

# Antimikrobna osjetljivost sojeva *Helicobacter pylori*

---

Strinić, Jelena

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:912598>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-30**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Jelena Strinić**

**Antimikrobna osjetljivost sojeva**

***Helicobacter pylori***

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2022.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Mirjane Balen Topić, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

## POPIS KRATICA

BMI – indeks tjelesne mase (od engl. *body mass index*)

CagA – gen A povezan s citotoksinom (od engl. *cytotoxin associated antigen A*)

cag PAI – otok patogenosti cag (od engl. *cag pathogenicity island*)

dup A – gen promotor duodenalnog ulkusa (od engl. *duodenal ulcer promoting gene A*)

EGDS – ezofagogastroduodenoskopski pregled

GERB – gastroezofagealna refluksna bolest

EV – izvanstanični mjehurići (od engl. *extracellular vesicles*)

HPI – infekcija bakterijom *Helicobacter pylori*

IARC – Međunarodna agencija za istraživanje raka

Insuff. LES – insuficijencija donjeg sfinktera jednjaka

IPP – inhibitor protonske pumpe

ITP – idiopatska trombocitopenična purpura

MALT-limfom – limfom limfnog tkiva mukoze (od engl. *mucosa-associated lymphoid tissue*)

NSAID – nesteroidni protuupalni lijekovi (od engl. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*)

Oip A – vanjski upalni protein A (od engl. *outer inflammatory protein A*)

OMP – proteini vanjske membrane (od engl. *outer membrane protein*)

OMV – vezikule vanjske membrane (od engl. *outer membrane vesicles*)

PBP – proteini koji vežu penicilin

PCR – lančana reakcija polimerazom (od engl. *polymerase chain reaction*)

RH – Republika Hrvatska

rRNA – ribosomska RNA

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija

UBT – urea izdisajni test (od engl. *urea breath test*)

VacA – protein vakuolirajući citotoksin A (od engl. *vacuolating cytotoxin A*)

vs. – naspram (od lat. *versus*)

# SADRŽAJ

1. SAŽETAK .....	1
2. SUMMARY .....	2
3. UVOD .....	3
3.1. OSOBINE UZROČNIKA .....	6
3.1.1. Klasifikacija uzročnika .....	6
3.1.2. Građa i čimbenici virulencije.....	6
3.1.3. Patogeneza .....	8
3.1.4. Imunosni odgovor domaćina .....	9
3.2. KLINIČKE MANIFESTACIJE.....	10
3.2.1. Patologija želuca .....	10
3.2.2. Ekstragastrične bolesti .....	13
3.3. DIJAGNOZA INFEKCIJE.....	14
3.4. LIJEČENJE INFEKCIJE .....	15
3.5. ANTIMIKROBNA OSJETLJIVOST .....	17
3.5.1. Mehanizmi antimikrobne rezistencije na amoksisilin .....	18
3.5.2. Mehanizmi antimikrobne rezistencije na klaritromicin .....	19
3.5.3. Mehanizmi antimikrobne rezistencije na metronidazol .....	19
3.5.4. Mehanizmi antimikrobne rezistencije na tetraciklin .....	20
3.5.5. Mehanizmi antimikrobne rezistencije na levofloksacin .....	20
4. HIPOTEZE.....	22
5. CILJEVI .....	23
6. ISPITANICI I METODE.....	24
6.1. ISPITANICI.....	24
6.2. METODE .....	24
6.2.1. Prikupljanje podataka.....	24

6.2.2. Mikrobiološka analiza .....	25
6.2.3. Statistička analiza .....	26
7. REZULTATI .....	27
8. RASPRAVA .....	37
9. ZAKLJUČAK .....	42
10. LITERATURA .....	43
11. ZAHVALA .....	51
12. ŽIVOTOPIS .....	52

# 1. SAŽETAK

Naslov rada: Antimikrobna osjetljivost sojeva *Helicobacter pylori*

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infekcija je jedna od najčešćih infekcija u čovjeka. Zbog sve većeg udjela sojeva *H. pylori* rezistentnih na antimikrobne lijekove i ograničenog uspjeha empirijskih antimikrobnih eradikacijskih terapija, potrebno je poznavati profil antimikrobne osjetljivosti lokalnih sojeva kako bi se optimiziralo liječenje. Primarni cilj ovog istraživanja je utvrđivanje primarne i sekundarne osjetljivosti sojeva *H. pylori* u promatranih bolesnika na amoksisilin, metronidazol, klaritromicin, tetraciklin i levofloksacin. Sekundarni ciljevi su utvrđivanje kretanja stope rezistencije *H. pylori* na promatrane antibiotike u odnosu na broj prethodno provedenih kombiniranih helikocidnih terapija i analiza odnosa osnovnih demografskih, epidemioloških i kliničkih obilježja te prisutnosti *H. pylori* infekcije. Ova retrospektivna deskriptivna studija je provedena u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ u razdoblju od 04/2019. do 11/2021. Uključeni su odrasli bolesnici kojima je u biopsatu želučane sluznice nakon ezofagogastroduodenoskopije (EGDS), metodom mikroskopiranja, ureaza testa, ili kultivacijom dokazan *H. pylori*. Osjetljivost sojeva je testirana gradijent testom. Demografski i epidemiološki podatci prikupljeni su od pacijenata putem upitnika prije uzimanja uzoraka želučane sluznice. Učinjeno je 668 EGDS, prosječna dob pacijenata je bila 50 godina (medijan: 51 godina) te su među njima prevladavale žene (63%). Od 341 *H. pylori* pozitivnih pacijenta kultivacija je uspjela u njih 124, od toga je bilo 98 (79,03%) primarnih i 26 (20,97%) sekundarnih izolata. Ukupna rezistencija na klaritromicin je bila 16,1% (primarna 13,3%), na metronidazol 47,6% (primarna 40,8%) i na levofloksacin 4,0% (primarna 4,1%), a nije nađena rezistencija na amoksisilin ni tetraciklin. Zabilježena su 4 slučaja dvojne rezistencije na metronidazol i levofloksacin (3,3%) i 14 slučajeva dvojne rezistencije na metronidazol i klaritromicin (11,3%). Zabilježeno je značajno povećanje udjela sojeva rezistentnih na klaritromicin i metronidazol s povećanjem broja prethodno provedenih helikocidnih terapija (redom  $p=0,034$ ,  $p=0,009$ ). Možemo zaključiti da u promatranoj populaciji prije provođenja prve empirijske helikocidne terapije nije potrebno testiranje osjetljivosti sojeva *H. pylori* na klaritromicin, a zbog utvrđene visoke primarne rezistencije na metronidazol preporučljivo je duže korištenje metronidazola u većim dozama u prvoj kuri helikocidne terapije ili dodavanje preparata bizmuta.

Ključne riječi: *Helicobacter pylori*, klaritromicin, metronidazol, levofloksacin, rezistencija

## 2. SUMMARY

Title: Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* strains

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection is one of the most common infections in humans. Due to the increasing proportion of *H. pylori* strains resistant to antimicrobial drugs and the limited success of empirical antimicrobial eradication therapies, it is necessary to know the antimicrobial susceptibility profile of local strains in order to optimize treatment. The primary objective of this study was to determine the primary and secondary susceptibility of *H. pylori* strains in the observed patients to amoxicillin, metronidazole, clarithromycin, tetracycline, and levofloxacin. Secondary objectives are to determine the rate of resistance of *H. pylori* to the observed antibiotics in relation to the number of previously conducted combination helicoidal therapies and to analyze the relationship between basic demographic, epidemiological, and clinical characteristics and the presence of *H. pylori* infection. This retrospective descriptive study was conducted at the Clinic for Infectious Diseases "Dr. Fran Mihaljević" in the period from 04/2019 to 11/2021. Adult patients who underwent gastric mucosal biopsy after esophagogastroduodenoscopy (EGDS), microscopy, urease test, or culturing of *H. pylori* were included. The susceptibility of the strains was tested by a gradient test. Demographic and epidemiological data were collected from patients through a questionnaire before gastric mucosal sampling. 668 EGDS were performed, the average age of patients was 50 years (median: 51 years) and women predominated among them (63%). In 341 *H. pylori*-positive patients, cultivation was successful in 124, of which 98 (79,03%) were primary and 26 (20,97%) secondary isolates. Total resistance to clarithromycin was 16.1% (primary 13,3%), to metronidazole 47,6% (primary 40,8%), to levofloxacin 4,0% (primary 4,1%), and no resistance was found of amoxicillin and tetracycline. There were 4 cases of dual resistance to metronidazole and levofloxacin (3,3%) and 14 cases of dual resistance to metronidazole and clarithromycin (11,3%). There was a significant increase in the proportion of strains resistant to clarithromycin and metronidazole with an increase in the number of previously conducted helicoidal therapies ( $p = 0,034$ ,  $p = 0,009$  respectively). We can conclude that in the observed population, susceptibility testing of *H. pylori* strains to clarithromycin is not required before the first empirical helicoidal therapy and due to the established high primary resistance to metronidazole, it is recommended to use metronidazole in higher doses for a longer time in the first course of helicoidal therapy or to add bismuth preparations.

Key words: *Helicobacter pylori*, clarithromycin, metronidazole, levofloxacin, resistance



### 3. UVOD

Bakterija *H. pylori* je Gram-negativni, spiralni, mikroaerofilni patogen koji kolonizira gastroduodenalnu sluznicu ljudi i uzrokuje kroničnu upalu kod zaraženog pojedinca (1). Iako joj je gastroduodenalna sluznica osnovno prebivalište, bakteriju također možemo naći u slini, zubnom plaku i stolici (2). Infekcija se prenosi s čovjeka na čovjeka oralno-oralnim ili feko-oralnim putem (3).

*H. pylori* ima više čimbenika virulencije među kojima je VacA protein (vakuolizirajući citotoksin A, od engl. *vacuolating cytotoxin A*) najvažniji u indukciji bolesti. Ako je uz njega pozitivan i čimbenik virulencije CagA (gen A povezan s citotoksinom), razvit će se teži oblici bolesti kao što su atrofični gastritis, karcinom želuca, MALT- limfom (od engl. *mucosa-associated lymphoid tissue*) i peptički ulkus. Razvoju bolesti pridonosi i mogućnost induciranja i sustavnog i sluzničnog humoralnog odgovora, koji doprinose oštećenju tkiva (4). Većina zaraženih nema simptoma, međutim, 10 – 20% pojedinaca kasnije razvije kliničke bolesti i to najčešće peptički ulkus, asimptomatski kronični gastritis i kroničnu dispepsiju (5), dok u 1 – 3% može doći do progresije u karcinom želuca s niskim petogodišnjim preživljavanjem, a u 0,1% slučajeva razvije se MALT-limfom (6).

Infekcija bakterijom *Helicobacter pylori* (HPI) smatra se najraširenijom infekcijom na svijetu u ljudi s procjenama da zahvaća približno polovicu svjetske populacije. Prevalencija znatno varira među različitim populacijama širom svijeta i ovisi o dobi i socioekonomskom razvoju, tako da je ukupna prevalencija u zemljama u razvoju 70 – 80%, a područja s najnižom prevalencijom su Oceanija (24,4%), Zapadna Europa (34,3%) i Sjeverna Amerika (37,1%) (7). Brojne studije potvrđuju progresivan pad incidencije širom svijeta, a osobito u razvijenim zemljama i kod djece (8). Međutim, prevalencija je veća kod pojedinih etničkih manjina i kod migranata (9,10). HPI je naročito proširena u zemljama u razvoju, a osobito u afričkim zemljama gdje, za razliku od 50% populacije razvijenih zemalja, prevalencija doseže 80% ili više odrasle populacije (11). U Republici Hrvatskoj (RH) prema dosad objavljenim istraživanjima postoje razlike u prevalenciji infekcije između priobalnog područja i sjevernih, kontinentalnih područja gdje je osim prevalencije infekcije i stopa raka želuca viša. Istraživanjem raširenosti HPI provedenim među pučanstvom Hrvatske dobi 20 do 70 godina 1997. godine, na tri područja: centralnom, sjevernom i južnom dijelu zemlje dobivena je prosječna stopa seroprevalencije u Hrvatskoj koja je iznosila 60,4%. Ustanovljeno je i da stope zaraze rastu s dobi i iznosile su od 51,6% u trećem desetljeću života do gotovo 70% u šestom desetljeću. Također, istraživanjem je ukazano da raširenost zaraze nije bila jednaka na svim istraživanim područjima Hrvatske pa dok je prevalencija HPI bila gotovo identična na

centralnom području i u općinama sjevernog dijela zemlje (58,4% odnosno 59,5%), na jugu zemlje je bila statistički značajno različita (71,3%). Standardizirane stope HPI upućivale su na nejednaku raširenost zaraze ovim uzročnikom u Hrvatskoj, a iznosile su: u centralnom dijelu 59%, na sjeveru 61% te na jugu 71% (12). Istraživanjem seroprevalencije koje su proveli Marušić i suradnici 2008. pokazala se zastupljenost HPI u 64% donora krvi iz Zagreba, a u pacijenata s dispepsijom i do 92% (13). Istraživanje seroprevalencije HPI među bolesnicima hospitaliziranim na traumatološkim odjelima pet hrvatskih bolnica iz četiri regije (Zagreb, Split, Osijek i Rijeka) u razdoblju od 2016. do 2018. godine u osoba bez znakova peptične ili druge kronične bolesti pokazalo je prevalenciju 46%, s tim da stopa raste s nižim socioekonomskim statusom, nižom stopom obrazovanja i s porastom dobi pacijenata (14).

Iako je prevalencija HPI u padu, stopa neuspjeha eradikacije dramatično je porasla u mnogim zemljama zbog rezistencije na antibiotike, kojoj doprinose primarna rezistencija na antibiotike, polimorfizmi gena domaćina i uzročnika, ali i neprimjereno liječenje (15). Osobito su alarmantne stope rezistencije na klaritromicin i metronidazol, iako postoje varijacije između populacija, dok su rezistencije na amoksisilin i tetracikline niske u većini zemalja (16), a otpornost na fluorokinolone ovisi o njihovoj primjeni i znatno varira u različitim regijama, s tim da se u Europi bilježi porast rezistencije (17). Stopa eradikacije trostrukom antibiotskom terapijom je trenutno niža od 80% u većem dijelu svijeta, a s obzirom da je antibiotska rezistencija glavni uzrok terapijskog neuspjeha, standardna trojna terapija (amoksisilin, metronidazol ili tinidazol te klaritromicin uz inhibitor protonske pumpe [IPP]) više nije prikladna kao prva linija terapije u većini regija (18).

Dosadašnji podatci o rezistenciji na antibiotike u RH pokazuju nepostojanje rezistencije na tetraciklin, a i na amoksisilin, osim u istraživanju iz 2018. na području Primorsko-goranske županije gdje je ukupna rezistencija na amoksisilin iznosila 0,8% (19). Levofloksacin je u RH uveden u uporabu tek 2010. i nađena je ukupna rezistencija od 13% na području Primorsko-goranske županije 2018., a prethodno je godine 2012. nađena primarna rezistencija od 4,6% (19,20). Rezistencije na klaritromicin i metronidazol razlikuju se ovisno o području na kojem su testirane. Ukupna rezistencija na klaritromicin iznosila je 21% godine 2005. i 20,4% 2006. u Splitu te čak 56% 2018. u Primorsko-goranskoj županiji, dok su istovremeno rezistencije na metronidazol bile redom 15,8%, 12,9% i 52% (19, 21, 22). Primarne rezistencije na makrolide i metronidazol su na sjeveru Hrvatske bilježile porast u razdoblju od 1994. do 2011. kada su redom dostigle vrijednosti 10,2% i 29,9% (23), dok su iste godine u Splitu iznosile 20% i 10,2% (20).

Stope rezistencije općenito su u porastu, a visoke stope rezistencije na klaritromicin (>15%) bilježe se u mnogim dijelovima svijeta. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) je

nedavno proglasila HPI sojevima otpornim na klaritromicin visokim prioritetom za istraživanje i razvoj otpornosti na antibiotike (24). Štoviše, konsenzusom iz Maastrichta preporučeno je provesti testove osjetljivosti na antibiotike u područjima s visokom rezistencijom, barem nakon prvog neuspjeha liječenja (25). Europski registar o liječenju HPI otkrio je da su četverostruka konkomitantna terapija i četverostruka terapija zasnovana na bizmutu učinkovitije od trostrukih kombinacija, iako je njihovo uvođenje u praksu dugotrajan proces, s velikim geografskim varijacijama (8). Zbog svega navedenog, potrebno je uložiti velike napore kako bi se našli novi pristupi u liječenju ove infekcije, ali i otkrili novi djelotvorniji lijekovi, a potencijalno i razvilo djelotvorno cjepivo protiv *H. pylori*.

U ovom istraživanju utvrđuju se primarna i sekundarna antimikrobna osjetljivost sojeva *H. pylori* u promatranih pacijenata na amoksisilin, metronidazol, klaritromicin, tetraciklin i levofloksacin. Također se ispituje kretanje stope rezistencije *H. pylori* na promatrane antibiotike u odnosu na broj prethodno provedenih kombiniranih helikocidnih terapija i analizira odnos osnovnih demografskih, epidemioloških i kliničkih obilježja te rezultata dijagnostičkih testova bioptata sluznice želuca na *H. pylori*. Unazad desetak godina u literaturi se nalazi malo studija o osjetljivosti *H. pylori* na pojedine antibiotike u RH, a ne nalazi se objava recentnih istraživanja u pacijenata zagrebačke regije. Stoga bi rezultati ove studije mogli utjecati na preciznije kreiranje regionalnih stručnih preporuka za prvu liniju empirijskog antimikrobnog liječenja HPI i time postizanje boljih ishoda liječenja.

