

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**  
katedra biologických a lékařských věd

**Detekce infekce *Helicobacter pylori***  
(diplomová práce)

Autor práce: **Bc. Simona Štrofová**

Vedoucí práce: **PharmDr. Barbora Voxová**

Hradec Králové, 2011

Prohlašuji, že předložená práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu. Veškerou literaturu a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, v práci řádně cituji a jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

V Hradci Králové .....

(podpis)

Děkuji PharmDr. Barboře Voxové z Fakultní nemocnice Hradec Králové za pomoc, vstřícnost, poskytnutí studijních materiálů a odborné vedení mé diplomové práce.

# Obsah

Abstrakt.....	- 6 -
Abstract.....	- 7 -
1 Úvod.....	- 8 -
2 Teoretická část: .....	- 9 -
2.1 Helicobacter pylori.....	- 9 -
2.1.1 Charakteristika HP .....	- 9 -
2.1.2 Epidemiologie HP.....	- 10 -
2.1.3 Přenos HP .....	- 10 -
2.1.4 Helicobacter heilmannii .....	- 10 -
2.2 Infekce Helicobacter pylori – Gastrointestinální příznaky .....	- 12 -
2.2.1 Patogeneze infekce HP .....	- 12 -
2.2.2 Chronická gastritida.....	- 13 -
2.2.3 Akutní gastritida .....	- 15 -
2.2.4 Duodenitis.....	- 16 -
2.2.5 Peptický vřed, vředová choroba.....	- 16 -
2.2.6 Karcinom žaludku.....	- 18 -
2.2.7 MALT lymfom žaludku.....	- 19 -
2.3 Infekce Helicobacter pylori – Extraintestinální příznaky .....	- 20 -
2.3.1 HP a kardiovaskulární onemocnění .....	- 21 -
2.3.2 HP a kožní onemocnění .....	- 22 -
2.3.3 HP a respirační onemocnění .....	- 24 -
2.3.4 HP a hematologická onemocnění .....	- 25 -
2.4 Léčba HP .....	- 26 -
2.4.1 Antimikrobiální rezistence.....	- 28 -
2.5 Metody průkazu .....	- 30 -
2.5.1 Invazivní metody .....	- 30 -
2.5.2 Neinvazivní metody.....	- 32 -
3 Cíl.....	- 35 -
4 Experimentální část.....	- 36 -
4.1 Průkaz antigenu Helicobacter pylori ve stolici .....	- 36 -
4.1.1 Helicobacter pylori Card (CerTest – VIDITEST) .....	- 36 -
4.2 Kultivační vyšetření .....	- 38 -
4.2.1 Zpracování žaludeční biopsie na záchyt HP .....	- 38 -
5 Výsledky .....	- 41 -

5.1.1	Přehled počtu vyšetřených pacientů metodou – Průkaz Ag HP ve stolici ( H.pylori Card).....	- 41 -
5.1.2	Přehled počtu vyšetřených pacientů zpracováním žaludeční biopsie – kultivační vyšetření.....	- 45 -
5.1.3	Přehled diagnóz u pacientů vyšetřovaných na přítomnost HP a HP pozitivních pacientů metodou – Průkaz Ag HP ve stolici .....	- 49 -
5.1.4	Přehled rezistence a citlivosti k jednotlivým ATB u pacientů vyšetřených kultivační metodou (zpracování žaludeční biopsie) .....	- 53 -
5.1.5	Přehled zpracovaných dat .....	- 54 -
6	Diskuze .....	- 57 -
7	Závěr .....	- 61 -
8	Seznam literatury .....	- 62 -
9	Seznam zkratk .....	- 66 -

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Farmaceutická fakulta**  
**Katedra biologických a lékařských věd**

**Kandidát: Bc. Simona Štrofová**

**Školitel: PharmDr. Barbora Voxová**

**Název diplomové práce: Detekce infekce *Helicobacter pylori***

## **Abstrakt**

Problematika infekce *Helicobacter pylori* (HP) je vrcholně aktuální gastroenterologické téma, které doznává rychlých změn díky velkému množství nových poznatků. HP je spirálovitá bakterie kolonizující lidský žaludek a duodenum. Bakterie je adaptovaná na kyselé prostředí žaludku. Od svého prvního popisu v roce 1984 Marhallem a Warrenem je HP uváděn jako agens působící gastritidu, peptické vředy a rakovinu žaludku. Někteří autoři zjistili vedle jeho prokázané role v gastroduodenálních chorobách i souvislost mezi HP a extraintestinálními onemocněními zahrnující kardiovaskulární, kožní, hematologický a imunologický systém. K průkazu infekce HP lze použít několik metod. Podle potřeby provedení endoskopického vyšetření se dělí na metody invazivní a neinvazivní. Mezi invazivní metody se řadí histologické vyšetření, rychlý ureázový test, kultivace a některé molekulární techniky. K neinvazivním metodám průkazu infekce patří sérologické vyšetření, dechový test a detekce antigenu HP ve stolici. Posledně jmenovaná metoda je jednoduchá, levnější a téměř stejně přesná jako dechový test.

Ve své diplomové práci shromažďuji informace o *Helicobacter pylori* a gastrointestinálních a extragastrointestinálních onemocněních, které jsou způsobeny touto bakterií. Z ústavu klinické mikrobiologie (ÚKM) Fakultní nemocnice Hradec Králové (FNHK) jsem získala data o pacientech vyšetřovaných metodou Průkaz antigenu HP ze stolice a kultivačním vyšetřením. Vytvořila jsem přehled výskytu HP podle vyšetřovací metody, založený na počtu vyšetřovaných pacientů a na jejich věku ve sledovaném období. Dále jsem se zabývala možnostmi léčby HP a jeho stále se zvyšující antimikrobiální rezistencí.

**Charles University in Prague**  
**Faculty of Pharmacy in Hradec Králové**  
**Department of Biological and Medical Sciences**

**Candidate: Bc. Simona Štrofová**

**Supervisor: PharmDr. Barbora Voxová**

**Title of diploma thesis: Detection of *Helicobacter pylori* infection**

## **Abstract**

The issue of *Helicobacter pylori* (HP) infection is a very hot topic in gastroenterology and it evolves rapidly due to a great amount of new information. HP is a spiral bacterium colonizing human gaster and duodenum. The bacterium itself is adapted to the acid enviroment of the gaster. Since its first characterization by Marshall and Warren in 1984, the HP has been known as an agens causeing gastritis, peptic ulcers and gastric cancer. Besides its well-demonstrated role in gastroduodenal disease, some authors have proposed a link between HP and number of extragastric disease involving the cardiovascular, dermatological, hematological and immunological systems. The HP infection can be diagnosed by several methods. These are classified as either invasive or non-invasive according to the use of endoscopy. The invasive ones are histological examination, rapid urease test, cultivation and some molecular techniques. The non-invasive ones are serological examination, breath test and a detection of HP antigen in stools. The last method mentioned is simple, cheaper and almost as precise as the breath test.

In my diploma thesis I compile information about *Helicobacter pylori* and gastric and extragastric diseases caused by HP bacteria. I have gained the data about patients examined with the detection method of the HP antigen (Ag) in stools and cultivation from the Department of microbiology, University hospital in Hradec Králové. I have created an overview of the HP presence based on the method, number of examined patients and their age in a defined period. Then I dealt with the HP treatment options and its increasing antimicrobial resistance.

# 1 Úvod

Objev *Helicobacter pylori* (HP) představuje největší zlom v oblasti gastroenterologie v posledních 50ti letech. Je pravděpodobné, že jde o jeden z nejdůležitějších objevů medicíny vůbec. Stává se jen málokdy, aby nějaký objev v lékařství změnil tak převratně a rychle nejen chápání nemoci, ale i prognózu nemocných. [1] Převratnost tohoto objevu byla potvrzena v roce 2005, kdy byla J. Barrymu, B.J. Marshallovi a J. R. Warrenovi udělena Nobelova cena „za objev bakterie *Helicobacter pylori* a její úlohy u gastritídy a peptické vředové choroby“. [2]

Dodnes byla získána a potvrzena řada poznatků o významné úloze tohoto mikroba v patogenezi chronické gastritídy a peptického vředu. Přítomnost této mikroaerofilní Gram negativní bakterie může být příčinou široké škály projevů – od asymptomatické kolonizace žaludeční sliznice, přes gastritídu a vředovou chorobu, až k malignímu zvratu buněk - adenokarcinomu žaludku a lymfomu lymfoidní tkáně mukózy (MALT-lymfom). [9] HP však může hrát i roli původce extraintestinálních onemocnění.

Významností HP se v dnešní době zabývá mnoho odborných publikací i článků. Proto bych chtěla čtenáře této práce více seznámit s problematikou HP a infekcemi, které způsobuje. Také bych se ráda zaměřila na prevalenci HP v České republice a vytvořila přehled pacientů vyšetřovaných metodou Průkaz antigenu (Ag) HP ve stolici a kultivačním vyšetřením, a tyto dvě metody porovnála. Předmětná data o pacientech jsem získala z ÚKM ve FNHK. Ráda bych se také zabývala léčbou infekce HP, ať už gastrointestinální či extraintestinální, a jeho neustále se zvyšující antimikrobiální rezistencí.



## 2 Teoretická část:

### 2.1 Helicobacter pylori

Ačkoli byla přítomnost spirálních bakterií v žaludku savců i lidí známa již od roku 1906, jejich role v gastrointestinálních onemocněních byla zanedbávána kvůli neschopnosti tyto bakterie vykultivovat. V roce 1982 vyizoloval poprvé B.J. Marshall et al. HP z odběrů od pacientů s gastritidou. Tento úspěch byl částečně dílem štěstí, protože kultivační půdy byly náhodou ponechány při inkubaci po dobu 5 dnů přes Velikonoční svátky. Možnost kultivovat tyto bakterie radikálně změnila historii detekce infekce HP. [25]

V roce 1983 J.R. Warren a B.J. Marshall popsali přítomnost bakterií v lidském žaludku a jejich spojení s nálezem gastritidy. Nalezené bakterie nazvali *CLO-Campylobacter-like organisms* a později *Campylobacter pyloridis*, pro jejich podobnost s již dříve známými střevními kampylobaktery a podle místa jejich nejčastějšího nálezu. Později byl opraven lingvistický omyl a bakterie byla přejmenována na *Campylobacter pylori*. Brzy však byly rozpoznány morfologické, biochemické, imunologické, mikrobiologické a klinické odlišnosti infekce touto bakterií od rodu *Campylobacter*. Proto byla zařazena do nového bakteriálního rodu, a v r.1989 dostala již definitivní název *Helicobacter pylori*. [1]

#### 2.1.1 Charakteristika HP

HP je spirální nebo zahnutá Gram negativní tyčka, 2,5-5 $\mu$ m dlouhá a 0,5–1,0 $\mu$ m široká, se 4-6 unipolárně umístěnými bičíky. [1] Při histologickém vyšetření žaludečních biopsií má ostře ohraničené konce, při kultivaci na pevném mediu má tyčinkový vzhled a při prodloužené či opakované kultivaci převažují typické kokoidní formy. [7] Spirální tvar a přítomnost bičíků umožňují pohyb bakterie v hlenu. Roste v mikroaerobní atmosféře, neroste ani na vzduchu, ani v anaerobním prostředí. Růstová teplota se pohybuje mezi 25-42 °C, optimální pH pro kultivaci je 6,9-8,0.

Morfologicky je možno HP rozpoznat již v rutinním barvení hematoxylinem-eosinem, ale spolehlivější je užití speciálních histologických metod: tj. modifikované Giemsovo barvení nebo impregnace podle Warthina a Starryho. Impregnací se HP znázorňuje jako silnější tyčka, čímž se stávají zřetelnější i kolmo zachycené bakterie.

