometrijom masa. Test pokazuje visoke pozitivne i negativne predikcije, vrlo je jednostavan i brz, a osjetljivost i specifičnost vrlo su visoke (>98%). Lažno negativni rezultati mogući su ako se testiranja izvode neposredno nakon uzimanja inhibitora protonske pumpe, preparata bizmuta ili antibiotika. UBT služi za inicijalnu dijagnozu infekcije i praćenje učinkovitosti eradikacijske terapije (UBT je primjenjiv i preporučljiv kod post-eradikacijskog praćenja 4 tjedna nakon prestanka terapije, da bi se izbjegli lažno negativni rezultati), a pouzdan je u djece iznad 6 godina (Yaxley i Chakravarty, 2014; Katičić 2006).

Otkrivanje antigena *H. pylori* u stolici

Imuno-enzimskim postupkom može se direktno otkriti prisutnost antigena *H. pylori* u stolici zaražene osobe. Izvođenje testa ne traje više od 1 sat, uzorak se uzima ne-invazivnom metodom, a osjetljivost (97,4%) i specifičnost su visoke (98%). Tijekom liječenja razina bakterijskog antigena se znatno smanjuje odnosno nestaje iz bolesnikove stolice. Zbog toga je moguće test primjenjivati ne samo u dijagnostici (pred-terapijskoj dijagnostici) već i u post-terapijskoj dijagnostici radi procjene uspješnosti eradikacijske terapije (ali nakon 8 tjedana od završetka terapije). Dokaz antigena u stolici je alternativa UBT-u, a posebno je pogodna metoda za dokazivanje infekcije kod djece (Yaxley i Chakravarty, 2014; Katičić 2006).

Endoskopija

Endoskopija je najčešća dijagnostička metoda u dijagnostici ulkusne bolesti jer je osjetljiva, specifična i sigurna. Endoskopija omogućava lako otkrivanje sluzničkih lezija i ulkusa, uzimanje ciljanih biopsijskih uzoraka sluznice za određivanje prirode različitih procesa, diferenciranje malignih od benignih lezija, dijagnostiku *H. pylori* i drugo. Bolesnici koji bi svakako trebali biti podvrgnuti ovoj metodi su bolesnici s anemijom, gastrointestinalnim krvarenjem, naglim gubitkom težine i stariji od 50 godina. Nakon endoskopije se prvo napravi test ureaze antralnog bioptata, što je jeftina i brza detekcija aktivnosti ureaze u datom uzorku (Yaxley i Chakravarty, 2014; Katičić, 2006).

Brzi test ureaze

H. pylori je bakterija koja proizvodi velike količine ureaze, čija se prisutnost može jednostavno dokazati uranjanjem bioptata (uzorka dobivenog biopsijom) u podlogu koja sadržava ureju i indikator pH. Ureaza cijepa ureju u amonijak (NH_3) i ugljikov dioksid (CO_2). Test je pozitivan ukoliko podloga postane alkalnija – indicirano promjenom boje indikatora. Test je brz, jeftin, podjednako visoke osjetljivosti i specifičnosti (između 90-95%), ali isto tako nije primjenjiv kod post-eradikacije (Yaxley i Chakravarty, 2014; Katičić 2006).

Kultivacija

Kultivacija je najpouzdanija, no složena, teško dostupna, skupa i dugotrajna metoda. Ne provodi se rutinski u dijagnostici *H. pylori* infekcije, ali se preporučuje uz testiranje osjetljivosti nakon neuspjele eradikacijske terapije (Yaxley i Chakravarty, 2014; Katičić 2006).

Histološki pregled

Histološki postupak detekcije *H. pylori* u pripravcima biopsijskih uzoraka želučane sluznice nudi nam dodatne informacije o stupnju i tipu infekcije. Temelji se na identifikaciji karakterističnog S-oblika bakterije, zavinutog ili spiralnog. Ima visoku osjetljivost i specifičnost, zahtijeva gastroskopiju i skup je. Prednost je histološkog pregleda prikaz promjena na sluznici i prema novijim saznanjima može detektirati rane promjene MALT-limfoma (Yaxley i Chakravarty, 2014; Katičić 2006).

Molekularni postupci

S obzirom da *H. pylori* pripada skupini sojeva koju karakterizira izrazita genska raznolikost, serološka je tipizacija sojeva vrlo teška. Upravo su zato molekularni postupci kao lančana reakcija polimeraze vrlo korisni. Najčešće se primjenjuju u dijagnostici (iz biopsijskih uzoraka želučane sluznice), epidemiološkim istraživanjima (dijagnostička obrada npr. neželučanih uzoraka), tipizaciji sojeva (utvrđivanje razlika između ponovne zaraze, recidiva ili pri otkrivanju miješane zaraze u jednom bolesniku ili u više bolesnika iste obitelji) i određivanju rezistencije na pojedine lijekove npr. makrolide (Yaxley i Chakravarty, 2014; Katičić 2006).

1.3.2. DIJAGNOSTIKA H. PYLORI REZISTENCIJE

Heterorezistencija je stanje karakterizirano istovremenom prisutnošću osjetljivih i rezistentnih sojeva u nekih pacijenata. Rezistencije se mogu detektirati s molekularnim metodama (PCR, PCR u stvarnom vremenu i dr.) i metodama baziranim na kulturama (metoda agar-dilucije, E-test, disk difuzijska metoda i dr.) (Ierardi i sur., 2013).

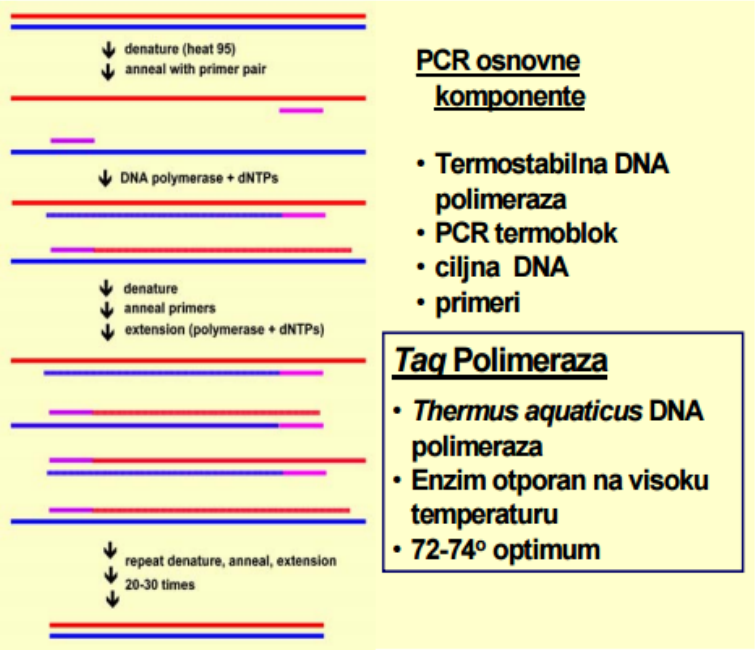
Metoda lančane reakcije polimeraze (engl. *PCR-Polimerase Chain Reaction*)

Lančanom reakcijom polimeraze možemo u svega nekoliko sati dobiti milijarde identičnih kopija nekog ciljanog fragmenta DNA. Ciljni dio DNA molekule koju se želi umnožiti određuje se kratkim oligonukleotidnim sekvencama - primerima, koji su komplementarni krajevima DNA koju želimo umnožiti. Primeri su pokretači serije lančanih reakcija koje se odvijaju pomoću enzima DNA polimeraze. Na kalupu jednog lanca DNA, DNA polimeraza sintetizira novi, komplementarni lanac, pri čemu veličina sintetiziranog dijela DNA molekule odgovara dužini koju omeđuju izabrani primeri (http://moodle.srce.hr/2014-2015/mod/resource/view.php?id=92502).

PCR u stvarnom vremenu (engl. *„Real time" PCR*)

"Real-time" PCR je kontinuirana analiza produkata lančane reakcije polimeraze koja omogućava pouzdanu kvantifikaciju te eliminira probleme vezane za kvantifikaciju "klasične" PCR metode. Eliminira potrebu za analizom produkata, ali je znatno skuplja. Ova metoda temelji se na primjeni unutarnje sonde koja ima vezanu fluorescentnu boju "R" i prigušivač "Q" (quencher) – fluorescira tek nakon razdvajanja R i Q. Unutarnju sondu razgrađuje Taq polimeraza (5'→3' egzonukleaza), a količina fuorescencije razmjerna je količini PCR produkta. Mogućnost primjene različito obilježenih unutarnjih sondi omogućava multipleks analizu (http://moodle.srce.hr/2014-2015/mod/resource/view.php?id=92502).

Na slici 5. prikazane su sheme metoda PCR i "Real time" PCR.



Slika 5. Dvostruki lanac DNA molekule razdvoji se (denaturira) zagrijavanjem na 94°C kroz 3 min. Tijekom hlađenja na 50 – 60°C primeri se komplementarno vežu (annealing) na lance DNA. DNA polimeraza započinje sintezu komplementarnih lanaca (extension) dodavanjem komplementarnih baza. Prosječna PCR reakcija se odvija u 20 - 30 ciklusa.
(http://www.medri.uniri.hr/katedre/Patologija/medicina/Patologija/skripte/Molekularne%20metode%20u%20patologiji%202009%20SKRIPTA%20PROF.pdf)

Određivanje osjetljivosti bakterija na antimikrobne lijekove uključuje etiološku dijagnozu (izolacija i identifikacija bakterije) koju slijedi određivanje osjetljivosti bakterije na antibiotike:

a) kvalitativno (metoda difuzije),

b) kvantitativno (metoda dilucije, E-test).

Metoda dilucije

Metoda dilucije uključuje određivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) odnosno minimalne baktericidne koncentracije (MMK). Postupak uključuje:

1. razrjeđivanje antibiotika u niz epruveta s tekućim hranjivim bujonom,

2. inokulum bakterijskih stanica,
3. inkubaciju 18-24 h na 37^{o}C,
4. očitavanje rezultata: prisutnost zamućenja – bakterija raste; bistra otopina – nema rasta. (http://moodle.srce.hr/2014-2015/course/view.php?id=5106).

Metoda difuzije

Metodom difuzije određuje se inhibicija rasta bakterija i uključuje:

1. inokulum bakterijskih stanica na površini krute hranjive podloge,
2. postavljanje dijagnostičkih diskova s antibiotikom,
3. inkubaciju 18-24 h na 37^{o}C.

(http://moodle.srce.hr/2014-2015/course/view.php?id=5106).

E-Test

E-Test je kombinirani test koji povezuje disk-difuzijski postupak i određivanje minimalne inhibitorne koncentracije - MIK.

1.4. ERADIKACIJA *H. PYLORI*

Prema *Maastricht III Concensus* izvještaju iz 2007. godine, indikacije za eradikaciju su sljedeće:

- duodenalni ili gastrički ulkus (aktivni ili neaktivni);
- MALT;
- atrofični gastritis;
- resekcija želuca nakon karcinoma;

- bolesnici koji imaju rodbinu u prvom koljenu oboljelu od želučanog karcinoma;
- na zahtjev bolesnika.

1.4.1. PREGLED DOSADAŠNJIH TERAPIJSKIH PREPORUKA

Iako je bakterija *H. pylori in vitro* vrlo osjetljiva na niz antibiotika, djelovanje pojedinog antimikrobnog sredstva *in vivo* znatno je slabije. Poznato je nekoliko različitih čimbenika koji više ili manje utječu na uspješnost neke terapijske sheme. To su izbor antimikrobnog lijeka i ostalih lijekova u terapijskim shemama, otpornost (rezistencija) *H. pylori* na antimikrobni lijek, pridržavanje uputa o uzimanju lijekova – suradljivost, što uvelike ovisi o popratnim nuspojavama liječenja. S obzirom na vrlo visoku prevalenciju infekcije *H. pylori* među bolesnicima s dispepsijom i peptičkim ulkusom, eradikacija te infekcije danas je nedvojbeno jedan od najvažnijih zahtjeva moderne protuulkusne terapije.

