

Badanie możliwości hamowania wzrostu *Helicobacter pylori* przez substancje nie stosowane standardowo w terapii eradykacyjnej

Pracownia Mikrobiologii, Zakład Żywności i Suplementów Diety, Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa

Kierownik Zakładu: dr Katarzyna Stoś, prof. nadzw. IŻŻ

STUDY ON THE GROWTH INHIBITION OF *HELICOBACTER PYLORI* BY SUBSTANCES NOT USUALLY USED IN STANDARD ERADICATION THERAPY

SUMMARY

Helicobacter pylori is considered the main ethiological factor for the peptic ulcer disease and gastric cancer. In recent years, more cases of failed standard treatment attempts are found. Although treatment is successful, it can result in side effects, such as development of antibiotic resistance or quick relapse. Therefore, alternative methods should be explored in order to treat *H. pylori* infections. Studies have shown, that many plants exhibit inhibitory activity towards this bacteria, that is stop its growth, inhibit or stops urease secretion, prevent bacteria cells from adhesion to mucous membrane and gastrointestinal epithelial cells.

Studies document impact of chosen preparations (Citrosept, Alliofil, potassium sorbate, vitamin C) on *H. pylori* growth. Inoculum with a density of 0,25 ($\lambda=550$ nm) were seeded upon the surface of Brucella agar, supplemented with 10% defibrinated horse blood. Incubation plates were performed in microaerophilic conditions in anaerostat with Campy Pak at 37°C for 72 h. The results showed *H. pylori* strain was susceptible to Alliofil (1mg/ml) and potassium sorbate (0,5 mg/ml). Solution of vitamin C at a concentration of 1 mg on disk and Citrosept at a concentration of 0.1 mg on disk inhibited growth of *H. pylori* strain. Also the impact of combined use of potassium sorbate with vitamin C or Citrosept was studied.

KEY WORDS: *HELICOBACTER PYLORI* – CITROSEPT – ALLIOFIL – POTASSIUM SORBATE – VITAMIN C

Wstęp

Helicobacter pylori występuje powszechnie w populacji ludzkiej na całym świecie zarówno u dorosłych, jak i u dzieci, szczególnie często w krajach rozwijających się, gdzie zakażenie tą bakterią dotyczy 80-90% ludzi. W Polsce odsetek zakażeń wywołanych przez *H. pylori* sięga ok. 70% osób dorosłych i 30% dzieci, a liczba osób zakażonych na świecie szacowana jest na ponad 2 miliardy (1, 2, 3).

H. pylori jest uznanym czynnikiem powstania chorób górnego odcinka przewodu pokarmowego. Wśród różnorodnych zakażeń bakteryjnych jest ważnym

czynnikiem etiologicznym przewlekłego zapalenia i owrzodzenia błony śluzowej żołądka i dwunastnicy, autoimmunologicznego zanikowego zapalenia żołądka z niedokrwistością z niedoboru wit. B₁₂ oraz choroby Menatriera. Udowodniono także związek zakażenia *H. pylori* z powstawaniem takich nowotworów, jak chłoniak żołądka typu MALT oraz rak żołądka (4, 5). W 1994 r. Światowa Organizacja Zdrowia uznała *H. pylori* za karcynogen klasy I (6).

Głównym rezerwuarem bytowania *H. pylori* jest człowiek, u którego występuje w warstwie podśluzówkowej żołądka, a także w jamie ustnej, w kieszonek dziąsłowych i płytce nazębnej. Zakażenie *H. pylori* szerzy się przez kontakty międzyludzkie. W krajach rozwiniętych do zakażeń dochodzi zazwyczaj drogą oralno-oralną, ze względu na przejściową kolonizację jamy ustnej przez ten drobnoustrój, natomiast w krajach o niskim poziomie socjoekonomicznym drogą oralno-fekalną. Zakażenie może być również wywołane transmisją tego drobnoustroju wśród pacjentów drogą jatrogenną – poprzez zakażony sprzęt endoskopowy. Na zakażenie narażeni są również lekarze wykonujący gastrokopię, którzy nie stosują należycie zasad aseptyki i antyseptyki (2).