Základním předpokladem pro rozvinutí patogenních schopností HP je jeho schopnost přežít v lumen žaludku a proniknout na povrch žaludeční sliznice. Znamená to, že bakterie je schopná čelit nízkému pH v žaludku. [1] Tato rezistence proti kyselému pH je dána schopností HP produkovat významné množství enzymu ureázy a s jeho pomocí štěpit močovinu za vzniku amoniaku a oxidu uhličitého, čímž ve svém okolí zvyšuje pH. Nízké pH je jinak velmi účinnou bariérou, která chrání nejen žaludeční sliznici, ale de facto celý gastrointestinální trakt před mikroorganismy obsaženými v přijímané potravě a tekutinách. [3]

### **2.1.2 Epidemiologie HP**

Infekce HP patří celosvětově mezi nejčastější vůbec. Odhaduje se, že je infikována více než polovina lidstva. Ve vyspělých zemích je prevalence infekce HP 15–40%, v rozvojových zemích 70–99%. V nižších socio-ekonomických vrstvách je prevalence vyšší. V České republice je dle sérologických studií prevalence infekce HP 42%. Infekcí se člověk většinou nakazí v dětství. [7] Zlepšování životních podmínek je pravděpodobně hlavním důvodem, proč se prevalence HP stále snižuje. [4]

### **2.1.3 Přenos HP**

Mechanismy přenosu infekce nejsou beze zbytku objasněny. Hlavními rizikovými faktory jsou špatné socioekonomické a hygienické podmínky. Jiné vlivy, např. genetické, či nutriční, mohou při přenosu bakterie také hrát roli. [4] K rozvoji infekce HP dochází pravděpodobně po orálním příjmu bakterií. Přenos je pravděpodobně jak oro-orální (ve vyspělých zemích), tak i oro-fekální (v rozvojových zemích a v kolektivních zařízeních pro malé děti). [7] Většinou se jedná o přenos z osoby na osobu. K přenosu prostřednictvím pitné vody a kontaktem s domácími zvířaty je možný, ale dochází k němu spíše vzácně. [4]

### **2.1.4 *Helicobacter heilmannii***

Objev HP vedl mikrobiology k usilovnému studiu dalších spirálních mikroaerofilních bakterií vyskytujících se v žaludku. Dalším druhem izolovaným z lidí, ale též ze zvířat je *Helicobacter heilmannii* (HH), patřící do velké skupiny non-*H.pylori*

žaludečních bakterií. Jeho oficiální název je „*Candidatus Helicobacter heilmannii*“. HH se v biotických vzorcích žaludeční sliznice člověka i zvířat prokazuje mikroskopicky. Jeho morfologie je nápadná (vícečetné tuhé závitky v podobě vývrtky) a zcela odlišná od ostatních helikobakterů. [5] Stejně jako HP produkuje ureázu, ale jeho kultivace se zatím nezdařila. HH dosahuje délky 7-10  $\mu\text{m}$  a jeho šířka kolísá mezi 0,65-0,9 $\mu\text{m}$ . Narozdíl od HP má 4-6 spirál a na jednom konci až 12 bičíků kyjovitého tvaru. Od spirochet se liší tím, že nemá axilární filamenta a periplasmatická vlákna. Slabě se barví hematoxylinem-eosinem, je Gram negativní, ale dobře se znázorňuje Giemsovým barvením a impregnací podle Warthina a Starryho.

V žaludeční sliznici se nachází buď ve vrstvě hlenu nebo ve foveolách. Nejčastěji vyvolává chronickou aktivní gastritidu, která však mívá menší intenzitu zánětlivých změn než při infekci HP. Obě bakterie se mohou vyskytovat současně, a v takovém případě jsou pak pozorovány těžší formy zánětu. [1]

## 2.2 Infekce *Helicobacter pylori* – Gastrointestinální příznaky

### 2.2.1 Patogeneze infekce HP

HP je jedním z nejčastějších původců infekcí trávicího ústrojí po celém světě. [11] HP produkuje řadu toxinů, které jsou škodlivé pro žaludeční sliznici. Jsou to například ureáza, fosfolipáza, alkohol dehydrogenáza, hemolyzin, faktor aktivující destičky (PAF) či mukolytický faktor. Ačkoli jsou tyto toxiny primárně škodlivé pro žaludek a duodenum, interagují i s jinými tkáněmi.

Přítomnost HP v žaludeční sliznici je téměř vždy spojena se zánětem sliznice provázeným infiltrací neutrofilními leukocyty a monocyty. Enzymy jako jsou ureáza, kataláza, proteáza, lipáza a fosfolipáza jsou produkovány HP a mohou být zapojeny do patogeneze zánětu žaludku. Hladiny tumor nekrotizujícího faktoru alfa (TNF- $\alpha$ ), interleukinu (IL-1b) a IL-8 se v žaludeční sliznici u pacientů s HP infekcí zvyšují ve srovnání s těmi, kteří nejsou infikováni. IL-1b je v místě zánětu zapojen jako chemoatraktant pro neutrofilní leukocyty a stimuluje indukci IL-8 *in vivo*. IL-8 je syntetizován mnoha buňkami po stimulaci IL-1b, TNF- $\alpha$  nebo endotoxinu, a také indukuje uvolnění proteáz z neutrofilních leukocytů. HP způsobuje uvolňování chemokinů, makrofágových zánětlivých proteinů, a aktivujících faktorů monocytů, které jsou všechny zapojeny do patogeneze intenzivní zánětlivé reakce v žaludeční sliznici. [12]

Při infekci HP dochází obvykle k rozvoji akutní gastritidy, která je často spojena s dyspeptickými příznaky jako jsou nauzea, zvracení a bolest v epigastriu. Infekce u většiny osob perzistuje a působí superficiální, většinou antrální gastritidu. Chronická gastritida většinou probíhá asymptomaticky. U většiny osob infekce HP nevede k rozvoji jiných patologických změn. [4]

### 2.2.2 Chronická gastritida

Gastritida je zánět sliznice žaludku, jehož diagnózu můžeme stanovit pouze na základě histologického vyšetření. Není žádná korelace mezi histologickým obrazem a klinickými příznaky. Velké množství pacientů s gastritidou nemá žádné symptomy a naopak, mnozí nemocní s dyspeptickými příznaky nemají gastritidu. Podle histologického obrazu rozlišujeme gastritidu akutní - s neutrofilní infiltrací, nebo chronickou - s převažující infiltrací lymfocyty a plasmatickými buňkami. [4]

#### 2.2.2.1 Morfologické formy chronické gastritidy

Chronická gastritis představuje heterogenní skupinu zánětlivých procesů různé etiologie, které se liší lokalizací a typem zánětlivých změn. Postihuje sliznici, ale může přecházet i do hlubších vrstev žaludeční stěny. Podle rozsahu a typu zánětlivých změn žaludeční sliznice se mikroskopicky rozlišují dvě základní formy chronické gastritidy:

##### 1. Chronická povrchová gastritis (gastritis chronica superficialis)

Vyznačuje se lymfoplasmocytární zánětlivou infiltrací žaludeční sliznice v oblasti foveol a žlazových krčků. V povrchovém a foveolárním epitelu dochází k regresivním změnám, jež se projevují úbytkem až úplnou ztrátou hlenu. Takto poškozené buňky většinou zanikají. Některé projevy naznačují, že tento typ zánětu představuje spíše iniciální fázi jiných typů gastritid. Může rovněž znamenat nespecifické, spontánně se hojící onemocnění, podobné akutní gastritidě, ale s delším trváním.

##### 2. Chronická hluboká gastritis (gastritis chronica profunda)

Je charakterizována zánětlivým lymfoplasmatickým infiltrátem v celé tloušťce sliznice, tedy i v zóně žlázek.

Déletrvající chronická gastritis vede k atrofii sliznice a označuje se jako chronická atrofická gastritis. Počet žlázek postupně klesá a zánětlivě infiltrované stroma, v normální sliznici velmi úzké, se výrazně rozšiřuje. Řídká síť retikulárních vláken stromatu je v okolí žlázek zahuštěná a sliznice se nápadně ztenčuje.

#### 2.2.2.2 Klasifikace chronické gastritidy

Rozdělení chronických gastritid vychází z etiologie a lokalizace zánětlivých změn v žaludeční sliznici. Na základě těchto kritérií byla vypracována celá řada

klasifikačních systémů. Jedna z posledních klasifikací chronických gastritid, navržená Applemanem v roce 1994, vymezuje 3 základní typy a další méně obvyklé jednotky:

1. Bakteriální gastritis – typ B (difuzní antrální HP-pozitivní gastritis)
2. Autoimunní gastritis – typ A (difuzní atrofická autoimunní korporální gastritis)
3. Chemická gastropatie (chronická gastritis C)
4. Multifokální atrofická gastritis
5. Lymfocytární gastritis podobná enteritidě při glutenové enteropatii
6. Ložisková gastritis
7. Granulomatozní gastritis
8. Crohnova choroba žaludku
9. Eosinofilní gastritis

### **2.2.2.3 Chronická difuzní antrální gastritis – H.pylori pozitivní (gastritida B)**

Je nejčastějším typem chronického zánětu žaludeční sliznice. HP vykazuje afinitu k antrální sliznici, kterou při infekci žaludku postupně osídluje. Později přechází i na korporální sliznici, jež je na přítomnost bakterií méně citlivá a obvykle reaguje mírnějším zánětem. Pravidelně je také infikována sliznice kardia a vzácně se může HP prokázat i v Barretově sliznici jícnu. Kolonizace antrální sliznice někdy zůstává trvale ložisková, a proto se ke spolehlivému histologickému průkazu HP, ale také k určení typu zánětlivých změn, které bývají v kolonizovaných úsecích výraznější, doporučuje odběr alespoň dvou biopeptických vzorků z různých částí antra.

Morfologický nález ve sliznici antra u HP-pozitivní gastritidy většinou odpovídá chronické aktivní gastritidě, ale může mít i povahu neaktivního zánětu. Postihuje povrchovou část nebo celou tloušťku sliznice, v níž se často nacházejí lymfatické folikuly. Délétrvající zánět vede k atrofii sliznice a k intestinální metaplazii.

Diagnóza chronické gastritidy B vyžaduje nejen určení typu zánětlivých změn, ale i jejich intenzity. „Grading“ chronické gastritidy B, navržený mezinárodní komisí v Sydney (1991), vychází z hodnocení pěti histologických nálezů (chronická zánětlivá infiltrace, přítomnost polymorfonukleárů, atrofie žlázek, intestinální metaplazie, množství helikobakterů). [1]

### 2.2.3 Akutní gastritida

Akutní gastritida je akutní zánětlivý proces žaludeční sliznice. Akutní gastritidu mohou způsobit různé faktory, mezi něž patří:

- *H.pylori*, *H.heilmannii* (akutní infekce)
- Bakterie (streptokoky, *E.coli*, *Proteus sp.*, *Salmonella so.*, *T.pallidum*, aj.)
- Viry (*CMV*)
- Mykózy (generalizované), parazité
- Nesteroidní antirevmatika, zvláště aspirin
- Excesivní požití alkoholu
- Alimentární vlivy
- Těžký stres

Akutní gastritida může být asymptomatická, ale obvykle jí provází bolest v epigastru, nauzea, zvracení, průjem, nechutenství a vzácně krvácení do gastrointestinálního traktu (GIT). Příznaky obvykle trvají pouze několik dnů. Virová či bakteriální gastritida je častou komplikací u imunosuprimovaných osob. Akutní gastritida způsobená infekcí HP přechází u většiny osob v gastritidu chronickou.

Diagnóza se určuje zpravidla na základě anamnézy, endoskopické vyšetření s biopsiemi (které jako jediné může diagnózu potvrdit) je indikováno v případě diagnostických rozpaků. Při endoskopii může být makroskopicky sliznice žaludku normální, nebo jsou patrné eroze, které mohou být i zdrojem krvácení. Histologicky nacházíme nejčastěji infiltraci neutrofilů nad bazální membránou, ale histologický obraz je výrazně závislý na etiologii. Diferenciálně diagnosticky musíme myslet na akutní hepatitidu, pankreatitidu, střevní infekce a stafylokokovou enterotoxikózu. Náhle příhody břicha se taky mohou manifestovat pod nescifickým obrazem akutní gastritidy

Léčba je symptomatická, nutné je zabezpečit dostatečnou hydrataci. Realimentace by měla probíhat pozvolna s vyloučením dráždivých a ostrých jídel. Z léků podáváme spasmolytika, antiemetika nebo prokinetika, při průjmu antidiuretika.

[4]

#### 2.2.4 Duodenitis

Chronická *H.pylori*-pozitivní gastritis je často provázena zánětlivými změnami ve sliznici duodena, jejichž maximum se nachází v úsecích nejvíce vystavených účinku žaludeční šťávy. Nejčastěji je postiženo velké ohbí a zadní stěna bulbu, vzácně distální část duodena. Změny bývají ložiskové a vyžadují odběr většího počtu bioptických vzorků. Rozlišujeme duodenitis akutní, chronickou a žaludeční metaplazii.

Akutní duodenitis je mikroskopicky charakterizována hyperémií a edémem slizničního stromatu s mírným rozšířením klků. U těžších forem se ve sliznici nacházejí drobné hemoragie a povrchové eroze, jež mohou být zdrojem závažného krvácení.

Chronická duodenitis je dle rozsahu zánětlivých změn rozlišena na 3 stupně: I, II, III. Lehká forma zánětu (I) většinou probíhá asymptomaticky, a proto nemá větší klinický význam. Pozoruje se u 12–26% zdravých jedinců. Chronická duodenitis (II.) se pravidelně nachází v okolí peptického vředu duodena. U některých nemocných jsou těžší formy zánětu provázeny gastrickou metaplazií povrchového epitelu, jež se pravidelně uplatňuje při vzniku duodenálního peptického vředu.

Žaludeční (pylorická) metaplazie odpovídá náhradě povrchového epitelu tenkého střeva (pohárkových a absorpčních buněk) cylindrickými buňkami, které obsahují neutrální hlen. Krypty a žlázy duodenální sliznice si při metaplazii zachovávají normální vzhled. Ložiska gastrické metaplazie mohou být osídlena HP. Mimo metaplazii se HP v duodenu nevyskytuje. [1]

#### 2.2.5 Peptický vřed, vředová choroba

Vředem trávicího traktu označujeme slizniční defekt pronikající skrze *muscularis mucosae*. Méně hluboké léze se nazývají eroze. Vředy mohou být projevem různých chorob (např. nádor, Crohnova choroba aj.), pojmem peptický vřed zdůrazňujeme patogenetický vliv kyseliny chlorovodíkové a pepsinu. Peptické vředy proto nalézáme pouze v místech, které jsou vystaveny agresivnímu působení žaludeční šťávy, nejčastěji v žaludku a bulbu duodena. Vzhledem k tomu, že peptické vředy často recidivují, hovoříme o vředové chorobě. Přístup k této problematice významně ovlivnil objev HP.