## 3.1. OSOBINE UZROČNIKA

### 3.1.1. Klasifikacija uzročnika

Australski znanstvenici B. Marshall i R. Warren su 1983. godine prvi put uspješno izolirali i identificirali iz bioptata želučane sluznice spiralnu bakteriju koja raste sporo u inkubaciji i slični članovima roda *Campylobacter* pa se ispočetka smatralo da pripada tom rodu. Novo ime roda *Helicobacter* prvi je put objavljeno u listopadu 1989., a danas ga čini 19 vrsta, od kojih su *H. pylori* i *H. bizzozeronii* povezane sa želucem čovjeka (26).

Crijevnih organizmi *H. fennelliae* i *H. cinaedi* uzrokuju proljeve, a potonja može uzrokovati i bakterijemiju i celulitis, osobito kod imunokompromitiranih pacijenata. Postoje rezidencijalne vrste koje naseljavaju želudac i crijeva ljudi, ali za razliku od *H. pylori* nije poznato uzrokuju li bolest u imunokompetentnih osoba (27).

### 3.1.2. Građa i čimbenici virulencije

*Helicobacter pylori* je 0.5 – 1.0 µm široka i 2.5 – 4.0 µm duga Gram-negativna, mikroaerofilna bakterija spiralnog oblika. Izrazito je pokretna zahvaljujući višestrukim obloženim bičevima koji se nalaze na jednom polu stanice i omogućuju bakteriji kretanje poput vadičepa (28).

Iako ju u domaćinu nalazimo u spiralnom obliku, u starijim kulturama i nepovoljnim uvjetima, odnosno izvan domaćina, u stolici i u vodi poprima kokoidan oblik. Funkcionalna karakterizacija različitih oblika *H. pylori* ukazuje na višestruku ulogu oblika stanica tijekom kolonizacije površine sluznice (29).

Neka istraživanja pokazala su da ovaj mikroorganizam ima sposobnost stvaranja biofilma u okolišu, na epitelu želučane sluznice i *in vitro*. Biofilm je površinski povezana zajednica bakterija koje su ugrađene u hidratizirani matriks ekstracelularnih polimernih tvari. U takvoj zajednici mutacije koje uzrokuju otpornost na antibiotike su češće nego u pojedinačnih mikroorganizama, što predstavlja značajan zdravstveni rizik jer tako dolazi do mnogih kroničnih i rekurentnih infekcija. Relativno se malo zna o strukturi biofilma *H. pylori* ili genima povezanim s ovim načinom rasta, međutim preliminarni podatci sugeriraju da bakterija unutar biofilma može biti zaštićena i od antimikrobnih sredstava i od imunološkog sustava. (30,31).

Visoka stopa mutacija tipična za ovu vrstu odgovorna je za velike genetske varijacije među sojevima koje premašuju one uočene u svim drugim bakterijskim patogenima. Smatra se da adaptivna vrijednost takvog plastičnog genoma proizlazi iz brzog istraživanja pogodnosti okoline što rezultira brзом prilagodbom na promjenjive uvjete želučanog okoliša (32). Varijabilnost *H. pylori* povećava pribavljanje novih gena, odnosno većih dijelova DNA ili plazmida iz okoline u bakterijsku stanicu gdje se rekombiniraju s homolognim dijelovima DNA bakterije-domaćina (33).

Bakterija ima različite čimbenike virulencije, uključujući gen A povezan s citotoksinom (CagA, od engl. *cytotoxin associated antigen A*), vakuolirajući citotoksin A i različite proteine vanjske membrane (OMP, od engl. *outer membrane protein*) koji uzrokuju rak želuca različitim mehanizmima. Ovi čimbenici virulencije aktiviraju signalne putove stanice kao što su PI3-kinaza/Akt, JAK/STAT i Ras, Raf i ERK signalizacija koja kontrolira staničnu proliferaciju te nekontroliranom proliferacijom može doći do razvoja raka (34). Do danas su CagA i određene alelne varijante VacA najdosljednije povezane s teškom gastroduodenalnom bolešću i kod djece i kod odraslih, dok je uloga proteina vanjske membrane nešto nejasnija.

OMP su velika skupina proteina koji omogućuju trajnu kolonizaciju *H. pylori* pomoću specifičnih interakcija s receptorima domaćina. Procjenjuje se da otprilike 4% genoma *H. pylori* kodira OMP, što sugerira da su ti proteini od vitalne važnosti za životni ciklus bakterija. Vanjski upalni protein A (OipA, od engl. *outer inflammatory protein A*) kodiran je oipA genom i smatra se da njegova ekspresija ovisi o sustavu pogrešnog spajanja lanca. Utvrđeno je da je status OipA usko povezan s pozitivnošću CagA, iako je također povezan s prisutnošću drugih gena virulencije *H. pylori* (35).

Opsežno je proučavan CagA, važan čimbenik virulencije i jedini bakterijski onkoprotein. CagA se isporučuje u epitelne stanice želuca putem sekrecije tipa IV *H. pylori*. Nakon isporuke, CagA remeti višestruke signalne putove domaćina interakcijom sa signalnim molekulama domaćina, što rezultira citopatskim učincima i kasnijom transformacijom stanice. Neki pokusi na životinjama također pružaju *in vivo* dokaze o onkogenom kapacitetu CagA (36).

Gen promotor duodenalnog ulkusa (dupA, od engl. *duodenal ulcer promoting gene A*), koji se nalazi u području plastičnosti genoma *H. pylori*, povezuje se s razvojem gastroduodenalnih bolesti, međutim, ostaje nejasno djeluje li dupA kao čimbenik rizika ili kao zaštitni čimbenik kod ovih bolesti. U studiji de Lima Silva i sur. u zapadnom Brazilu analizom rizika je otkriveno da je za žene dupA-pozitivna HPI dvostruko povećala mogućnost razvoja gastritisa (37).

### 3.1.3. Patogeneza

Bakterija *H. pylori* je dobro prilagođena kolonizaciji epitelne površine ljudske želučane sluznice i može uzrokovati perzistentne infekcije. Njeno patogeno djelovanje dovodi do gastritisa, peptičkih ulkusa i povećanog rizika za razvoj raka želuca. Neki od čimbenika virulencije su proteini vanjske membrane (OMP) za adheziju, otok patogenosti *cag* (*cag* PAI, od engl. *cag pathogenicity island*), *VacA* i *DupA*. Međutim, patogenost *H. pylori* ovisi o sposobnosti preživljavanja u teškom želučanom okruženju koje karakterizira visoka kiselost (38). Kako bi zarazila želučanu sluznicu, bakterija mora preživjeti u kiselom pH želudca, u čemu joj pomažu dobro razvijeni složeni mehanizmi za neutralizaciju učinaka kiselog pH koji uključuju bakterijske čimbenike (proteini, enzimi, oblik i bičevi) i čimbenike okoliša (urea, sluz i kiselina). No, točan mehanizam djelovanja čimbenika uključenih u prilagodbu na kiselinu i dalje je nejasan i zahtijeva opsežno istraživanje kako bi se procijenila točna uloga svakog čimbenika u preživljavanju u kiselom okruženju (32).

Adhezija *H. pylori* na želučani epitel ključna je za patogenezu, omogućujući bakterijama pristup hranjivim tvarima i djelovanje faktora virulencije bakterija, promičući ponovnu pojavu infekcije i napredovanje želučane karcinogeneze (39). Pričvrščivanje na želučanu sluznicu prvi je korak u uspostavljanju kolonizacije bakterija, a proteini vanjske membrane (OMP) igraju ključnu ulogu u tom procesu uz različite adhezine i ciljne receptore. OMP ne samo da posreduju u adheziji između bakterija i epitelnih stanica želuca, već i surađuju s drugim čimbenicima virulencije kao što su *CagA* i *VacA* kako bi povećali oslobađanje upalnih čimbenika, što dovodi do različitih kliničkih ishoda. Mnoga istraživanja su pokazala da su OMP-ovi neophodni za translokaciju *CagA* u želučane stanice putem sustava izlučivanja tipa IV *H. pylori* (40). Bitnu ulogu u kolonizaciji želučane sluznice ima i esencijalna proteaza *HtrA* koja omogućava pristup *H. pylori* bazolateralnoj strani želučanog epitela cijepanjem proteina čvrstog spoja E-kadherina čime olakšava translokaciju *CagA* (41). Predloženi mehanizmi pomoću kojih funkcionalni *OipA* (npr. status *oipA* "uključen") potiču tešku želučanu patologiju nakon vezivanja bakterija na želučani epitel uključuju apoptozu stanica domaćina, otpuštanje toksina i indukciju upale povećanjem proizvodnje interleukina-8 (IL-8) (35).

Izvanstanični mjehurići (EV, od engl. *extracellular vesicles*) važni su u međustaničnoj komunikaciji jer igraju bitnu ulogu u interakcijama između domaćina i patogena. EV koje oslobađaju stanice domaćina zaražene *H. pylori* značajno pridonose upali i pritom potiču razvoj bolesti. *H. pylori* oslobađa vezikule vanjske membrane (OMV, od engl. *outer membrane vesicles*) koje doprinose atrofiji i transformaciji stanica u želučanom epitelu. Osim toga, tijekom infekcije bakterija oslobađa OMV koji nose faktore virulencije koji induciraju promjene u

epitelnim stanicama. Učinci *H. pylori*-OMV-a na imunološki sustav su kontradiktorni, jer potiču ili inhibiraju proliferaciju određenih imunoloških stanica i povećavaju proupalno i protuupalno oslobađanje citokina, ovisno o dozi. Općenito, EV stanice domaćina inficirane *H. pylori* i *H. pylori*-OMV mogu potaknuti stanične promjene koje imaju tendenciju pogodovati razvoju i/ili napredovanju raka želuca. Osim toga, *H. pylori*-OMV se razmatra za upotrebu u razvoju cjepiva protiv *H. pylori* i za sada pokazuju obećavajuće rezultate (42).

### 3.1.4. Imunosni odgovor domaćina

*H. pylori* postiže kroničnu kolonizaciju želuca dijelom zbog svoje sposobnosti ublažavanja imunološkog odgovora domaćina, ali unatoč tome izaziva snažan upalni odgovor. Odgovor domaćina na *H. pylori* pokreće se prepoznavanjem molekularnih obrazaca povezanih s patogenom, nakon čega slijedi aktivacija stanica adaptivnog imunološkog sustava.

Analiza biopsija i infiltrata želučane sluznice ljudi otkrila je da osobe koje su trajno inficirane s *H. pylori* pokazuju povećane razine imunoloških stanica u usporedbi s neinficiranim kontrolama. To uključuje T i B limfocite, monocite, mastocite, neutrofile, makrofage, eozinofile i dendritske stanice, s CD4+ T i B stanicama smještenim u limfoidnim folikulima, što ukazuje na kronični imunološki odgovor i prezentaciju antigena (43).

Sojevi *H. pylori* koji sadrže intaktni sustav sekrecije tipa IV kodiran cag PAI induciraju težu upalu, zahvaljujući unošenju čimbenika virulencije, kao što je CagA, i bakterijskih efektorskih molekula izravno u stanice domaćina. Međutim, cag PAI-negativni sojevi također su sposobni izazvati upalu (44).

Smatra se da su CD4+ T stanice ključne efektorske stanice u odgovoru na *H. pylori*, s opisanim ulogama za Th1, Th17 i regulatorne T stanice, inducirajući pretežno Th1 stanični odgovor (45). Uobičajeno obilježje HPI oslabljeni su odgovori T stanica što je djelomično posredovano čimbenicima virulencije. Pokazalo se da VacA inhibira prezentaciju antigena T stanicama, blokira proliferaciju T stanica i potiskuje Th1 funkciju, dok se navodi da *H. pylori*  $\gamma$ -glutamiltanspeptidaza inhibira proliferaciju T stanica (46).

*H. pylori* specifična serumska IgM protutijela mogu se otkriti u serumu pacijenta 4 tjedna nakon infekcije. U slučaju kronične infekcije, serumski IgA i IgG imunoglobulini su usmjereni na nekoliko bakterijskih antigena. Takva je upala asimptomatska u većine bolesnika pozitivnih na *H. pylori*, međutim povećava rizik od ulkusa dvanaesnika i želuca, kao i razvoj maligniteta želuca (47).

Dakle, *H. pylori* izaziva urođeni i adaptivni imunološki odgovor i pokreće kroničnu upalu, ali posjeduje i mehanizme za moduliranje odgovora domaćina u korist bakterijske perzistencije i dugotrajnog preživljavanja u želučanoj sluznici.

## 3.2. KLINIČKE MANIFESTACIJE

Iako većina zaraženih bakterijom *H. pylori* ne razvije simptome i znakove bolesti, to ne znači da oštećenja ne postoje. Najčešće se razviju nespecifični simptomi bolesti gornjeg dijela probavnog sustava kao što su osjećaj nadutosti, gubitak teka, neugodan zadah, učestalo podrigivanje, anoreksija, mučnina i povraćanje te nenamjerni gubitak tjelesne mase (48).

Kolonizacija želuca izaziva kroničnu upalu kod svih zaraženih osoba, u većini slučajeva upalna bolest ne napreduje dalje od kroničnog gastritisa i samo kod 10-20% inficiranih osoba izaziva bolesti kao što su peptički ulkus, akutni i atrofični gastritis, intestinalna metaplazija, adenokarcinom želuca, a iznimno rijetko trajna stimulacija upalnog odgovora dovodi do razvoja MALT-limfoma (49). Među zaraženim osobama otprilike 10% razvije značajne želučane lezije kao što je peptički ulkus, 1-3% napreduje u rak želuca, a 0,1% razvije MALT-limfom. Rak želuca je jedan od najčešćih karcinoma i treći vodeći uzrok smrti od raka u svijetu (6,50).

### 3.2.1. Patologija želuca

#### 3.2.1.1. Nemaligne bolesti

Dobro je poznato da je HPI glavni uzrok kroničnog gastritisa i peptičke ulkusne bolesti. Primjena antibakterijskih lijekova može dovesti ne samo do pojave rezistentnih sojeva mikroorganizama, već i pridonijeti prelasku *H. pylori* u stanje mirovanja, što je pokazalo potencijalnu ulogu u razvoju relapsa peptičke ulkusne bolesti (51).

Akutni gastritis uzrokovan *H. pylori* najčešće ima neutrofilni odgovor, dok se u kroničnom gastritisu predominantno nalaze mononukleari i to uglavnom limfociti, plazma-stanice i makrofagi, s tim da akutni gastritis gotovo uvijek napreduje u kronični ako nije liječen odgovarajućom terapijom. U ranoj fazi najčešće je zahvaćen antrum želuca (48). Infekcija potiče pojačano lučenje gastrina i smanjeno lučenje somatostatina dovodeći do izrazitijeg stvaranja želučane kiseline, što kod nekih dovodi do stvaranja duodenalnog ulkusa, tako da je



uništenje želučanog epitela posljedica i infekcije i odgovora domaćina na HPI (39). S vremenom stanice koje stvaraju gastrin i parijetalne stanice odumiru čime se smanji razina želučane kiseline, što dovodi do atrofije i metaplazije želučanog tkiva. Takvo stanje pridonosi širenju bakterija prema korpusu, a ako se taj proces nastavi raste vjerojatnost razvoja ulkusa i raka želuca (48). Oko tjedan dana od početka akutne upale u zahvaćenom se tkivu formiraju limfoidni folikuli s germinativnim središtima, a produljena proliferacija navedenih folikula povećava izgled za razvoj primarnog želučanog B-staničnog limfoma. Takvi limfoidni folikuli mogu godinama perzistirati u želučanom tkivu, čak i nakon uspješnog liječenja infekcije (52,53). U istraživanju provedenom u istočnoj Hrvatskoj 2017. godine utvrđena je prevalencija HPI od 41% u populaciji Hrvatske, što na ljestvici prevalencije Hrvatsku stavlja između razvijenih zemalja i zemalja u razvoju. Kronični aktivni gastritis pronađen je u 94% bolesnika s *H. pylori* infekcijom. Pangastritis prevladava u oba spola (muškarci 68% i žene 62%), a nakon pangastritisa u muškaraca je češći antralni gastritis (20%), dok je u žena češći gastritis korpusa (24%). Atrofija sluznice želuca utvrđena je u 5% bolesnika, a teška atrofija javlja se samo u dobnoj skupini starijih od 60 godina. Potpuna (crijevna) metaplazija nađena je u 26%, a nepotpuna metaplazija u 1% bolesnika, međutim, u svim dobnim skupinama većina bolesnika imala je blagu crijevnu metaplaziju (54).

Sve je više dokaza da status *H. pylori* nema utjecaja na simptome i učinkovitost liječenja u bolesnika s gastroezofagealnom refluksnom bolešću (GERB). Neke studije su primijetile poboljšanje tegoba uzrokovanih GERB-om nakon eradikacije, što naglašava da liječenje *H. pylori* nije kontraindicirano u bolesnika s GERB-om. Nadalje, status *H. pylori* ne utječe na dugoročnu učinkovitost terapije održavanja inhibitorom protonske pumpe (IPP) za GERB (55). Točna uloga *H. pylori* u funkcionalnoj dispepsiji ostaje kontroverzna, međutim, sve je veći konsenzus da se *H. pylori*-pozitivna funkcionalna dispepsija treba procijeniti kao zaseban entitet. U ovih bolesnika eradikacija može biti korisna i prikladna (56).