H. pylori jest Gram-ujemną, mikroaerofilną (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) pałeczką. Komórki bakterii (3-5 μ m długości i 0,5-1 μ m szerokości) wyposażone są w cztery do sześciu niepolarnych wici i mają charakterystyczny, spiralny kształt, dzięki czemu mogą z łatwością przemieszczać się w gęstym śluzie żołądkowym. Pałeczki te wykazują tropizm tkankowy, zasiedlając warstwę śluzu pokrywającą komórki nabłonkowe. Do komórek śluzowych ujścia gruczołu żołądkowego przylegają dzięki, m.in. hemaglutyninom, glikolipidom, polipeptydom i lamininie. Tylko ok. 20% komórek bakteryjnych jest związanych z nabłonkiem, pozostałe poruszają się swobodnie w warstwie śluzu (7).

Pałeczki *H. pylori* w toku ewolucji przystosowały się do życia w niesprzyjającym dla nich, kwaśnym pH środowiska żołądka (pH 4-6) (7, 8). Wytwarzają

wyjątkowo aktywny enzym – ureazę, która pozwala im na przeżycie w środowisku żołądka ludzkiego. Enzym ten katalizuje hydrolizę mocznika z wytworzeniem amoniaku, dzięki czemu pH środowiska ulega obniżeniu (9, 10). Patogenne działanie tych pałeczek związane jest także ze zdolnością wytwarzania proteazy i lipazy, uszkadzających komórki nabłonka, proteazy rozkładającej glikoproteiny śluzu, enzymu proteolitycznego zwanego mucynazą, fosfolipazy, katalazy i cytotoksyny, która powoduje wakuolizację komórek (11, 12).

Terapia zakażeń *H. pylori* jest trudna ze względu na swoistą niszę, w której bytuje bakteria. Schematy terapii zmieniały się kilkakrotnie w ciągu ostatnich lat, od monoterapii po równoczesne zastosowanie 3 lub 4 leków. Do leczenia zakażeń wywołanych przez pałeczki *H. pylori* stosowana jest terapia obejmująca lek zmniejszający wydzielanie żołądkowe (inhibitor pompy protonowej) w połączeniu z antybiotykami (amoksylicyna, klarytromycyna, tetracyklina) i jednym z chemioterapeutyków (metronidazol, tynidazol) (13, 14, 15). Efektywność leczenia jest wysoka, ale zależy od różnych czynników, np. rodzajów szczepów bakteryjnych oraz populacji ludzi, u których leczenie jest prowadzone. Pomimo prawidłowego postępowania ocenia się, że u około 10-20% chorych nie udaje się osiągnąć trwałego wyleczenia (eradykacji) (16). Niepowodzenie standardowego leczenia eradykacyjnego może być spowodowane opornością szczepów na stosowane leki.

Badania wskazują, że wiele roślin wykazuje aktywność hamowania wzrostu komórek pałeczek *H. pylori*, powoduje zmniejszenie lub całkowite zahamowanie wytwarzania ureazy, wpływa na hamowanie adhezji bakterii do warstwy śluzowej żołądka i komórek nabłonka przewodu pokarmowego. Dlatego też poszukuje się nowych substancji, w tym pochodzenia roślinnego, które mogłyby stanowić alternatywę dla stosowanego standardowego leczenia lub jego uzupełnienia.

Wstępne badania wskazują, że zastosowanie preparatów, takich jak Citrosept, Alliofil, sorbinian potasu oraz witamina C może przyczyniać się do zahamowania wzrostu bakterii *H. pylori*.