### 2.2.5.1 Etiopatogeneza

Podmínky pro vznik peptických vředů vznikají, pokud je narušena rovnováha mezi tzv. agresivními a ochrannými faktory. Některé agresivní faktory jsou tzv. vnitřní (tělu vlastní) a jiné vnější (léky).

Mezi agresivní faktory patří :

- Pepsin a kyselina chlorovodíková (oba nezbytné pro vznik peptického vředu)
- *H.pylori*
- Žlučové kyseliny
- Ischémie (porucha mikrocirkulace)
- Léky (nesteroidní antirevmatika)
- Kouření

Mezi ochranné faktory patří:

- Žaludeční hlen
- Prostaglandiny (zvláště třídy E)
- Sekrece bikarbonátů do žaludeční šťávy
- Intaktní mikrocirkulace
- Regenerační schopnost žaludečního epitelu
- Normální membránový transport na apikální části epitelových buněk

Patogeneze vzniku jednotlivých vředů není jednotná a liší se podle vyvolávajících příčin. V patogenezi vředů „*H.pylori*-pozitivních“ se uplatňuje vzájemný vztah mezi virulencí HP, odpovědí hostitele a zevními faktory. Virulence HP není u všech druhů stejná. Ulcerogenní jsou kmeny, které produkují různé toxické substance (cytotoxiny). Nejznámější indikátor cytotoxických kmenů je protein kódovaný *cagA* genem.

Mezi faktory závislémi na hostiteli řadíme faktory genetické (větší riziko vředové choroby u krevní skupiny 0, „rodinný“ výskyt vředové choroby, HLA-B5 antigen). Důležitým faktorem vzniku vředů je typ a tíže zánětlivé reakce vyvolané infekcí HP. V důsledku zánětu dochází k produkci různých substancí (IL-8, TNF- $\alpha$ , kyslíkové radikály), které přispívají k narušení integrity žaludeční sliznice. Tyto substance ovlivňují i žaludeční sekreci, která bývá u pacientů s duodenálními vředy zvýšená. Vlivem větší expozice kyseliny solné dochází k rozvoji žaludeční metaplazie v bulbu. HP může dále kolonizovat tyto okrsky metaplazie s následným rozvojem zánětu přímo v bulbu duodena. Tato žaludeční metaplazie je po léčbě HP reverzibilní.

Při infekci HP také dochází k narušení inhibičních neuronálních a endokrinních mechanismů (např. somatostatin), které za normálních podmínek blokují sekreci gastrinu a kyseliny solné.

U pacientů s žaludečními vředy nenacházíme narušení od nemocných s vředy duodenálními hypersekreci kyseliny solné, i když i zde je její přítomnost pro jejich vznik nezbytná. Asi 10% pacientů se žaludečním vředem má také duodenální vřed. Proč někteří jedinci mají vřed v žaludku a jiní v duodenu není známo.

Tyto složité vztahy mohou komplikovat zevní vlivy jako např. nevhodná strava, kouření a přidružená onemocnění. Častěji nacházíme peptické vředy u pacientů s alkoholickou cirhózou jater, chronickou obstruktivní chorobou plicní, chronickým renálním selháním a hyperparathyroidismem. Vliv psychických faktorů na vznik peptických vředů nebyl prokázán.

HP je hlavním etiopatogenetickým činitelem při vzniku peptického vředu ( po eradikaci bakterie se sníží pravděpodobnost recidivy vředu na minimum). Většina dvanáctníkových (90-95%) i žaludečních (70%) vředů je spojena s infekcí HP, i když pouze u malé části infikovaných se objeví peptický vřed.

#### **2.2.5.2 Patologický obraz**

Většina duodenálních vředů je lokalizována v bulbu duodena, nejčastěji na přední straně. Žaludeční vředy jsou nápadně často lokalizovány podél malé křivky nebo v oblasti tzv. junkční zóny mezi sliznicí těla a antra. Většina pacientů má jeden vřed, někteří však mohou mít vředů více. Vředy jsou nejčastěji oválné s více či méně naválitými okraji. Výrazně naválitě nepravidelné okraje svědčí spíše pro vředy maligní. Baze vředu je většinou čistá a bělavá. Histologický obraz zahrnuje nekrózu a fibrinoid v první vrstvě, v dalších vrstvách je přítomen zánět a granulační tkáň. [4]

#### **2.2.6 Karcinom žaludku**

Žaludeční karcinom je ve světě druhou nejčastější příčinou úmrtí na zhoubné nádory a to i přesto, že dochází k poklesu výskytu určitých jeho typů. [4] V populaci s vysokou incidencí HP byl opakovaně prokázán zvýšený výskyt karcinomu žaludku

především intestinálního typu, ale jejich vzájemný vztah nebyl zatím zcela objasněn. Při vzniku karcinomu se zřejmě uplatňuje celá řada faktorů. [1]

Etiologie je multifaktoriální, roli hrají faktory vnější (dieta, prostředí), vnitřní (genetické faktory) a získané vnitřní (např. atrofie a intestinální metaplazie žaludeční sliznice např. při perniciózní anémii). Vyšší riziko mají i nemocní po operaci žaludku a s adenomovými polypy. HP je spojován s rizikem vzniku karcinomu žaludku nepřímo díky jeho vlivu na vznik atrofické gastritidy a intestinální metaplazie u některých nemocných. Znovu je třeba zdůraznit, že většina infikovaných nikdy karcinomem žaludku onemocní.

Karcinom žaludku se klasifikuje na základě několika kritérií. Podle hloubky invaze se rozlišuje časný a pokročilý karcinom žaludku, podle histologického typu intestinální a difúzní typ. Dále existuje také makroskopická klasifikace.

Časný karcinom žaludku je termín zavedený v roce 1962 Japonskou společností pro gastrointestinální endoskopii. Tento termín zahrnuje všechny tumory infiltrující mukózu i submukózu, bez ohledu na to, zda jsou nebo nejsou postiženy přilehlé uzliny. Pokud karcinom proniká hlouběji, hovoříme o pokročilém karcinomu žaludku. Význam tohoto dělení spočívá v tom, že u časného karcinomu při správné léčbě přežívá pět let až 90% nemocných, zatímco u pokročilých karcinomů je pětileté přežívání méně než 30%.

Podle histologického obrazu rozlišujeme intestinální typ (se žláзовými strukturami) a difúzní typ (bez žláзовých struktur). Intestinální typ bývá dobře diferencovaný, produkuje málo hlenu, často vzniká v terénu atrofické gastritidy s intestinální metaplazií. HP je zde jedním z rizikových faktorů. Hlavní lokalizací je oblast antra a pyloru. Difúzní typ se vyskytuje u mladších pacientů, častěji proximálně a významně produkuje hlen. Difúzní typ je ve srovnání s intestinálním více agresivní. Obě histologické formy karcinomu metastazují do regionálních i vzdálených lymfatických uzlin, hematogenní metastázy jsou typické v játrech a plicích. [4]

### **2.2.7 MALT lymfom žaludku**

Vztah maligního lymfomu (ML) k autoimunitním chorobám je znám již mnoho let. Zvýšené riziko non-hodgkinových ML a Hodgkinovy choroby se pozoruje u orgánově nespecifických autoimunitních onemocnění, jakými jsou např. systémový lupus erythematoses, zejména Hashimotovy thyroditidy a Sjögrenova syndromu. Oba

orgánové typy autoimunitního zánětu se vyznačují tvorbou lymfatické tkáně, která má úzký vztah ke sliznici podobně jako peyerovy pláty střeva. Přítomnost lymfatických folikulů u chronické *H.pylori*-pozitivní gastritis se v poslední době uvádí v souvislosti s vývojem MALT-lymfomu žaludku. Společné epitopy žaludeční sliznice a HP, tvorba příslušných autoprotilátek a v neposlední řadě průkaz helikobakterií u všech nemocných s ML žaludku tento předpokládaný vztah podporují. MALT lymfomy obecně vykazují nízký stupeň malignity. Mohou však přecházet do vysoce maligních lymfomů nebo jsou vysoce maligní od počátku. [1]

### **2.3 Infekce *Helicobacter pylori* – Extraintestinální příznaky**

Přestože je HP v příčinné souvislosti s gastroduodenálními chorobami, HP séroprevalence byla rovněž zkoumána u dalších nemocí. Studie prokázaly, že HP séropozitivita je spojena s různými kožními, respiračními, kardiovaskulárními, hematologickými a autoimunitními poruchami. [12] Infekce HP může způsobit extraintestinální projevy přímo nebo nepřímo prostřednictvím různých mechanismů. HP infekce spouští lokální zánětlivou reakci i chronickou systémovou imunitní odpověď. Jedna hypotéza je, že perzistující zánětlivá odpověď související s HP infekcí může způsobit cévní poruchy uvolněním substancí asociovaných s agregací krevních destiček a vasospazmem. K některým z mediátorů, které by se mohly podílet na patogenezi extraintestinálních onemocnění způsobených infekcí HP patří IL-1, TNF- $\alpha$ , interferon  $\gamma$  (IFN)- $\gamma$ , leukotrien C4 a aktivující faktor krevních destiček.

Myšlenka, že HP infekce může být zapojena do několika extraintestinálních poruch je založena na následujících mechanismech:

- 1) lokální zánět může mít systémové účinky
- 2) HP infekce žaludku je chronický proces, který trvá celá desetiletí
- 3) perzistující infekce indukuje chronický zánět a imunitní odpověď, které mohou způsobit poškození, které jsou lokální nebo vzdálené od místa primární infekce
- 4) jako Gram negativní bakterie obsahuje lipopolysacharidovou substanci, která stimuluje produkci cytokinů IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ . [13]

### 2.3.1 HP a kardiovaskulární onemocnění

Značný počet studií zkoumal korelaci mezi HP infekcí a ischemickou chorobou srdeční (ICHS). Důvod pro možnou asociaci je předpokládaná role chronických infekcí HP v genezi a vývoji aterosklerotických plátů a porušení stěny cév. Většina těchto studií byla provedena na epidemiologické úrovni, ale značný počet také jako studie molekulární.

První zpráva podle Mendall et al. (1994) oznámila vyšší prevalenci HP infekce u pacientů s ICHS. Tento náález byl od té doby ověřen několika dalšími autory, kteří uváděli vyšší hladiny anti-HP protilátek u pacientů s ICHS nebo u těch, kteří zemřeli na infarkt myokardu (IM). Nedávné studie, které zkoumaly přítomnost HP v aterosklerotických plátech u 38 pacientů pomocí imunohistochemie a polymerázové řetězové reakce (PCR) prokázaly DNA HP ve 20 případech z 38. Vyšší prevalence HP infekce byla hlášena i u pacientů s nestabilní angínou pectoris a IM. Pozitivní výsledky také přinesly studie zkoumající roli virulentních kmenů HP stejně jako vztah cytotoxin-asociovaného genu A (*CagA*), který je převládající u pacientů s peptickým vředem, MALT-lymfomem a karcinogenem žaludku. [11] Právě nejvíce virulentní kmeny HP mají *CagA* gen, který kóduje CagA protein, který může vyvolat vakuolizaci a buněčnou smrt. [12] Význam asociace mezi HP a kardiovaskulárními onemocněními vzrostl právě po stratifikaci dat o *CagA*. Singh et al. (2002) studoval prevalenci CagA pozitivních kmenů HP u jedinců, u kterých bylo hlášeno akutní koronární selhání a u zdravých dobrovolníků. Výsledky této studie zaznamenaly signifikantně vyšší prevalenci CagA pozitivních kmenů HP u pacientů než u zdravých kontrol. Také vyšší prevalence infekce HP byla nalezena u pacientů s cévní mozkovou příhodou .