Okolo 10 – 15% zaraženih bakterijom *H. pylori* razvije ulkusnu bolest, a većina bolesnika s dijagnozom peptičkog ulkusa ima dokazanu HPI (48). Porast razine gastrina i pad razine somatostatina u krvi dovodi do pojačanog lučenja želučane kiseline, što u području dvanaesnika izaziva nadražaj i upalnu reakciju, a trajno povišene razine želučane kiseline uzrokuju metaplaziju stanica proksimalnog duodenuma. Na tako promijenjen epitel nastani se bakterija *H. pylori* koja izravnim djelovanjem bakterijskih proteaza dodatno potiče upalnu reakciju rezultirajući oštećenjem sluznice - ulkusom (57). Oštećenje sluznice gornjeg probavnog sustava sa stvaranjem ulkusa karakterizira prodiranje kroz mišićni sloj sluznice, a nastaje autodigestijom sluznice djelovanjem želučane kiseline i pepsina. Osobe zaražene *H. pylori* koje uz to koriste nesteroidne protuupalne lijekove (NSAID, od engl. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*) imaju 61 puta veće izgled za razvoj peptičkog ulkusa od onih koji nisu

zaraženi i ne koriste NSAID (58). U stadiju ulkusne bolesti karakteristični simptomi su nadražujuća abdominalna bol, koja se javlja kad je želudac prazan par sati, povlači se sama po sebi, nakon obroka ili po primjeni antacida, H2 blokatora ili IPP-a (59). Novije studije potvrđuju da eradikacija *H. pylori* smanjuje rizik od ponovnog krvarenja peptičkog ulkusa. Smjernice stoga zagovaraju strategiju testiranja i liječenja za pacijente s anamnezom krvarenja iz ulkusa i korištenja nesteroidnih protuupalnih lijekova i/ili aspirina (25).

### 3.2.1.2. Rak želuca

Rak želuca jedan je od vodećih uzroka smrti od raka u svijetu, a infekcija bakterijom *H. pylori* smatra se glavnim čimbenikom rizika za razvoj ove bolesti, koju karakterizira jaka upalna komponenta (42). Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) proglasila je HPI kancerogenom klase I 1994. godine jer je povezana s nastankom želučanog adenokarcinoma, a također je usko povezana s nastankom MALT-limfoma (60). Adenokarcinom želuca se razvije samo u malog broja zaraženih jer njegov nastanak ovisi o više čimbenika. Ključni element karcinogeneze je kronična upala koja uzrokuje oštećenje genskog materijala zahvaćenih stanica, a to posljedično uzrokuje njihovu mutaciju i zloćudnu preobrazbu (61).

Kombinacija bakterijskih čimbenika, štetnih utjecaja iz okoliša i imunološkog odgovora domaćina pokreće i potiče napredovanje atrofije sluznice, metaplazije i displazije prema karcinomu želuca. Iako se može činiti očitim da bi uklanjanje štetnog organizma poništilo rizik od raka, ovaj pristup nije niti izvediv (polovica svjetskog stanovništva ima ovu infekciju) niti je jednostavan (62). Finski patolozi Jarvi i Lauren bili su pioniri ideje da rak želuca može potjecati od područja crijevnog epitela pronađenog u želučanoj sluznici, predložene još 1912. Naime, zaključili su da su heterotopni otoci crijevnog epitela u želučanoj sluznici nastali na podlozi kroničnog gastritisa i sugerirali su da „profilaksa očito treba biti usmjerena protiv gastritisa.” (63,64). Nadalje su izvijestili da je u usporedbi s difuznim tipom raka, rak crijevnog tipa bio češći među muškarcima, starijim pacijentima i imali su relativno bolju prognozu. Također su izvijestili da je rak crijevnog tipa češće okružen crijevnom sluznicom nego difuzni tip raka (63,64). Ova izvorna opažanja potvrdili su istraživači u drugim zemljama.

Osnovne komponente procesa su kronični aktivni gastritis, multifokalna atrofija, crijevna metaplazija (prvo potpuna, a zatim nepotpuna), displazija i invazivni rak. Ove lezije su histopatološki dobro okarakterizirane, ali svaka predstavlja kontinuum promjena koje prikazuju višestruke događaje koji se s vremenom povećavaju u intenzitetu i trajanju. Mehanizam početnog djelovanja na molekule DNA je nepoznat; međutim, vodeća hipoteza je da je

neoplastični ishod povezan s oksidativnim stresom, što je predstavljeno ekspresijom sintaze dušikovog oksida koja se inducira uslijed infekcije (65).

S obzirom da je otprilike 50% svjetske populacije zaraženo helikobakterom, da samo vrlo mali dio zaraženih osoba ikada razvije rak i da eradikacijska terapija može dovesti do aktivacije sojeva drugih patogena otpornih na antibiotike, masovno iskorjenjivanje nije izvedivo niti preporučljivo. Stoga je potrebno identificirati osobe s najvećim rizikom za nastanak raka, odnosno one s većom genetskom osjetljivošću i infekcijom genotipovima *H. pylori* s većim kancerogenim potencijalom.

### 3.2.2. Ekstragastrične bolesti

Ekstragastrične manifestacije povezane s *H. pylori* zabilježene u znanstvenoj literaturi uključuju neurološke, dermatološke, hematološke, očne, kardiovaskularne, metaboličke, alergijske i hepatobilijarne manifestacije bolesti. Prijavljeno je da je nekoliko bolesti povezano s HPI uključujući hematološke bolesti, kao što su idiopatska trombocitopenična purpura (ITP), idiopatska anemija zbog nedostatka željeza i nedostatak vitamina B12 (66).

Postoji pozitivan trend u povezanosti HPI s neurodegenerativnim poremećajima, a novi podatci pokazuju smanjeni rizik od smrti od moždanog udara i raka pluća, ali povećan rizik od preeklampsije u zaraženih žena, što zahtijeva daljnja istraživanja (67). U nekim hematološkim bolestima, kao što su ITP, idiopatska anemija zbog nedostatka željeza i nedostatak vitamina B12, uloga infekcije je u potpunosti potvrđena i uključena u trenutne smjernice. Međutim, većina dokaza proizlazi iz epidemioloških studija u kojima brojni čimbenici zabune nisu detaljno analizirani, što onemogućuje uspostavljanje uzročno-posljedične korelacije (66).

Nekoliko studija sugerira da HPI također može biti povezana s korisnim učincima za domaćina. Epidemiološke studije pokazale su inverznu vezu između HPI i astme i alergije, iako su podatci oprečni i potrebno ih je proširiti (68).

### 3.3. DIJAGNOZA INFEKCIJE

Dijagnostičke metode dijele se na invazivne (temeljene na endoskopiji) i neinvazivne metode. Neinvazivne metode uključuju urea izdisajni test (UBT, od engl. *urea breath test*), test na antigene u stolici, serologiju i molekularne metode. Invazivne metode uključuju endoskopiju, brzi test na ureazu, histologiju, kulturu i molekularne metode (69). Dijagnostičke metode također možemo podijeliti i na izravne i neizravne metode. Izravne metode su izolacija uzročnika i/ili njegovih metabolita u uzorku te histološka analiza, a neizravne metode dokaz aktivnosti ureaze, nalaz antigena u stolici ili nalaz protutijela protiv *H. pylori* u krvi (48). Najrašireniji neinvazivni testovi su UBT i antigen u stolici. U epidemiološkim studijama najčešće korištena neinvazivna pretraga je serologija (70).

Histološka metoda detekcije HPI smatra se zlatnim standardom jer je široko dostupna i može postići osjetljivost i specifičnost od više od 95%. Također, moguće je procijeniti patološke promjene povezane s infekcijom kao što su upala, atrofija, crijevna metaplazija i malignitet (70). Potvrдна dijagnoza HPI je endoskopska biopsija, nakon čega slijedi histopatološki pregled pomoću hemotoksilinske i eozinske boje ili posebnih boja kao što su Giemsa i Warthin-Starry bojenje (71). Osjetljivost hematoksilin eozinskog bojenja usporediva je s Giemsa i Genta, ali specifičnost se smanjuje pri niskoj gustoći *H. pylori* (90%). Warthin-Starry bojanje srebrom omogućuje izvrsnu vizualizaciju, ali je skupo, dugotrajno i rezultati nisu uvijek pouzdani. Neki istraživači su pokazali da imunohistokemijsko bojenje specifičnim *H. pylori* antitijelima ima najveću osjetljivost i specifičnost, čak i ako se u biopsijskom uzorku nalaze kokoidni oblici (70).

Izolacija *H. pylori* ključna je za istraživanje zahtjeva za rast, ispitivanje osjetljivosti na antibiotike, proučavanje čimbenika virulencije, za razvoj cjepiva i mnoga druga istraživanja. Uz vrijeme potrebno za obradu uzoraka, nedostaci su potreba za posebnim uvjetima za transport, posebnost medija, inkubacija i nekoliko dana čekanja na pojavu kolonija. Do danas većina mikrobioloških laboratorija u svijetu nije opremljena i osposobljena za izolaciju tako izbirljive bakterije. Lančana reakcija polimerazom (PCR, od engl. *polymerase chain reaction*) pokazala se kao najbolja metoda za otkrivanje *H. pylori* u želučanoj sluznici, želučanom soku, slini, zubnim naslagama i uzorcima iz okoliša. Dijagnoza temeljena na PCR-u može se smatrati zlatnim standardom pod uvjetom da se koriste *H. pylori* specifični „primeri“ koji ciljaju na više od jednog konzerviranog gena (72).

Prema Hrvatskim nacionalnim smjernicama iz 2014. za dijagnozu HPI trebao bi se primjenjivati drugačiji dijagnostički pristup u bolesnika ovisno o dobi. U skupini bolesnika

mlađih od 45 godina, bez alarmantnih simptoma (gubitak tjelesne težine, disfagija, znakovi gastrointestinalnog krvarenja, palpabilna tvorba u želucu, anemija zbog manjka željeza) dijagnostički se postupak može provesti neinvazivnim dijagnostičkim metodama. Nakon terapije ih također treba neinvazivno testirati kako bi se procijenio uspjeh terapije. Za skupinu bolesnika starijih od 45 godina, kao i sve s prisutnim alarmantnim simptomima bez obzira na dob, preporuča se testiranje endoskopskim i invazivnim metodama (73). Smjernice s posljednje Konsenzus konferencije (Maastricht V) nisu se značajno promijenile za populacije s prevalencijom HPI od preko 15%. Predloženo je da se dobna granica između neinvazivnih i invazivnih dijagnostičkih metoda treba odrediti prema učestalosti raka želuca u danoj populaciji (25).

### 3.4. LIJEČENJE INFEKCIJE

Potrebno je dokazati HPI prije početka terapijskog postupka. Rezistencija na ovog uzročnika je u porastu u cijelom svijetu, dok je stopa eradikacije u padu (48). Uspjeh liječenja i eradikacije ovisi o primarnoj i sekundarnoj rezistenciji na antibiotike, koncentraciji lijekova u sluznici, suradljivosti pacijenata i nuspojavama. Naime, *H. pylori* ima primarnu, odnosno prirodenu rezistenciju na neke često korištene antibiotike kao što su vankomicin, trimetoprim i sulfonamidi. Također, djelotvornost nekih antibiotika može biti smanjena izrazito kiselim miljeom želuca. Inhibicijom sekrecije želučane kiseline i porastom pH dolazi do porasta koncentracije antibiotika, ali i povećanja populacije bakterija u diobi koje tako postaju osjetljivije na određene antibiotike (19).

Prevalencija rezistentnih izolata u pacijenata znatno varira ovisno o zemljopisnoj regiji pa izbor terapijskog protokola između ostalog ovisi i o regionalnoj, odnosno lokalnoj rezistenciji bakterije na antibiotike. Prema dosadašnjim sporadičnim istraživanjima u većini promatranih regija Hrvatske rezistencija sojeva *H. pylori* na klaritromicin je veća od 15 %, a kreće se u rasponu od 10,2% u regiji Sjeverne Hrvatske, do 56% u Primorsko-goranskoj županiji, što znači da se taj lijek ne bi trebao koristiti kao dio trojne empirijske terapije, osim ako je prethodno učinjen antibiogram (19, 23, 25). Dakle, u hrvatskim je regijama potrebno učiniti kulturu i potvrditi osjetljivost *H. pylori* na klaritromicin prije uvođenja trojne terapije koja sadrži klaritromicin. Također je poželjno uzeti kulturu i odrediti osjetljivost na antibiotike prije uvođenja druge linije terapije, a obavezno je prije uvođenja treće linije terapije (73).

Antibiotike koji se koriste u eradikaciji HPI može se podijeliti na lijekove prve linije (klaritromicin, metronidazol, amoksicilin) i druge linije (levofloksacin, preparati s bizmutom, tetraciklin). Po posljednjim smjernicama ekspertnih grupa Maastricht V iz 2017. i Hrvatskog postupnika za dijagnostiku i terapiju HPI izdanim 2014. razlikuju se preporuke za početno liječenje ovisno o tome kolika je stopa rezistencije na pojedine antibiotike na promatranom području (25, 73).

Standardna trostruka terapija, koja se sastoji od IPP, klaritromicina i metronidazola ili amoksicilina, u trajanju od 14 dana i dalje je prvi izbor liječenja u područjima s niskom stopom primarne rezistencije na klaritromicin (nižom od 15%), uz preporuku da se IPP daje u višoj dozi (25,73). U područjima visoke (>15%) primarne rezistencije na klaritromicin, preporučena je primjena četverostruke terapije koja se temelji na primjeni bizmuta (bizmut-subcitrat, IPP, metronidazol i tetraciklin) ili četverostruke terapije bez bizmuta (IPP, amoksicilin, klaritromicin i metronidazol), svakako u trajanju od 14 dana. Unatoč visokoj rezistenciji na klaritromicin, može se postići zadovoljavajući uspjeh primjenjujući sekvencijsku terapiju, koja se može primijeniti bez prethodne kulture i ispitivanja rezistencije na klaritromicin (74). Zato ekspertna hrvatska grupa kao prvu hrvatsku terapiju preporuča upravo sekvencijsku terapiju u trajanju od 10 dana ili IPP-amoksicilin-metronidazol trojnu terapiju u trajanju od 10 do 14 dana (73).

Međutim, metaanalizom u koju je bilo uključeno pet kontroliranih randomiziranih studija pokazano je da je četverostruka konkomitantna eradikacijska terapija učinkovita zamjena za standardnu empirijsku terapiju u regijama s visokom primarnom rezistencijom na klaritromicin i da je manje kompleksna od sekvencijske terapije (75). Četverostruka konkomitantna eradikacijska terapija koja podrazumijeva istodobno davanje IPP-a uz tri antibiotika (amoksicilin, klaritromicin, metronidazol) tijekom 7 do 10 dana, učinkovita je zamjena za standardnu trojnu terapiju u regijama s visokom primarnom rezistencijom na klaritromicin. No, iako je ova terapija manje kompleksna od sekvencijske terapije i može prevladati primarnu rezistenciju na klaritromicin i metronidazol (ali ne i dvostruku rezistenciju), upitan je njezin ekološki aspekt jer njena primjena može rezultirati selekcijom multirezistentnih sojeva (25, 73).

U slučaju niske rezistencije na metronidazol, inicijalna terapija može biti i standardna trojna terapija IPP-om, metronidazolom i amoksicilinom u trajanju od 14 dana jer terapija metronidazolom u višim dozama u trajanju od 2 tjedna u većini slučajeva nadvladava rezistenciju. Nadalje, u područjima visoke dvostruke rezistencije na klaritromicin i metronidazol, četverostruka terapija koja se temelji na primjeni bizmuta s višim dozama metronidazola je preporučena prva linija liječenja.

Nakon neuspjeha standardne trojne terapije u trajanju od 10 do 14 dana ili sekvencijske terapije u trajanju od 10 dana sljedeća linija terapije koja se preporuča jest četverostruka

terapija s bizmutom u trajanju od 10 dana ili IPP-trojna terapija koja sadrži levofloksacin u trajanju od 10 dana (25,73). Također, ako je liječenje četverostrukom terapijom koja se temelji na bizmutu bilo neuspješno, sljedeći je izbor trostruka ili četverostruka terapija koja sadrži fluorokinolon (npr. levofloksacin). U slučaju neuspjeha prve linije liječenja, druga linija liječenja uključuje primjenu četverostruke terapije koja se daje 14 dana, dok nakon neuspjeha drugog pokušaja liječenja terapijski postupci moraju biti vođeni određivanjem osjetljivosti uzročnika na antibiotike (25, 73).

Čini se da probiotičke bakterije (na prvom mjestu *Saccharomyces boulardii*) ometaju kolonizaciju želučane sluznice s *H. pylori* i tako utječu na upalni odgovor želučane sluznice na HPI, pa se mogu primijeniti uz navedene sheme za poboljšanje eradikacije. Probiotici smanjuju učestalost nuspojava, odnosno pomažu organizmu u boljem podnošenju terapije, što posljedično poboljšava suradljivost pacijenata (76).