Citrosept zawiera ekstrakt z pestek, miąższu i białych części grejpfruta. Jest bogaty w bioflawonoidy (19,4%), naturalną, pochodzącą z grejpfruta witaminę C (w ilości 1 g/100 ml preparatu), glikozydy, m.in. w formie narynginy oraz wodny roztwór glicerolu. Preparat stosowany jest w profilaktyce i w leczeniu chorób przewodu pokarmowego (wrzody żołądka lub dwunastnicy, stany zapalne błony śluzowej, choroba Crohna, zakażenia bakteryjne i

grzybicze), zakażeniach dróg oddechowych, jamy ustnej i skóry, a także jako środek podnoszący odporność organizmu.

Alliofil jest preparatem składającym się z czosnku suszonego (*Allii sativi bulbus*) oraz sproszkowanego liścia pokrzywy (*Urticae folium pulv.*). Jedna tabletkę zawiera 0,2 g *Allii sativi bulbus* i 0,0535 g *Urticae folium pulv.* Stosowany jest pomocniczo w zakażeniach bakteryjnych w obrębie górnych dróg oddechowych i przewodu pokarmowego oraz jako środek zapobiegający w miażdżycy i nadciśnieniu.

Sorbinian potasu jest organicznym związkiem chemicznym używanym powszechnie jako środek konserwujący do żywności (E202). Jest to sól potasowa kwasu sorbowego (E200), naturalnie występującego w owocach europejskiej jarzębiny (*Sorbus aucuparia*), od której wywodzi się nazwa kwasu. Przemysłowo uzyskiwany jest na drodze różnych metod chemicznych. Sorbinian potasu hamuje rozwój bakterii i pleśni w środowisku o pH <6,6. Stabilność, dobra rozpuszczalność i łatwość użycia czynią go najpowszechniej stosowanym środkiem konserwującym w przetwórstwie żywności (17). Uważa się, że nie ma szkodliwego wpływu na organizm człowieka, jednak czasem może wywoływać reakcje alergiczne. Dawka zależy od rodzaju produktu i mieści się w zakresie 0,2-1,0 g/kg produktu. Sorbinian potasu stosowany jest jako środek konserwujący do żywności, głównie do pieczywa, serów, wypieków, wina i czekolady. ADI (dopuszczalne dzienne spożycie) dla sorbinianów wynosi 25 mg/kg (17, 18).

Materiał i metody

Wpływ sorbinianu potasu (Sigma-Aldrich) i Alliofilu (Herbapol Poznań) na wzrost wzorcowego szczepu *H. pylori* ATCC 26695 badano na podłożu agarowym Brucella z dodatkiem 10% krwi końskiej. Zawiesinę bakterii *H. pylori* o gęstości 0,25 ($\lambda=550$ nm) posiewano na podłoże i inkubowano przez 72 godz. w 37°C w warunkach mikroaerofilnych. Po inkubacji określano wartość minimalnego stężenia hamującego (MIC). Kontrolę badań stanowiły posiewy *H. pylori* na podłożu agarowym Brucella z krwią końską bez dodatku preparatów.

Przy określaniu wpływu Citroseptu (Cintamani Poland) i witaminy C (Hasco-Lek) na wzrost *H. pylori* używano krążków bibułowych zawierających 10 μ l odpowiednich rozcieńczeń każdego preparatu. Po inkubacji mierzono średnicę strefy zahamowania wzrostu *H. pylori* wokół krążka.

Badano również wpływ sorbinianu potasu w połączeniu z Citroseptem lub roztworem witaminy C na wzrost szczepu *H. pylori*.

Wyniki

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono w tabeli 1 i na rycinie 1.

Badania wykazały, że Alliofil oraz sorbinian potasu hamują wzrost szczepu *H. pylori* 26695. Wartość MIC dla preparatu Alliofil wyniosła 1 mg/ml, natomiast dla sorbinianu potasu 0,5 mg/ml.