Današnje smjernice za eradikaciju ističu da terapijski protokol mora biti jednostavan, jeftin i dobro podnošljiv kako bi ga bolesnik što lakše i potpuno proveo. Dugo se smatralo da moderna europska terapija mora biti trojna terapija (dva antibiotika i protusekrecijski lijek). Kao protusekrecijski lijek preporučuje se jedan od inhibitora protonske pumpe (omeprazol 2 x 20 mg, pantoprazol 2 x 40 mg ili lansoprazol 2 x 30 mg). Između triju najčešće propisivanih antibiotika Europska grupa daje prednost makrolidu klaritromicinu, uz koji preporučuje kao drugi antibiotik amoksicilin ili metronidazol/tinidazol.

Najčešće se preporučuje davanje jedne od ovih triju antibiotskih kombinacija, u trajanju 7-10 dana:

1) klaritromicin (2 x 250 mg) i metronidazol (2 x 400 mg) ili tinidazol (2 x 500 mg)

2) klaritromicin (2 x 500 mg) i amoksicilin (2 x 1000 mg)

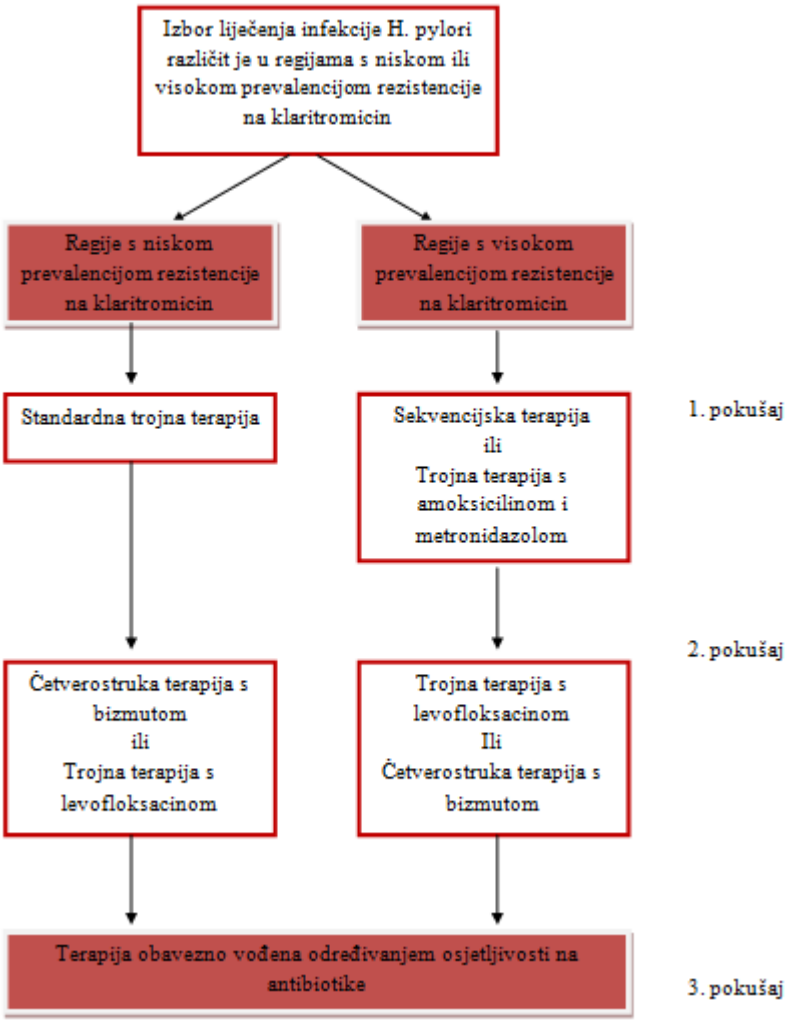
3) amoksicilin (2 x 1000 mg) i metronidazol (2 x 400 mg) ili tinidazol (2 x 500 mg).

Predložena trojna terapija postala je standardna u svim svjetskim smjernicama. Isto je tako Hrvatska radna skupina za infekciju *H. pylori*, vodeći se rezultatima kliničkih istraživanja provedenih u Hrvatskoj, lijekovima dostupnim na hrvatskom tržištu te službenoj listi registriranih lijekova, na svojem sastanku 1998. preporučila slične sheme liječenja, samo što je kao makrolidni antibiotik tada predložen azitromicin 2 x 1000 mg tijekom prva 3 dana,

s obzirom na to da klaritromicin u to vrijeme još nije bio registriran u našoj zemlji (Katičić i sur., 2014).

1.4.2. NOVE TERAPIJSKE PREPORUKE

Novije studije pokazuju značajan pad djelotvornosti dosada uobičajene terapije. U većini novih kontroliranih studija trojnom se terapijom može eradicirati *H. pylori* u najviše 70% bolesnika, što je značajno niže od željenih 80–90%. Postoji više mogućih objašnjenja za pad djelotvornosti dosadašnje uobičajene trojne terapije. Glavni je razlog porast primarne rezistencije *H. pylori* na klaritromicin, s 9% u 1998. godini na 17,6% u 2009. godini. Rezultati iz Hrvatske pokazuju sličnu tendenciju: u sjevernim područjima primarna je rezistencija na klaritromicin sa 7% 1999. godine porasla na 25,6% 2011. godine. U priobalnom području primarna je rezistencija također porasla na 22%. Iako je primarna *in vitro* rezistencija na metronidazol u brojnim europskim zemljama relativno visoka, taj se problem može prevladati povišenjem doze i dužom primjenom lijeka ili dodatkom preparata bizmuta. Europske smjernice daju različite terapijske preporuke za područja s primarnom rezistencijom na klaritromicin nižom od 20% od onih s višom (Slika 6.). S obzirom da nisu ciljano razvijani novi lijekovi za eradikacijske protokole, traže se nove kombinacije postojećih antibiotika s drugačijim režimom primjene koje bi postigle što veći klinički uspjeh (Katičić i sur., 2014).



Slika 6. Izbor liječenja infekcije *Helicobacterom pylori* u regijama s niskom i visokom prevalencijom rezistencije na klaritromicin (Katičić i sur., 2014)

Alternativni režimi prve linije liječenja kao što su sekvencijska i istodobna terapija, razvijene su kao zamjena standardne trojne terapije i bili su vrlo učinkoviti u zemljama u kojima su se razvili, no pokazale su se neuspješnima u regijama s visokom antibiotskom rezistencijom (Nijevitch i sur., 2014).

Modificirana trojna terapija koja uvodi kinolonski antibiotik, na temelju brojnih kliničkih ispitivanja, pokazala se uspješnom kao prva linija liječenja. Eradikacijska uspješnost varira od 72% do 96% kod trojne terapije s levofloksacinom. Ovakva terapija mogla bi se primijeniti kod populacija koje pokazuju rezistenciju na klaritromicin veću od 20% odnosno rezistenciju na kinolon manju od 10% (Federico i sur., 2014).

Danas se doduše ne preporuča ovakav oblik terapije za prvu liniju zbog potencijalnog rasta prevalencije kinolon-rezistentnih sojeva *H. pylori*, uz vjerojatnost povećanja broja i kinolon-rezistentnih patogena koji mogu uzrokovati respiratorne i urogenitalne infekcije.

Sekvencijska 10-dnevna terapija, koja se sastoji od dvojne terapije tijekom 5 dana i trojne preostalih 5 dana vrlo je učinkovita i dobro podnošljiva. Nekoliko studija je pokazalo da ovakav oblik sekvencijske 10-dnevne terapije može pokazati uspješnost eradikacije od 85%-90% (Vaira i sur.,2007; Hsu i sur., 2011; Gisbert i sur., 2010).

1.4.3. DRUGA I TREĆA LINIJA TERAPIJE

Četverostruka terapija, ukoliko je dostupna, je najbolja opcija (IPP, metronidazol, tetraciklin, bizmut). Klaritromicin se u drugoj terapijskoj liniji ne koristi, osim u slučajevima kada mikrobiološka obrada ukaže na osjetljivost sojeva *H. pylori* (Malfertheiner i sur. 2007).

Za treću liniju terapije ne postoje specifične preporuke; nakon neuspjeha druge linije treba obvezno ispitati osjetljivost sojeva *H. pylori* na antibiotike. Također se savjetuje regionalno praćenje primarne antibiotske rezistencije. Primjenjuju se eradikacijske sheme koje uključuju levofloksacin i rifabutin (Malfertheiner i sur. 2007).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Infekcija *Helicobacter pylori* jedna je od najčešćih infekcija u ljudi. Procjenjuje se da ova bakterija živi u gastričkoj sluznici oko polovice svjetske populacije, a povezana je s razvojem kroničnog gastritisa, želučanog karcinoma, želučanog i duodenalnog ulkusa, MALT-limfoma te s nekim ekstragastričnim manifestacijama.

Prevalencija *H. pylori* rezistencije na eradikacijske postupke različita je u različitim dijelovima svijeta. Najveći problem predstavlja rezistencija bakterije na klaritromicin, standardni antibiotik u prvoj liniji liječenja, što dovodi do modifikacija terapijskih shema uvođenjem drugih antibiotika. No, ni to se nije pokazalo dugoročno uspješnim zbog brzog razvoja rezistencije koji se značajno razlikuju prema geografskim područjima.

Zbog neuspjeha ili neprihvatljivo niskog stupnja uspješnosti eradikacijske terapije i porasta broja rezistentnih sojeva *H. pylori* na antibiotske komponente terapijskih protokola, traže se novi pristupi u liječenju i novi djelotvorniji lijekovi. Isto tako velika očekivanja polažu se u razvoj cjepiva protiv *H. pylori* koji bi imao veliki značaj u prevenciji želučanog karcinoma kao i značajan utjecaj na zdravlje populacije.

Cilj ovog diplomskog rada je pregledom stručne i znanstvene literature opisati dosadašnje spoznaje i dati pregled istraživanja o *H. pylori*, terapijskim shemama u njenoj eradikaciji te osnovnom problemu, tj. razvoju rezistencije na antibiotske komponente u terapijskim protokolima.

3. MATERIJALI I METODE

U ovom teorijskom diplomskom radu korištena je literatura vezana uz terapijske metode eradikacije *H. pylori* te antibiotske rezistencije postojećih antibiotika uključenih u terapijske režime. Korištena literatura je rezultat pretraživanja bibliografskih baza podataka kao što su ScienceDirekt, PubMed Central i BioMed Central prema ključnim riječima (i njihovim kombinacijama): *H. pylori, eradication, resistance, virulence, antibiotics, patients, resistant strains, resistance rates, genetic diversity, clarithromycin, amoxicilin, metronidazole, PPI, tetracycline, therapy*, te drugih dostupnih stručnih i znanstvenih knjiga i članaka.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. TERAPIJA *H. PYLORI* INFEKCIJE

Eradikacija *H. pylori* važna je za liječenje peptičkog ulkusa kao glavne bolesti uzrokovane infekcijom *H. pylori*. Osim toga, važna je i zbog prevencije pojave recidiva ulkusa kao što i smanjuje rizik razvoja gastričkog karcinoma i ostalih *H. pylori* vezanih stanja. Njome možemo spriječiti širenje infekcije *H. pylori* te time izravno utjecati na smanjenje troškova liječenja i posljedica poput ulkusa i karcinoma. Postoje brojna istraživanja koja navode različite mogućnosti liječenja infekcije *H. pylori* (Shiota i sur., 2014).