Nakon provedenog eradikacijskog liječenja potrebno je potvrditi uspjeh eradikacije bakterije jednom od neinvazivnih metoda, najbolje UBT ili monoklonskim testom antigena u stolici, a serološka dijagnostika se u te svrhe ne preporučuje (25 ,48, 73). Preporučuje se da najranija kontrola uspjeha eradikacijske terapije bude najmanje 4 tjedna nakon završenog liječenja (25).

### 3.5. ANTIMIKROBNA OSJETLJIVOST

*Helicobacter pylori* glavni je ljudski patogen za koji povećana rezistencija na antibiotike predstavlja ozbiljnu prijetnju ljudskom zdravlju. Iako je klaritromicin godinama korišten u eradikaciji helikobaktera kao najučinkovitiji, dobro podnošljiv i siguran antibiotik, rastuća rezistencija bitno je utjecala na uspješnost standardne trojne terapije (IPP + klaritromicin + amoksicilin) tako da je stopa eradikacije trenutno manja od 80% u većini svijeta i više nije prikladna kao liječenje prve linije u većini regija (18).

Eradikacijsko liječenje *H. pylori* može biti neuspješno iz brojnih razloga, uključujući čimbenike soja, čimbenike domaćina, čimbenike okoliša i neodgovarajuće liječenje. Postignut je konsenzus kako su rezistencija na antibiotike i loša suradljivost bolesnika najvažniji razlozi za neuspjeh eradikacije (77).

Čini se da se pojavljuju tri profila rezistencije, vjerojatno s preklapajućim mehanizmima i kliničkim implikacijama: rezistencija na jedan lijek, rezistencija na više lijekova i heterorezistencija. Najviše proučavani mehanizmi rezistencije povezani su s mutacijskim

promjenama na kromosomu i ometaju djelovanje antibiotika na bakteriju putem kodiranja ciljnog mjesta antibiotika. Drugi mehanizmi rezistencije *H. pylori* na lijekove su manje istraženi i mogli bi imati složenije fiziološke promjene u podlozi (kao što je poremećena regulacija unosa i/ili efluksa lijeka, stvaranje biofilma i kokoidnih oblika). Veliki broj *H. pylori* sojeva ima mogućnost stvaranja biofilma kao mehanizam samozaštite, a također i visoka gustoća kolonizacije izravno utječe na minimalnu inhibitornu koncentraciju, što sve može doprinijeti neuspjehu liječenja (78). *H. pylori*, ako se nađe u nepovoljnom okruženju za rast, vjerojatno će se transformirati u kokoidni oblik, koji nije podložan djelovanju antibiotika, a nakon prestanka primjene antibiotika tijekom dva ili više tjedana obnovit će svoju aktivnost. Kokoidni oblik *H. pylori* postoji u dva oblika: jedan je mrtav ili degeneriran, a drugi je neaktivni stadij koji se, iako je živ, ne može razmnožavati. Ovaj oblik *H. pylori* nije samo važan razlog neuspjeha eradikacije, već je i zarazan (18).

Značajan pad učinkovitosti liječenja bi teoretski zbog povećanja prevalencije perzistentnih infekcija mogao rezultirati kliničkim komplikacijama (kao što su povećana incidencija raka želuca i peptičkog ulkusa). Uobičajeno je mišljenje da su glavni koraci u sprječavanju daljnjeg pada stope eradikacije lokalno istraživanje rezistencije na antibiotike i detaljna procjena pacijentove prethodne uporabe antibiotika (77).

### 3.5.1. Mehanizmi antimikrobne rezistencije na amoksicilin

Rezistencija Gram-negativnih bakterija na  $\beta$ -laktame prvenstveno je posljedica proizvodnje  $\beta$ -laktamaza i smanjenog prodiranja lijeka do ciljanog mjesta, zatim promjena na mjestima PBP (od engl. *penicillin binding proteins*) i mehanizama efluksa (79). Godine 2009. Tseng i sur. prvi su otkrili gen  $\beta$ -laktamaze u *H. pylori* otpornom na amoksicilin, ali ne i u sojevima osjetljivim na amoksicilin, što ukazuje da *H. pylori* može proizvesti  $\beta$ -laktamazu (80). Amoksicilin se veže na proteine koji vežu penicilin (PBP) u periplazmatskom prostoru, ometajući aktivnost transpeptidaze potrebnu za umrežavanje novonastalih molekula peptidoglikana. Ovaj proces utječe na mehaničku stabilnost bakterijske stanične stijenke i uzrokuje gubitak vitalnosti i lizu replicirajućih bakterija. Vrste *H. pylori*, unatoč tome što kodiraju nekoliko PBP-a i proteina sličnih  $\beta$ -laktamazi, razvijaju otpornost na amoksicilin uglavnom smanjenjem afiniteta vezanja na specifični PBP nazvan PBP1A bez stvaranja značajne aktivnosti  $\beta$ -laktamaze. Nadalje, mutacije porina i efluksnih pumpi koje vjerojatno mijenjaju propusnost membrane za amoksicilin, također bi povećale otpornost posredovanu PBP1A. Konačno, fenotip nestabilne rezistencije, nazvan "tolerancija na amoksicilin", također je prijavljen u *H. pylori* (81).



### 3.5.2. Mehanizmi antimikrobne rezistencije na klaritromicin

Nekoliko studija pokazalo je da su stope rezistencije na klaritromicin u američkoj i europskoj populaciji bile 29,3%, odnosno 11,1% u 2009. godini (82). Među makrolidima, klaritromicin se koristio u prvim režimima za eradikaciju *H. pylori* s obzirom na njegove dvije farmakokinetičke prednosti u želucu: stabilnost u kiselini i poboljšana apsorpcija u sloju želučane sluzi (83). Općenito, rezistencija Gram-negativnih bakterija na makrolide postiže se pomoću tri mehanizma: modifikacijom ciljnog mjesta djelovanja antibiotika post-transkripcijskom metilacijom ili genetskim mutacijama, mehanizmima efluksa lijeka i enzimskom deaktivacijom lijeka (84). Makrolidi ostvaruju svoj bakteriostatski učinak ometajući sintezu proteina reverzibilnim vezanjem na petlju peptidil transferaze domene V 23S ribosomske RNA (rRNA). Glavni mehanizam koji leži u osnovi rezistencije bakterije *H. pylori* na klaritromicin su točkaste mutacije u funkcionalnoj domeni V gena 23S rRNA, koje smanjuju afinitet klaritromicina za transpeptidazu, inhibirajući vezanje klaritromicina na 23S ribosomsku podjedinicu (85).

Smiley i suradnici su otkrili da je ekspresija pojedinih OMP povećana u sojevima otpornim na lijekove, što ukazuje da bi takva promjena mogla biti još jedan mehanizam otpornosti na klaritromicin (86). Nadalje, Yonezawa i suradnici su pokazali da stvaranje biofilma poboljšava rezistenciju na klaritromicin 4-16 puta jer je *H. pylori* koji tvori biofilmove osjetljiviji na točkaste mutacije koje utječu na rezistenciju na klaritromicin (87). Hirata i suradnici istraživali su ulogu efluksnih pumpi u rezistenciji *H. pylori* na klaritromicin i otkrili da su inhibitori efluksne pumpe smanjili minimalnu inhibicijsku koncentraciju, potvrđujući ulogu efluksnih pumpi u rezistenciji na klaritromicin (88).

### 3.5.3. Mehanizmi antimikrobne rezistencije na metronidazol

Potencijalni mehanizmi otpornosti na metronidazol u bakterijskih vrsta na globalnoj razini uključuju smanjeni unos lijeka, povećani efluks lijeka, smanjenu aktivaciju lijeka, povećanu učinkovitost popravka DNA koja se bori protiv štetnih učinaka metabolita metronidazola i hiperaktivnost sustava za hvatanje kisika (89). Metronidazol se aktivno oslobađa u želučani sok, a niski pH samo neznatno utječe na njegovo antimikrobno djelovanje pa se široko koristi protiv *H. pylori* (90). Aktivacija metronidazola rezultira prolaznim derivatima kao što su nitro-anionski slobodni radikali koji pokazuju citotoksična svojstva kroz izravna oštećenja staničnih struktura, među kojima i DNA, a i vjerojatno kroz inhibiciju protonske pokretačke sile smanjenom proizvodnjom ATP-a u stanici (89).

Rezistencija na metronidazol u kliničkim je izolatima rezultat smanjene aktivacije lijeka nakon širokog repertoara mutacijskih promjena, tj. pomaka okvira, preranog zaustavljanja kodona, umetanja prijenosnih elemenata, promjena kodona koje rezultiraju supstitucijom aminokiselina i promjenama promotora. Osim genetskih mutacija, fiziološke promjene koje mijenjaju unos lijeka i/ili sustave efluksa lijeka također su pronađeni u rezistenciji na metronidazol (91).

#### 3.5.4. Mehanizmi antimikrobne rezistencije na tetraciklin

Tetraciklini su stabilni pri niskom pH i djeluju protiv *H. pylori* kao lokalni agensi, postižući visoke koncentracije u želučanom soku i sluznici (92). Reverzibilno se vežu na džep koji uključuje 16S rRNA u 30S podjedinici bakterijskih ribosoma i induciraju bakteriostatske i baktericidne učinke zbog inhibicije sinteze proteina i rasta bakterija (93). U bakterijskim vrstama, široka skupina determinanti rezistencije nazvanih „tetraciklinski proteini“ posreduju u različitim mehanizmima rezistencije na tetraciklin uključujući: efluks kompleksa tetraciklin-kationa putem proteina, citoplazmatska prekomjerna ekspresija proteina za zaštitu ribosoma i inaktivacija tetraciklina enzimima. Rezistencija na tetraciklin može dodatno proizaći iz genetskih mutacija mjesta vezanja tetraciklina u genu 16S rRNA (94). Molekularni mehanizmi koji pokreću rezistenciju *H. pylori* na tetraciklin istraženi su manje od ostalih tipova rezistencije na antibiotike (na primjer, klaritromicin i metronidazol) zbog nedostatka rezistentnih izolata. Najvažniji mehanizmi tetraciklinske rezistencije odgovaraju jednostrukim, dvostrukim ili trostrukim supstitucijskim mutacijama para baza u primarnom veznom mjestu 16S rRNA tetraciklina. Ipak, zabilježena je pojava rezistencije na tetraciklin u odsutnosti mutiranog 16S rRNA gena zajedno sa smanjenim nakupljanjem lijeka u citoplazmi, što ukazuje na moguću ulogu ograničenja unosa lijeka ili efluksa lijeka (95).

#### 3.5.5. Mehanizmi antimikrobne rezistencije na levofloksacin

Otpornost bakterija na fluorokinolone proizlazi iz tri različita mehanizma koja se međusobno ne isključuju: otpornost posredovana mutiranjem ciljnih mjesta DNA giraze ili topoizomeraze IV, rezistencija posredovana plazmidom i kromosomima posredovana rezistencija zbog promijenjenog unosa lijeka i intrinzičnog sustava efluksa (96). Lokalno djelovanje fluorokinolona u želucu postiže se zahvaljujući povoljnim farmakokinetičkim svojstvima pri kiselom pH jer se protoniraju i otapaju u želučanom soku prije maksimalne apsorpcije u duodenumu i jejunumu (97). Ovi lijekovi pokazuju svoje baktericidno djelovanje

inhibiranjem dviju esencijalnih bakterijskih topoizomeraza tipa II, DNA giraze i topoizomeraze IV, koje moduliraju kromosomsko supersvijanje potrebno za sintezu DNA, transkripciju i diobu stanica (96).

Sve veći problem postaje brza pojava rezistencije na fluorokinolone, kao i štetnih učinaka. Za razliku od metronidazola nema učinka ovisnog o dozi u prevladavanju rezistencije na levofloksacin (protokoli eradikacije postaju neučinkoviti kada rezistencija dosegne 13%) (77,98).

## 4. HIPOTEZE

H1: Stopa primarne rezistencije izolata *H. pylori* na klaritromicin je > 30%.

H2: Stopa primarne rezistencije izolata *H. pylori* na metronidazol je > 30%.

H3: Stopa primarne rezistencije na levofloksacin je > 15%.

H4: Stopa primarne rezistencija na amoksisilin je < 5%.

H5: - Stopa primarne rezistencija na tetraciklin je < 5%.

## 5. CILJEVI

Primarni cilj istraživanja:

- Utvrditi primarnu i sekundarnu antimikrobnu osjetljivost sojeva *H. pylori* u promatranih pacijenata na amoksicilin, metronidazol, klaritromicin, tetraciklin i levofloksacin.

Sekundarni ciljevi istraživanja:

- Utvrditi kretanje stope rezistencije *H. pylori* na promatrane antibiotike u odnosu na broj prethodno provedenih kombiniranih helikocidnih terapija
- Analizirati klinička obilježja pacijenata koji dolaze na EGDS
- Usporediti odnos osnovnih demografskih, epidemioloških i kliničkih obilježja u *H. pylori* pozitivnih i negativnih pacijenata.

## 6. ISPITANICI I METODE

Ova monocentrična studija provedena je u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ retrospektivnom analizom prospektivno sakupljenih podataka koji su se sakupljali od 01.04.2019. do 05.11.2021.

### 6.1. ISPITANICI

U istraživanje su uključeni svi pacijenti odrasle dobi ( $\geq 18$  godina) i oba spola koji su pristali sudjelovati u istraživanju, iz čijeg se bioptata želučane sluznice, uzetog rutinski tijekom dijagnostičkog ezofagogastroduodenoskopskog (EGDS) pregleda, izolirala bakterija *H. pylori*. Dijagnostičkim endoskopskim pretragama probavnog sustava u Klinici gravitiraju pacijenti iz svih područja grada Zagreba kao i Zagrebačke županije.

### 6.2. METODE

#### 6.2.1. Prikupljanje podataka

Nakon usmenog objašnjenja, pacijenti su svoju suglasnost za sudjelovanje u istraživanju potvrdili svojim potpisom na za to predviđenom obrascu. Demografski i epidemiološki podatci su prikupljeni putem upitnika, prije uzimanja uzoraka želučane sluznice za dijagnostiku HPI. Podatci su prikupljeni, čuvani i obrađivani u skladu s helsinškom deklaracijom i pravilima dobre kliničke prakse.

Podatci su prikupljeni iz Odsjeka za medicinsku dokumentaciju, iz dokumentacije Zavoda za kliničku mikrobiologiju Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ i putem upitnika.

a) Podatci prikupljeni iz Odsjeka za medicinsku dokumentaciju: spol, godina rođenja, datum EGDS, nalaz EGDS

b) Podatci prikupljeni iz dokumentacije Zavoda za kliničku mikrobiologiju: mikroskopski nalaz, rezultat ureaza testa i kultivacije, antimikrobna osjetljivost na amoksicilin, klaritromicin, metronidazol, tetraciklin i levofloksacin

c) Podatci prikupljeni putem upitnika: tjelesna visina, tjelesna težina, tip domaćinstva, broj članova domaćinstva, zanimanje, pušenje, konzumacija alkohola, kronične bolesti, prisutnost karcinoma želuca u bliskog srodnika, razlog EGDS, tegobe, broj dotadašnjih terapija za *H. pylori*, termin zadnje terapije za *H. pylori* i vrsta terapije, termin i vrsta zadnje korištenog antibiotika, termin zadnjeg korištenja IPP

## 6.2.2. Mikrobiološka analiza

Uzorkovanje bioptata želučane sluznice je tijekom EGDS provedeno bioptičkim kliještima, sa dva različita mjesta (područje male i velike krivine antruma želuca). Bioptati su umočeni u fiziološku otopinu i u roku od jedan sat od uzorkovanja transportirani u laboratorij. Ureaza test, histologija, izolacija i identifikacija *H. pylori* je rađena u Zavodu za kliničku mikrobiologiju Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ standardnim metodama. Bioptati sluznice želuca nasađeni su na *H. pylori* selektivni agar (Brucella agar/BD Diagnostic, Becton Dickinson and Company, SAD) uz dodatak *H. pylori* suplementa (Oxoid Ltd., Velika Britanija) te 7% citratne konjske krvi (BioGnost, Hrvatska) koji se inkubira na 35°C u mikroaerofilnoj atmosferi kroz 5-7 dana. Ploče su očitavane nakon 48 h i 72 h. Identifikacija je potvrđena mikroskopskim preparatom te testovima oksidaze, katalaze i ureaze. Testiranje osjetljivosti *H. pylori* na antibiotike se provela na Mueller-Hinton agaru (Oxoid Ltd. Velika Britanija) s dodatkom 5% defibrinirane konjske krvi (BioGnost, Hrvatska) i 20mg/L  $\beta$ -NAD (Sigma-Aldrich Co., SAD), sukladno smjernicama European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST v. 9.0/2019; [www.eucast.org](http://www.eucast.org)). Minimalna inhibitorna koncentracija određena je metodom gradijent testa (E-test, BioMérieux, Francuska). Testirana je osjetljivost izoliranih sojeva na amoksicilin, klaritromicin, tetraciklin, metronidazol i levofloksacin.

U slučaju potvrđene HPI i izoliranog uzročnika, primarnom rezistencijom je smatrana rezistencija izoliranog *H. pylori* soja na određeni antibiotik prije provođenja prvog liječenja kombiniranom helikocidnom terapijom. Kombiniranom helikocidnom terapijom su u ovom istraživanju smatrane sve prethodne kombinirane terapije, bez obzira na vrste pojedinih lijekova korištenih u kombinaciji.