Wykazano również, że zarówno preparat Citrosept, jak i roztwór witaminy C w stężeniu 1 mg hamują wzrost szczepu *H. pylori*. Podobne rezultaty uzyskano w przypadku preparatu Citrosept w stężeniu 0,1 mg. Nie zaobserwowano natomiast hamującego działania na *H. pylori* rozcieńzonego roztworu witaminy C (0,1 mg/krażek).

W przeprowadzonych badaniach wykazano, iż przy równoczesnym zastosowaniu sorbinianu potasu i preparatu Citrosept, strefy zahamowania wzrostu szczepu *H. pylori* obserwowano już przy stężeniu mieszaniny zawierającej 50 µg/ml sorbinianu potasu oraz Citroseptu w stężeniu 1,0 i 0,1 mg na krążek.

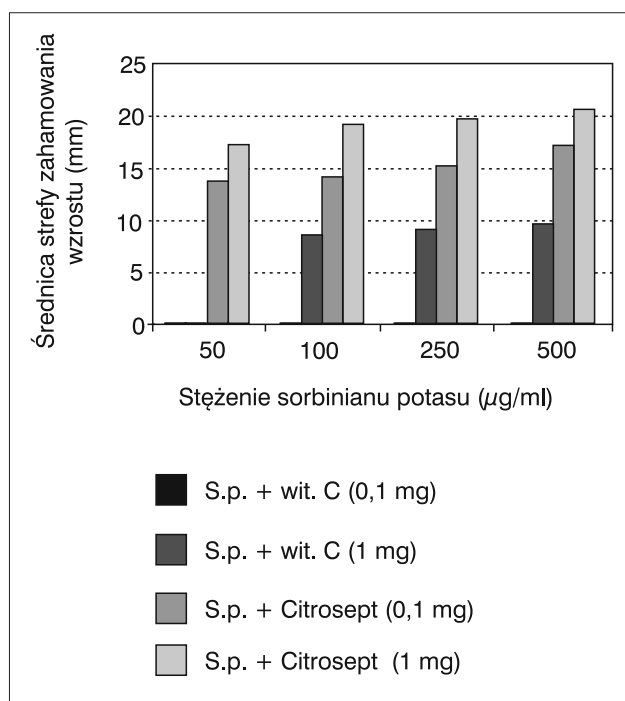
Jednoczesne zastosowanie sorbinianu potasu oraz witaminy C obniżyło wartość MIC sorbinianu potasu. Strefę zahamowania wzrostu badanego szczepu *H. pylori* uzyskano przy stężeniu sorbinianu potasu 100 µg/ml i 1 mg witaminy C. Nie zaobserwowano podobnego działania przy równoczesnym podaniu sorbinianu potasu i witaminy C w stężeniu 0,1 mg.

Dyskusja

W ostatnich latach standardowe leczenie eradyczne zakażeń wywołanych przez *H. pylori* coraz częściej bywa nieefektywne i wywołuje skutki uboczne w postaci, np. nietolerancji niektórych pacjentów na leki i szybkiego nawrotu choroby. Skuteczność kuracji obniża także coraz powszechniejsza oporność tych bakterii na stosowane leki przeciwdrobnoustrojowe. Kluczowe jest zatem opracowywanie nowych sposobów leczenia zakażeń *H. pylori*. Poszukuje się coraz to nowych, bardziej dostępnych i bezpiecznych substancji wykazujących antagonistyczne działanie wobec wymienionego drobnoustroju.

Prowadzone w ostatnich latach badania wykazały, że niektóre produkty roślinne, charakteryzujące się niską toksycznością i rzadko spotykanym działaniem ubocznym, wykazują silne działanie bakteriobójcze wobec wielu drobnoustrojów patogennych oraz mogą spełniać rolę pomocniczą w profilaktyce i leczeniu niektórych chorób, w tym również eradycji *H. pylori*.