Klinički relevantni režimi terapije moraju biti minimalno 80% uspješni, bez značajnih nuspojava i uz minimalni razvoj bakterijske rezistencije. S obzirom da takvi ciljevi nisu postignuti samo antibiotskom terapijom, a ujedno jer aciditet želuca smanjuje aktivnost nekih antibiotika – antibiotici se danas kombiniraju s inhibitorima protonske pumpe (Katičić 2006). Terapijske metode prikazane su Tablicom 2.

Tablica 2. Terapijske linije eradikacije *H. pylori* (Chuah i sur., 2011)

PRVA LINIJA TERAPIJE	
Standardna trojna terapija[1]	IPP (standardna doza), klaritromicin (500 mg) i amoksicilin (1g); 7-14 dana
Sekvencijska terapija	5-dnevna dvojna terapija IPP (standardne doze) i amoksicilin (1 g); nakon toga 5-dnevna trojna terapija IPP (standardne doze), klaritromicin (500 mg) i metronidazol (500 mg)
Istodobna terapija	IPP(standardna doza), klaritromicin (500 mg), amoksicilin (1 g) i metronidazol (500 mg) kroz 7-10 dana
Hibridna terapija	7-dnevna dvojna terapija IPP (standardne doze) i amoksicilin (1 g) koju slijedi 7-dnevna četverostruka terapija IPP (standardna doza), amoksicilin (1 g), klaritromicin (500 mg) i metronidazol (500 mg)
Bizmut - četverostruka terapija	IPP (standardna doza), bizmut (standardna doza), tetraciklin (500 mg) i metronidazol (250 mg); 10-14 dana

[1] Korištena u područjima gdje je prisutna rezistencija na klaritromicin <10% i napuštena u područjima s rezistencijom na klaritromicin >20%

DRUGA LINIJA	
Bizmut - četverostruka terapija	IPP (standardna doza), bizmut (standardna doza), tetraciklin (500 mg) i metronidazol (250 mg); 10-14 dana
Levofloksacin - bazirana trojna terapija[2]	IPP (standardna doza), levofloksacin (500 mg) i amoksicilin (1 g), 10 dana
TREĆA LINIJA	
Terapija temeljena na ispitivanju osjetljivosti	10-dnevna četverostruka terapija koja sadrži IPP (standardna doza), bizmut (standardna doza) i 2 antibiotika birana prema testovima antimikrobnoj osjetljivosti
Levofloksacin - bazirana četverostruka terapija	IPP (standardna doza), levofloksacin (500 mg) i amoksicilin (1 g), 10 dana
Rifabutin bazirana - trojna terapija	IPP (standardna doza), rifabutin (150 mg) i amoksicilin (1 g) kroz 14 dana
Furazolidon-bazirana četverostruka terapija	IPP (standardna doza), trikalijev dicitrobizmutat (240 mg), furazolidon (200 mg) i tetraciklin (1 g)

Analiza 20 studija koje su uključile 1975 pacijenata na trojnoj terapiji pokazala je eradikaciju od 88% u klaritromicin-osjetljivih sojeva naspram eradikacije od 18% kod klaritromicin-rezistentnih sojeva bakterije (Megraud 2004).

Dakle, očita je važnost rezistencije na klaritromicin s obzirom na njen velik utjecaj u uspješnosti liječenja infekcije *H. pylori*. U područjima s rezistencijom na klaritromicin manjom od 10% (Njemačka, Švedska, Irska i dr.) i dalje je moguće primjenjivati standardnu trojnu terapiju za postizanje eradikacijskog učinka većeg od 90%. Prema *Maastricht IV/ Florence* dogovoru trojna terapija koja uključuje klaritromicin se smatra uspješnom ako rezistencija na klaritromicin ne prelazi 20% (Malfertheiner i sur., 2012).

Sukladno tome, standardna trojna terapija morala bi se modificirati ako je rezistencija veća od 20%. Primjeri takvih područja u kojima je uspješnost trojne terapije s klaritromicinom manja od 85% su Španjolska, Aljaska, Kina i Japan (Rimbara i sur., 2011; Megraud 2004; Graham i sur., 2008).

Uporaba probiotika privukla je pažnju kao alternativni pristup povećanja eradikacije i smanjivanja nuspojava trojne terapije. Njihova uloga je nepoznata, ali postoji dokazi o povećanju uspješnosti eradikacije infekcije *H. pylori*.

[2] Korištena kod pacijenata kod kojih se eradikacija H. pylori pokazala neuspješnom sa standardnom trojnom, sekvencijskom, istodobnom i hibridnom terapijom. IPP: inhibitor protonske pumpe

Također je ustanovljeno da što je trajanje terapije dulje to je njena učinkovitost veća, a prema nekim podacima uspješnost eradikacije veća je za 12% u 14-dnevnoj, u odnosu na 7-dnevnu terapiju. Međutim, 7-dnevno liječenje i dalje je prihvatljivo ukoliko se njime postiže eradikacija 80-90% (Malfertheiner i sur., 2007).

Nekoliko „rescue"-režima u zadnjih nekoliko godinama preporuča se naročito zbog svjetskog porasta rezistencije na klaritromicin i metronidazol. Tako se po prvi puta preporuča četverostruka terapija koja uključuje soli bizmuta kao prva i druga linija kod visoke rezistencije na klaritromicin (Malfertheiner i sur., 2012).

Analizom brojnih studija pokazalo se da je primjena druge linije liječenja koja je uključivala četverostruku terapiju sa solima bizmuta u slučaju rezistencije na prvu liniju, postignut visok eradikacijski uspjeh od 77%. Uspješnost je ovisila o dozi metronidazola i trajanju terapije. Sljedeći "rescue"-režim, preporučen *Maastricht* smjernicama za drugu i treću liniju terapije je trojna terapija s levofloksacinom (IPP, levofloksacin i amoksicilin, 10-14 dana). Naročito je bitna nakon primjene sekvencijske terapije gdje se može pojaviti dvostruka rezistencija (Marin i sur., 2013). Modificirana trojna terapija s fluorokinolonskim antibiotikom se danas ne preporuča za prvu liniju terapije zbog potencijalnog rasta prevalencije kinolon-rezistentnih sojeva *H. pylori*, uz vjerojatno povećan broj kinolon-rezistentnih patogena koji mogu uzrokovati respiratorne i urogenitalne infekcije.

Budući da bizmut-četverostruka terapija ne postiže eradikacijski uspjeh kod 20-30% pacijenata, nekoliko studija je pokazalo bolju uspješnost trojne terapije s levofloksacinom (Gisbert i sur., 2010; Cuadrado-Lavin i sur., 2012).

Danas se procjenjuje primjena nekoliko antibiotika kod kojih rezistencija praktički nije razvijena. Takav antibiotik je i rifabutin, derivat rifamicina. Rifabutin se uobičajeno koristi u terapiji *Mycobacterium avium-intracellulare*. Pokazao je obećavajuće eradikacijske rezultate u bolesnika s nekoliko neuspješnih terapija (eradikacijska uspješnost iznosi prema nekim studijama 70-80%).

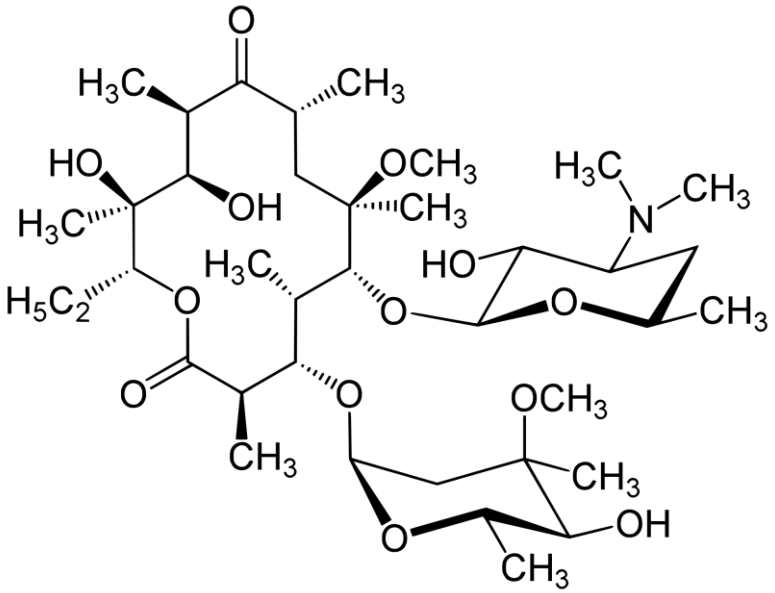
4.2. MEHANIZMI ANTIBIOTSKOG DJELOVANJA I MEHANIZMI REZISTENCIJE

Antibiotska rezistencija *H. pylori* je najčešći uzrok neuspjeha eradikacijske terapije i predstavlja globalni problem. Primjećene su i velike regionalne/geografske razlike. Antibiotske rezistencije *H. pylori* definiraju se kao primarne (bez prethodne terapije za bakterijsku eradikaciju) i sekundardne (osjetljivi bakterijski soj stječe rezistenciju tijekom terapije). Glavni razlog su točkaste mutacije na DNA *H. pylori* koji se najčešće povezuju s neprikladnom primjenom antibiotika (Boyanova i Mitov, 2010).

Rezistencija na klaritromicin vodi se kao najčešći uzrok neuspjeha eradikacije *H. pylori*, u stalnom je porastu i kreće se oko 10% u Europi (4% u sjevernom i do 18,5% u južnom dijelu). Predloženo je da se u populacijama gdje je primarna rezistencija na klaritromicin veća od 20%, on ne uvodi u početne terapijske kombinacije, bar ne bez prethodno napravljenog antibiograma koji će pokazati je li soj *H. pylori* na njega osjetljiv.

Što se tiče rezistencije na metronidazol, ona prema epidemiološkim podacima iznosi čak od 20% do 90%, dok je rezistencija na tetracikline i amoksicilin rijetka (Ierardi i sur., 2013).

4.2.1. KLARITROMICIN



Slika 7. Klaritromicin
(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/12/Clarithromycin_structure.svg/2000px-Clarithromycin_structure.svg.png)

Klaritromicin (Slika 7) je antibiotik koji pripada u skupinu makrolida i polusintetski je derivat eritromicina. Mehanizam djelovanja klindamicina je vezanje na 50S podjedinicu ribosoma čime se usporava sinteza bakterijskih proteina. Inhibicija sinteze proteina mijenja sastav bakterijske stanične stijenke te smanjuje sposobnost vezanja bakterije na stanicu domaćina. Učinkovit je antibiotik za liječenje brojnih infekcija koje uzrokuje širok spektar aerobnih i anaerobnih, gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija. Osim klaritromicina, antimikrobni učinak ima i njegov metabolit 14-hidroksi klaritromicin.