Uz rutinsko uzimanje bioptata želučane sluznice tijekom EGDS, za provođenje ovog istraživanja nisu uzimani nikakvi dodatni biološki materijali od pacijenata, niti su provedene ikakve dodatne dijagnostičke pretrage.

### 6.2.3. Statistička analiza

Svi prikupljeni podatci uneseni su u posebno kreiranu elektronsku bazu podataka (Microsoft Excel 2013) pri čemu je identitet pacijenta zaštićen. Dobiveni podatci su statistički obrađeni koristeći deskriptivne i analitičke statističke metode. Za opis neprekidnih varijabli (dob, visina, težina) prikazani su srednja vrijednost, standardna devijacija, medijan, minimum i maksimum. Za opis kvalitativnih i diskretnih varijabli upotrebljene su apsolutne i relativne frekvencije.

Usporedba učestalosti odgovora na pojedina pitanja između dviju grupa analizirana je Fisherovim egzaktnim testom. U slučaju prevelikog broja klijetki korišten je  $\chi^2$ -test.

Utjecaj broja provedenih helikocidnih terapija i vremena proteklog od prethodnog korištenja antibiotika na udio rezistentnih sojeva po vrstama antibiotika testirana je pomoću logističke regresije. Značajnost regresijskih koeficijenata testirana je pomoću Waldove statistike.

Za testiranje hipoteza o stopama primarne rezistencije za pojedine antibiotike korišten je jednostrani binomni test.

Analiza je napravljena pomoću statističkog paketa SAS na Windows platformi. Svi testovi su rađeni uz razinu značajnosti  $\alpha=0,05$ .

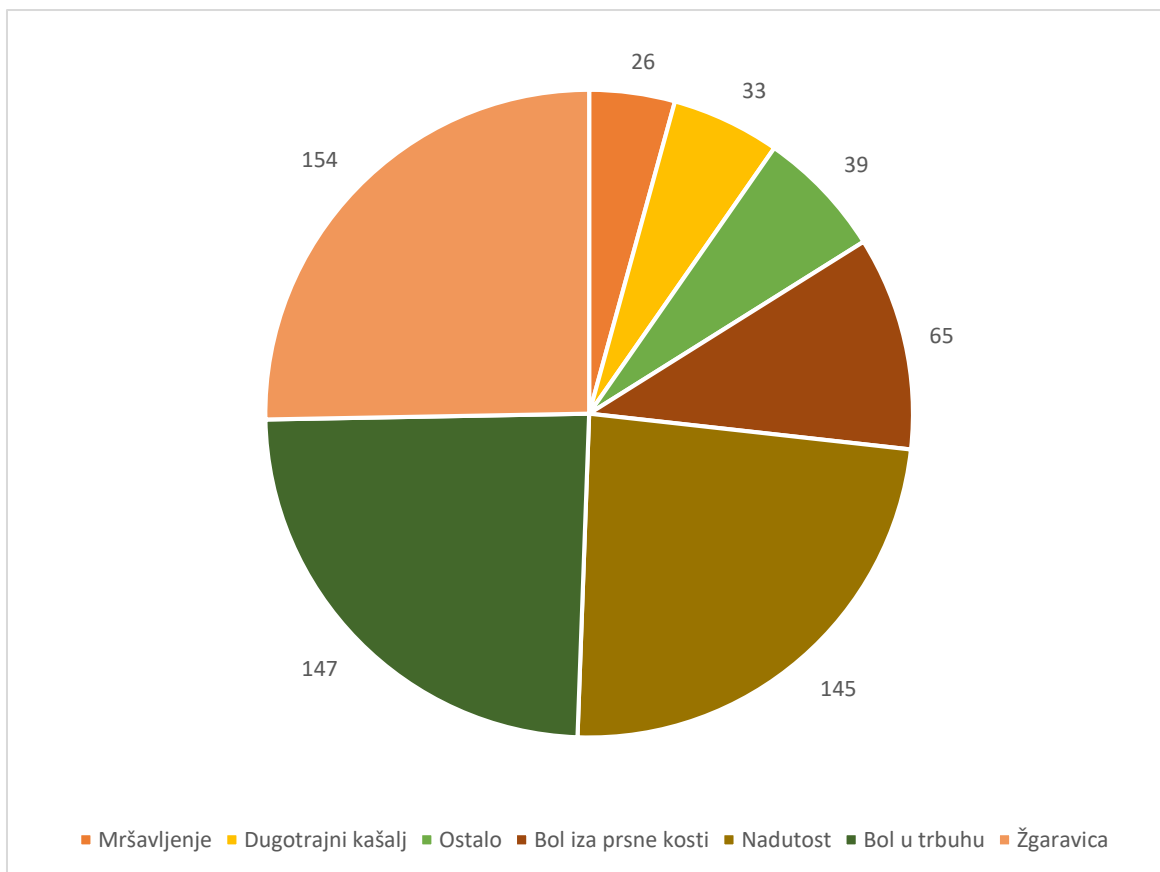


## 7. REZULTATI

U promatranom razdoblju u studiju je uključeno 668 pacijenata raspona dobi 17 – 86 godina (prosjek: 50,0; medijan: 51 godina). Među njima je bilo 247 (37%) muških (raspon dobi 20 – 86; prosjek: 49,0; medijan: 48 godina) i 421 (63%) ženskih (raspon dobi 17 – 86, prosjek: 50,6; medijan: 52 godine).

Podatak o glavnom razlogu izvođenja EGDS je zabilježen u 280/668 pacijenata, dok taj podatak nije zabilježen u 388 pacijenata. Najčešći razlog za pretragu su bile subjektivne tegobe (254 pacijenata), zatim kontrola nakon provedene helikocidne terapije (8 pacijenata) slabokrvnost (5 pacijenata) i ostali razlozi: preventivno zbog karcinoma želuca u bliskog srodnika (1 pacijent), ostali (nenavedeni) razlozi u 12 pacijenata.

Podatak o prisutnim simptomima zabilježen je u 282/668 pacijenata (nema podataka za 386 pacijenata). Od 282 pacijenta sa zabilježenim navedenim podatkom njih 5 nije imalo nikakvih tegoba, a među ostalih 277 pacijenata s tegobama neki su imali višestruke simptome. Ukupno je zabilježeno 609 simptoma, a među njima je najčešća bila žgaravica (154/277 pacijenata), zatim bol u truhu (147/277 pacijenata) pa nadutost (145/277 pacijenata). **Slika 7.1.** prikazuje prisutne simptome zabilježene u 277 pacijenata podvrgnutih EGDS.



**Slika 7.1.** Zabilježenih 609 kliničkih simptoma u 277 simptomatskih bolesnika podvrgnutih ezofagogastroduodenoskopiji

U ukupnom uzorku *H. pylori* je izoliran u 124 (18,56%) pacijenta; u svih njih ujedno je bio pozitivan i mikroskopski nalaz i ureaza test iz bioptata sluznice želuca. *H. pylori* je dokazan mikroskopskim pregledom i ureaza testom, no bez kultivacije u 217 (32,49%) pacijenata, dok je bio negativan u sve tri metode u 327 (48,95%) pacijenata.

**Tablica 7.1.** prikazuje odnos pojedinih demografskih i epidemioloških obilježja te rezultata dijagnostičkih testova bioptata sluznice želuca na *H. pylori*.

**Tablica 7.1.** Odnos pojedinih demografskih i epidemioloških obilježja te rezultata dijagnostičkih testova biopata sluznice želuca na *Helicobacter pylori*

Varijabla	<i>Helicobacter pylori</i> negativan (N=327)	<i>Helicobacter pylori</i> pozitivan (N=341)		P*
		Mikroskopski ureaza test (N=217)	+ Kultivacija (N=124)	
	SV <sup>1</sup> (SD) <sup>2</sup>			
<b>Dob (godine)</b>	49,9 (15,5)	50,0 (14,3)		Studentov t-test p= 0,896
	N (%)			P <sup>3</sup>
<b>Muški spol</b>	111 (33,9%)	136 (39,9%)		0,13
<b>Ženski spol</b>	216 (66,1%)	205 (60,1%)		
<b>Broj članova domaćinstva</b>	Nedostaje 200	Nedostaje 118	Nedostaje 66	0,19
1-2	66 (52%)	51 (51,5%)	27 (46,6%)	
3-5	47 (37%)	41 (41,4%)	29 (50%)	
6 i više članova	14 (11%)	7 (7,1%)	2 (3,4%)	
<b>Tip domaćinstva</b>	Nema podataka: N= 3	Nema podataka: N= 7		0,054
Gradski stan	119 (36,7%)	95 (45,2%)	56 (45,2%)	
Gradska kuća	145 (44,8%)	75 (35,7%)	46 (37,1%)	
Seosko	60 (18,5%)	40 (19,1%)	22 (17,7%)	
<b>Zanimanje</b>	Nema podataka: N= 5	Nema podataka: N= 5		0,36 <sup>4</sup>
Učenik/student	19 (5,9%)	6 (2,8%)	6 (4,8%)	
Djelatnik	125 (38,8%)	85 (40,1%)	66 (53,2%)	
Službenik	40 (12,4%)	31 (14,6%)	5 (4%)	
Umirovljenik/nezaposlen	113 (35,1%)	71 (33,5%)	34 (27,4%)	
Ostalo	25 (7,8%)	19 (9%)	13 (10,5%)	
<b>Pušenje DA</b> (Nema podataka: N = 388)	38 (nedostaje 203; 30,6%)	30 (nedostaje 120; 30,9%)	16 (nedostaje 65; 27,1%)	0,90
<b>Alkohol</b> (Nema podataka: N = 388)	Nema podataka: N= 203	Nema podataka: N= 120	Nema podataka: N= 65	
NE	95 (76,6%)	70 (72,2%)	46 (78%)	0,93
Na tjednoj bazi	21 (16,9%)	27 (27,8%)	11 (18,6%)	0,25
Svakodnevno	8 (6,5%)	0	2 (3,4%)	0,047
<b>Malignom želuca u bliskog srodnika</b> (Nema podataka: N = 393)	8 (nedostaje 203; 6,5%)	7 (nedostaje 122; 7,4%)	6 (nedostaje 68; 10,7%)	0,65

\* p se odnosi na usporedbu broja *Helicobacter pylori* negativnih i ukupnog broja pozitivnih pacijenata bez obzira na laboratorijsku metodu kojom su dokazani

<sup>1</sup> SV: srednja vrijednost

<sup>2</sup> SD: standardna devijacija

<sup>3</sup> p-vrijednost za Fisherov egzaktni test

<sup>4</sup> p-vrijednost za  $\chi^2$ -kvadrat test

Tip domaćinstva je gotovo statistički značajno povezan sa stopom pozitivnosti nalaza *H. pylori*, odnosno razlika u pozitivnosti među podgrupama postoji, ali ne postiže statističku značajnost. Također, podskupina ispitanika koji svakodnevno konzumiraju alkohol imala je statistički značajno češće negativan nalaz na *H. pylori*, no radi se o podskupini s malim brojem ispitanika pa je donošenje zaključaka na temelju provedene statističke analize upitno.

**Tablica 7.2.** prikazuje odnos pojedinih kliničkih obilježja te rezultata dijagnostičkih testova bioptata sluznice želuca na *H. pylori*.

**Tablica 7.2.** Odnos pojedinih kliničkih obilježja te rezultata dijagnostičkih testova bioptata sluznice želuca na *Helicobacter pylori*

Varijabla	<i>Helicobacter pylori</i> negativan (N=327)	<i>Helicobacter pylori</i> pozitivan (N=341)		P*
		Mikroskopski + ureaza test (N=217)	Kultura (N=124)	
	N (%)			
<b>Subjektivne tegobe</b> (Nema podataka: N= 386)	Nema podataka: N= 202	Nema podataka: N= 118	Nema podataka: N= 66	
Bol u trbuhu	73 (58,4%)	51 (51,5%)	23 (39,7%)	0,07
Bol iza prsne kosti	30 (24%)	21 (21,2%)	14 (24,1%)	0,78
Žgaravica	63 (50,4%)	56 (56,6%)	35 (60,3%)	0,23
Nadutost	62 (49,6%)	53 (53,5%)	30 (51,7%)	0,63
Dugotrajni kašalj	14 (11,2%)	13 (13,1%)	6 (10,3%)	0,85
Mršavljenje	18 (14,4%)	8 (8,1%)	3 (5,2%)	0,049
Ostale tegobe	19 (15,2%)	13 (13,1%)	7 (12,1%)	0,60
<b>Stanje uhranjenosti</b> (Nema podataka: N= 385)	Nema podataka: N= 202	Nema podataka: N= 118	Nema podataka: N= 65	
Pothranjenost	3 (2,4%)	0	1 (1,7%)	0,66
Normalna uhranjenost	51 (40,8%)	44 (44,4%)	19 (32,2%)	
Preuhranjenost	48 (38,4%)	37 (37,4%)	24 (40,7%)	
Pretilost	23 (18,4%)	18 (18,2%)	15 (25,4%)	
<b>Kronične bolesti</b> (Nema podataka: N= 553)	Nema podataka: N= 275	Nema podataka: N= 177	Nema podataka: N= 101	
Kardiovaskularne	33 (63,5%)	15 (37,5%)	14 (60,9%)	0,09
Diabetes mellitus	10 (19,2%)	10 (25%)	4 (17,4%)	0,82
Reumatološke/imunološke	16 (30,8%)	10 (25%)	4 (17,4%)	0,39
Ostale bolesti	8 (15,4%)	17 (42,5%)	7 (30,4%)	0,007
<b>Prethodno liječen <i>H.p.</i><sup>1</sup></b> (Nema podataka: N= 17)	105 (nedostaje 11; 33,2%)	63 (nedostaje 6; 29,9%)	26 (21%)	0,07
<b>Korištenje pojedinačnih antibiotika unazad 3 mj.</b> (Nema podataka: N= 145)	51 (nedostaje 80; 20,6%)	45 (nedostaje 43; 25,9%)	17 (nedostaje 22; 16,7%)	0,87
<b>Korištenje PPI<sup>2</sup> unazad 3 mj.</b> (Nema podataka: N= 220)	159 (nedostaje 100; 70%)	114 (nedostaje 71; 78,1%)	54 (nedostaje 49; 72%)	0,21

\* p se odnosi na usporedbu broja *Helicobacter pylori* negativnih i ukupnog broja pozitivnih pacijenata bez obzira na laboratorijsku metodu kojom su dokazani; p-vrijednost za Fisherov egzaktni test

<sup>1</sup> *H.p.*: *Helicobacter pylori*

<sup>2</sup> IPP (engleski „proton pump inhibitor“): inhibitor protonске pumpe

Mršavljenje kao subjektivnu tegobu češće navode *H. pylori* negativni te je navedena razlika granično statistički značajna. Također, može se primijetiti kako su oni koji su prethodno liječeni helikocidnom terapijom bilo kada u životu češće bili *H. pylori* negativni, no razlika ne postiže statističku značajnost.

**Tablica 7.3.** prikazuje Odnos endoskopskog nalaza EGDS i rezultata dijagnostičkih testova bioptata sluznice želuca na *H. pylori*.

**Tablica 7.3.** Odnos endoskopskog nalaza ezofagogastroduodenoskopije i rezultata dijagnostičkih testova bioptata sluznice želuca na *Helicobacter pylori*

Varijabla	<i>Helicobacter pylori</i> negativan (N=327)	<i>Helicobacter pylori</i> pozitivan (N=341)		P*
		Mikroskopski + ureaza test (N=217)	Kultivacija (N=124)	
	N (%)			
<b>Endoskopski nalaz EGDS<sup>1</sup></b>				
GERB <sup>2</sup>	59 (18,0%)	40 (18,4%)	24 (19,4%)	0,84
Malignom jednjaka	0	0	0	
Insuff. LES <sup>3</sup>	186 (56,9%)	134 (61,8%)	67 (54,0%)	0,64
Hernia hiatalis	34 (10,4%)	26 (12%)	16 (12,9%)	0,62
Ostala patologija jednjaka	3 (0,9%)	0	3 (2,4%)	1,00
Gastritis	317 (97%)	211 (97,2%)	122 (98,4%)	0,64
Želučani vrijed	4 (1,2%)	0	0	0,06
Malignom želuca	0	0	0	
Ostala patologija želuca	18 (5,5%)	6 (2,8%)	4 (3,2%)	0,12
Bulbitis/duodenitis	8 (2,5%)	3 (1,4%)	3 (2,4%)	0,60
Vrijed duodenuma	0	2 (0,9%)	1 (0,8%)	0,25
Ostala patologija duodenuma	3 (0,9%)	3 (1,4%)	0	1,00

\* p se odnosi na usporedbu broja *Helicobacter pylori* negativnih i ukupnog broja pozitivnih pacijenata bez obzira na laboratorijsku metodu kojom su dokazani; p-vrijednost za Fisherov egzakti test

<sup>1</sup> EGDS: ezofagogastroduodenoskopija

<sup>2</sup> GERB: gastroezofagealna refluksna bolest

<sup>3</sup> Insuff. LES: insuficijencija donjeg sfinktera jednjaka

Kod obje skupine najčešće nađena patologija je gastritis i to kod *H. pylori* negativnih vs. pozitivnih 97% vs. 97,8%, zatim slijede insuficijencija donjeg ezofagealnog sfinktera (56,9% vs. 58,9%), GERB (18,0% vs. 18,8%) i hijatalna hernija (10,4% vs. 12,3%), dok malignom jednjaka niti želuca nije zabilježen niti u jednoj od navedene dvije skupine. U skupini *H. pylori* negativnih su zabilježena četiri vrijeda želuca, a u skupini *H. pylori* pozitivnih tri vrijeda duodenuma, no zbog malih brojeva navedene razlike ne postižu statističku značajnost.