Ze względu na silne właściwości przeciwbakteryjne oraz grzybobójcze, czosnek od dawna stosowany był do celów medycznych. Dzięki swoim cennym właściwościom roślina spełnia pomocniczą rolę w leczeniu zakażeń bakteryjnych, wirusowych i grzybiczych. Liczne badania wskazują na dużą aktywność czosnku wobec bakterii występujących w przewodzie pokarmowym człowieka (19, 20, 21, 22). Wykazano również skuteczność działania ekstraktów z czosnku wobec pałeczek *H. pylori* (23). Jonkers i wsp. (cyt. za 23)



Ryc. 1. Wpływ sorbinianu potasu (S.p.) i preparatu Citrosept lub witaminy C na wzrost *H. pylori*.

Tabela. 1. Wpływ sorbinianu potasu oraz preparatu Alliofil na wzrost *H. pylori*.

| Stężenie substancji (µg/ml) | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|----------|-----|------|-------|
| Sorbinian potasu | | | | | | | | Alliofil | | | |
| 50 | 100 | 250 | 500 | 1000 | 2500 | 5000 | 7500 | 10000 | 100 | 1000 | 10000 |
| + | + | + | - | - | - | - | - | - | + | - | - |

+ wzrost *H. pylori*, - brak wzrostu *H. pylori*

stwierdzili skuteczność działania ekstraktu z czosnku na wankomycynooporne szczepy enterokoków. Głównym składnikiem aktywnym w ekstrakcie z czosnku, działającym przeciwdrobnoustrojowo, jest allicyna. W 1944 r. została ona wyizolowana z czosnku przez Cavallito i Bailey'a (24). Badania prowadzone, m.in. przez Stoll i Seebeck (25) oraz Sivam (26), wykazały jej wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową. Stwierdzono, że może ona wnikać do wnętrza komórki i oddziaływać na nią (27). Wśród różnych składników czosnku działających przeciwdrobnoustrojowo jest też wymieniany alkohol allilowy. Powstaje on z przekształceń pochodnych zawierających siarkę, tj. trisiarczku diallilu i disiarczku diallilu (28, 29). Badania wykazały, że zarówno alkohol allilowy, jak i wyciąg z czosnku, wywołują u szczepów z gatunku *Candida albicans* stres oksydacyjny. Całkowite zahamowanie procesu oddychania w komórkach grzybów autorzy zaobserwowali po zastosowaniu alkoholu allilowego w stężeniach wynoszących $\leq 3-6$ mg/ml (28, 29).

Preparaty roślinne cechują się wysoką zawartością substancji przeciwutleniających. Ekstrakty roślinne mają wpływ na zmniejszenie lub całkowite zahamowanie wytwarzania ureazy. Wiele substancji uzyskiwanych z roślin wpływa na hamowanie adhezji bakterii *H. pylori* do warstwy śluzowej żołądka i komórek nabłonka przewodu pokarmowego. Mogą więc one spełniać rolę pomocniczą w profilaktyce i leczeniu zakażeń *H. pylori*.

Preparaty uzyskane z owoców grejpfruta charakteryzują się wysoką zawartością flawonów, flawonoli i flawanonów (głównie narynginy) (12, 30). Ponadto zawierają monoterpény i seskwiterpény, karotenoidy, pektyny, błonnik, witaminy B₁, C, PP i sole mineralne (31). Badania wykazały, że flawonoidy zawarte w owocach grejpfruta wykazują silne właściwości przeciwutleniające. Działanie to wiąże się z zapobieganiem powstawaniu wolnych rodników tlenowych poprzez tworzenie chelatów jonów metali ciężkich, wychwytywaniem wolnych rodników, w celu tworzenia mniej aktywnych połączeń lub ich unieczynnienia oraz hamowaniem peroksydacji lipidów. Zaobserwowano także wpływ wyciągu z grejpfruta lub jego składników na pałeczki *H. pylori*. Mechanizm działania tych ekstraktów polega na uszkodzeniu błony komórkowej bakterii, hamowaniu syntezy aminokwasów i procesów oddychania komórek, a także wycieku składników cytoplazmy na zewnątrz. Wszystkie te procesy prowadzą w efekcie do zniszczenia tego drobnoustroju (32).