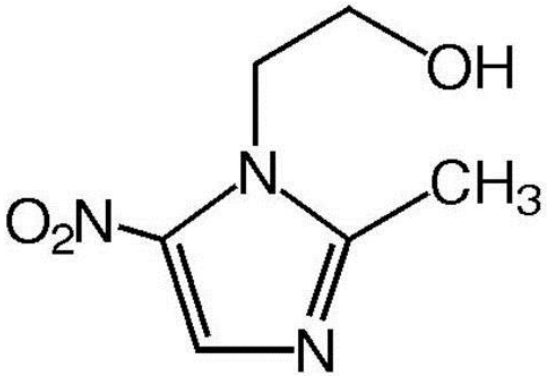
Klaritromicin se brzo i dobro apsorbira iz probavnog sustava – prvenstveno u jejunumu. Hrana usporava apsorpciju, ali ne utječe na bioraspoloživost. Zbog svoje kemijske strukture (6-O-metileritromicin) klaritromicin je prilično otporan na degradaciju želučanom kiselinom. Klaritromicin dobro prodire u različite odjeljke, a u nekim tkivima postiže koncentracije koje su nekoliko puta više od razine lijeka u cirkulaciji. Klaritromicin se brzo metabolizira u jetri, a metaboliti koji nastaju su: N-demetil klaritromicin, dekladinozil klaritromicin i 14-hidroksi klaritromicin.

Mehanizmi rezistencije protiv makrolidnih antibiotika uključuju promjenu ciljnog mjesta antibiotika ili se temelje na modifikaciji antibiotika. Bakterije rezistentne na makrolide stvaraju enzime koji dovode do metilacije rezidualnog adenina na ribosomskoj RNA i posljedično do inhibicije vezanja antibiotika na ribosom. Nadalje, makrolidi djeluju bakteriostatski inhibicijom peptidil transferaze ribosoma. Većina dostupnih kliničkih iskustava iz kontroliranih randomiziranih kliničkih ispitivanja ukazuju da klaritromicin u dozi od 500 mg dva puta na dan u kombinaciji s drugim antibioticima (npr. amoksicilinom/metronidazolom ili omeprazolom primijenjenog u odobrenoj dozi) za sedam dana postigne stopu eradikacije *H. pylori* u više od 80% bolesnika s gastro-duodenalnim ulkusom (http://www.almp.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-12-01-273.pdf).

Mutacije koje mogu izazvati rezistenciju su točkaste mutacije u 23srRNA komponenti ribosoma. Tri najčešće mutacije koje se mogu pojaviti su A2143G, A2142G i A2142C, koje su odgovorne za 90% slučajeva primarne rezistencije na klaritromicin u sojevima *H. pylori* izoliranim u zapadnim zemljama. Konkretno, A2143G mutacija ima mnogo jači utjecaj na razvoj rezistencije od druge dvije. U istočnim zemljama (npr. Južna Koreja), dodatne mutacije kao T2183C i A2223G često su nađene kao najveći uzroci rezistencije na klaritromicin, dok je A2143G mutacija prisutna u samo 23% rezistentnih sojeva. Ovaj nalaz, ako se potvrdi i u

drugim azijskim zemljama, pokazuje da se mutacije koje uzrokuju rezistenciju na klaritromicin mogu razlikovati ovisno o geografskoj sredini (Ierardi i sur., 2013).

4.2.2. METRONIDAZOL



Slika 8. Metronidazol (http://images.ddccdn.com/drp/images/12/08005801.jpg)

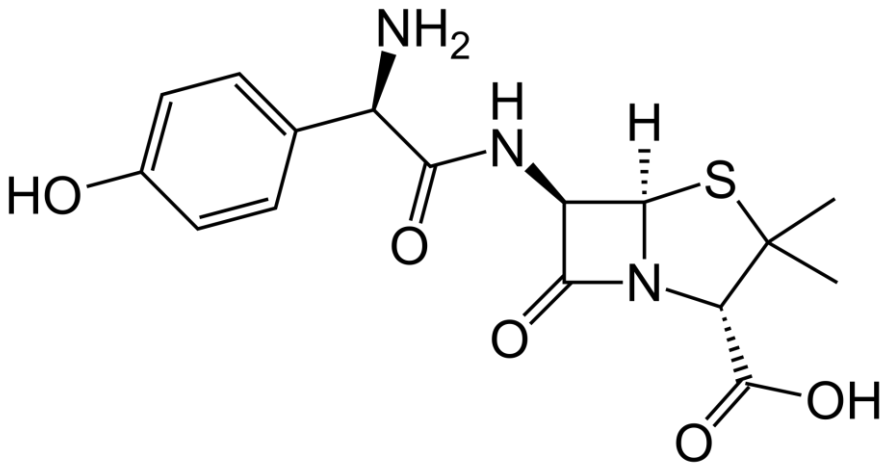
Metronidazol je nitroimidazolni antibiotik (Slika 8). Reducira se u osjetljivim protozoama i uvijek prisutnim anaerobnim bakterijama, produkt čega su acetamid i N-(2'-hidroksietil)-oksamidna kiselina. Antibakterijski spektar uključuje i anaerobne gram-pozitivne bakterije i gram-pozitivne štapićaste bakterije (tvore spore), kao i anaerobne gram-pozitivne koke, neke fakultativne anaerobe i neke protozoe.

Metronidazol se nakon primjene raspodjeljuje po tkivu. Pojavljuje se u većini tkiva i tjelesnih tekućina, uključujući žuč, kosti, jetru, slinu, sjemenu tekućinu i vaginalne sekrete te postiže koncentracije slične onima u plazmi. Također se širi po placenti te je pronađen u majčinom mlijeku u koncentracijama koje odgovaraju onima u serumu. Vezanje za proteine je u mjeri manjoj od 20%. Metronidazol se primjenjuje kao prolijek: metabolizira se u jetri sporednom lančanom oksidacijom i stvaranjem glukuronida. Njegovi metaboliti su produkt oksidacije kiseline, hidroksi derivati i glukuronid. Glavni metabolit u serumu je hidroksilni metabolit, glavni metabolit u urinu je metabolit kiseline. Otprilike 80% tvari se izlučuje u urinu, a manje od 10% kao metronidazol. Poluvijek eliminacije je otprilike 8 (6-10) sati (ttp://www.halmed.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-10-01-552.pdf).

Mehanizam rezistencije na metronidazol nije posve jasan. U *H. plyori*, geni *rdxA* i *frxA* kodiraju reduktaze koje su potrebne za aktivaciju metronidazola te za deaktivaciju tih

gena što rezultira otpornošću metronidazola. Promjene gena *rdxA i frxA* su od primarne važnosti, ali nije bilo moguće utvrditi jasnu panelu točkastih mutacija koje bi mogle objasniti to (Ierardi i sur., 2013).

4.2.3. AMOKSICILIN



Slika 9. Amoksicilin
(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/02/Amoxicillin.svg/2000px-Amoxicillin.svg.png)

Amoksicilin (Slika 9) je polusintetski β-laktamski antibiotik (antibiotik širokog spektra djelovanja, skupina: aminopenicilini) uključen u svim sadašnjim terapijskim režimima za *H. pylori.* Oralno primijenjen, amoksicilin se brzo i skoro potpuno apsorbira iz probavnog sustava. Udvostručavanjem doze udvostručava se i koncentracija lijeka u plazmi, no pri velikim pojedinačnim dozama ovaj odnos više nije linearan. Svega 20% amoksicilina se veže na proteine plazme. Amoksicilin se dobro raspoređuje u tkivima i organima, prolazi placentu i izlučuje se u cirkulaciju ploda. Djeluje baktericidno na penicilin osjetljive gram-pozitivne i na gram-negativne bakterije koje ne produciraju β-laktamazu (BLA).

Baktericidno djelovanje amoksicilina temelji se na inhibiciji sinteze stanične stijenke bakterija koja se odvija u 3 stupnja :

1. vezanje amoksicilina za specifične proteine u bakterija (engl. protein-binding proteins, PBP),

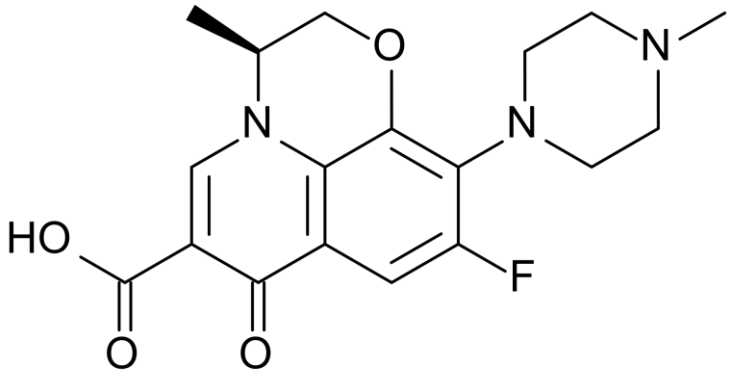
2. inhibicija sinteze stanične stijenke bakterija sprječavanjem transpeptidacije peptidoglikana,

3. aktivacija autolitičkih enzima u staničnoj stijenci što rezultira nastankom lezija zbog kojih bakterija ugiba (http://www.almp.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-09-02-414.pdf).

Glavni mehanizam obrane bakterije od amoksicilina je stvaranje β-laktamaze koja cijepa β-laktamski prsten i time inaktivira peniciline. Amoksicilin se uglavnom izlučuje mokraćom nepromijenjen.

Ovaj lijek je bio prvi antibiotik korišten za *H. pylori* terapiju zbog pretpostavljene odsutnosti rezistencije. U gotovo svim studijama, postotci rezistencije su niski i čini se da su ti podaci homogeni u svijetu (Ierardi i sur., 2013).

4.2.4. LEVOFLOKSACIN



Slika 10. Levofloksacin
(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/de/Levofloxacin.svg/2000px-Levofloxacin.svg.png)

Levofloksacin je sintetski antibiotik širokog spektra koji pripada skupini fluorokinolona (kinolonski antimikrobici) i to je S(-)-enantiomer racemične tvari ofloksacina (Slika 10). Levofloksacin primijenjen peroralno, apsorbira se brzo i gotovo u potpunosti; vršne koncentracije u plazmi postižu se nakon 1 – 2 sata. Apsolutna bioraspoloživost je približno 100%. Približno 30-40% levofloksacina veže se na proteine u serumu. Levofloksacin se metabolizira u vrlo malom opsegu, a njegovi metaboliti su desmetil-levofloksacin i levofloksacin-N-oksid. Ovi metaboliti izlučuju se mokraćom. Levofloksacin je stereokemijski stabilan i ne podliježe kiralnoj inverziji. Eliminira se relativno sporo, prvenstveno putem bubrega. Nema bitnih razlika u farmakokinetici levofloksacina nakon

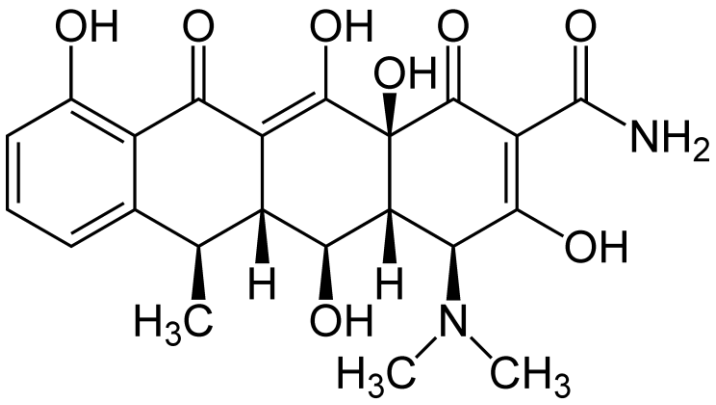
intravenske ili peroralne primjene, što upućuje da su putovi primjene međusobno zamjenjivi (http://www.almp.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-08-01-354.pdf).