Od 124 *H. pylori* izolata njih 98/124 (79,03%) odnosilo se na primarne izolate, dok se 26/124 (20,97%) odnosilo na sekundarne izolate.

**Tablica 7.4.** prikazuje primarnu i sekundarnu rezistenciju sojeva *H. pylori* na promatrane antibiotike.

**Tablica 7.4.** Primarna i sekundarna rezistencija sojeva *Helicobacter pylori* na promatrane antibiotike

Vrsta antibiotika	Primarna rezistencija (N primarnih izolata = 98) N (%) rezistentnih	Sekundarna rezistencija (N sekundarnih izolata = 26) N (%) rezistentnih	P*
Amoksicilin	0	0	
Klaritromicin	13 (13,3%)	7 (26,9%)	0,13
Metronidazol	40 (40,8%)	19 (73,1%)	0,004
Tetraciklin	0	0	
Levofloksacin	4 (4,1%)	1 (3,8%)	1,00

\* p-vrijednost za Fisherov egzaktni test

Ukupna rezistencija sojeva *H. pylori* na klaritromicin iznosi 16,1%, na metronidazol 47,6% i na levofloksacin 4,0%. Izdvaja se statistički značajan porast rezistencije sekundarnih izolata na metronidazol.

Zabilježena su četiri slučaja dvostruke rezistencije na metronidazol i levofloksacin (3,3%), od čega su tri primarna (3,1%) i jedna sekundarna (3,8%) rezistentna slučaja. Također, 14 je pacijenata rezistentno na metronidazol i klaritromicin (11,3%), od čega 8 primarno (8,2%), a 6 sekundarno (23,1%). Nije bilo slučajeva trostruke rezistencije na lijekove.

**Tablica 7.5.** prikazuje odnos razine sekundarne rezistencije *H. pylori* na pojedine antibiotike i broja prethodno provedenih helikocidnih terapija.

**Tablica 7.5.** Prikaz odnosa stope rezistencije *Helicobacter pylori* na pojedine antibiotike i broja prethodno provedenih helikocidnih terapija

Vrsta antibiotika (N=124)	Stopa rezistencije N (%)			P*
	Broj provedenih helikocidnih terapija			
	0x (N primarnih izolata = 98) N i % rezistentnih	1x (N izolata = 18) N i % rezistentnih	≥2x (N izolata = 8) N i % rezistentnih	
<b>Amoksisilin</b>	0	0	0	
<b>Klaritromicin</b>	13; 13,3%	3; 16,7%	4; 50%	0,034
<b>Metronidazol</b>	40; 40,8%	14; 77,8%	5; 62,5%	0,009
<b>Tetraciklin</b>	0	0	0	
<b>Levofloksacin</b>	4; 4,1%	1; 5,9%	0	0,69

\* Fisher-ov egzaktni test

Postoji statistički značajna razlika u stopama rezistencije na klaritromicin i na metronidazol u odnosu na broj prethodnih helikocidnih terapija, tj. postoji značajan porast rezistencije s porastom helikocidnih terapija.

Podatak o prethodnom korištenju antibiotika za drugu indikaciju (a ne u okviru pokušaja eradikacije *H. pylori*) prikupljen je za 79/98 (80,6%) pacijenata s primarnim izolatima *H. pylori*. Među njima njih 41/79 (51,9%) je trošilo antibiotik unutar 1 godine prije EGDS, njih 21/79 (26,6%) prije 1-5 godina, a njih 17/79 (21,5%) prije više od 5 godina. **Tablica 7.6.** prikazuje navedene podatke.

**Tablica 7.6.** Prikaz odnosa prethodnog korištenja antibiotika za drugu indikaciju i primarne rezistencije *Helicobacter pylori* na promatrane antibiotike

Korišteni antibiotik N= 79	Korištenje antibiotika prije EGDS <sup>1</sup>			P*
	Unutar 1 godine N= 41	Prije 1 – 5 godina N= 21	Prije >5 godina N= 17	
<b>Klaritromicin</b>	5 (12,2%)	2 (9,5%)	2 (11,8%)	1,00
<b>Metronidazol</b>	18 (43,9%)	11 (52,4%)	5 (29,4%)	0,51
<b>Levofloksacin</b>	1 (2,4%)	1 (4,8%)	0	0,31

<sup>1</sup> EGDS: ezofagogastroduodenoskopija

\* Fisherov egzaktni test



Nema statistički značajne ovisnosti postojanja primarne rezistencije na antibiotike (klaritromicin, metronidazol i levofloksacin) i korištenja sporadičnih antibiotika prije EGDS, bez obzira na period kad su korišteni.

**Tablica 7.7.** prikazuje utjecaj broja prethodno provedenih helikocidnih terapija i prethodnog korištenja antibiotika za druge indikacije na rezistenciju *H. pylori* na klaritromicin, metronidazol i levofloksacin.

**Tablica 7.7.** Logistička regresija za utjecaj broja prethodno provedenih helikocidnih terapija i prethodnog korištenja antibiotika za druge indikacije na rezistenciju *Helicobacter pylori* na pojedine antibiotike.

Vrsta antibiotika	Varijabla			
	Broj provedenih helikocidnih terapija		Korištenje antibiotika prije EGDS	
	Koeficijent	p*	Koeficijent	p*
Klaritromicin	0,6549	0,019	-0,082	0,82
Metronidazol	0,6798	0,030	-0,183	0,42
Levofloksacin	-0,2793	0,734	-0,551	0,48

\* p-vrijednost za Waldov test

Rezultati logističke regresije pokazuju da povećanjem broja prethodno provedenih terapija raste udio sojeva rezistentnih na klaritromicin i metronidazol. Takav utjecaj nije uočen za levofloksacin. Utjecaj prethodnog korištenja navedenih antibiotika za druge indikacije prije EGDS na udio rezistentnih sojeva nije uočen.

Za testiranje hipoteza definiraju se sljedeće nul-hipoteze i njima alternativne hipoteze:

$H^1_0$ : Stopa primarne rezistencije izolata *H. pylori* na klaritromicin je  $\leq 30\%$ .

$H^1_A$ : Stopa primarne rezistencije izolata *H. pylori* na klaritromicin je  $> 30\%$ .

$H^2_0$ : Stopa primarne rezistencije izolata *H. pylori* na metronidazol je  $\leq 30\%$ .

$H^2_A$ : Stopa primarne rezistencije izolata *H. pylori* na metronidazol je  $> 30\%$ .

$H^3_0$ : Stopa primarne rezistencije na levofloksacin je  $\leq 15\%$ .

$H^3_A$ : Stopa primarne rezistencije na levofloksacin je  $> 15\%$ .

$H^4_0$ : Stopa primarne rezistencija na amoksicilin je  $\geq 5\%$ .

$H^4_A$ : Stopa primarne rezistencija na amoksicilin je  $< 5\%$ .

$H^5_0$ : Stopa primarne rezistencija na tetraciklin je  $\geq 5\%$ .

$H^5_A$ : Stopa primarne rezistencija na tetraciklin je  $< 5\%$ .

**Tablica 7.8.** prikazuje testiranje hipoteza.

**Tablica 7.8.** Testiranje hipoteza o stopi primarne rezistencije

Hipoteza	Vrsta antibiotika	Primarna rezistencija		Stopa primarne rezistencije iz nul-hipoteze	p*
		N	%	%	
H <sub>1</sub>	Klaritromicin	13	13,3	$\leq 30$	1,00
H <sub>2</sub>	Metronidazol	40	40,8	$\leq 30$	0,015
H <sub>3</sub>	Levofloksacin	4	4,1	$\leq 15$	1,00
H <sub>4</sub>	Amoksicilin	0	0,0	$\geq 5$	0,007
H <sub>5</sub>	Tetraciklin	0	0,0	$\geq 5$	0,007

\* p-vrijednost za jednostrani binomni test

Vidimo da ne odbacujemo hipoteze  $H^1_0$  i  $H^3_0$  te ne možemo zaključiti da vrijede hipoteze  $H^1$  i  $H^3$ , tj. nismo pokazali da je stopa rezistencije na klaritromicin veća od 30% i da je stopa rezistencije na levofloksacin veća od 15%. Nadalje, odbacujemo hipoteze  $H^2_0$ ,  $H^4_0$  i  $H^5_0$  što znači da prihvaćamo hipoteze  $H^2$ ,  $H^4$  i  $H^5$ , odnosno pokazana je stopa rezistencije na metronidazol veća od 30% te stope rezistencija na amoksicilin i na tetraciklin manje od 5%.

## 8. RASPRAVA

U ovom istraživanju nađena je primarna rezistencija na klaritromicin 13,3%, na metronidazol 40,8% i 4,1% na levofloksacin. Utvrđene su i ukupne rezistencije od 16,1% na klaritromicin, 47,6% na metronidazol i 4,0% na levofloksacin. Plečko i suradnici su među pacijentima koji gravitiraju u Klinički bolnički centar Zagreb i Kliničku bolnicu Merkur zabilježili primarnu rezistenciju na makrolide u 10,2% sojeva, a 29,9% sojeva je bilo rezistentno na metronidazol te je zabilježen porast primarne rezistencije na makrolide i metronidazol u razdoblju od 1994. do 2011. (23). Naime, u prvih pet godina istraživanja rezistencija na makrolide iznosila je 7%, a na metronidazol 32%, u sljedećih sedam 14,6% na makrolide i 23,6% na metronidazol, a u posljednjih pet godina 25,6% na makrolide i 46,5% na metronidazol (23). Uspoređujući naše s tim podacima, vidimo da je došlo do blagog pada primarne rezistencije na klaritromicin i metronidazol među pacijentima koji gravitiraju zagrebačkim Klinikama. U navedenom istraživanju Plečka i suradnika nema podataka za levofloksacin jer se navedeni lijek u navedenoj populaciji počeo koristiti tek od godine 2010. Istraživanje koje su na području južne Hrvatske proveli Tonkić i suradnici 2012. godine pokazalo je statistički značajno smanjenje primarne rezistencije na klaritromicin u odnosu na njihove prethodne studije na istom području iz 2005. i 2006. godine, koja je još uvijek bila visoka (20%) (20). U razdoblju 2006. – 2007. utvrđen je značajan porast prevalencije primarne rezistencije na klaritromicin u odnosu na razdoblje 2003. – 2004. (21%), dosegnuvši alarmantnu stopu od 34,8%, dok je istraživanjem u KBC-u Split kod pacijenata s ulkusnom bolešću i neulkusnom dispepsijom u razdoblju 2008. – 2010. godine otkriveno statistički značajno smanjenje primarne rezistencije na klaritromicin (20%) (20–22). Ukupna rezistencija sojeva *H. pylori* na metronidazol bila je relativno niska (10,2%) i također niža nego u razdoblju 2006.-2007. (11,4%), ali bez statistički značajne razlike, a nađena je i niska primarna rezistencija na levofloksacin (4,6%) (20). Vidimo kako se podatci o rezistenciji na metronidazol znatno razlikuju od dobivenih u ovom istraživanju, dok su rezistencije na levofloksacin gotovo jednake. U novijoj studiji na području Primorsko-goranske županije 2018. godine Bubonja-Šonje i suradnici su pokazali stopu ukupne rezistencije od 56% na klaritromicin, 52% na metronidazol, 13% na levofloksacin, 0,8% na amoksicilin, a niti jedan izolat nije bio rezistentan na tetraciklin (19), što su znatno više vrijednosti od onih uočenih u ovom istraživanju. Prema istraživanju Savoldi i suradnika iz 2018. godine stope primarne i sekundarne rezistencije na klaritromicin, metronidazol i levofloksacin bile su  $\geq 15\%$  u svim promatranim regijama svijeta, osim primarne rezistencije na klaritromicin koja je u Americi i jugoistočnoj Aziji iznosila 10% te primarne rezistencije na levofloksacin od 11% u Europi. Prevalencija primarne rezistencije na klaritromicin bila je  $>15\%$  u Europi u 11 od 15 zemalja (18%), a posebno na istočnom

Mediteranu (33%) i u zapadnoj Europi (34%) (99), što je sve više od vrijednosti u ovom istraživanju. Primarna rezistencija na metronidazol iznosila je >15% u svim promatranim područjima svijeta i kretala se od 56% na istočnom Mediteranu do 23% u Americi (99), dok ovdje utvrđenih 40,8% smješta našu zemlju bliže zemljama istočnog Mediterana. Primarna rezistencija na levofloksacin bila je također >15% u svim promatranim područjima, osim u Europi (11%) (99), što je više od rezistencije nađene u ovom istraživanju. Primarne rezistencije na amoksisilin i tetraciklin bile su <10% posvuda (99), a u skladu s tim su i rezultati ovog istraživanja. U istraživanju Megraud i suradnika iz 2021. stope primarne rezistencije *H. pylori* bile su 21,4% za klaritromicin, 15,8% za levofloksacin i 38,9% za metronidazol i bile su značajno veće u zemljama srednje/zapadne i južne Europe nego u zemljama sjeverne Europe te je ustanovljeno kako u usporedbi s prethodnim desetljećem, rezistencija na klaritromicin pokazuje ograničen porast, a rezistencija na levofloksacin pokazuje stabilizaciju nakon smanjenja potrošnje tih antibiotika za druge infekcije u zajednici. Također, u usporedbi s rezultatima njihovih prethodnih studija iz 1998. i 2008. primjećuje se da globalni porast rezistencije na klaritromicin između 2008. i 2018. (sa 17,5% na 21,4%,  $p < 0,05$ ) nije bio visok koliko se moglo očekivati na temelju promatranja u desetljeću prije, tj. 1% godišnje (100). Prema podacima studije Flores-Treviño i suradnika provedene 2018. godine o ukupnoj rezistenciji na antibiotike, prevalencija rezistencije na klaritromicin (9%) i levofloksacin u Oceaniji (10,0%), kao i na metronidazol u Africi (45%) najbližije su onima utvrđenim u ovom istraživanju (16,1%, 4,0% i 47,6%). Nadalje, kao ni kod nas, rezistencija na tetraciklin nije pronađena ni u Austriji, Francuskoj, Islandu, Poljskoj, Butanu, Hong Kongu, Maleziji, Mianmaru, Novom Zelandu, Nepal, Turskoj, Alžiru i Maroku (101). Primijećeno je također da je razina ukupne rezistencije *H. pylori* na klaritromicin i levofloksacin u južnoeuropskim zemljama bila >20%, a u sjevernoj Europi, odnosno Norveškoj <10%, čemu su bliži i podatci ovog istraživanja. U istom istraživanju uočeno je i progresivno smanjenje rezistencije na metronidazol (102).

Nizom studija utvrđena je alarmantna prisutnost trostruke, četverostruke i, u nekim studijama, peterostruke i šestostruke rezistencije *H. pylori* na antibiotike. Za razliku od ovog istraživanja, gdje je dvostruka rezistencija utvrđena u 11 primarnih izolata (11,2%), stope višestruke primarne rezistencije kretale su se od <10% u većini europskih zemalja do >40% u Peruu, a ukupne stope bile su >23-36% u otprilike polovici studija (103). Primarna dvostruka rezistencija na klaritromicin i metronidazol u većini svijeta je <10% pa i u ovom istraživanju (8,2%), međutim, prosjek za europske zemlje je dosegao 18% prema istraživanju koje su proveli Savoldi i suradnici 2018. (99). Iako su dosadašnje studije pokazale da su stope dvostruke i trostruke rezistencije sojeva *H. pylori* veće u južnoj Europi (15% odnosno 7,5%) u odnosu na sjevernu Europu (3,5% odnosno 0,3%) (102), rezultati ove studije odudaraju od

navedenog opažanja. Podatci iz južne Hrvatske iz godine 2005. pokazali su nisku prevalenciju dvostruko rezistentnih sojeva na klaritromicin i metronidazol (2,6%) (21), dok je u ovom istraživanju prevalencija znatno viša i iznosi 11,3% (primarna 8,2%). Drugačiji su rezultati iz Primorsko-goranske županije iz godine 2018. gdje je 26% izolata bilo dvostruko rezistentno na klaritromicin i metronidazol, 9 % izolata je bilo rezistentno još i na levofloksacin ili rifampicin, dok je 1 % sojeva bio rezistentan na sva četiri antibiotika (19).

U ovom je istraživanju uočeno da je veći udio pacijenata koji su prethodno bili liječeni helikocidnom terapijom nađen u grupi *H. pylori* negativnih, no razlika ne postiže razinu statističke značajnosti ( $p=0,07$ ). Također je utvrđeno povećanje rezistencije na klaritromicin i metronidazol s povećanjem broja prethodno provedenih helikocidnih terapija, što za levofloksacin nije utvrđeno. Dosadašnje su studije pokazale da je rezistencija na klaritromicin značajno povezana s neuspjehom eradikacije *H. pylori* terapijskim shemama koje sadrže klaritromicin (101) i da prethodna upotreba klaritromicina i drugih makrolida poput azitromicina, za koje je *in vitro* dokazana unakrsna rezistencija, također nosi rizik od razvoja rezistencije u sojeva *H. pylori* (19,104). Erkut i suradnici su logističkom regresijom pokazali da je prijašnja uporaba klaritromicina bila jedini neovisni čimbenik rizika za primarnu rezistenciju *H. pylori* u njihovom istraživanju (105), a Megraud i suradnici su također potvrdili pozitivnu korelaciju između potrošnje makrolida i kinolona u zajednici i odgovarajuće rezistencije *H. pylori* u europskim zemljama, kao i pozitivnu korelaciju između rezistencije *H. pylori* i konzumacije odgovarajućih antibiotika u zajednici (100).