Działanie flawonoidów występujących w ekstraktach z grejpfruta na pałeczki *H. pylori* było przedmiotem wielu badań zrealizowanych przez Bae i wsp. (24). Autorzy wykazali hamujący wpływ flawonoidów,

m.in. hesperydyny, poncyryny i narynginy na wzrost pałeczek *H. pylori*. Bergonzelli i wsp. (33) zbadali działanie olejku eterycznego otrzymanego z drzewa grejpfrutowego (*Citrus paradisi*) na bakterie *H. pylori*. Autorzy zaobserwowali, że stężenie olejku w wysokości 1000 $\mu\text{g/ml}$ po godzinnej inkubacji działało bakteriobójczo na szczep *H. pylori*. Podobny rezultat uzyskano w przypadku stężenia 10-krotnie niższego (100 $\mu\text{g/ml}$) po czasie działania wynoszącym 24 godz. Wartości MBC (najmniejsze stężenie bakteriobójcze) dla 8 badanych szczepów odczytane po 24 godz. ważyły się w przedziale od 40 do >100 $\mu\text{g/ml}$ (33).

Badania nad wpływem preparatu Citrosept na pałeczki *H. pylori* prowadzone były przez Kędzia i wsp. (12). Na podstawie przeprowadzonych badań autorzy stwierdzili, że Citrosept w zakresie stężeń $\leq 15-125$ $\mu\text{g/ml}$ hamował wzrost 70% testowanych pałeczek *H. pylori* wyizolowanych z blaszek miażdżycowych (12).

W ostatnich latach prowadzono wiele badań nad wpływem diety na rozwój chorób żołądka i jej znaczeniem w ich leczeniu. Wykazano, że dieta bogata w świeże warzywa, głównie czosnkowe oraz owoce cytrusowe, zmniejsza ryzyko zachorowania na nowotwory złośliwe górnego odcinka przewodu pokarmowego, tj. przełyku i żołądka. Wyniki badań wskazują także, że małe spożycie witaminy C sprzyja rozwojowi zmian przedrakowych w żołądku (metaplazja, dysplazja), czyli że jej ochronne działanie ma miejsce głównie we wczesnych etapach karcynogenezy.

Witamina C przeciwdziała powstawaniu nowotworów złośliwych, dzięki różnym biologicznym funkcjom. Najważniejszą z nich jest zdolność do niszczenia wolnych rodników, które mogą uszkadzać materiał genetyczny komórek, inicjując w ten sposób początkowe stadia karcynogenezy. Potwierdzają to badania epidemiologiczne przeprowadzone w Szwecji (34) i w Hiszpanii (35). Wykazały one, że niskie ryzyko zachorowania na raka żołądka wiązało się w zdecydowanie większym stopniu z dużym spożyciem witaminy C z dietą sprzed 20 lat, niż z jej aktualnym spożyciem. Dieta bogata w witaminę C prawdopodobnie zmniejsza także ryzyko zakażenia pałeczkami *H. pylori* poprzez silne hamowanie ich wzrostu oraz hamowanie aktywności ureazy (26). Jarosz i wsp. (36) wykazali, że codzienna, duża dawka witaminy C u pacjentów z przewlekłym zapaleniem żołądka spowodowanym przez *H. pylori* przyczynia się do wyleczenia 30% chorych. Badania Zojaji i wsp. (4) wykazały, że terapia lekami w połączeniu z suplementacją witaminą C w ilości 500 mg/dobę może być skuteczniejsza niż sama terapia antybiotykowa. Natomiast Kamiji i Oliveira (4) wykazali, że podawanie witaminy C w ilości 5 g na dobę przez 28 dni nie jest skuteczne w eradykacji

H. pylori i nie zmniejsza liczby tych pałeczek w błonie śluzowej żołądka chorych.

Niezbędne są dalsze badania nad oceną możliwości zastosowań użytych w badaniach preparatów w zwalczaniu zakażeń wywołanych przez *H. pylori*.