Kao fluorokinolonski antibiotik, levofloksacin djeluje na kompleks DNA-DNA giraze i na topoizmerazu IV - enzime nužne za razdvajanje replicirane DNA i blokiranje stanične diobe. Djeluje protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija. Levofloksacin se nedavno pojavio u terapijskim režimima *H. pylori* eradikacije: Prema *Maastricht/Florence IV* dogovoru, režimi s levofloksacinom predloženi su kao druga linija terapije kada prva linija s klaritromicinom nije dovoljno učinkovita. Rezistencija *H. pylori* na levofloksacin može se postepeno razviti putem mutacija ciljnog mjesta u DNA girazi i topoizomerazi IV. Drugi mehanizmi mogu uključivati barijere propusnosti. Zabilježena je i križna rezistencija između levofloksacina i ostalih fluorokinolona (Ierardi i sur., 2013).

4.2.5. OSTALI ANTIBIOTICI

Tetraciklini

U terapiji *H. pylori* koriste se i tetraciklini, najčešće doksiciklin.



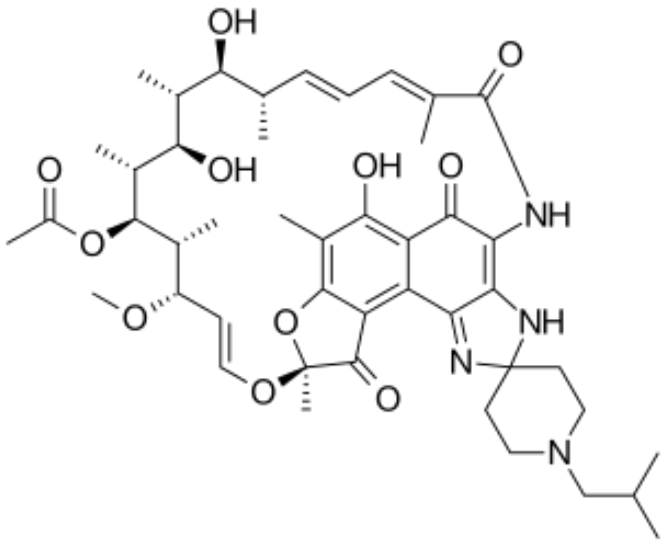
Slika 11. Doksiciklin
(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0c/Doxycycline_Structural_Formulae.png/520px-Doxycycline_Structural_Formulae.png)

Doksiciklin (Slika 11) ima primarno bakteriostatski učinak te djeluje putem inhibicije proteina. Doksiciklin je djelotvoran protiv širokog spektra gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija te nekih drugih mikroorganizama. Gotovo u potpunosti se apsorbira nakon oralne primjene te u odnosu na druge tetracikline nema znatnog utjecaja hrane ili mlijeka. Tetraciklini se u različitim omjerima vežu na proteine plazme, a eliminiraju se mokraćom ili

fecesom u visokim koncentracijama i biološki aktivnim formama (http://www.almp.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-12-02-225.pdf).

Rezistencija na tetracikline je vrlo niska ili je uopće nema u većini zemalja. Mehanizam rezistencije je opisan kao promjena u slijedu 3 nukleotida u 16S rRNA genu (AGA 926-928RTTC) (Ierardi i sur., 2013).

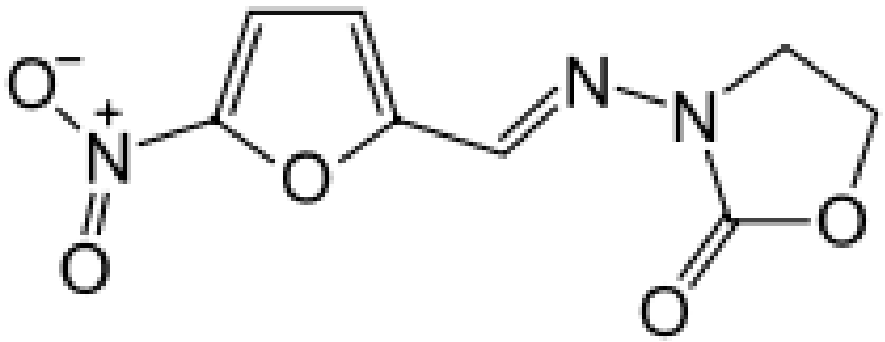
Rifabutin



Slika 12. Rifabutin
(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/56/Rifabutin_structure.svg/300px-Rifabutin_structure.svg.png)

Rifabutin (Slika 12) je baktericidni antibiotik iz skupine rifamicina, primarno korišten u terapiji tuberkuloze, a učinak na bakteriju se bazira na blokiranju DNA-ovisne RNA polimeraze. Počeo se koristiti u eradikaciji u kasnim 90-im godinama, a prevalencija *H. pylori* rezistencije je bila vrlo niska, što je i bilo očekivano s obzirom na dotad ograničenu primjenu kod mikobakterijskih infekcija. Rezistencija je posljedica točkastih mutacija u *rpoB* genu kao i za druge bakterije te se pojavljuje na sve rifamicin-slične lijekove, što upućuje na potencijalnu opasnost unakrsne rezistencije između antibiotika iz iste skupine (Ierardi i sur., 2013).

Furazolidon



Slika 13. Furazolidon
(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/3f/Furazolidone.svg/220px-Furazolidone.svg.png)

Furazolidon je nitrofuranski antibiotik (Slika 13). U prošlosti se koristio kod ljudi za liječenje proljeva i enteritisa uzrokovanih bakterijskim ili protozoalnim infekcijama, a od 1991.godine prepoznat je od strane FDA (engl. *Food and Drug Administration*) kao karcinogen zbog čega je njegova primjena danas ograničena samo na nekoliko zemalja u razvoju koje još uvijek dopuštaju njegovu uporabu u liječenju ljudi. Njegova uporaba za liječenje *H. pylori* infekcija je predložena kao izbor u zemljama u razvoju gdje je primjena standardnih lijekova u eradikaciji zbog visokih troškova nemoguća, ali gdje je također prisutna i visoka prevalencija primarne rezistencije na metronidazol, kao i na klaritromicin. S druge stane, niska stopa primarne *H. pylori* rezistencije na furazolidon u zemljama u razvoju može učiniti korištenje ovog antibiotika atraktivnim (Ierardi i sur., 2013).

4.3. GEOGRAFSKE RAZLIKE ANTIBIOTSKE REZISTENCIJE

Antibiotska rezistencija u svijetu

Na temelju rezultata kliničkih istraživanja, 2010. godine dobiveni su sljedeći udjeli antibiotske rezistencije:

- 17.2% na klaritromicin,
- 26.7% na metronidazol,

- 11.2% na amoksicilin,
- 5.9% na tetracikline (De Francesco i sur., 2010).

Tablica 3. Udio pojedine antibiotske rezistencije (De Francesco i sur., 2010)

Područje	Amoksicilin	Klaritromicin	Metronidazol	Tetraciklin	Kombinacija antibiotika
Europa	3/599 **(0.5%)**	352/3 156 **(11.1%)**	420/2 459 **(17.0%)**	14/599 **(2.1%)**	204/2 272 **(8.9%)**
Amerika	8/352 **(2.2%)**	118/402 **(29.3%)**	177/401 **(44.1%)**	11/393 **(2.7%)**	53/352 **(15.0%)**
Afrika	113/172 **(65.6%)**	-	159/172 **(92.4%)**	58/132 **(43.9%)**	-
Azija	60/517 **(11.6%)**	1 544/ 8 139 **(18.9%)**	192/517 **(37.1%)**	11/456 **(2.4%)**	21/252 **(8.3%)**
Ukupno	**184/1 640** (11.2%)	**2014/ 11697** (17.2%)	**948/3 549** (26.7%)	**94/1580** (5.9%)	**278/2876** (9.6%)

Rezistencija na amoksicilin zabilježena je u 184 od 1 640 ispitanih pacijenata (Tablica 3.). U Europi, podaci pokazuju postotak prevalencije manji od 1%. Podaci u Africi pokazuju odsutnost rezistencije na amoksicilin u Senegalu (0%), dok je velika prevalencija zabilježena u Kamerunu (85,6%).

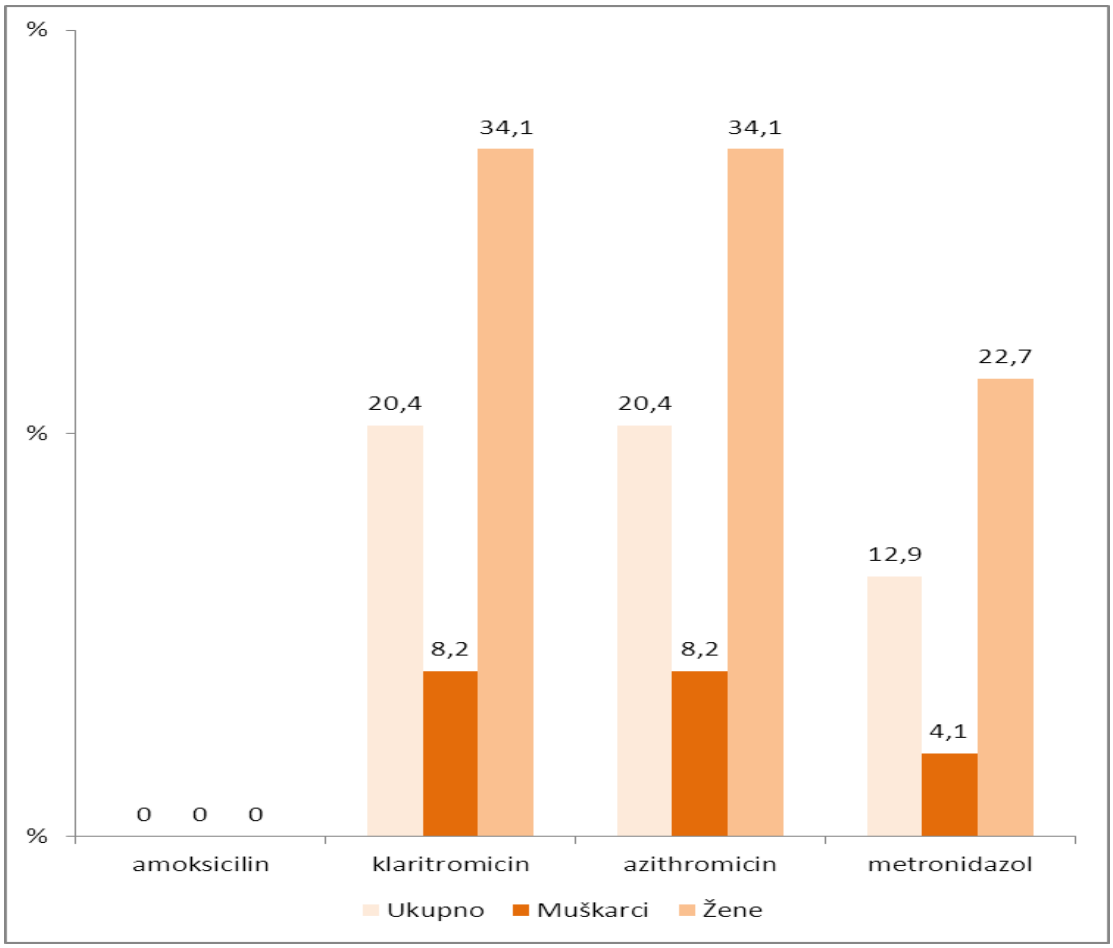
Prema istraživanju De Francesca i suradnika, primarna rezistencija na klaritromicin zabilježena je kod 17.2% od 11 697 ispitanih pacijenata (Tablica 3.); prosječno je ona na europskom kontinentu 11,1%, u Aziji 18,9% i američkom kontinentu 29,3%. Primarna rezistencija na metronidazol zabilježena je u 948 od 3 549 ispitanih pacijenata (Tablica 3.), sa značajnim razlikama u Africi (92,4%), Americi (44,1%), Aziji (37,1%) i Europi (17%). Primarna rezistencija na tetracikline zabilježena je kod 94 od 1580 ispitanih pacijenata (Tablica 3.) i pokazuje nam da nema značajnih razlika između ukupnih postotaka u Europi (2,1%), Aziji (2,4%) i Americi (2,7%) dok je u Africi ona 43,9% . Najviša rezistencija na tetracikline zabilježena je u Koreji (8,8%), Čileu (26,8%) i Kamerunu (43,9%).