Nedávné studie se zaměřily na plazmatické hladiny cytokinů, fibrinogenu, lipidů a dalších rizikových faktorů aterosklerozy, a jejich možnou patogenní souvislost mezi infekcí HP a ICHS. Plazmatické hladiny C-reaktivního proteinu (CRP), fibrinogenu, celkového cholesterolu a lipidů byly naměřeny u pacientů s HP mnohem vyšší, než u zdravých kontrolních jedinců. [11] Zvýšená hladina fibrinogenu, která zvyšuje prokoagulační aktivitu, byla navržena jako základní mechanismus v rámci role HP v ICHS. [14]

Nicméně, z jiných epidemiologických studií byly hlášeny kontroverzní výsledky, které neprokázaly jasnou souvislost mezi infekcí HP a ICHS, a nepodaly důkaz o míře hladiny séropozitivity HP a následného rizika IM. Někteří autoři

nedetekovali genetický materiál HP v aterosklerotickém plátu, ani nenalezli žádnou asociaci týkající se zvýšených hladin zánětlivých markerů jako CRP nebo fibrinogen. [11] Ačkoli je spojitost mezi bakterií a ICHS možná, sled infekce HP a onemocnění je nejistý. [14]

## **2.3.2 HP a kožní onemocnění**

### **2.3.2.1 Rosacea**

Rosacea je jedním z nejčastějších chronických kožních onemocnění a obvykle se u pacientů objeví od třetí nebo čtvrté dekády dále. Ženy jsou postiženy častěji než muži. Klasický typ rosacea charakterizují erytém, papuly, puchýřky a malé rozšířené krevní cévy, které se objevují především symetricky ve středu obličeje. Nejvíce jsou postižena místa v e středové oblasti obličeje, zejména nosu, čela a brady. Onemocnění může trvat roky s epizodami zlepšení nebo zhoršení stavu. Alkohol, pobyt na slunci, zvýšená konzumace kávy a jiných nápojů obsahující kofein, stejně jako velmi pálivých a kořeněných jídel může vyvolat zhoršení.

Vlastní etiologie rosacea zůstává neznámá. Několik studií během několika posledních let naznačují možný vztah mezi HP a rosacea, protože prevalence infekce HP je vyšší u pacientů postižených tímto kožním onemocněním než ve zdravé populaci. První zpráva o asociaci mezi HP a rosacea byla ve studii z roku 1994, kde u 31 pacientů postižených rosacea byla v 84% dokumentována HP gastritida. Jiná studie zjistila, že 75% pacientů trpících touto kožní chorobou a dyspeptickými příznaky bylo pozitivních na přítomnost protilátek anti-CagA. Zejména u pacientů s papulárními projevy byly zjištěny jako spouštěcí mechanismus více virulentní kmeny HP. Kožní příznaky rosacea zmizely nebo se zlepšily u všech pacientů po léčbě metronidazolem.

Účinek HP na patogenezi rosacea je neznámý. Jednou z úvah je, že HP vyvolává příznaky rosacea zvýšenou syntézou kyslíkatých metabolitů jako je superoxid a prozánětlivé cytokiny, a tím způsobuje formaci oxidu dusnatého. CagA protein stimuluje žaludeční epitel k sekreci zvýšených hladin zánětlivých cytokinů IL-8, makrofágových zánětlivých proteinů (MIP) 1 $\alpha$  a 1 $\beta$ . IL-8 je jedním z nejsilnějších chemotaktických cytokinů. Je zodpovědný za navození adheze neutrofilních leukocytů k endotelu, a také způsobuje infiltraci gastroduodenální sliznice a na jejím podkladě vznikající zánět tkání a následné poškození. Jedním z důsledků aktivace neutrofilních

leukocytů je reaktivní oxidativní vzplanutí, vznik kyslíkových radikálů a oxidu dusnatého. Je možné, že tyto toxické látky produkované HP mohou napadnout oběhový systém a poškodit endotel. Jiné zánětlivé substance včetně IL-1, TNF- $\alpha$ , interferonu- $\gamma$ , leukotrienů a PAF mohou být během imunitní odpovědi na HP zapojeny do patogeneze kožních projevů rosacea. Mnoho studií navrhovalo, že se HP podílí na etiologii rosacea alespoň jako iniciační faktor, a že eradikační léčba snižuje příznaky rosacea.

#### **2.3.2.2 Chronická idiopatická kopřivka**

Chronická idiopatická kopřivka (CIK) je běžné klinické onemocnění s komplexním patofyziologickým mechanismem. Jako možné iniciační faktory onemocnění jsou hlášeny bakteriální či virové agens, plísňe a prvoci. Ale žádný stejný etiologický faktor nebyl nalezen u většiny pacientů. Nedávné studie prokázaly vysokou prevalenci infekce HP u pacientů s CIK a zlepšení kožních příznaků po eradikační terapii, což naznačuje možnou etiopatogenetickou roli infekce HP u některých pacientů.

Právě první zprávy o asociaci HP infekce a CIK byly nadějně. Byla hlášena vysoká prevalence HP infekce dosahující až 80% a vysoká úspěšnost vymizení příznaků až 95% po léčbě. Ale další studie naznačily, že vliv HP na CIK je sporný. Několik autorů prokázalo, že léčba HP je spojená s častou remisí kožního onemocnění a popírali možnou korelaci mezi HP a CIK. Následující faktory by mohly objasnit rozpor mezi výsledky studií:

- 1) byly použity různé metody k detekci HP infekce
- 2) HP protilátky jsou asociovány s aktivní gastritidou jen u některých pacientů, takže stanovení protilátek nemusí indikovat aktivní onemocnění
- 3) rezistence HP na léčbu a recidiva krátce po úspěšné terapii by mohl být hlavní důvod nedostatku asociace mezi eradikací a remisí CIK. [12]

### **2.3.3 HP a respirační onemocnění**

#### **2.3.3.1 Karcinom plic**

Světová zdravotnická organizace doporučila, aby byl HP klasifikován do 1.skupiny karcinogenů. Gocky et al. (2000) zjistil u 50ti polských pacientů s karcinomem plic velmi vysokou séroprevalenci HP (89,5 %) a spekuloval o zapojení HP do plicní karcinogeneze. Výskyt rakoviny plic u pacientů s peptickým vředem je dvakrát až třikrát vyšší než u lidí, u kterých se vředy nevyskytují. Plíce se vyvíjejí ze stejných endodermálních buněk, které tvoří výstelku trávicího traktu a oba tyto systémy obsahují buňky, které uvolňují různé hormonální peptidy. Zvýšená plazmatická koncentrace gastrinu v důsledku HP infekce může přispívat k plicní karcinogenezi indukci proliferace slizničních buněk v bronchiálním epitelu. Navíc, pokud je HP vdechnut nebo jsou aspirovány jeho exotoxiny, mohou se hromadit v plicní tkáni. Nicméně HP zatím nebyl identifikován v bronchiální tkáni ani izolován z bronchoalveolární laváže. Jedním z možných vysvětlení je také vysoká prevalence kouření u obou skupin.

#### **2.3.3.2 Chronická bronchitida**

Podle tří epidemiologických studií provedených v letech 1968 až 1986 je prevalence chronické bronchitidy u pacientů s peptickým vředem dvakrát až třikrát vyšší než u zdravých kontrolních osob. Kromě toho studie ukázaly, že chronická bronchitida je hlavní příčinou úmrtí u pacientů s peptickým vředem. Jednoznačně, hlavním faktorem podporujícím asociaci mezi HP a chronickou bronchitidou je kouření cigaret.

Stále ještě nebyly identifikovány mechanismy mezi HP a chronickou bronchitidou. Jednou z možností rozvoje chronické bronchitidy je chronická indukce zánětlivých mediátorů HP infekce. Tuto hypotézu podporuje zvýšená prevalence CagA-pozitivních kmenů HP u pacientů s chronickým zánětem plic. Tyto virulentní kmeny stimulují uvolnění různých prozánětlivých cytokinů včetně IL-1, IL-8 a TNF- $\alpha$ . Po eradikaci HP dochází u sérových hladin cytokinů k normalizaci. Tyto cytokiny jsou pravděpodobně také zapojeny do patogeneze chronické bronchitidy. Proto by HP infekce obecně, a zejména způsobená CagA-pozitivními kmeny, mohla hrát



prozánětlivou roli v rozvoji chronické bronchitidy, a působit jako spoušť s dalšími genetickými faktory a faktory životního prostředí. Další potenciální patogenetický mechanismus by mohla být inhalace HP nebo vdechnutí jeho exotoxinů do dýchacích cest.

#### **2.3.3.3 Astma**

Tsang et al. (2000) vyšetřoval 90 čínských pacientů s bronchiálním astmatem a zjistil, že prevalence HP se téměř nelišila od zdravých kontrolních osob. I v jiných studiích došli autoři k závěru, že infekce HP není zapojena do patogeneze astmatu, a dále, že neexistuje žádný významný rozdíl v anti-HP IgG a anti-HP IgG-CagA hladinách mezi astmatiky a kontrolními subjekty. [13]

#### **2.3.4 HP a hematologická onemocnění**

Role HP v idiopatické trombocytopenické purpuře (ITP) je nyní dobře známa. Několik studií prokázalo, že eradikace HP infekce může mít za následek zvýšení počtu krevních destiček u pacientů s ITP. HP tedy může být považován za jednu z možných příčin ITP, ale přesný mechanismus, kterým HP ovlivňuje ITP není ještě zcela objasněn.

Další hematologické onemocnění, které je pravděpodobně spojené s infekcí HP je sideropenická anémie. Jeden z možných mechanismů způsobený chronickou infekcí je snížení hladin žaludeční askorbové kyseliny a tím zhoršená absorpce železa. Nedávné studie provedené na 753 korejských dětech ukázaly, že hladiny sérového feritinu jsou sniženy u dětí infikovaných HP, čímž byla potvrzena možná souvislost mezi HP a sideropenickou anémií. Tyto výzkumy také ukázaly, že jak u dospělých tak u dětí se sideropenickou anémií bylo dosaženo zlepšení nemoci po eradikaci HP. [11]

## 2.4 Léčba HP

Indikace a správné uplatňování léčebného režimu pro infekce HP jsou stále považovány za věc debaty. Peptická vředová choroba, krvácející žaludeční vředy a MALT-lymfom jsou považovány za onemocnění, pro které se eradikační terapie důrazně doporučuje. [15] Tuto indikaci k léčbě nazýváme absolutní, kdy o léčbě HP není pochyb. [6] Zatímco s HP spojená dyspepsie a gastritida bez přítomnosti vředů byly stanoveny jako nedostatečné důkazy pro zahájení léčby a pacient by měl být informován, že eradikace HP nemusí nutně vést ke zmírnění příznaků. [15] Tuto indikaci nazýváme relativní, přičemž nebyl nikdy prokázán přímý užitek u pacientů, kteří tuto léčbu podstoupili, ale tento užitek lze předpokládat. [6] Děti by měly být léčeny pouze tehdy, jsou-li jejich příznaky onemocnění natolik vážné, aby odůvodnily rizika léčby. [15] Třetí indikaci nazýváme kontroverzní, kdy léčbu v současné době nelze doporučit, neboť přímý pozitivní efekt léčby nebyl nikdy prokázán a nelze jej ani automaticky předpokládat. [6]

Navzdory tomu je léčba HP infekce relativně úspěšná. Eradikace HP bývá dosaženo asi u 80% pacientů. Mnohé studie prokázaly, že roční počet relapsů z 80% pro duodenální vředy a z 60% pro žaludeční vředy je snížen po úspěšné HP eradikaci na méně než 5%. [16] Ačkoliv je HP *in vitro* citlivý na velké množství různých antibiotik (ATB), léčba jedním ATB vede k eradikaci bakterie jen zřídka. Je proto nutné užívat kombinace léků. [6]

Léčbou první volby pro eradikaci infekce HP se doporučuje trojkombinace léčiv tvořená inhibitorem protonové pumpy (PPI) a dvěma ATB. Nejčastěji se jedná o PPI kombinovaný s klaritromycinem, amoxicillinem nebo metronidazolem. [16]

HP se nachází na povrchu žaludku v hlenu, jakož i v hlenu buněk a v epitelových buňkách. Tyto různé výklenky způsobují problém pro antimikrobiální terapii. Kromě toho je žaludeční lumen nepřátelským prostředím pro léčivo, protože léčivo může být aktivováno při pH nižším než neutrální a většina ATB má sníženou aktivitu při nízkých pH. Dále proto, že se objem žaludečního obsahu neustále mění a léčivo musí pronikat do hustého hlenu. [17]

V roce 1973 Ganser a Forte v experimentech na žabích žaludcích prokázali existenci finálního sekrečního mechanismu parietální buňky – protonové pumpy. Jde o enzym  $H^+/K^+$  ATPázu, která směňuje vodíkové a kaliové ionty,  $H^+$  jsou secernovány

extracelulárně a po spojení s  $\text{Cl}^-$  vzniká  $\text{HCl}$ . Zablokováním protonové pumpy je potlačena tvorba kyseliny chlorovodíkové bez ohledu na to, jaké povrchové receptory jsou stimulovány. Tak se zrodila nová léková skupina inhibitorů protonové pumpy, která zcela zásadně změnila terapii všech chorob s acidopeptickým mechanismem. Dnes jsou celosvětově v prodeji tyto látky: pantoprazol, lansoprazol, rabeprazol a esomeprazol. PPI ireverzibilním způsobem inaktivují  $\text{H}^+/\text{K}^+$  ATPázu, enzym, který se nachází v sekrečních kanálicích parietální buňky. Po aplikaci PPI trvá přibližně 17 hodin než je nový enzym syntetizován. Jelikož však k syntéze  $\text{H}^+/\text{K}^+$  ATPázy dochází v parietálních buňkách kontinuálně, nevzniká nikdy úplná achlohydrie. [18]