S obzirom da je u ovom istraživanju utvrđena ukupna rezistencija od 16,1% (primarna 13,3%) na klaritromicin, prema smjernicama s posljednje Konsenzusne konferencije Europskog društva za proučavanje helikobaktera "Maastricht V" za regije u kojima je rezistencija na klaritromicin >15% treba napustiti trostruku terapiju koja sadrži PPI-klaritromicin bez prethodnog ispitivanja osjetljivosti te se umjesto trostruke terapije klaritromicinom treba primijeniti ili četverostruku terapiju s bizmutom ili konkomitantnu terapiju (IPP uz amoksisilin, klaritromicin i metronidazol). Izbor terapije ovisi o proširenosti rezistencije na metronidazol te proširenosti dvojne rezistencije na klaritromicin i metronidazol (25). Ekspertna hrvatska grupa u posljednjem Hrvatskom postupniku iz 2014. navodi da se u dijelovima Hrvatske u kojima je primarna rezistencija na klaritromicin viša od 20% treba provesti testiranje osjetljivosti na klaritromicin prije primjene IPP-trojne terapije s klaritromicinom te preporučuje »sekvencijsku« 10-dnevnu terapiju ili IPP-amoksisilin-metronidazol u trajanju od 10 do 14 dana kao terapiju prve linije (73). Međutim, prilagođavanje terapije prve linije prema osjetljivosti na antibiotike ne osigurava eradikaciju bakterija u svim slučajevima, što sugerira da ispitivanje osjetljivosti *in vitro* ne predviđa točno *in vivo* učinkovitost antibiotika kada su bakterijski sojevi kategorizirani na temelju fiksne granične vrijednosti te bi daljnja istraživanja mogla dovesti do ponovne

procjene i određivanja novih graničnih točaka minimalne inhibitorne koncentracije (106). Suzuki i suradnici ističu kako su empirijska četverostruka terapija s bizmutom tijekom 10-14 dana i trostruka terapija na bazi vonoprazana tijekom 7 dana trenutno preporučeni režimi liječenja *H. pylori* u Japanu i pokazuju dobre stope eradikacije od približno 90%, čak i u područjima s visokom rezistencijom na antimikrobne lijekove. Također ističu mogućnost korištenja dvojne terapije koja se sastoji od vonoprazana i amoksicilina, koja je najjednostavniji režim liječenja koji može osigurati dovoljne stope eradikacije i poboljšati sigurnost i podnošljivost, a također minimizira svaki doprinos budućim razinama antimikrobne rezistencije i svaki značajan utjecaj na crijevnu mikrobiotu (107).

U ovom istraživanju je nađeno da je statistički značajna razlika u svakodnevnoj konzumaciji alkohola među skupinama s većim udjelom kod negativnih na *H. pylori*, što je pokazano i nekim drugim istraživanjima, odnosno nađena je inverzna veza na način da je veći udio negativnih na *H. pylori* što je učestalija konzumacija alkohola (108–111). Navedeno bi moglo ukazivati da osobe koje učestalo koriste alkohol dolaze na EGDS češće zbog tegoba uzrokovanih alkoholnim nego infektivnim gastritisom. Za razliku od ovog istraživanja kojim nisu utvrđene razlike u rezistenciji *H. pylori* među spolovima, istraživanja s područja južne Hrvatske pokazuju statistički značajno češću rezistenciju na makrolide i na metronidazol kod sojeva izoliranih od žena, što se objašnjava velikom potrošnjom makrolida u našoj zemlji za terapiju respiratornih i ginekoloških infekcija i primjenom metronidazola u terapiji ginekoloških i stomatoloških infekcija (20–22). Jednako tako u ovom istraživanju nije nađena statistički značajna povezanost BMI i pozitivnosti na *H. pylori*, dok je u Kini pretilost povezana s učestalošću HPI, a jednako tako HPI može biti jedan od čimbenika rizika za pretilost (112,113), a u Americi je uspjeh prilagođene terapije niska osobito u onih s visokim BMI (114). Iako terapija IPP-om nije imala utjecaja na pozitivnost na *H. pylori* u bolesnika u ovom istraživanju, poveznica je nađena u istraživanju u Turskoj 2020. i pozitivnost je bila rjeđa kod onih koji su koristili IPP (105). U tom se istraživanju logističkom regresijom pokazalo da su dob i prisutnost duodenalnog ulkusa neovisni čimbenici rizika za pozitivnost na *H. pylori*, s tim da je prisutnost duodenalnog ulkusa povećala stopu pozitivnosti 5,4 puta, a svako jednogodišnje povećanje dobi pacijenta smanjilo je stopu pozitivnosti 0,96 puta. Suprotno rezultatima drugih istraživanja, u ovom istraživanju je mršavljenje zabilježeno češće kod *H. pylori* negativnih pacijenata, dok podatci iz drugih istraživanja pokazuju gubitak težine u sprezi s HPI (112,115).

Najčešće nađene patologije u ovom istraživanju su gastritis i to kod *H. pylori* negativnih 97% i 97,8% kod pozitivnih, zatim slijede Insuff. LES (56,9% i 58,9%), GERB (18,0% i 18,8%) i Hernia hiatalis (10,4% i 12,3%), a kod nijednih nisu zabilježeni slučajevi malignoma jednjaka ni želuca. Primjećujemo da su želučani vrijed imale samo osobe u skupini *H. pylori* negativnih, no mali je broj osoba (4 osobe) i razlika ne postiže statističku značajnost, a duodenalni vrijed

su imali samo *H. pylori* pozitivni, međutim, brojevi su također mali (3 osobe) pa se ne može zaključivati. Međutim, u istraživanju Erkut i suradnika u Turskoj pozitivnost na *H. pylori* je bila značajno češća u bolesnika s ulkusom dvanaesnika u usporedbi s učestalošću u bolesnika sa želučanim ulkusom, gastritisom ili neulkusnom dispepsijom (71% prema 38,1%, odnosno 36,4%,  $p=0,001$ ) (105).

Nedostatak ove studije jest to što je provedena u jednoj ustanovi, njen retrospektivni dizajn, kao i nedostatak znatne količine podataka u pojedinim kategorijama.

## 9. ZAKLJUČAK

- Rezultati ovog istraživanja pokazuju da je u promatranj populaciji primarna rezistencija sojeva *H. pylori* na klaritromicin manja od 15%, što je prema smjernicama iz Maastrichta granica pri kojoj se preporučuje kultivaciju i antimikrobno testiranje uzoraka prije prve helikoidne terapije, stoga je u promatranom uzorku opravdano korištenje klaritromicina u prvoj empirijskoj helikoidnoj kombinaciji
- Zbog visoke razine primarne rezistencije na metronidazol od 40,8% u promatranj populaciji bi već kod prve helikoidne terapije trebalo preporučiti duže korištenje metronidazola u većim dozama ili dodavanje preparata bizmuta kako bi se nadišla rezistencija
- Primarna rezistencija na levofloksacin, kao i dvojne rezistencije, u promatranom su uzorku niske, dok rezistencije na amoksicilin i tetraciklin nisu zabilježene, što navedene lijekove čini pogodnim za liječenje HPI u promatranj populaciji



## 10. LITERATURA

1. Gu H. Role of Flagella in the Pathogenesis of *Helicobacter pylori*. *Curr Microbiol.* srpanj 2017.;74(7):863–9.
2. Katičić M., Presečki V., Kalenić S., Dominis M. *Helicobacter pylori* - uvod i pregled istraživanja. *Liječnički Vjesn.* 2002.;124(Suppl 1):1-5.
3. Brown LM. *Helicobacter Pylori*: Epidemiology and Routes of Transmission. *Epidemiol Rev.* 01. siječanj 2000.;22(2):283–97.
4. Kalenić S, Plečko V, Presečki V i sur. *Helicobacter pylori* -bakteriološke značajke. *Liječnički Vjesn.* 2002.;124(Suppl 1):10-13.
5. Strnad M, Presečki V, Babuš V i sur. Epidemiologija *Helicobacter pylori* infekcije. *Liječnički Vjesn.* 2002.;124(Suppl 1):5-9.
6. De Falco M, Lucariello A, Iaquinto S, Esposito V, Guerra G, De Luca A. Molecular Mechanisms of *Helicobacter pylori* Pathogenesis: *H. PYLORI* AND GASTRIC CANCER. *J Cell Physiol.* kolovoz 2015.;230(8):1702–7.
7. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, i ostali. Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology.* kolovoz 2017.;153(2):420–9.
8. Buzás GM. *Helicobacter pylori* – 2021. *Orv Hetil.* 08. kolovoz 2021.;162(32):1275–82.
9. Burucoa C, Axon A. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* rujan 2017.;22:e12403.
10. Everhart JE, Kruszon-Moran D, Perez-Perez GI, Tralka TS, McQuillan G. Seroprevalence and Ethnic Differences in *Helicobacter pylori* Infection among Adults in the United States. *J Infect Dis.* travanj 2000.;181(4):1359–63.
11. Smith SI, Seriki A, Ndip R, Pellicano R. *Helicobacter pylori* infection in Africa: 2018 literature update. *Minerva Gastroenterol Dietol.* rujan 2018.;64(3):222–34.
12. Babuš V, Presečki V, Katičić M i sur. Rasprostranjenost infekcije s *Helicobacter pylori* u odrasloj populaciji Hrvatske. *Liječnički Vjesn.* 1997.;(119):139–42.
13. Marušić M, Presečki V, Katičić M, Bilić A, Jurčić D, Schwarz D. Seroprevalence of *Helicobacter Pylori* Infection in Dyspeptic Patients. *Coll Antropol.* 2008.;(32):1149–53.
14. Brkić DV, Žele Starčević L, Tripković V i sur. Epidemiologija *Helicobacter pylori* infekcije u Hrvatskoj, knjiga sažetaka, O-6 str. 25 [Internet]. CROCMID; 2019. Dostupno na: [https://www.bib.irb.hr/1052917/download/1052917.Knjiga\\_sazetaka\\_CROCMID\\_2019\\_3.pdf](https://www.bib.irb.hr/1052917/download/1052917.Knjiga_sazetaka_CROCMID_2019_3.pdf)
15. Cui R, Zhou L. *Helicobacter pylori* infection: an overview in 2013, focus on therapy. *Chin Med J (Engl).* 2014.;127(3):568–73.
16. Alba C, Blanco A, Alarcón T. Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: *Curr Opin Infect Dis.* listopad 2017.;30(5):489–97.

17. Megraud F, Coenen S, Versporten A, Kist M, Lopez-Brea M, Hirschl AM, i ostali. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. Gut. siječanj 2013.;62(1):34–42.
18. Zhang M. High antibiotic resistance rate: A difficult issue for *Helicobacter pylori* eradication treatment. World J Gastroenterol. 2015.;21(48):13432.
19. Bubonja-Šonje M, Gregorović-Kesovija P, Ambrožić D, Pružinec-Popović B, Abram M. *Helicobacter pylori* – otpornost na antibiotike u Primorsko-goranskoj županiji. Med Flum Med Flum. 01. rujan 2018.;54(3):274–81.
20. Tonkic A, Tonkic M, Brnic D, Novak A, Puljiz Z, Simunic M. Time trends of primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolates in Southern Croatia. J Chemother. lipanj 2012.;24(3):182–4.
21. Tonkić A, Tonkić M, Barišić IG, Jukić I, Miše S. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated in Split, Southern Croatia. Int J Antimicrob Agents. svibanj 2005.;25(5):449–50.
22. Tonkić M, Tonkić A, Goić-Barisić I, Jukić I, Simunić M, Punda-Polić V. Primary resistance and antibiotic minimum inhibitory concentrations for *Helicobacter pylori* strains, in Split, Croatia. J Chemother Florence Italy. kolovoz 2006.;18(4):437–9.
23. Plecko V, Katicic M, Varda Brkic D, Tripkovic V, Starcevic L. Primary resistance of *Helicobacter pylori* to macrolides and metronidazole in the northern part of Croatia. Helicobacter 17 Suppl 1. 2012.;107.
24. Smith SM, O'Morain C, McNamara D. *Helicobacter pylori* resistance to current therapies. Curr Opin Gastroenterol. siječanj 2019.;35(1):6–13.
25. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, i ostali. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence Consensus Report. Gut. siječanj 2017.;66(1):6–30.
26. Goodwin CS, Worsley BW. Microbiology of *Helicobacter pylori*. Gastroenterol Clin North Am. ožujak 1993.;22(1):5–19.
27. Kiehlbauch JA. *Helicobacter cinaedi*—Associated Bacteremia and Cellulitis in Immunocompromised Patients. Ann Intern Med. 15. srpanj 1994.;121(2):90.
28. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins MD, Sly L, i ostali. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., Respectively. Int J Syst Bacteriol. 01. listopad 1989.;39(4):397–405.
29. Salama NR. Cell morphology as a virulence determinant: lessons from *Helicobacter pylori*. Curr Opin Microbiol. travanj 2020.;54:11–7.
30. Yonezawa H, Osaki T, Kamiya S. Biofilm Formation by *Helicobacter pylori* and Its Involvement for Antibiotic Resistance. BioMed Res Int. 2015.;2015:1–9.
31. Hathroubi S, Servetas SL, Windham I, Merrell DS, Ottemann KM. *Helicobacter pylori* Biofilm Formation and Its Potential Role in Pathogenesis. Microbiol Mol Biol Rev. lipanj 2018.;82(2):e00001-18.

32. Ansari S, Yamaoka Y. Survival of *Helicobacter pylori* in gastric acidic territory. *Helicobacter*. kolovoz 2017.;22(4).
33. Gressmann H, Linz B, Ghai R, Pleissner KP, Schlapbach R, Yamaoka Y, i ostali. Gain and Loss of Multiple Genes During the Evolution of *Helicobacter pylori*. Gojobori T, urednik. *PLoS Genet*. 07. listopad 2005.;1(4):e43.
34. Alipour M. Molecular Mechanism of *Helicobacter pylori*-Induced Gastric Cancer. *J Gastrointest Cancer*. ožujak 2021.;52(1):23–30.
35. Šterbenc A, Jarc E, Poljak M, Homan M. *Helicobacter pylori* virulence genes. *World J Gastroenterol*. 07. rujan 2019.;25(33):4870–84.
36. Wan X, Liu C. [Advances in CagA protein and CagA-mediated pathogenesis of *Helicobacter pylori*-A review]. *Wei Sheng Wu Xue Bao*. 04. prosinac 2016.;56(12):1821–30.
37. de Lima Silva LL, Oliveira AKS, Gama AR, Ramos AFPL, Silva AMTC, Blanco AJV, i ostali. *Helicobacter pylori* virulence dupA gene: risk factor or protective factor? *Braz J Microbiol Publ Braz Soc Microbiol*. prosinac 2021.;52(4):1921–7.
38. Olczak AA, Olson JW, Maier RJ. Oxidative-stress resistance mutants of *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol*. lipanj 2002.;184(12):3186–93.
39. Coelho E, Magalhães A, Dinis-Ribeiro M, Reis CA. [Molecular Mechanisms for Adhesion and Colonization of Human Gastric Mucosa by *Helicobacter pylori* and its Clinical Implications]. *Acta Med Port*. kolovoz 2016.;29(7–8):476–83.
40. Xu C, Soyfoo DM, Wu Y, Xu S. Virulence of *Helicobacter pylori* outer membrane proteins: an updated review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. listopad 2020.;39(10):1821–30.
41. Waskito LA, Salama NR, Yamaoka Y. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. rujan 2018.;23 Suppl 1:e12516.
42. González MF, Díaz P, Sandoval-Bórquez A, Herrera D, Quest AFG. *Helicobacter pylori* Outer Membrane Vesicles and Extracellular Vesicles from *Helicobacter pylori*-Infected Cells in Gastric Disease Development. *Int J Mol Sci*. 01. svibanj 2021.;22(9):4823.
43. Razavi A, Bagheri N, Azadegan-Dehkordi F, Shirzad M, Rahimian G, Rafieian-Kopaei M, i ostali. Comparative Immune Response in Children and Adults with *H. pylori* Infection. *J Immunol Res*. 2015.;2015:1–6.
44. Tran LS, Chonwerawong M, Ferrero RL. Regulation and functions of inflammasome-mediated cytokines in *Helicobacter pylori* infection. *Microbes Infect*. rujan 2017.;19(9–10):449–58.
45. Karkhah A, Ebrahimpour S, Rostamtabar M, Koppolu V, Darvish S, Vasigala VKR, i ostali. *Helicobacter pylori* evasion strategies of the host innate and adaptive immune responses to survive and develop gastrointestinal diseases. *Microbiol Res*. siječanj 2019.;218:49–57.
46. Gebert B, Fischer W, Weiss E, Hoffmann R, Haas R. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation. *Science*. 22. kolovoz 2003.;301(5636):1099–102.