Antibiotska rezistencija u Hrvatskoj

Što se tiče rezistencije *H. pylori* u Hrvatskoj, istraživanje rezistencije provedeno je u KB Split na 144 pacijenata te je dalo sljedeće rezultate:

- svi sojevi bakterije bili su osjetljivi na amoksicilin,
- sojevi su pokazali podjednaku rezistentnost na klaritromicin i azitromicin (20,4%),
- rezistencija na metronidazol bila je 12,9%.

Zanimljivo, istraživanjem je pokazano da je u ženskih ispitanica učestalost rezistencije na sva tri isptivana antibiotika znatno veća nego kod muškaraca (Slika 14). Temeljem toga moglo bi se zaključiti da bi se sojevima *H. pylori* izoliranim od ženskih ispitanica prije započinjanja eradikacijske terapije trebala utvrditi osjetljivost na antibiotike koji će se primjenjivati u eradikacijskom režimu (Tonkić i sur., 2006).



Slika 14. Učestalost rezistencije amoksicilina, klaritromicina, azitromicina i metronidazola (Tonkić i sur., 2006)

Kod određivanja primarne rezistencije *H. pylori* na metronidazol u Hrvatskoj uzeti su uzorci želučanih biopsija kod 144 pacijenata s patološkim promjenama u probavnom sustavu. Kultura je napravljena za 113 pacijenata prije i nakon terapije. 100 od 144 bolesnika je primilo kombinaciju omeprazola (20 mg, 10 dana), amoksicilina (500 mg, 10 dana) i metronidazola (500 mg, 10 dana). 13 od 113 bolesnika je umjesto metronidazola dobilo azitromicin (500 mg, 3 dana). Nakon terapije 47,8% bolesnika imalo je pozitivan nalaz kulture na *H. pylori*. Rezultati su pokazali primarnu rezistenciju na metronidazol kod 37 od 113 (32,7%) pacijenata. Primarna rezistencija *H. pylori* na metronidazol važan je prognostički parametar za terapijski (ne)uspjeh, iako je otprilike trećina pacijenata s rezistentnim oblikom *H. pylori* eradicirana. To ukazuje na činjenicu da postoje različiti bakterijski mehanizmi rezistencije te da postoji terapijski sinergizam antibiotika (Katičić i sur, 2002).

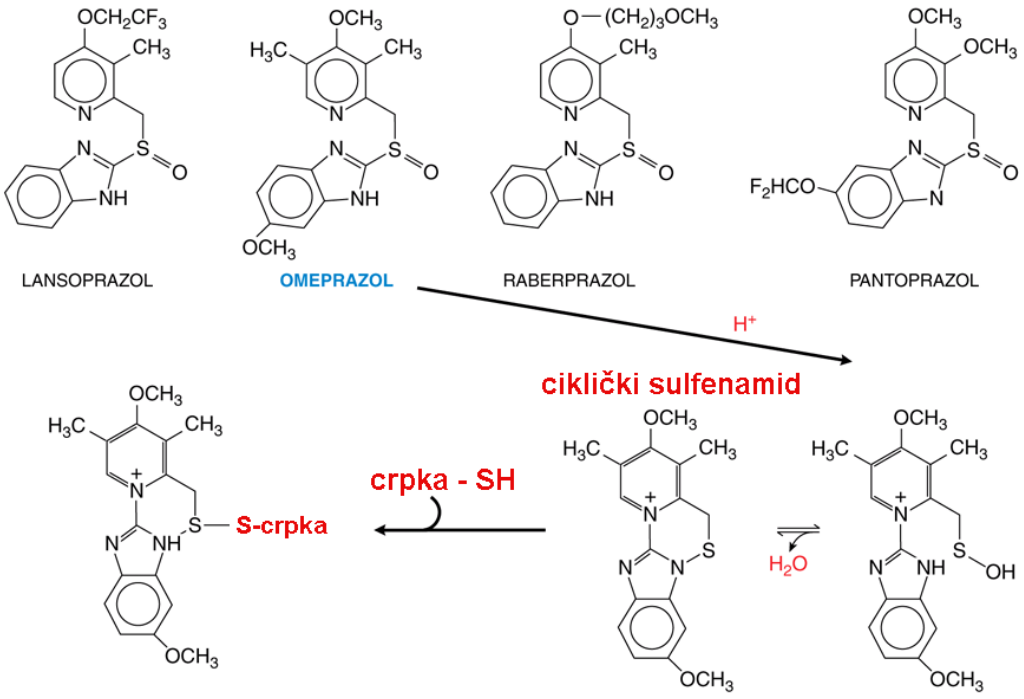
4.4. INHIBITORI PROTONSKE PUMPE (IPP)

U inhibitore protonske pumpe (H^+/K^+-ATP-aze) svrstavamo sljedeće lijekove: omeprazol (racemična smjesa R- i S-izomera), esomeprazol (S-omeprazol), pantoprazol, lansoprazol, tenatoprazol i rabeprazol.

Terapijske indikacije za ovu skupinu lijekova su: liječenje ulkusne bolesti (ulkus želuca i dvanaesnika); liječenje i prevencija relapsa ulkusa dvanaesnika uzrokovanog infekcijom s *H. pylori*, uz istodobnu primjenu antibiotika; GERB (gastro ezo-fagealna refluksna bolest); Zollinger-Ellisonov sindom.

Mehanizam djelovanja IPP-a je ireverzibilna inhibicija aktivnih H^+/K^+-ATP-aza stvaranjem kovalentne veze između lijeka i cisteina na mjestu 813 (dodatni učinak pantoprazola i tenatoprazola na cistein 822). IPP stabiliziraju protein u inaktivnoj E2 konformaciji.

Svi lijekovi u inaktivnom obliku (kao slabe baze) ulaze u parijetalne stanice, nakupljaju se u kiseloj sredini kanalikula i tu se protoniraju (piridinska skupina). Drugom protonacijom benzimidazolske ili imidazipiridinske skupine nastaje sulfenamid – aktivni oblik lijeka koji stvara disulfidnu vezu s cisteinskim SH skupinama. (Slika 15.) Početak djelovanja lijeka ovisit će o stupnju nakupljanja i aktivaciji (ovisno o pKa).



Slika 15. Aktivacija IPP-a (http://fbf-arhiva.s2.novenaweb.info/OdsjekKolegij.aspx?mhID=3&mvID=151&id=42)

Inhibitori protonske pumpe se metaboliziraju u jetri, najviše preko hepatičkih enzima CYP3A4 i CYP2C19 (tenatoprazol > omeprazol > esomeprazol > pantoprazol > lansoprazol, rabeprazol). Svi su vezani za proteine plazme u velikom postotku (95-97%) i hrana im smanjuje apsorpciju za oko 50%. Maksimalan antisekretorni učinak postižu nakon 3 dana, a vrijeme potrebno za oporavak sekrecije kiseline razlikuje se unutar skupine: pantoprazol (46 h) > omeprazol (28 h) > lansoprazol (15 h) (Katzung i sur., 2012).

4.5. BUDUĆNOST TERAPIJE

Kao što je vidljivo iz svih danih terapijskih podataka, optimalna terapija još uvijek nije nađena. Najveći problemi neuspješne eradikacije *H. pylori* infekcija jest antibiotska rezistencija i nesuradljivost pacijenata.

S obzirom na nedostatke ispitivanja antibiotske osjetljivosti, nedostatke učinkovitosti prve i druge linije liječenja, trebalo bi istražiti nove antibiotike te inovativnije eradikacijske metode.

S razvojem neinvazivnih i brzih testova osjetljivosti bakterije na različite antibiotike, prvenstveno klaritromicin i levofloksacin, bit će lakše odrediti individualno-prilagođene terapijske režime od kojih možemo očekivati eradikacijske rezultate veće od 95% (Graham i Fischbach, 2010; Federico i sur., 2014).

S učinkovitijim testovima osjetljivosti, neupitno će se povećati i eradikacija *H. pylori*.

4.5.1. ADJUVANTNA TERAPIJA - DODATAK PROBIOTIKA

Radi poboljšanja uspjeha eradikacije infekcije *H. pylori,* godinama se razmatra i uvođenje probiotika kao dodatne (adjuvantne) terapije. Unatoč brojnim temeljnim i kliničkim istraživanjima još nema dovoljno dokaza koji konzistentno afirmiraju njihovu primjenu u eradikaciji infekcije *H. pylori*. Nekoliko kliničkih studija ukazuje na povoljne učinke primjene različitih probiotičkih sojeva u eradikaciji *H. pylori.* Ipak, vrijednost ovih istraživanja ograničena je raznolikošću ispitivanih probiotičkih sojeva, dizajnom i veličinom pojedinih istraživanja. Može se pretpostaviti da će probiotici, kada se dodaju eradikacijskoj terapiji za *H. pylori,* imati povoljan učinak na domaćina promjenom sastava crijevne mikrobiote, čime mogu utjecati na sniženje učestalosti nuspojava i omogućiti bolje podnošenje terapije i bolju suradljivost bolesnika. Kako neki probiotički sojevi pokazuju i antimikrobne učinke, razmatra se i moguća aktivnija uloga u eradikacijskoj terapiji, što zahtijeva daljnja istraživanja. *Saccharomyces boulardii* dobro je istražen probiotički soj u liječenju *H. pylori.*

Meta-analiza koja je uključila 1307 bolesnika iz 5 studija pokazala je da primjena ovoga probiotičkog soja povećava stopu eradikacije uz klasičnu trojnu eradikacijsku terapiju i smanjuje rizik od javljanja nuspojava standardne terapije, a osobito proljeva. Stoga se može zaključiti da primjena pojedinih probiotičkih sojeva smanjuje neželjene učinke, osobito proljev koji često prati antibiotsku eradikacijsku terapiju te indirektno utječe i na povišenje stope eradikacije. Svakako je potrebno nastaviti istraživanja pojedinih probiotika i prebiotika uz bolji dizajn studija, uz veći broj ispitanika te izvođenjem multicentričnih istraživanja (Katičić i sur., 2014).

4.5.2. CJEPIVO PROTIV H. PYLORI

S obzirom da kolonizacija *H. pylori* ima teške zdravstvene posljedice, ona predstavlja bitan izazov za sve krovne svjetske javno-zdravstvene institucije. Razvoj cjepiva kao potencijalne prevencije, ali i terapije *H. pylori* počeo je oko 1990. godine. Kasnije, kada je postalo jasno da se prevalencija *H. pylori* smanjuje u razvijenim zemljama, time i pojava želučanog ulkusa ili karcinoma, postavilo se pitanje potrebe razvoja cjepiva. S obzirom da je rezistencija bakterije na antibiotike sve veća i da je njena eradikacija sve teža, interes za razvoj cjepiva ponovno raste.

Različiti pristupi uključuju primjenu cijelih stanica, rekombinantne antigene u kombinaciji s bakterijskim toksinima ili drugim pomoćnim sredstvima i uspješno su testirani. Važan aspekt razvoja cjepiva je izbor antigena. Istraživanja cjepiva koji su do sada napravljeni proučavaju i modificiraju antigena svojstva nekih bakterijskih proteina, kao što su ureaza, VacA, CagA. Također se raspravlja o načinu primjene takvog cjepiva. Obzirom da je bakterija *H. pylori* neinvazivan patogen smatralo se da će oralna primjena biti najučinkovitiji ključ za eradikaciju. Problem koji nastaje je nestabilnost primijenjenih antigena u kiselom pH koja zahtijeva veće višestruke doze i nedostupnost prikladnih pomoćnih sredstava (Muller i Solnick, 2011; Hussain i Hamid, 2014).