Do první volby léčby infekce HP byly také zařazeny nitroimidazolové preparáty pro svůj antimikrobiální účinek na mikroaerofilní bakterie. Používá se především metronidazol, tinidazol a ornidazol. Jako třetí v trojkombinaci ATB v terapii infekce HP se zařadilo zatím nejúspěšnější ATB – klaritromycin. Je to ATB nové generace makrolidů se širokým spektrem účinku proti Gram pozitivním i Gram negativním aerobům i anaerobům. Bylo prokázáno, že je vysoce účinný i proti HP, a to i v monoterapii. [1]

Doba trvání eradikační terapie zůstává kontroverzní. Trojkombinace PPI a dvou ATB je v Evropě doporučena užívat dvakrát denně po dobu 7 dnů. Američtí lékaři ustanovili dobu terapie na 10 a více dní. Mnohé studie však ukazují, že 7 i 10-ti denní léčba je stejně efektivní a prodloužení PPI terapie na 2–4 týdny nezlepšilo eradikaci HP ani rychlost hojení peptického vředu. [16]

Léčba druhé volby je určena jako čtyřkombinace PPI, bismutu, metronidazolu a tetracyklinu po dobu minimálně 7 dnů. V oblastech, kde nejsou sloučeniny bismutu k dispozici (kvůli domnělé toxicitě), může být jako druhá volba léčby užita trojkombinace založená na PPI, ale pouze po provedení testu citlivosti na ATB. [19]

Na možné selhání eradikačních kúr založených na užívání klaritromycinu a metronidazolu má zřejmě vliv jednoduchá či vícečetná rezistence. V tomto případě by se mělo u pacientů přistoupit k tzv. záchranné léčbě, jejíž nutnou součástí je provedení testu citlivosti na ATB. Mezi ATB, které jsou k dispozici po eradikačním selhání patří levofloxacin. Jedná se o fluorochinolon s širokým spektrem antibakteriální aktivity. Novější fluorochinolon gatifloxacin byl v jedné ze studií hodnocen v kombinaci s amoxicilinem po dobu 7 dnů. Infekce byla vyléčena v 92%. Dobré předběžné výsledky, které dokazovaly eradikaci u více než 90% pacientů byly také hlášeny u moxifloxacinu. Je však k dispozici pouze omezený počet dat pro tuto studii.

Dalším aktivním ATB proti HP infekci s přijatelnou rychlostí eradikace je rifabutin. Několik studií prokázalo, že v kombinaci s PPI a amoxicilinem je rifabutin užívaný více než 7 dní vysoce účinný proti rezistenci po selhání standardní terapie trojkombinací a je navíc pacienty velmi dobře snášen. Nicméně, rifabutin je ATB, které má schopnost vyselektovat rezistentní mykobakterie, a proto musí být užíván opatrně a pouze v malém měřítku.

Eradikace HP je velmi složitý proces. Zvýšené užívání těchto léčiv, může vyústit v selhání léčby. Prvním faktorem, který je třeba zvážit, je rezistence na ATB. Další důležité faktory, které mohou přispět k selhání léčby jsou onemocnění pacienta, jeho špatná spolupráce, virulence bakterie nebo farmakologická aktivita předepsaných léčiv. [16]

#### 2.4.1 Antimikrobiální rezistence

Faktory, které mohou přispět k selhání antimikrobiální léčby jsou nedostatečné proniknutí ATB do hloubky žaludeční sliznice, pH inaktivace ATB, nedodržování pokynů ze strany pacienta, nedostatečná korelace citlivostí mezi testy *in vitro* a *in vivo* a přítomnost kmenů HP s primární nebo získanou rezistencí na užívané antimikrobiální látky. HP je přirozeně rezistentní vůči polymyxinům, trimethoprimu, vancomycinu a sulfonamidům. Naopak citlivý je na peniciliny, většinu cefalosporinů, makrolidy, tetracykliny, nitromidazoly, nitrofurany a chinolony. V léčbě HP hraje ale důležitější roli rezistence získaná. Kmeny HP se mohou stát rezistentními díky mutacím v chromozomálních genech získáním exogenní DNA (deoxyribonukleová kyselina) nebo transformací. Obvykle získávají rezistenci díky mutacím v chromozomální DNA, ale existuje také teoretická možnost získání cizí DNA pomocí plasmidů či transpozomů. [20]

Antimikrobiální rezistence je primární příčinou selhání léčby a týká se zejména dvou hlavních složek ATB v současných léčebných režimech: makrolidů a nitroimidazolů. Rezistence na makrolidy, a to zejména na klaritromycin, byla několika studiemi zdokumentována a její klinický význam s určitostí prokázán. [16] Je způsobena bodovou mutací ve 23. subjednotce rRNA (ribosomální ribonukleová kyselina) genu. [20] Dopad makrolidové rezistence na léčbu HP je vážný a snižuje míru eradikace pod 50%. [16]

Mechanismus vzniku rezistence na metronidazol je méně jasný. Objevují se asociace vztahující se k inaktivaci bakteriálních enzymů s nitroreduktázovou aktivitou. Ačkoli někteří autoři zjistili pokles míry eradikace v závislosti na citlivosti či rezistenci na metronidazol, jiní autoři našli pouze malé rozdíly při léčbě trojkombinací zahrnující metronidazol a klaritromycin. Byla hlášena i rezistence na tetracyklin, ale pouze u velmi nízkého procenta kmenů a mechanismy zatím nebyly studovány.

Prevalence rezistence metronidazolu mezi kmeny HP je zjišťována po celém světě. Je velmi variabilní, a vyšší procento nacházíme v rozvojových než ve vyspělých zemích. Tento rozdíl může být v rozvojových zemích způsoben obecným užíváním metronidazolu pro jiné infekční onemocnění, například u infekcí vyvolaných prvoky. Ve vyspělých zemích je metronidazol také užíván pro gynekologické a zubní infekce. Někteří autoři proto uvádějí vyšší míru rezistence u žen. Průzkum zaměřený na geografické rozložení rezistence HP zjistil, že v evropských zemích se rezistence objevuje v rozmezí 5-50% s nejvyšší mírou ve východní Evropě a ve Finsku. Prevalence rezistence ke klaritromycinu je o mnoho nižší a dosahuje hodnot přes 10%. Nejnižší se zdá být v zemích, kde se teprve nedávno stal dostupným, a kde nejsou široce užívány ani ostatní makrolidy. V rámci evropských zemí nacházíme např. 3,5% ve Španělsku, 2,3% v Německu či 10% ve Francii. [20]

## 2.5 Metody průkazu

K poznání zásadní role bakterie *Helicobacter pylori* v patogenezi vředové choroby bylo vyvinuto několik diagnostických metod k průkazu infekce. Z praktického hlediska se tyto testy dělí na **invazivní** (k diagnostice je nutné odebrat biotické vzorky žaludeční sliznice při endoskopickém vyšetření) a **neinvazivní** (endoskopické vyšetření není nutné). K invazivním testům řadíme histologické vyšetření, rychlý ureázový test, kultivaci a molekulárně biologické metody (PCR). K neinvazivním testům se řadí vyšetření sérologické, detekce metabolitů hydrolýzy urey ve vydechovaném vzduchu, moči či krvi a nově detekce antigenu HP ve stolici. Žádný z testů však není stoprocentně senzitivní ani specifický, a proto se doporučuje infekci HP diagnostikovat alespoň dvěma metodami. Výtěžnost všech testů je negativně ovlivněna léčbou antibiotiky nebo léky blokujícími sekreci žaludeční kyseliny a konkrétní výběr závisí na dané klinické situaci a zkušenostech pracoviště.

### 2.5.1 Invazivní metody

K většině invazivních metod průkazu infekce HP je nutné provedení endoskopického vyšetření s odběrem vzorků sliznice žaludku, popsány jsou však i jiné invazivní metody jako např. nasogastrická intubace sondou k aspiraci žaludeční šťávy a jejímu vyšetření. Mezi invazivní testy řadíme histologické vyšetření, rychlý ureázový test, kultivaci, a v poslední době stále více užívané (i když stále pouze v rámci výzkumu) metody PCR diagnostiky.

#### 2.5.1.1 Histologické vyšetření

Histologické vyšetření patří mezi nejčastěji užívané diagnostické metody. Doporučuje se odebrat alespoň dva vzorky z antra a dva z těla žaludku, někteří autoři doporučují odběr vzorků i z kardié. Výhodou histologického vyšetření je současné zhodnocení aktivity zánětu a posouzení přítomnosti případných změn sliznice žaludku jako jsou atrofie a nebo intestinální metaplasie. HP je dobře patrný na povrchu epitelových buněk jako spirální mikroorganismus. Při barvení vzorků se dříve užívalo

stříbření (metoda Warthin–Starry), nyní se dává přednost modifikované metodě barvení dle Giemsky se senzitivitou kolem 90%. Nověji se užívá barvení dle Genty, jehož výhodou je i kvalitní zobrazení okolní tkáně. Dále se užívá barvení alcianovou žlutí s toluidinovou modří, které dosahují podobné výsledky jako s metodou modifikovaného barvení dle Giemsky. Specifita a senzitivita histologického vyšetření se může zvýšit užitím imunohistochemie s monoklonálními protilátkami.

#### **2.5.1.2 Rychlý ureázový test**

Rychlé ureázové testy jsou velmi rozšířené. Jsou velmi levné, relativně spolehlivé a výsledek můžeme obdržet během několika minut až hodin bez toho, abychom odesílali jakékoliv vzorky do laboratoře. V současnosti je na trhu celá řada těchto testů (např. CLO test). Jeho princip spočívá ve změně zbarvení pH citlivého indikátoru při rozkladu močoviny na amoniak a oxid uhličitý (tato reakce probíhá pouze za přítomnosti ureázy u infikovaných osob). Amoniak totiž způsobí zvýšení pH s následným fialovým či červeným zbarvením indikátoru., kterým je zpravidla fenolová červen.

K tomuto vyšetření se odebírají jedna nebo raději dvě biopsie, které se umístí do předem připravených destiček s jamkami nebo malých zkumavek s tekutým či polotekutým médiem. U některých pacientů je test pozitivní během několika málo minut. Vyšetření lze prohlásit definitivně za negativní, pokud nedojde ke změně barvy do 24 hodin. Senzitivita a specifita rychlého ureázového testu je 90%, senzitivita se však výrazně snižuje při krvácení do GIT .

#### **2.5.1.3 Kultivační vyšetření**

Kultivační vyšetření je náročnou a drahou metodou, a proto se k základní diagnostice HP rutinně neužívá. V klinické praxi se kultivační vyšetření indikuje u pacientů, u nichž selhala antibiotická léčba HP, neboť toto vyšetření umožňuje stanovit citlivost a rezistenci konkrétního kmene HP k jednotlivým ATB. Rezistence na ATB totiž v posledních letech celosvětově stoupá a negativně ovlivňuje výsledky léčby. Dále se kultivační vyšetření hojně užívá v rámci výzkumu. Senzitivita je ve srovnání

s ostatními metodami menší (80–90%), ale specifita je z definice mikrobiologického vyšetření stoprocentní.

K zajištění co největší pravděpodobnosti úspěšné kultivace je třeba dodržet standardní postupy dopravy a zpracování bioptických vzorků. Vzorky se musí zpracovat co nejdříve, protože k usmrcení dochází krátce po jeho expozici nevhodnému cizímu prostředí. Biopsie se doporučuje odebírat do Stuartova transportního media. HP zde při teplotě 4°C přežívá 24 hodin, ale při teplotě nad 15°C pouze 6 hodin. K samostatné kultivaci se používá kombinace neselektivních a selektivních půd, nejčastěji Columbia agar s různými přísadami jako např. škrob či bovinní albumin a ATB. Kultivace se provádí za mikroaerofilních podmínek. Je popsána i úspěšná kultivace ze stolice a zubního povlaku, klinický význam to však nemá.

#### **2.5.1.4 Metody molekulární biologie**

Metody molekulární biologie jsou sice přesné, ale ve srovnání s ostatními metodami drahé a náročné, proto se v běžné klinické praxi neužívají. Používají se především v klinickém i základním výzkumu. Nejrozšířenější molekulární metodou detekce je polymerázová řetězová reakce (PCR), s jejíž pomocí se HP prokazuje v biopsiích ze žaludku, v žaludeční šťávě, zubním povlaku či stolici. Metoda má senzitivitu až 100%, která ale velmi závisí na výběru primární sekvence nukleových kyselin (primeru).

HP lze potvrdit *in situ* hybridizací, tato technika se ale pro její náročnost v rutinní praxi nepoužívá.

#### **2.5.2 Neinvazivní metody**

Neinvazivní testy se nejčastěji indikují při průkazu HP u pacientů s dyspepsií horního typu mladších než 45 let, a dále k ověření úspěšné eradikační léčby, není-li indikováno kontrolní endoskopické vyšetření. Neinvazivní metody diagnostiky se používají také v epidemiologických studiích nebo u pacientů, kde je endoskopické vyšetření rizikové (těhotenství). Konečně je indikujeme k primární diagnostice infekce



u extradigestivních chorob, kde by infekce HP mohla hrát patogenetickou úlohu (např. rezistentní kopřivka).