Wnioski

1. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że preparat Alliofil oraz sorbinian potasu hamowały wzrost wzorcowego szczepu *H. pylori* ATCC 26695.
2. Preparat Citrosept, jak i roztwór witaminy C w stężeniu 1 mg, wpływały hamująco na wzrost badanego szczepu *H. pylori*. Podobny wynik uzyskano w przypadku preparatu Citrosept w stężeniu 0,1 mg.
3. Preparaty Ciprosept, Alliofil oraz sorbinian potasu i witamina C, jak również ich połączenia, mogą okazać się pomocne w profilaktyce i leczeniu zakażeń wywołanych przez pałeczki *H. pylori*.

Piśmiennictwo

1. Nikoronow E, Godlewska R, Jagusztyn-Krynicka EJ. Oddziaływanie *Helicobacter pylori* na komórki systemu odporności wrodzonej. *Post Mikrobiol* 2008; 47:137-48. 2. Karczewska E, Wojtas I, Budak A. Występowanie pierwotnej oporności *Helicobacter pylori* na leki przeciwbakteryjne w Polsce i na świecie. *Post Mikrobiol* 2009; 48:31-41. 3. Zawadzka-Grajec A, Wróblewska M, Szafarska-Popławska A i wsp. Lekowrażliwość szczepów *Helicobacter pylori* – obserwacje własne. *Pediatr Współcz Gastroenterol Hepatol Żyw Dziecka* 2008; 1:29-31. 4. Zojaji H, Talaie R, Mirsattari D i wsp. The efficacy of *Helicobacter pylori* eradication regimen with and without vitamin C supplementation. *Dig Liver Dis* 2009; 4:644-7. 5. Szaflarska-Popławska A, Popławski C, Parzęcka M i wsp. Rodzinna transmisja *Helicobacter pylori* z wykorzystaniem typowania molekularnego. *Przeegl Gastroenterol* 2010; 5:42-6. 6. Stępkowski T, Grzeszczak W. Porównanie częstości zakażeń *Helicobacter pylori* u chorych na cukrzycę typu 2 i u osób bez cukrzycy. *Diabet Dośw Klin* 2009; 9:29-32. 7. Parzęcka M, Bała G, Mierzwa G i wsp. Obrazy endoskopowe u dzieci i młodzieży z zakażeniem *Helicobacter pylori* – obserwacje własne. *Przeegl Gastroenterol* 2007; 2:48-55. 8. Williams CL. *Helicobacter pylori* and endoscopy. *J Hosp Inf* 1999; 41:263-8. 9. Lee A. *Helicobacter pylori*. The unsuspected and unlikely global gastroduodenal pathogen. *Int J Infect Dis* 1996; 1:47-56. 10. Kędzia A, Wierzbowska M, Kufel A. Działanie Dentoseptu i Dentoseptu A na pałeczki *Helicobacter pylori*. *Post Fitoter* 2007; 1:2-6. 11. Łękwowska-Kochaniak A. Mechanizmy patogennego działania *Helicobacter pylori*. *Post Mikrobiol* 1994; 33:447. 12. Kędzia A, Kufel A, Wierzbowska M. Ocena