Drugi pristup je da se koriste druge sluznice za imunizaciju kao npr. rektalna ili nazalna. Prednosti imunizacije sluznice su brojni i uključuju visoku suradljivost pacijenata, jednostavnost primjene, a može biti potaknut i sistemski imunitet sluznice, ne samo na mjestu cijepljenja. Također može se spriječiti infekcija neutralizacijom patogena na mjestu ulaska.

Antigeni se moraju kombinirati s pomoćnim tvarima od kojih je do danas testirano (pretklinički i klinički) više od 100 različitih pomoćnih sredstava, no niti jedan nije uspio dobiti odobrenje za uporabu u rutinskim cijepljenjima zbog rizika od toksičnosti. Idealno pomoćno sredstvo trebalo bi biti netoksično, biorazgradivo i neimunogeno dok bi ujedno trebalo izazivat perzistentni visokokvalitetan imunološki odgovor na antigen (Muller i Solnick, 2011).

U zadnjih nekoliko godina raste interes za razvoj *H. pylori* DNA cjepiva. S obzirom da su ona učinkovita protiv široke lepeze patogena, da se stvaraju relativno stabilna, općenito sigurna DNA cjepiva te da izazivaju humoralni i stanični imunitet - ona ostaju potencijalno rješenje liječenja infekcije *H. pylori*.

Cjepiva bi trebala biti najučinkovitija ako se primjene tijekom prvih nekoliko mjeseci infekcije nakon rođenja, kada najčešće dolazi do infekcije s *H. pylori*. Idealno cjepivo ne samo da mora imati dobru sigurnost i učinkovitost, već bi trebao biti relativno jeftino, dati dugoročnu imunost uz minimalne doze ponavljanja (Muller i Solnick, 2011; Hussain i Hamid, 2014).

4.6. ULOGA FARMACEUTA U ERADIKACIJI *H.PYLORI*

Magistar farmacije svakodnevno se u svom radu u ljekarni susreće s pacijentima kojima je propisana terapija za eradikaciju infekcije *H. pylori*. Kao posljednji u zdravstvenom timu koji skrbi o pacijentu, u prilici je savjetovati ih o ispravnoj primjeni lijekova, poticati adherenciju i ustrajnost u terapiji, ali i savjetovati o provođenju nefarmakoloških mjera.

Bez obzira na sastav eradikacijskog terapijskog režima propisanog od strane liječnika-specijalista, od velike je važnosti za uspješnost takvog postupka pridržavati se uputa o načinu primjene propisanih lijekova uz naglašavanje opasnosti samoinicijativnog prekida uzimanja lijekova.

Neželjeni učinci agresivne eradikacijske terapije su brojni i individualno različitog intenziteta te mogu narušiti suradljivost pacijenata, a time i ugroziti uspješnost liječenja što dugoročno može doprinijeti razvoju rezistencije s jedne strane, odnosno dovesti do neželjenih komplikacija zdravstvenog statusa samog pacijenta.

Stoga je obaveza magistra farmacije, između ostalih, upozoravati na moguće nuspojave liječenja, ali i savjetovati o načinima njihova sprječavanja, odnosno lakšeg podnošenja.

5. ZAKLJUČCI

- ✓ Infekcija s *Helicobacter pylori* jedna je od najčešćih infekcija u ljudi, a povezana je s razvojem kroničnog gastritisa, želučanog karcinoma, želučanog i duodenalnog ulkusa, MALT-limfoma te s nekim ekstragastričnim manifestacijama.

- ✓ Rezultati pokazuju da niti jedno kliničko ispitivanje nije pokazalo 100%-tnu eradikacijsku uspješnost, a novije studije pokazuju značajan pad djelotvornosti dosada standardne terapije koja je uključivala inhibitor protonske pumpe i dva antibiotika iz različite kemijske skupine.

- ✓ Današnje smjernice za eradikaciju ističu da terapijski protokol mora biti jednostavan, jeftin i dobro podnošljiv.

- ✓ Antibiotska rezistencija *H. pylori* prema različitim antibioticima u svijetu je u stalnom porastu. Terapijski neuspjesi proporcionalno koreliraju s antibiotskom rezistencijom. Ovaj fenomen je široko istražen, no podaci su kontradiktorni čak u istoj zemlji.

- ✓ Uspješnost eradikacijske terapije uvelike ovisi o geografskom području inficirane populacije. Potrebno je stalno praćenje antibiotske rezistencije *H. pylori*.

- ✓ Rezistencija na klaritromicin vodi se kao najčešći uzrok neuspjeha eradikacije *H. pylori*, u stalnom je porastu i kreće se oko 10% u Europi.

- ✓ Alternativni režimi liječenja (primjerice sekvencijska i četverostruka terapija) pokazali su se neuspješnima u regijama s visokom antibiotskom rezistencijom.

- ✓ Opće smjernice ne mogu ukazivati na idealnu terapiju, one bi trebale postati nacionalne smjernice za svaku pojedinu državu ili neko manje geografsko područje.

- ✓ S razvojem neinvazivnih i brzih testova osjetljivosti bakterije na različite antibiotike, prvenstveno na klaritromicin i levofloksacin, bit će lakše odrediti individualno-prilagođene terapijske režime od kojih možemo očekivati eradikacijske rezultate oko 95%.
- ✓ Uloga probiotika kao alternativnog pristupa povećanja eradikacije i smanjivanja nuspojava trojne terapije je nepoznata, ali postoje dokazi o povećanju uspješnosti eradikacije infekcije *H. pylori*.

- ✓ Učinkovito cjepivo uklonilo bi nekoliko postojećih problema i poboljšalo život budućih naraštaja. Cjepiva bi trebala biti najučinkovitija ako se primjene tijekom prvih nekoliko mjeseci infekcije nakon rođenja, kada najčešće dolazi do infekcije s *H. pylori*.
- ✓ Kao posljednji u zdravstvenom timu koji skrbi o pacijentu, magistar farmacije je u prilici savjetovati pacijente o ispravnoj primjeni lijekova, poticati adherenciju i ustrajnost u terapiji, kao i savjetovati o provođenju nefarmakoloških mjera.

6. LITERATURA

1. Babuš V, Presečki V, Katičić M, Balija M. Rasprostranjenost infekcije s *Helicobacter pylori* u odrasloj populaciji Hrvatske. *Liječ vjes*, 1997, 119:139-142.
2. Boyanova L i Mitov I. Geographic map and evolution of primary *Helicobacter pylori* resistance to antibacterial agents. *Expert Rev Anti Infect Ther,* 2010, 8(1):59-70.
3. Brown LM. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev.,* 2000, 22(2):283-97.
4. Chuah SK, Tsay FW, Hsu PI, Wu DC. A new look at anti-Helicobacter pylori therapy. *World J Gastroentero*, 2011, 17(35):3971-5.
5. Cuadrado-Lavín A, Salcines-Caviedes JR, Carrascosa MF, Dierssen-Sotos T, Cobo M, Campos MR, Ayestarán B, Fernández-Pousa A, González-Colominas E, Aresti-Zárate S, Hernández M, Pascual EL. Levofloxacin versus clarithromycin in a 10 day triple therapy regimen for first-line *Helicobacter pylori* eradication: a single-blind randomized clinical trial. *J Antimicrob Chemoth*, 2012, 67(9):2254-9.
6. De Francesco V, Giorgio F, Hassan C, Manes G, Vannella L, Panella C, Ierardi E, Zullo A. Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: a systematic review. *J Gastrointestin Liver Dis*, 2010, 19(4):409-14.
7. Federico A, Gerarda Gravina A, Miranda A, Loguercio C, Romano M. Eradication of *Helicobacter pylori* infection: Which regimen first? *World J Gastroenterol*, 2014, 20(3): 665-672.
8. Gisbert JP, Calvet X, O'Connor A, Megraud F, O'Morain CA. Sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a critical review. *J Clin Gastroenterol*, 2010, 44: 313-325.
9. Graham DY, Fischbach L. *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance. *Gut*, 2010, 59: 1143-1153.
10. Graham DY, Lu H, Yamaoka Y. Therapy for *Helicobacter pylori* infection can be improved: sequential therapy and beyond. *Drugs*, 2008, 68: 725-736.
11. Hsu PI, Wu DC, Wu JY, Graham DY. Is there a benefit to extending the duration of *Helicobacter pylori* sequential therapy to 14 days? *Helicobacter,* 2011, 16: 146-152.
12. Hussain SA, Hamid S. *Helicobacter pylori* in humans: Where are we now? *Adv Biomed Res,* 2014, 3: 63.
13. Ierardi E, Giorgio F, Losurdo G, Di Leo A, Principi A. How antibiotic resistances could change *Helicobacter pylori* treatment: A matter of geography? *World J Gastroenterol*, 2013, 19(45): 8168–8180.

14. Kalenić S, Plečko V, Presečki V, Katičić M, Dominis M. *Helicobacter pylori* - bakteriološke značajke. *Liječ Vjesn,* 2002, 124 Suppl1: 10-13.
15. Katičić M. Peptička ulkusna bolest. 2006, Medicus 15: 39-52.
16. Katičić M, Duvnjak M, Filipec Kanižaj T, Krznarij Ž, Marušić M, Mihaljević S, Plečko S, Plečko V, Pulanij R, Šimunić M, Tonkić A. Hrvatski postupnik za dijagnostiku i terapiju infekcije *Helicobacterom pylori. Liječ Vjesn,* 2014, 136:1–17
17. Katičić M, Presečki V, Kalenić S, Dominis M. *Helicobacter pylori* - uvod i pregled istraživanja. *Liječ Vjesn,* 2002, 124 Suppl1: 1-5.
18. Katičić M, Presečki V, Kalenić S, Dominis M, Filipec T, Papa B. Dijagnostika infekcije *H. pylori*. *Liječ Vjesn*, 2002, 124 Suppl 1:16-20.
19. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Basic & Clinical Pharmacology, New York, Mc Graw-Hill, 2012, str. 1085-1095.
20. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev,* 2006, 19(3): 449-90.
21. Liou JM, Chen CC, Chen MJ, Chang CY, Fang YJ, Lee JY, Hsu SJ, Luo JC, Chang WH, Hsu YC, Tseng CH, Tseng PH, Wang HP, Yang UC, Shun CT, Lin JT, Lee YC, Wu MS. Sequentional versus triple therapy for the first-line treatment of *Helicobacter pylori. Lancet,* 2013, 381:206-213.
22. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, el-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N, Kuipers E J. The European Helicobacter Study Group (EHSG) Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut,* 2007, 56:772-781.
23. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. Managment of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht IV/Florence Consensus Report. *Gut,* 2012, 61: 646-664.
24. Marin AC, McNicholl AG, Gisbert JP. A review of rescue regimens after clarithromycin-containing triple therapy failure (for *Helicobacter pylori* eradication), *Expert Opin Pharmacother,* 2013, 14(7):843-61.
25. Megraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut,* 2004, 53: 1374-1384.
26. Metode molekularne biologije, 2014, http://moodle.srce.hr/2014-2015/mod/resource/view.php?id=92502, pristupljeno 14.04.2015.