#### **2.5.2.1 Vyšetření sérologické**

Vyšetření protilátek neurčuje aktuální stav infekce, protože případná pozitivita přetrvává i několik let po úspěšné léčbě. Sérologické vyšetření je vhodné zejména pro epidemiologické studie nebo při vyhledávání HP v rodinách pacientů s komplikovaným průběhem chorob vázaných na HP ( perforace peptického vředu, karcinom žaludku). Nelze je použít ke kontrole úspěchu eradikační léčby, neboť pokles hladiny protilátek je pozvolný (k významnému poklesu hladin protilátek dochází během 6-12 měsíců, k úplné negativizaci nemusí dojít ani po dvou letech). Sérologické vyšetření lze doporučit i u pacientů s krvácejícím vředem žaludku nebo duodena při negativním histologickém vyšetření, anebo rychlém ureázovém testu (při krvácení je jejich výtěžnost snížena).

K detekci protilátek lze užít řadu technik. Nejužívanější je stanovení protilátek třídy IgG enzymovou imunoabsorpční esejí (ELISA), které je velmi spolehlivé. Stanovení protilátek třídy IgA je málo senzitivní. Protilátky třídy IgM se vyskytují pouze u 10% infikovaných (zvláště dětí), a proto se k diagnostice infekce HP neužívají. Mezi další metody stanovení protilátek patří aglutinace, imunoblot („Western blot“) a imunochromatografie. Aglutinace a imunochromatografie jsou metody, na nichž jsou založeny tzv. rychlé sérologické testy.

#### **2.5.2.2 Dechový test**

Dechový test je globálním (tj. posuzujícím přítomnost HP v celé sliznici žaludku, na rozdíl od testů „neglobálních“ při odebrání bioptických vzorků) neinvazivním testem s nejvyšší specifitou a senzitivitou. Spolu s vyšetřením antigenu ve stolici je metodou první volby k primární diagnostice HP, není-li indikováno endoskopické vyšetření.

Princip dechového testu je založen na rozložení orálně podané močoviny ureázou na amoniak a oxid uhličitý. Pokud infikovanému pacientovi podáme močovinu se značeným izotopem uhlíku (např. neradioaktivní  $^{13}\text{C}$  nebo radioaktivní  $^{14}\text{C}$ ), dojde

k jejímu rozložení na oxid uhličitý a amoniak. Ve vydechovaném vzduchu lze pak detekovat oxid uhličitý s užitým izotopem uhlíku. Při analýze vydechovaného vzduchu se měří poměr mezi značenými a přírodními izotopy uhlíku.

Existují 3 hlavní metody analýzy vzorků vydechovaného vzduchu. Všechny tři jsou stejně přesné, liší se pouze pořizovací cenou a technickými detaily. Nejvíce se užívá hmotnostní spektrometrie, jejíž nevýhodou je vysoká cena. Další možností je infračervený analyzátor, který je levnější, vyžaduje však, aby pacient dodal daleko větší objem vzduchu. Třetí možností je analýza laserová (př. je laserový systém LARA). [6]

### **2.5.2.3 Průkaz antigenu HP ve stolici**

Test pro průkaz Ag HP je doporučován jako alternativa k dechovým testům. Toto vyšetření je oblíbené zejména u pediatrů, jelikož je zcela neinvazivní, a není vyžadována žádná spolupráce pacienta. Nevýhodou je nutnost manipulovat se stolicí. Princip spočívá ve vazbě antigenu se specifickými protilátkami. Test je dostupný ve dvou uspořádáních: jako ELISA či jako imunochromatografický test. Test ELISA byl poprvé představen na sjezdu Americké mikrobiologické společnosti v roce 1997 a brzy se stal součástí doporučených vyšetřovacích postupů jako levnější alternativa dechových testů. V České republice byl test zařazen mezi standardní vyšetření do Seznamu zdravotních výkonů v roce 2002. První testy pracovaly s polyklonálními protilátkami, nověji začali výrobci používat protilátky monoklonální. Tento test umožňuje rychlou a nenáročnou diagnostiku o vysoké specifitě a senzitivitě. [29]

### **3 Cíl práce (zadání)**

Cílem této práce je seznámit se s problematikou bakterie *Helicobacter pylori* a infekcemi, které způsobuje. Experimentální část je zaměřena na hodnocení prevalence HP z dat získaných na Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Pacienti, jenž byli do této studie zahrnuti, byli na přítomnost HP vyšetřováni metodou stanovení antigenu HP ve stolici a kultivačním vyšetřením. Tyto dvě metody byly následně porovnány. Práce je dále zaměřena na výskyt gastrointestinálních a extragastrointestinálních onemocnění způsobených HP a na zvyšující se rezistenci HP na ATB.

## 4 Experimentální část

### 4.1 Průkaz antigenu *Helicobacter pylori* ve stolici

#### 4.1.1 *Helicobacter pylori* Card (CerTest – VIDITEST)

Tento test je určen pro kvalitativní stanovení Ag HP ve fekálních vzorcích. Jde o rychlé jedнокrokové imunochromatografické stanovení. Vyšetření HP tímto testem se stalo uznávanou metodou pro svoji vysokou citlivost a specifitu. Stejně dobrých výsledků bylo dosaženo i při kontrole úspěchu eradikace u dospělých, a metoda se osvědčila i u dětí. Vyšetření Ag ve stolici se stalo rovnocennou alternativou k dechovým testům, se kterými velmi dobře koreluje. Jeho provedení je lehké, pacienti téměř vůbec nezatěžuje, a výsledky jsou k dispozici během několika minut. Oproti dechovému testu je levnější a nevyžaduje speciální laboratorní vybavení, tzn. vyšetření lze provést kdekoliv, např. přímo v ordinaci lékaře.

##### 4.1.1.1 Odběr a uchovávání vzorku

Vzorky stolice by měly být odebrány do čistých a uzavíratelných kontejnerů a stanovení by mělo proběhnout ihned po odběru. Vzorky mohou být uchovávány při teplotě 2-8°C po dobu 1-2 dny před testováním. V případě potřeby lze vzorek stolice zamrazit a uchovávat při teplotě -20 až -80°C. Vzorek může být maximálně 2x zmražen a zase rozmražen. Stolica v transportním médiu, na výtěrovce či konzervovaná, nemůže být pro vyšetření touto metodou použita.

##### 4.1.1.2 Příprava vzorku

Tekutá a polotuhá stolice (vodnatá průjmová není pro testování vhodná): stolicí dobře promícháme, vhodnou pipetou přeneseme 100 µl do lahvičky s ředícím roztokem.

Formovaná stolice: k přenosu 5-6 mm porce stolice použijeme aplikátorovou tyčinku od ředícího roztoku. Vzorek tyčinkou rozmícháme.

#### **4.1.1.3 Princip testu**

Membrána testovací kartičky je předem potažena monoklonálními protilátkami proti HP. Během testování reaguje antigen ve vzorku s barevným konjugátem (monoklonální protilátky proti HP). V případě pozitivního výsledku budou specifické protilátky přítomné na membráně vázat barevný konjugát a tvořit barevný proužek.

#### **4.1.1.4 Pracovní postup**

1) Připravíme si testovací kartičku – necháme ji vytemperovat v obalu na pokojovou teplotu. Po vytemperování vyjmeme kazetu z obalu.

2) Nejprve znovu protřepeme, a pak otevřeme lahvičku s ředícím roztokem obsahující vzorek.

3) Do kulatého prostoru testovací kartičky, který je označen šipkou a písmenem S nanese přesně 5 kapek nebo 150 µl rozředěného vzorku.

4) Po 10 minutách odečteme výsledek.

5) Po vyhodnocení testu odložíme vše do biologického odpadu.

#### **4.1.1.5 Vyhodnocení analýzy**

Interpretace výsledku:

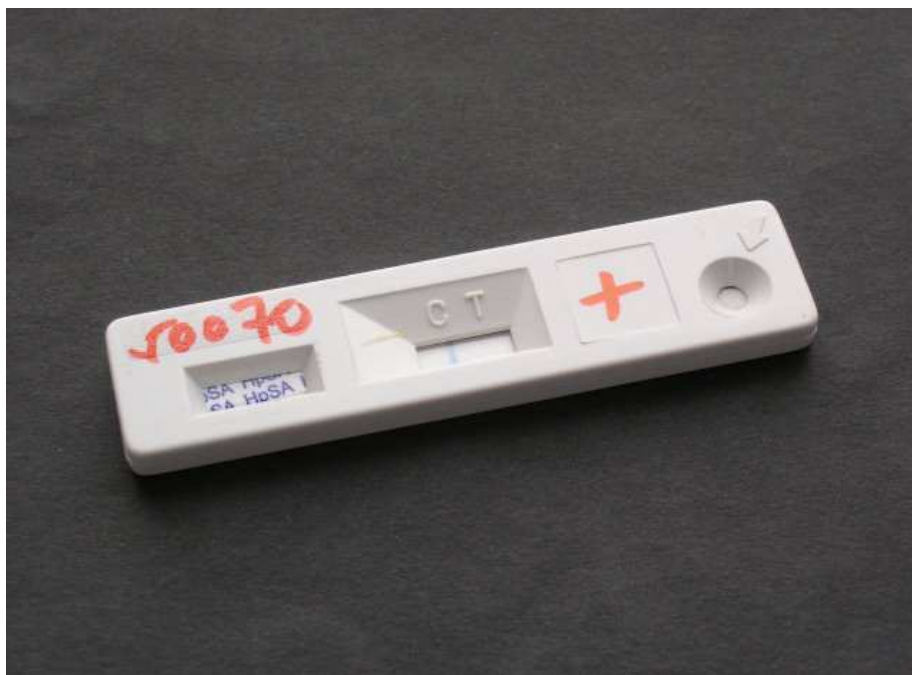
**NEGATIVNÍ:** uprostřed testovací kartičky, v blízkosti písmene C, se objeví pouze jeden červený proužek – kontrolní proužek (HP antigen je nepřítomen nebo pod hranicí detekce).

**POZITIVNÍ:** Kromě červeného kontrolního proužku se na kartičce v blízkosti písmene T objeví jasně rozeznatelný červený proužek.

Intenzita zabarvení závisí na koncentraci antigenu HP ve vzorku. (HP antigen je přítomen v detekovatelném množství)

**NEHODNOTITELNÝ:** Test je neplatný, pokud se v kontrolní zóně neobjeví červená linka bez ohledu na to, zda se v zóně výsledku linka objeví.

Validita testu: Vnitřní kontroly postupu jsou zahrnuty v testu. Interní kontrolou je červená linka v kontrolním poli – ta potvrzuje dostatek vzorku a správnou techniku odběru. [8]



Obr. 1 Helicobacter pylori Card (CerTest – VIDITEST) – testovací proužek pro průkaz Ag HP ze stolice. Pozitivní reakce (přítomnost HP) se projeví jako červený proužek.

## 4.2 Kultivační vyšetření

### 4.2.1 Zpracování žaludeční biopsie na záchyt HP

#### 4.2.1.1 Zápis materiálu

Materiál přichází do laboratoře v tekutém transportním médiu nebo ve speciální transportní agarové půdě. Průvodka se zapíše do počítače pod protokolární číslo do laboratoře G (Helikobakter). Jsou-li od jednoho pacienta 2 biopsie, dostane každá svoje číslo a kód vyšetření.

#### 4.2.1.2 Zpracování materiálu

K zajištění co největší pravděpodobnosti úspěšné kultivace je třeba dodržet standardní postupy dopravy a zpracování bioptických vzorků. Vzorky se musí zpracovat co nejdříve, protože k usmrcení agens dochází krátce po jeho expozici nevhodnému

cizímu prostředí. Biopsie se doporučuje odebírat do Stuartova transportního media. HP zde při teplotě 4°C přežívá 24 hodin, ale při teplotě nad 15°C pouze 6 hodin.

Sterilní kličkou se odebere tkáň mezi 2 sterilní podložní sklíčka, mírným tlakem na vrchní sklíčko se tkáň rozruší a sterilně se inokuluje na tuhé půdy – 1x Pylori agar, 2x Müller-Hinton krevní agar. Zbytek tkáně se použije na rychlý ureázový test a preparát barvený podle Grama.

Kultivace se provádí za mikroaerofilních podmínek. Agarové půdy se dají inkubovat do speciální krabice s vyvíječem atmosféry (CampyGen sáček s přidáním vody nebo suchý vyvíječ) bez katalyzátoru, kde zvolenému objemu krabice musí odpovídat množství vyvíjecích sáčků. Kultivuje se po dobu 10 dní při teplotě 37°C. Každý 3.-4. den se kultivace otevírají, kontroluje se růst, a znovu se uzavírají do atmosféry. Veškeré úkony se zapisují průběžně do archu.

#### **4.2.1.3 Ureázový test**

Do zkumavky s ureázovým médiem se umístí kousek tkáňe a test se nechá 24 hodin inkubovat při 37°C. Změna barvy za žluté na červeno-fialovou indikuje pozitivní reakci.

#### **4.2.1.4 Odečítání výsledku**

První odečítání kultivace se provádí po 48-72 hodinách, dále se prohlíží obden. Sledování negativního materiálu se ukončuje 10. den.