47. Brito BB de, Silva FAF da, Soares AS, Pereira VA, Santos MLC, Sampaio MM, i ostali. Pathogenesis and clinical management of *Helicobacter pylori* gastric infection. *World J Gastroenterol.* 07. listopad 2019.;25(37):5578–89.
48. Krznarić J, Begovac J u Begovac J i suradnici. KLINIČKA INFEKTOLOGIJA. U: Klinička infektologija. 1. izd. Medicinska naklada; 2019. str. 739–42.
49. Proença-Modena JL, Acrani GO, Brocchi M. *Helicobacter pylori*: phenotypes, genotypes and virulence genes. *Future Microbiol.* ožujak 2009.;4(2):223–40.
50. Cirak MY, Akyön Y, Mégraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter.* 2007.;12(s1):4–9.
51. Reshetnyak VI, Reshetnyak TM. Significance of dormant forms of *Helicobacter pylori* in ulcerogenesis. *World J Gastroenterol.* 21. srpanj 2017.;23(27):4867–78.
52. Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet Lond Engl.* 09. studeni 1991.;338(8776):1175–6.
53. Neubauer A, Thiede C, Morgner A, Alpen B, Ritter M, Neubauer B, i ostali. Cure of *Helicobacter pylori* infection and duration of remission of low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *J Natl Cancer Inst.* 17. rujan 1997.;89(18):1350–5.
54. Brkic N. The prevalence and characteristics of *Helicobacter pylori*-associated gastritis in dyspeptic patients in Eastern Croatia, determined by immunohistochemistry. *Period Biol.* 30. ožujak 2017.;119(1):75–80.
55. Peters FT, Kuipers EJ, Ganesh S, Sluiter WJ, Klinkenberg-Knol EC, Lamers CB, i ostali. The influence of *Helicobacter pylori* on oesophageal acid exposure in GERD during acid suppressive therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* srpanj 1999.;13(7):921–6.
56. den Hollander WJ, Sostres C, Kuipers EJ, Lanas A. *Helicobacter pylori* and Nonmalignant Diseases. *Helicobacter.* rujan 2013.;18:24–7.
57. Tham KT, Peek RM, Atherton JC, Cover TL, Perez-Perez GI, Shyr Y, i ostali. *Helicobacter pylori* genotypes, host factors, and gastric mucosal histopathology in peptic ulcer disease. *Hum Pathol.* ožujak 2001.;32(3):264–73.
58. Pounder RE. *Helicobacter pylori* and NSAIDs--the end of the debate? *Lancet Lond Engl.* 05. siječanj 2002.;359(9300):3–4.
59. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and the risk for duodenal and gastric ulceration. *Ann Intern Med.* 15. lipanj 1994.;120(12):977–81.
60. Humans IWG on the E of CR to. Schistosomes, Liver Flukes and *Helicobacter pylori*. International Agency for Research on Cancer; 1994.
61. Peek RM, Moss SF, Tham KT, Pérez-Pérez GI, Wang S, Miller GG, i ostali. *Helicobacter pylori* cagA+ strains and dissociation of gastric epithelial cell proliferation from apoptosis. *J Natl Cancer Inst.* 18. lipanj 1997.;89(12):863–8.
62. Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology.* kolovoz 2007.;133(2):659–72.

63. Jarvi O, Lauren P. On the role of heterotopias of the intestinal epithelium in the pathogenesis of gastric cancer. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1951.;29(1):26–44.
64. Lauren P. THE TWO HISTOLOGICAL MAIN TYPES OF GASTRIC CARCINOMA: DIFFUSE AND SO-CALLED INTESTINAL-TYPE CARCINOMA. AN ATTEMPT AT A HISTO-CLINICAL CLASSIFICATION. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1965.;64:31–49.
65. Bartsch H, Nair J. Chronic inflammation and oxidative stress in the genesis and perpetuation of cancer: role of lipid peroxidation, DNA damage, and repair. *Langenbecks Arch Surg.* rujan 2006.;391(5):499–510.
66. Gravina AG, Zagari RM, De Musis C, Romano L, Loguercio C, Romano M. Helicobacter pylori and extragastric diseases: A review. *World J Gastroenterol.* 07. kolovoz 2018.;24(29):3204–21.
67. Roubaud Baudron C, Franceschi F, Salles N, Gasbarrini A. Extragastric diseases and Helicobacter pylori. *Helicobacter.* rujan 2013.;18 Suppl 1:44–51.
68. Chen Y, Blaser MJ. Inverse associations of Helicobacter pylori with asthma and allergy. *Arch Intern Med.* 23. travanj 2007.;167(8):821–7.
69. Huh CW, Kim BW. [Diagnosis of Helicobacter pylori Infection]. *Korean J Gastroenterol Taehan Sohwagi Hakhoe Chi.* 25. studeni 2018.;72(5):229–36.
70. Chey WD, Wong BCY, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. American College of Gastroenterology Guideline on the Management of Helicobacter pylori Infection. *Am J Gastroenterol.* kolovoz 2007.;102(8):1808–25.
71. Best LM, Takwoingi Y, Siddique S, Selladurai A, Gandhi A, Low B, i ostali. Non-invasive diagnostic tests for Helicobacter pylori infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 15. ožujak 2018.;3:CD012080.
72. Patel SK, Pratap CB, Jain AK, Gulati AK, Nath G. Diagnosis of Helicobacter pylori: what should be the gold standard? *World J Gastroenterol.* 28. rujan 2014.;20(36):12847–59.
73. Katičić M, Duvnjak M, Kanizaj T i sur. Hrvatski postupnik za dijagnostiku i terapiju infekcije Helicobacterom pylori. *Liječnički Vjesn.* 2014.;136:1–17.
74. Glupczynski Y, Mégraud F, Lopez-Brea M, Andersen LP. European multicentre survey of in vitro antimicrobial resistance in Helicobacter pylori. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* studeni 2001.;20(11):820–3.
75. Essa AS, Kramer JR, Graham DY, Treiber G. Meta-analysis: four-drug, three-antibiotic, non-bismuth-containing „concomitant therapy“ versus triple therapy for Helicobacter pylori eradication. *Helicobacter.* travanj 2009.;14(2):109–18.
76. Varbanova M, Schulz C, Malfertheiner P. Helicobacter pylori and other gastric bacteria. *Dig Dis Basel Switz.* 2011.;29(6):562–9.
77. Kanizaj TF. *Helicobacter pylori*: Future perspectives in therapy reflecting three decades of experience. *World J Gastroenterol.* 2014.;20(3):699.
78. Stark RM, Gerwig GJ, Pitman RS, Potts LF, Williams NA, Greenman J, i ostali. Biofilm formation by Helicobacter pylori. *Lett Appl Microbiol.* veljača 1999.;28(2):121–6.

79. Suárez C, Gudiol F. [Beta-lactam antibiotics]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* veljača 2009.;27(2):116–29.
80. Tseng YS, Wu DC, Chang CY, Kuo CH, Yang YC, Jan CM, i ostali. Amoxicillin resistance with beta-lactamase production in *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Invest.* rujan 2009.;39(9):807–12.
81. Dore MP, Osato MS, Realdi G, Mura I, Graham DY, Sepulveda AR. Amoxycillin tolerance in *Helicobacter pylori*. *J Antimicrob Chemother.* 01. siječanj 1999.;43(1):47–54.
82. De Francesco V, Giorgio F, Hassan C, Manes G, Vannella L, Panella C, i ostali. Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: a systematic review. *J Gastrointest Liver Dis JGLD.* prosinac 2010.;19(4):409–14.
83. Erah PO, Goddard AF, Barrett DA, Shaw PN, Spiller RC. The stability of amoxycillin, clarithromycin and metronidazole in gastric juice: relevance to the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *J Antimicrob Chemother.* siječanj 1997.;39(1):5–12.
84. Gaynor M, Mankin AS. Macrolide antibiotics: binding site, mechanism of action, resistance. *Curr Top Med Chem.* 2003.;3(9):949–61.
85. Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, Griffy MV, Beyer J, Flamm RK, i ostali. Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother.* veljača 1996.;40(2):477–80.
86. Smiley R, Bailey J, Sethuraman M, Posecion N, Showkat Ali M. Comparative proteomics analysis of sarcosine insoluble outer membrane proteins from clarithromycin resistant and sensitive strains of *Helicobacter pylori*. *J Microbiol.* listopad 2013.;51(5):612–8.
87. Yonezawa H, Osaki T, Hanawa T, Kurata S, Ochiai K, Kamiya S. Impact of *Helicobacter pylori* Biofilm Formation on Clarithromycin Susceptibility and Generation of Resistance Mutations. *PLOS ONE.* ruj 2013.;8(9):e73301.
88. Hirata K, Suzuki H, Nishizawa T, Tsugawa H, Muraoka H, Saito Y, i ostali. Contribution of efflux pumps to clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol.* svibanj 2010.;25 Suppl 1:S75-79.
89. Dingsdag SA, Hunter N. Metronidazole: an update on metabolism, structure-cytotoxicity and resistance mechanisms. *J Antimicrob Chemother.* 01. veljača 2018.;73(2):265–79.
90. Debets-Ossenkopp YJ, Namavar F, MacLaren DM. Effect of an acidic environment on the susceptibility of *Helicobacter pylori* to trospectomycin and other antimicrobial agents. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* travanj 1995.;14(4):353–5.
91. Moore RA, Beckthold B, Bryan LE. Metronidazole uptake in *Helicobacter pylori*. *Can J Microbiol.* kolovoz 1995.;41(8):746–9.
92. Graham DY. Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: implications for therapy. *Gastroenterology.* studeni 1998.;115(5):1272–7.
93. Chopra I, Roberts M. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* lipanj 2001.;65(2):232–60.

94. Ross JI, Eady EA, Cove JH, Cunliffe WJ. 16S rRNA Mutation Associated with Tetracycline Resistance in a Gram-Positive Bacterium. *Antimicrob Agents Chemother.* srpanj 1998.;42(7):1702–5.
95. Tshibangu-Kabamba E, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* infection and antibiotic resistance - from biology to clinical implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* rujan 2021.;18(9):613–29.
96. Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of Quinolone Action and Resistance. *Biochemistry.* 18. ožujak 2014.;53(10):1565–74.
97. Drusano G, Labro MT, Cars O, Mendes P, Shah P, Sörgel F, i ostali. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Clin Microbiol Infect.* 01. travanj 1998.;4:2S27–41.
98. Cuadrado-Lavín A, Salcines-Caviedes JR, Carrascosa MF, Dierssen-Sotos T, Cobo M, Campos MR, i ostali. Levofloxacin versus clarithromycin in a 10 day triple therapy regimen for first-line *Helicobacter pylori* eradication: a single-blind randomized clinical trial. *J Antimicrob Chemother.* rujan 2012.;67(9):2254–9.
99. Savoldi A, Carrara E, Graham DY, Conti M, Tacconelli E. Prevalence of Antibiotic Resistance in *Helicobacter pylori*: A Systematic Review and Meta-analysis in World Health Organization Regions. *Gastroenterology.* studeni 2018.;155(5):1372-1382.e17.
100. Megraud F, Bruyndonckx R, Coenen S, Wittkop L, Huang TD, Hoebeke M, i ostali. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe in 2018 and its relationship to antibiotic consumption in the community. *Gut.* listopad 2021.;70(10):1815–22.
101. Flores-Treviño S, Mendoza-Olazarán S, Bocanegra-Ibarias P, Maldonado-Garza HJ, Garza-González E. *Helicobacter pylori* drug resistance: therapy changes and challenges. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 03. kolovoz 2018.;12(8):819–27.
102. Bujanda L, Nyssen OP, Vaira D, Saracino IM, Fiorini G, Lerang F, i ostali. Antibiotic Resistance Prevalence and Trends in Patients Infected with *Helicobacter pylori* in the Period 2013–2020: Results of the European Registry on H. pylori Management (Hp-EuReg). *Antibiotics.* 01. rujan 2021.;10(9):1058.
103. Boyanova L, Hadzhiyski P, Kandilarov N, Markovska R, Mitov I. Multidrug resistance in *Helicobacter pylori*: current state and future directions. *Expert Rev Clin Pharmacol.* rujan 2019.;12(9):909–15.
104. Koivisto TT, Rautelin HI, Voutilainen ME, Niemelä SE, Heikkinen M, Sipponen PI, i ostali. Primary *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole and clarithromycin in the Finnish population. *Aliment Pharmacol Ther.* 01. svibanj 2004.;19(9):1009–17.
105. Erkut M, Uzun DY, Kaklıkkaya N, Fidan S, Yoğun Y, Coşar AM, i ostali. Sociodemographic characteristics and clinical risk factors of *Helicobacter pylori* infection and antibiotic resistance in the Eastern Black Sea region of Turkey. *Turk J Gastroenterol Off J Turk Soc Gastroenterol.* ožujak 2020.;31(3):221–33.
106. De Francesco V, Zullo A, Fiorini G, Saracino IM, Pavoni M, Vaira D. Role of MIC levels of resistance to clarithromycin and metronidazole in *Helicobacter pylori* eradication. *J Antimicrob Chemother.* 01. ožujak 2019.;74(3):772–4.
107. Suzuki S, Kusano C, Horii T, Ichijima R, Ikehara H. The Ideal *Helicobacter pylori* Treatment for the Present and the Future. *Digestion.* 2022.;103(1):62–8.

108. Brenner H, Berg G, Lappus N, Kliebusch U, Bode G, Boeing H. Alcohol consumption and *Helicobacter pylori* infection: results from the German National Health and Nutrition Survey. *Epidemiol Camb Mass. svibanj 1999.*;10(3):214–8.
109. Zhang L, Eslick GD, Xia HHX, Wu C, Phung N, Talley NJ. Relationship between Alcohol Consumption and Active *Helicobacter pylori* Infection. *Alcohol Alcohol. 01. siječanj 2010.*;45(1):89–94.
110. Baena JM, López C, Hidalgo A, Rams F, Jiménez S, García M, i ostali. Relation between alcohol consumption and the success of *Helicobacter pylori* eradication therapy using omeprazole, clarithromycin and amoxicillin for 1 week: *Eur J Gastroenterol Hepatol. ožujak 2002.*;14(3):291–6.
111. Du P, Zhang C, Wang A, Ma Z, Shen S, Li X. Association of Alcohol Drinking and *Helicobacter pylori* Infection: A Meta-analysis. *J Clin Gastroenterol [Internet]. 15. prosinac 2021. [citirano 15. lipanj 2022.];*Publish Ahead of Print. Dostupno na: <https://journals.lww.com/10.1097/MCG.0000000000001638>
112. Xu MY, Liu L, Yuan BS, Yin J, Lu QB. Association of obesity with *Helicobacter pylori* infection: A retrospective study. *World J Gastroenterol. 2017.*;23(15):2750.
113. Xu X, Li W, Qin L, Yang W, Yu G, Wei Q. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and obesity in Chinese adults: A systematic review with meta-analysis. *PLoS One. 2019.*;14(9):e0221076.
114. Tan B, Yang JC, Young CL, Bishu S, Owyang SY, El-Zaatari M, i ostali. *Helicobacter pylori* Antimicrobial Susceptibility Testing-Guided Salvage Therapy in the USA: A Real Life Experience. *Dig Dis Sci. veljača 2018.*;63(2):437–45.
115. Boyanova L, Hadzhiyski P. *Helicobacter pylori* infection is associated with anemia, weight loss or both conditions among Bulgarian children. *Acta Microbiol Immunol Hung. 17. prosinac 2020.*;67(4):239–42.



## 11. ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Mirjani Balen Topić na strpljenju te iznimnoj pomoći i stručnom vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada. Također se zahvaljujem prim. Bošku Desnici i višim medicinskim sestrama Slavici Marjanović i Gordani Martinović na velikoj pomoći oko prikupljanja podataka. Zahvaljujem se cijeloj obitelji na neizmjerljivoj ljubavi, razumijevanju i podršci koju su mi pružili tijekom izrade ovog rada. Veliko hvala i svim mojim prijateljima koji su mi uvelike olakšali i uljepšali sve godine studija i pružali riječi potpore i ohrabrenja tijekom pisanja ovog rada.

## 12. ŽIVOTOPIS

Jelena Strinić rođena je 20. 03. 1997. u Rijeci. Osnovnu školu "Stjepan Radić" i Osnovnu glazbenu školu "Dr. fra Ivan Glibotić" završila je u Imotskom s odličnim uspjehom. Prva dva razreda srednje škole pohađala je Prirodoslovno-matematičku gimnaziju dr. Mate Ujevića u Imotskom, a druga dva III. gimnaziju u Splitu i također završila s odličnim uspjehom. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 2016. godine. Sudjelovala je na međunarodnom skupu „Praktična znanja za studente“ 2018. godine u Splitu. Od prve je godine članica studentske udruge CroMSIC. Sudjelovala je u projektu „Promicanje mentalnog zdravlja – Pogled u sebe“ održavanjem radionica u zagrebačkim srednjim školama od 2017. do 2018. godine. Tijekom razdoblja pandemije SARS-CoV 2 2020. – 2021. volontirala je u pozivnom centru HZJZ-a i na trijaži u KB „Sveti Duh“. Aktivno govori engleski jezik, a poznaje osnove talijanskog i njemačkog jezika. Od 2011. do 2014. godine bila je članica Hrvatskog puhačkog orkestra Gradska glazba Imotski s kojim je osvojila zlatnu plaketu i naslov prvaka Hrvatske na Susretu hrvatskih puhačkih orkestara 2013. u Novom Vinodolskom. Aktivna je u dva pjevačka zbora u kojima uz pjevanje svira flautu i gitaru.