wrażliwości szczepów *Helicobacter pylori* wyizolowanych z blaszek miazdżycowych na preparat Citrosept. *Post Fitoter* 2010; 2:71-5. 13. Grodowska A, Jarosz M. Probiotyki a infekcja *Helicobacter pylori*. *Żyw Czł Met* 2006; 4:326-35. 14. Dzieniszewski J, Jarosz M. Wytyczne postępowania leczniczego w infekcji *Helicobacter pylori*. *Med Dopl* 2006; 13:39-43. 15. Cavallaro LG, Egan B, O'Morain C i wsp. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2006; 11, Suppl 1:36-9. 16. Go MF. Diagnostyka i leczenie zakażeń *Helicobacter pylori*. *Med Dopl* 2006; 15:18-32. 17. Rutkowski A, Gwiazda S, Dąbrowski K. Dodatki funkcjonalne do żywności. Katowice: Agro & Food Technology 1993. 18. The International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1973. 19. Caldwell DR, Danzer CJ. Effect of allil sulfides on growth of predominant gut anaerobes. *Curr Microbiol* 1988; 16:237-41. 20. Johnson MG, Vaughn RH. Death of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion. *Appl Microbiol* 1969; 17:903-5. 21. Kumar A, Sharma VD. Inhibitory effect of garlic (*Allium sativum* Linn.) on enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Ind J Med Res* 1982; 76:66-70. 22. Ruiz B, Correa P, Fonstham THE i wsp. Ascorbic acid, *Helicobacter pylori* and Lewis phenotype among blacks and whites in New Orleans. *Cancer Lett* 1994; 83:323-9. 23. Cellini L, Di Campi E, Masulli M i wsp. Inhibition of *Helicobacter pylori* by garlic extract (*Allium sativum*). *FEMS Immunol Med Microbiol* 1996; 13:273-7. 24. Cavallito C, Bailey JH. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. Isolation, physical properties and antibacterial action. *J Am Chem Soc* 1944; 66:1944-51. 25. Imuroa M, Shibataa H, Kawamura T i wsp. Suppressive effects of garlic extract on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in Mongolian gerbils. *Cancer Lett* 2002; 187:61-8. 26. Sivam GP. Protection against *Helicobacter pylori* and other bacteria infections by garlic. *J Nutr* 2001; 131:1106S. 27. Bakri JM, Douglas CWI. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Arch Oral Biol* 2005; 50:645-51. 28. Block E. The chemistry of garlic and onions. *Sci Am* 1985; 25:114-9. 29. Block E, Putnam D, Zhao SH. *Allium* chemistry: GC-MS analysis of thio-sulfonates and related compounds from onion, leek, scallion, shallot, chive, and Chinese chive. *J Agr Food Chem* 1992; 40:2431-8. 30. Qyelami OA, Agbakwurn EA, Adeyami GB. The effectiveness of grapefruit (*Citrus paradisi*) seeds in treatment urinary tract infections. *J Altern Compl Med* 2005; 2:369-71. 31. Petersen JJ, Beecher GR, Bhagwat SA i wsp. Flavanones in grapefruit, lemons and limes: A compilation and review of the data from the analytical literature. *J Food Comp Anal* 2006; 19:74-80. 32. Lamer-Zarawska E. Owoce cytrusowe. *Wiad Lek* 2001; 3:17-9. 33. O'Garra EA, Hill DJ, Maslin DJ. Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Appl Environ Microb* 2000; 5:2269-73. 34. Corella D, Cortina P, Guillén M i wsp. Dietary habits and geographic variation in stomach cancer mortality in Spain. *Eur J Cancer Prev* 1996; 5:249-57. 35. Hansson LE, Nyren O, Bergstrom R i wsp. Nutrients and risk of gastric cancer. A population-based case-control study in Sweden. *Int J Cancer* 1994; 57:638-44. 36. Jarosz M, Dzieniszewski J, Dąbrowska-Ufniarz E. Effects of high dose vitamin C treatment on *Helicobacter pylori* infection and total vitamin C concentration in gastric juice. *Eur J Cancer Prev* 1998; 7:449-54.

otrzymano/received: 06.02.2012
zaakceptowano/accepted: 22.02.2012

Adres/address:
*mgr Katarzyna Tomczuk
Instytut Żywności i Żywienia
ul. Powsińska 61/63, 02-903 Warszawa,
tel.: +48 (22) 550-96-14
e-mail: ktomczuk@izz.waw.pl