#### **4.2.1.5 Zpracování pozitivního nálezu**

Pozitivní nárůst průhledných kolonií se ověřuje bichemickými testy. Provádí se test oxidázy, katalázy a ureázy. Jsou-li všechny testy pozitivní, uzavře se nález jako *Helicobacter pylori* /HEPY/ a vše se zapíše do počítače i do archu. Každý zachycený kmen se namnoží pro stanovení citlivosti.

#### **4.2.1.6 Namnožení kmene**

Sterilním vatovým tamponem se setře narostlá kultura a vytvoří se suspenze č.2 dle McFarlanda v brucelovém bujonu. Suspenze se tamponem naočkuje na 2 Müller-Hinton krevní agary.

#### 4.2.1.7 Stanovení citlivosti

Stanovení citlivosti se provádí difúzní diskovou metodou na speciální Müller-Hinton agar s krví nebo Pylori agar. Sterilním vatovým tamponem se setře narostlá kultura kmene z 1-2 ploten a vytvoří se hustá suspenze v brucelovém bujonu (McFarland 2). Agarová plotna se inokuluje tamponem. Na jednu plotnu se pokládají nanejvýš 3 disky. Inkubuje se 48 hodin i déle. Velikosti inhibičních zón v mm jednotlivých antibiotik ( AMX - amoxicilin, TTC - tetracyklin, MET - metronidazol, AZI - azithromycin, CLA - klaritromycin, CIP - ciprofloxacin) se zapíše do archu.

#### 4.2.1.8 Zamrazení kmene (pro potřeby interní kontroly nebo výzkumu)

Zamrazení kmene se provádí do firemní kryozkumavky. Připraví se hustá suspenze kmene (z 1-2 ploten) a přebytek desinfekce nad perličkami se odsaje sterilní Pasteurovou pipetou. Kryotuba se označí číslem kmene, datem zamražení a jménem pacienta. Suspenze se pro kontrolu čistoty naočkuje Müller-Hinton krevní agar a dá se kultivovat mikroaerofilně na 2-3 dny. Výsledek této kultivace se zapíše do archu jako kontrola mražení. Naplněná kryozkumavka se co nejrychleji umístí vždy v poloze na stojato do mrazícího boxu při  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ . [3]



Obr. 2 *Helicobacter pylori* – kultivace na krevní půdě



## 5 Výsledky

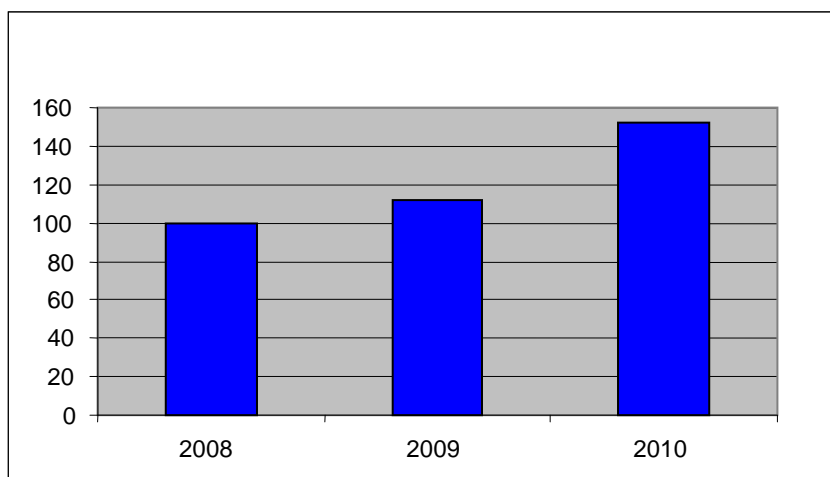
Podkladový materiál - tzn. počty a výsledky vyšetření pacientů na přítomnost HP, provedené metodou – průkaz antigenu HP ve stolici (H.pylori Card – CerTest - VIDITEST) a kultivačním vyšetřením (zpracováním žaludeční biopsie) jsem získala z ÚKM FNHK. Výsledky obou testů jsou zpracovány za období od 1.1. 2008 do 31.12. 2010.

### 5.1.1 Přehled počtu vyšetřených pacientů metodou – Průkaz Ag HP ve stolici (H.pylori Card)

Od 1.1. 2008 do 31.12. 2010 bylo vyšetřeno metodou – stanovení Ag HP ze stolice celkem 343 pacientů, z toho bylo 59 HP pozitivních a 284 negativních.

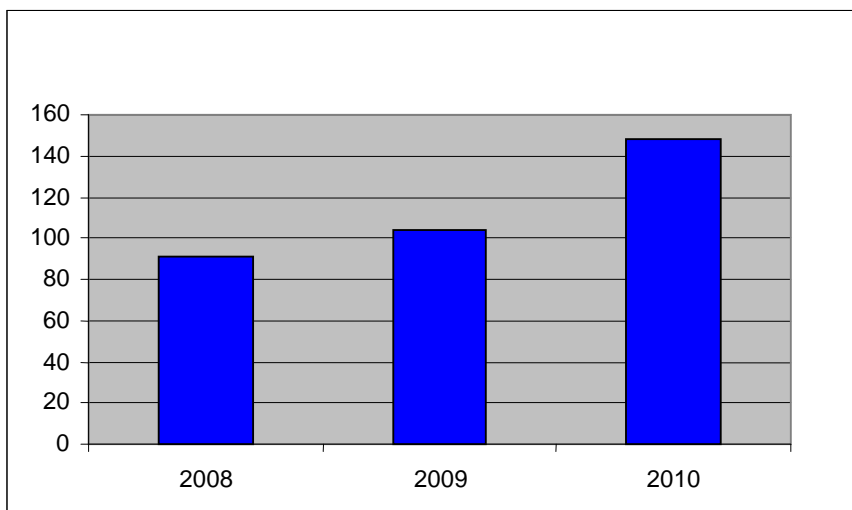
Tab. 1. Počet vyšetření, počet vyšetřovaných pacientů na přítomnost HP a počet HP pozitivních pacientů metodou Průkaz Ag HP ze stolice za dané období roku 2008-2010

	2008	2009	2010
Počet vyšetření	100	112	152
Počet vyšetřovaných pacientů	91	104	148
Počet pozitivních pacientů	17	25	17



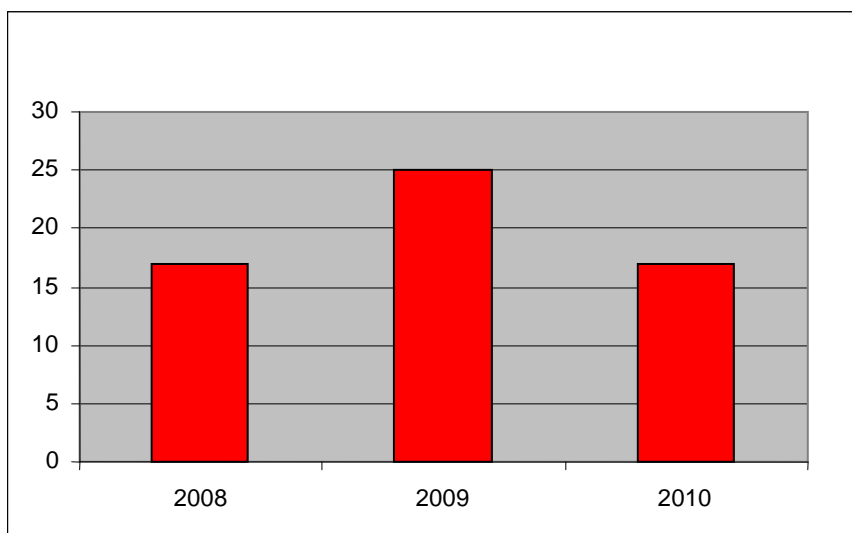
Graf 3. Počet vyšetření na přítomnost HP metodou Průkaz Ag HP ve stolici

Graf znázorňuje zvyšující se počet vyšetření v daném období 2008–2010.



Graf 4. Počet vyšetřovaných pacientů na přítomnost HP metodou Průkaz Ag HP ve stolici v daném období 2008-2010

Graf poukazuje na zvyšující se počet vyšetřovaných pacientů na přítomnost HP

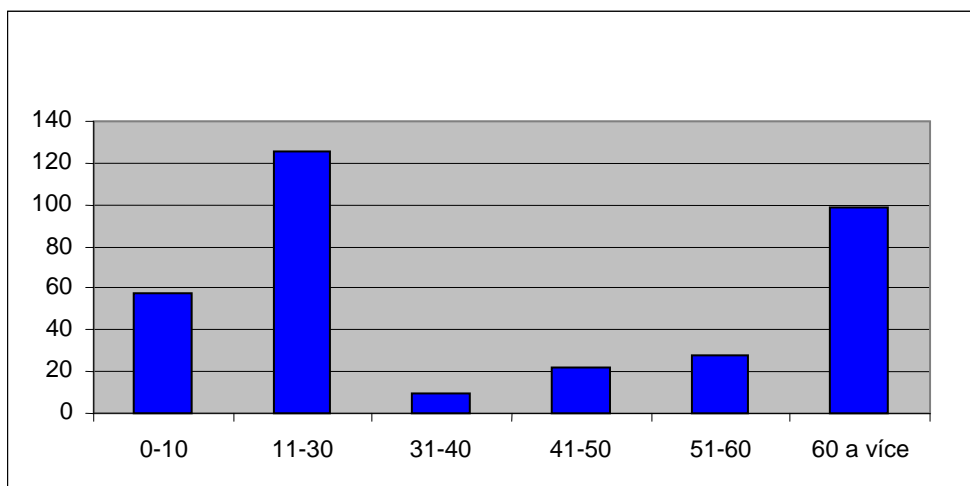


Graf 5. Počet HP pozitivních pacientů vyšetřovaných metodou Průkaz Ag HP ve stolici za dané období 2008-2010

Graf znázorňuje nejvyšší záhyt HP positivity v roce 2009.

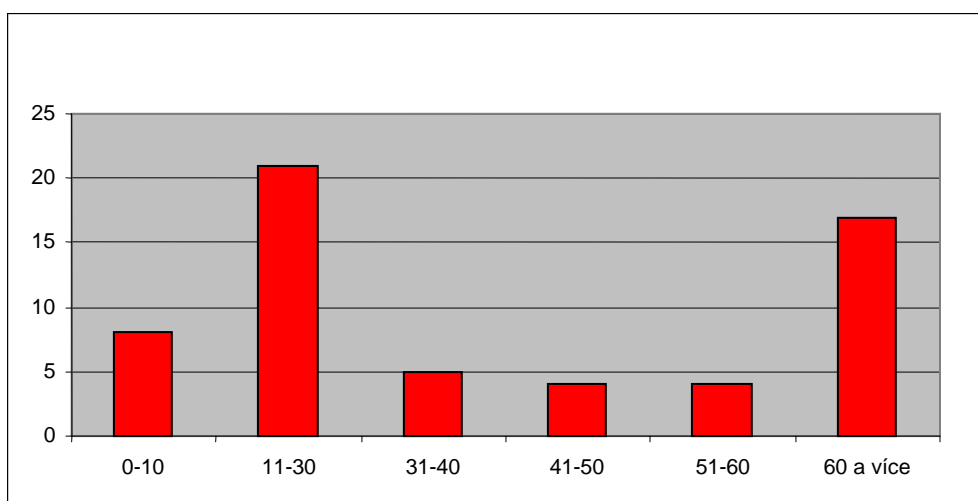
Tab. 2. Počet vyšetřovaných pacientů na přítomnost HP a počet HP pozitivních pacientů metodou Průkaz Ag HP ve stolici z hlediska věkové distribuce

	0-10	11-30	31-40	41-50	51-60	60 a více
Počet vyšetřovaných pacientů	58	126	10	22	28	99
Počet HP pozitivních pacientů	8	21	5	4	4	17



Graf 6. Počet vyšetřovaných pacientů na přítomnost HP metodou Průkaz Ag HP ve stolici z hlediska věkové distribuce

Nejvyšší skupinou je mládež mezi 11-30 lety a staří lidé 60 a více let.