27. Metode molekularne biologije, 2014, http://moodle.srce.hr/2014-2015/mod/resource/view.php?id=92502, pristupljeno 14.04.2015.
28. Mikrobiološka dijagnostika, 2015, http://moodle.srce.hr/2014-2015/course/view.php?id=5106, pristupljeno). 14.04.2015.
29. Mikrobiološka dijagnostika, 2015, http://moodle.srce.hr/2014-2015/course/view.php?id=5106, pristupljeno 14.04.2015.
30. Molekularne metode u patologiji, 2014, http://www.medri.uniri.hr/katedre/Patologija/medicina/Patologija/skripte/Molekularne%20metode%20u%20patologiji%202009%20SKRIPTA%20PROF.pdf, pristupljeno 14.04.2015.
31. Müller A, Solnick JV. Inflammation, immunity, and vaccine development for *Helicobacter pylori*. *Helicobacter,* 2011, 16 Suppl 1:26-32.
32. Nijevitch AA, Idrisov B, Akhmadeeva EN, Graham DY. Choosing optimal first-line *Helicobacter pylori* therapy: a view from a region with high rates of antibiotic resistance. *Curr Pharm Des*, 2014, 20(28):4510-6.
33. Presečki V, Katičić M, Marušić M, Kalenić S i sur. Seroprevalencija infekcije *Helicobacterom pylori* u zdravstvenih djelatnika triju zagrebačkih bolnica. *Liječ Vjesn*, 1997, 119:219-223.
34. Rimbara E, Fischbach LA, Graham DY. Optimal therapy for *Helicobacter pylori* infections. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 8: 79-88.
35. Sažetak opisa svojstava lijeka, 2012, http://www.almp.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-12-01-273.pdf, pristupljeno 14.04.2015.
36. Sažetak opisa svojstava lijeka, 2012, http://www.almp.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-12-01-273.pdf, pristupljeno 14.04.2015.
37. Sažetak opisa svojstava lijeka, 2014, http://www.halmed.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-10-01-552.pdf, pristupljeno 14.04.2015.
38. Sažetak opisa svojstava lijeka, 2010, http://www.almp.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-09-02-414.pdf, pristupljeno 14.04.2015.
39. Sažetak opisa svojstava lijeka, 2014, http://www.almp.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-08-01-354.pdf, pristupljeno 14.04.2015.
40. Sažetak opisa svojstava lijeka, 2012, http://www.almp.hr/upl/lijekovi/SPC/UP-I-530-09-12-02-225.pdf, pristupljeno 14.04.2015.
41. Shiota S, Yamaoka Y. Strategy for the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Curr Pharm Des, 2014, 20(28):4489-500.*

42. Strnad M, Presečki V, Babuš V, Turek S, Dominis M, Kalenić S, Hebrang A, Katičić M. Epidemiologija infekcije *Helicobacterom pylori. Liječ Vjesn,* 2002, 124 Suppl1:5-9.
43. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*., 2002, 347:1175-1186.
44. Suzuki H, Hibi T, Marshall BJ. *Helicobacter pylori*: present status and future prospects in Japan. *J Gastroenterol,* 2007, 42(1):1-15.
45. Tonkić M, Tonkić A, Goić-Barišić I, Jukić I, Simunić M, Punda-Polić V. Primary resistance and antibiotic minimum inhibitory concentrations for *Helicobacter pylori* strains, in Split, Croatia. *J Chemother,* 2006, 18(4):437-9.
46. Vaira D, Zullo A, Vakil N, et al. Sequential therapy versus standard triple-drug therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a randomized trial. *Ann Intern Med,* 2007, 146: 556-563.
47. Yaxley J, Chakravarty B. *Helicobacter pylori* eradication - an update on the latest therapies. *Aust Fam Physician,* 2014, 43(5):301-5.

7. SAŽETAK

Sara Nikić

UTJECAJ ANTIBIOTSKE REZISTENCIJE *HELICOBACTER PYLORI* NA POSTOJEĆE ERADIKACIJSKE METODE

Procjenjuje se da je s *H. pylori* inficirano oko 50% odrasle populacije u razvijenim zemljama i 80-90% u zemljama u razvoju. Zbog ograničenog uspjeha eradikacijske terapije i porasta rezistentnih sojeva *H. pylori* na antibiotske komponente dosadašnjih terapijskih protokola, traže se novi pristupi u liječenju i novi djelotvorniji lijekovi.

Prevalencija *H. pylori* rezistencije na eradikacijske postupke različita je u različitim dijelovima svijeta. Najveći problem predstavlja rezistencija bakterije na klaritromicin, standardni antibiotik u prvoj liniji liječenja, što dovodi do modifikacija terapijskih shema uvođenjem drugih antibiotika. No, ni to se nije pokazalo dugoročno uspješnim zbog brzog razvoja rezistencije koji se značajno razlikuju prema geografskim područjima.

S razvojem neinvazivnih i brzih testova osjetljivosti bakterije na različite antibiotike, prvenstveno na klaritromicin i levofloksacin, bit će lakše odrediti individualno-prilagođene terapijske režime od kojih možemo očekivati željene eradikacijske rezultate oko 95%. Može se pretpostaviti da će i probiotici, kada se dodaju eradikacijskoj terapiji za *H. pylori*, imati povoljan učinak na organizam domaćina promjenom sastava crijevne mikroflore, čime mogu utjecati na sniženje učestalosti nuspojava i omogućiti bolje podnošenje terapije i bolju suradljivost bolesnika. Također, cjepivo protiv *H. pylori* pokazuje veliki potencijal te bi trebalo biti najučinkovitije ako se primjeni tijekom prvih nekoliko mjeseci nakon rođenja, kada najčešće dolazi do infekcije s *H. pylori*. Idealno cjepivo ne samo da mora imati dobru sigurnost i učinkovitost, već bi trebao biti relativno jeftino, dati dugoročnu imunost uz minimalne doze ponavljanja.

SUMMARY

Sara Nikić

IMPACT OF ANTIBIOTIC RESISTANCE ON EXISTING *HELICOBACTER PYLORI* ERADICATION METHODS

It is estimated that there are about 50% *H. pylori* infected adults in developed countries and 80-90% of adults in developing countries. Due to the limited success of eradication therapies and the increasing number of resistant strains of *H. pylori* to antibiotic components of current treatment protocols, new therapy approaches and new effective drugs are required.

The prevalence of *H. pylori* resistance to eradication procedures is different, in different parts of the world. The biggest problem is the bacterial resistance to clarithromycin, the antibiotic included in standard first-line therapy, which lead to modifications of the therapeutic shemes by adding other antibiotics in therapy. However, that hasn't been successful in the long-term meaning, beacuse of the rapid resistance development which differ significantly according to geographical areas.

With the development of non-invasive and rapid sensitivity tests, primarily *H. pylori* sensitivity to clarithromycin and levofloxacin, it will be easier to determine individually-tailored regimes of which we can expect eradication rates of <95%. It can also be assumed that with probiotics, added to *H. pylori* eradication therapy, there will be beneficial effect on the host by changing the composition of intestinal microflora, which may cause the reduction in the side effects frequency, enable better submission therapy and better compliance. Also, the vaccine against *H. pylori* shows great potential and should be most effective if applied during the first few months of infection (after birth) – which is the period with most potential *H. pylori* infection. Ideally, the vaccine must not only have a good safety and efficiency, but should be relatively cheap and give the long-term immunity with minimal doses and repetition.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za farmakologiju
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

UTJECAJ ANTIBIOTSKE REZISTENCIJE *HELICOBACTER PYLORI* NA POSTOJEĆE ERADIKACIJSKE METODE

Sara Nikić

SAŽETAK

Procjenjuje se da je s *H. pylori* inficirano oko 50% odrasle populacije u razvijenim zemljama i 80-90% u zemljama u razvoju. Zbog ograničenog uspjeha eradikacijske terapije i porasta rezistentnih sojeva *H. pylori* na antibiotske komponente dosadašnjih terapijskih protokola, traže se novi pristupi u liječenju i novi djelotvorniji lijekovi.

Prevalencija *H. pylori* rezistencije na eradikacijske postupke različita je u različitim dijelovima svijeta. Najveći problem predstavlja rezistencija bakterije na klaritromicin, standardni antibiotik u prvoj liniji liječenja, što dovodi do modifikacija terapijskih shema uvođenjem drugih antibiotika. No, ni to se nije pokazalo dugoročno uspješnim zbog brzog razvoja rezistencije koji se značajno razlikuju prema geografskim područjima.

S razvojem neinvazivnih i brzih testova osjetljivosti bakterije na različite antibiotike, prvenstveno na klaritromicin i levofloksacin, bit će lakše odrediti individualno-prilagođene terapijske režime od kojih možemo očekivati željene eradikacijske rezultate oko 95%. Može se pretpostaviti da će i probiotici, kada se dodaju eradikacijskoj terapiji za *H. pylori,* imati povoljan učinak na organizam domaćina promjenom sastava crijevne mikroflore, čime mogu utjecati na sniženje učestalosti nuspojava i omogućiti bolje podnošenje terapije i bolju suradljivost bolesnika. Također, cjepivo protiv *H. pylori* pokazuje veliki potencijal te bi trebalo biti najučinkovitije ako se primjeni tijekom prvih nekoliko mjeseci nakon rođenja, kada najčešće dolazi do infekcije s *H. pylori*. Idealno cjepivo ne samo da mora imati dobru sigurnost i učinkovitost, već bi trebao biti relativno jeftino, dati dugoročnu imunost uz minimalne doze ponavljanja.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 55 stranica, 15 grafičkih prikaza, 3 tablice i 47 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: *H. pylori*, eradikacija, rezistencija, antibiotici, rezistentni sojevi, terapija, klaritromicin, amoksicilin, metronidazol, IPP, tetraciklini

Mentor: **Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Sandra Šupraha Goreta, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Erim Bešić, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: travanj 2015.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Pharmacology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

IMPACT OF ANTIBIOTIC RESISTANCE ON EXISTING *HELICOBACTER PYLORI* ERADICATION METHODS

Sara Nikić

SUMMARY

It is estimated that there are about 50% *H. pylori* infected adults in developed countries and 80-90% of adults in developing countries. Due to the limited success of eradication therapies and the increasing number of resistant strains of *H. pylori* to antibiotic components of current treatment protocols, new therapy approaches and new effective drugs are required.

The prevalence of *H. pylori* resistance to eradication procedures is different, in different parts of the world. The biggest problem is the bacterial resistance to clarithromycin, the antibiotic included in standard first-line therapy, which lead to modifications of the therapeutic shemes by adding other antibiotics in therapy. However, that hasn't been successful in the long-term meaning, beacuse of the rapid resistance development which differ significantly according to geographical areas.

With the development of non-invasive and rapid sensitivity tests, primarily *H. pylori* sensitivity to clarithromycin and levofloxacin, it will be easier to determine individually-tailored regimes of which we can expect eradication rates of <95%. It can also be assumed that with probiotics, added to *H. pylori* eradication therapy, there will be beneficial effect on the host by changing the composition of intestinal microflora, which may cause the reduction in the side effects frequency, enable better submission therapy and better compliance. Also, the vaccine against *H. pylori* shows great potential and should be most effective if applied during the first few months of infection (after birth) – which is the period with most potential *H. pylori* infection. Ideally, the vaccine must not only have a good safety and efficiency, but should be relatively cheap and give the long-term immunity with minimal doses and repetition.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 55 pages, 15 figures, 3 table and 47 references. Original is in Croatian language.

Keywords: *H. pylori*, eradication, resistance, antibiotics, resistant strains, therapy, clarithromycin, amoxicilin, metronidazole, PPI, tetracycline

Mentor: **Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Sandra Šupraha Goreta, Ph.D. *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Erim Bešić, Ph.D. *Assistant Proffesor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: April 2015.