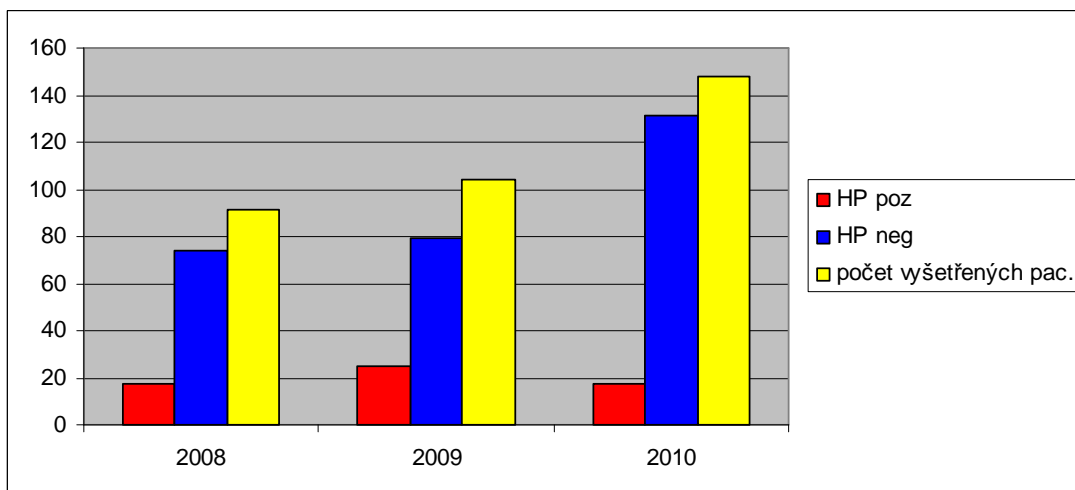


Graf 7. Počet HP pozitivních pacientů metodou Průkaz Ag HP ve stolici z hlediska věkové distribuce

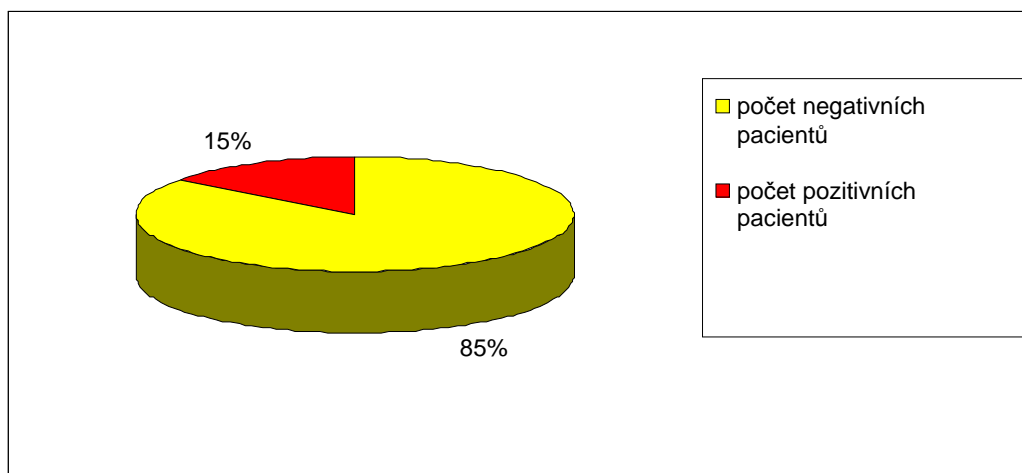
Nejčetnější záchyt HP pozitivních pacientů je ve věkovém rozmezí 11-30 a 60 a více let.

Tab. 3 Celkový přehled vyšetřených pacientů na přítomnost HP stanovením Ag HP ze stolice

	2008	2009	2010
HP poz	17	25	17
HP neg	74	79	131
Počet vyšetřených pacientů	91	104	148



Graf 8. Celkový přehled vyšetřených pacientů na přítomnost HP stanovením Ag HP ze stolice



Graf 9. Procentuální zastoupení HP pozitivních a HP negativních pacientů

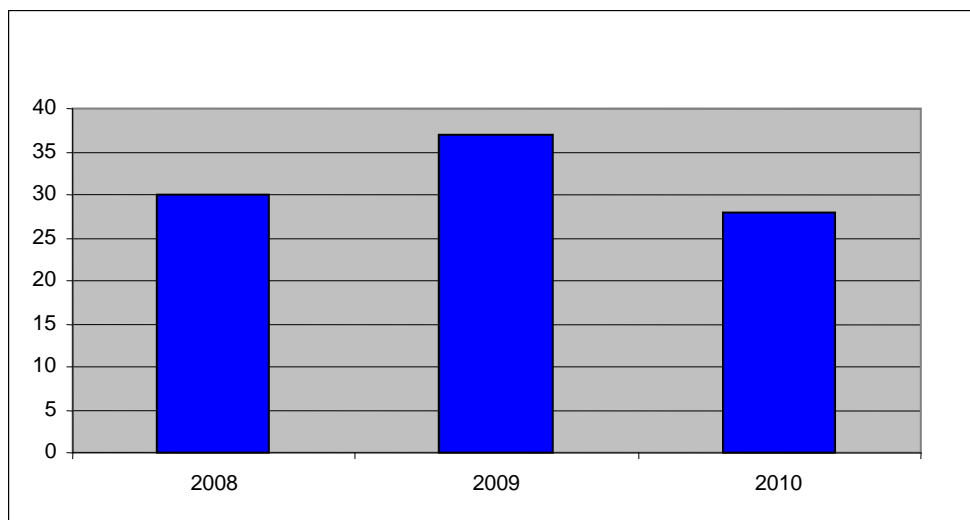
Na přítomnost HP bylo stanovením Ag HP ze stolice vyšetřeno 343 pacientů a z toho bylo 59 HP pozitivních a 284 HP negativních.

### 5.1.2 Přehled počtu vyšetřených pacientů zpracováním žaludeční biopsie – kultivační vyšetření

Od 1.1. 2008 do 31.12. 2010 bylo vyšetřeno kultivační metodou celkem 79 pacientů, z toho bylo 45 HP pozitivních a 34 negativních.

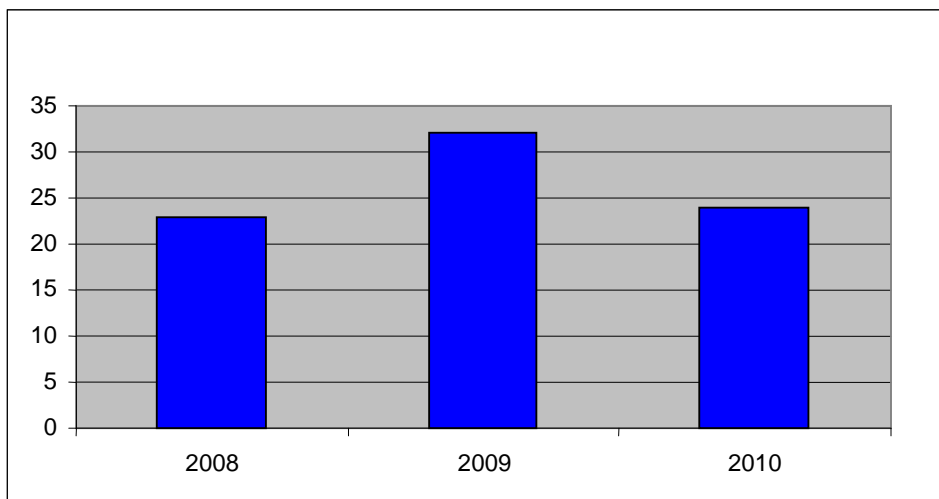
Tab. 4. Počet vyšetření, počet vyšetřovaných pacientů na přítomnost HP a počet HP pozitivních pacientů kultivační metodou za dané období roku 2008-2010

	2008	2009	2010
Počet vyšetření	30	37	28
Počet vyšetřovaných pacientů	23	32	24
Počet pozitivních pacientů	12	19	14



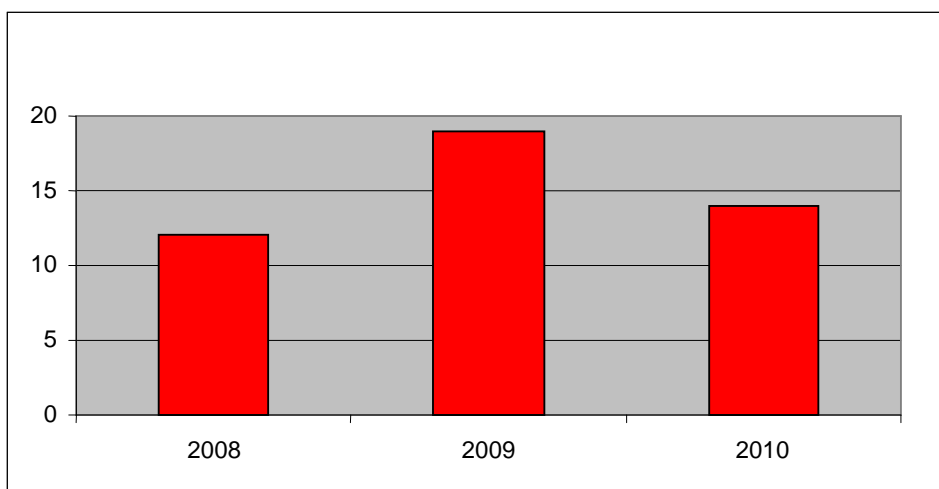
Graf 10. Počet vyšetření na přítomnost HP kultivační metodou v období 2008- 2010

Graf znázorňuje nejvyšší počet vyšetření na přítomnost HP v roce 2009.



Graf 11. Počet vyšetřovaných pacientů na přítomnost HP kulturační metodou v daném období 2008 - 2010

Graf znázorňuje nejvyšší počet vyšetřených pacientů na přítomnost HP v roce 2009.

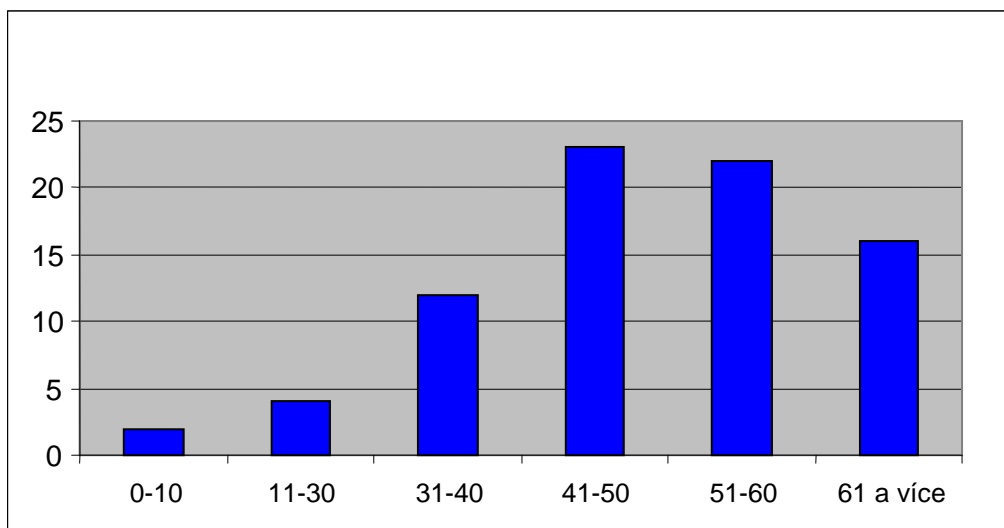


Graf 12. Počet HP pozitivních pacientů kulturační metodou v daném období 2008 - 2010

Graf znázorňuje nejvyšší záchyt HP positivity v roce 2009.

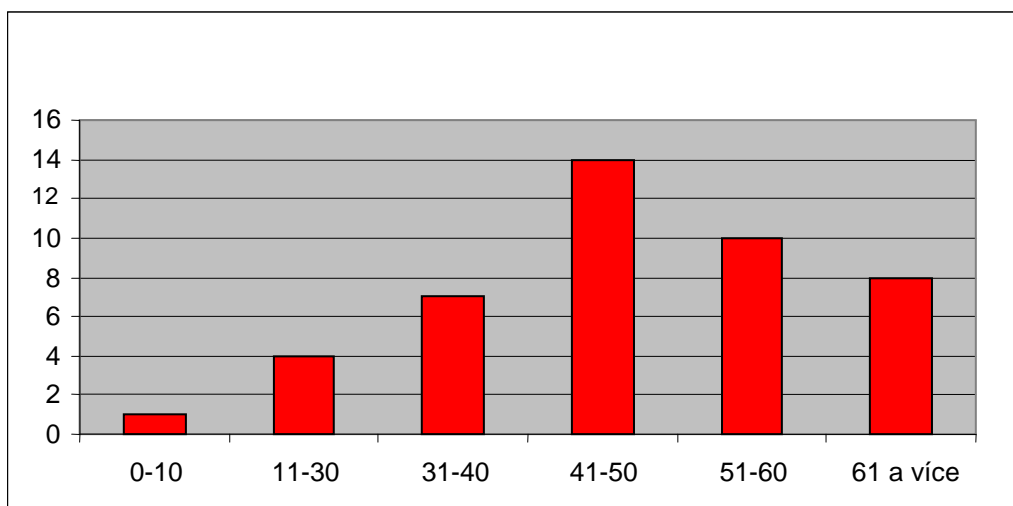
Tab. 5. Počet vyšetřovaných pacientů na přítomnost HP a počet HP pozitivních pacientů kulturační metodou z hlediska věkové distribuce

	0-10	11-30	31-40	41-50	51-60	61 a více
Počet vyšetřených pacientů	2	4	12	23	22	16
Počet pozitivních pacientů	1	4	7	14	10	8



Graf 13. Počet vyšetřovaných pacientů na přítomnost HP kulturační metodou z hlediska věkové distribuce

Nejvyšší skupinou jsou pacienti ve věku 41-50 a 51-60 let.

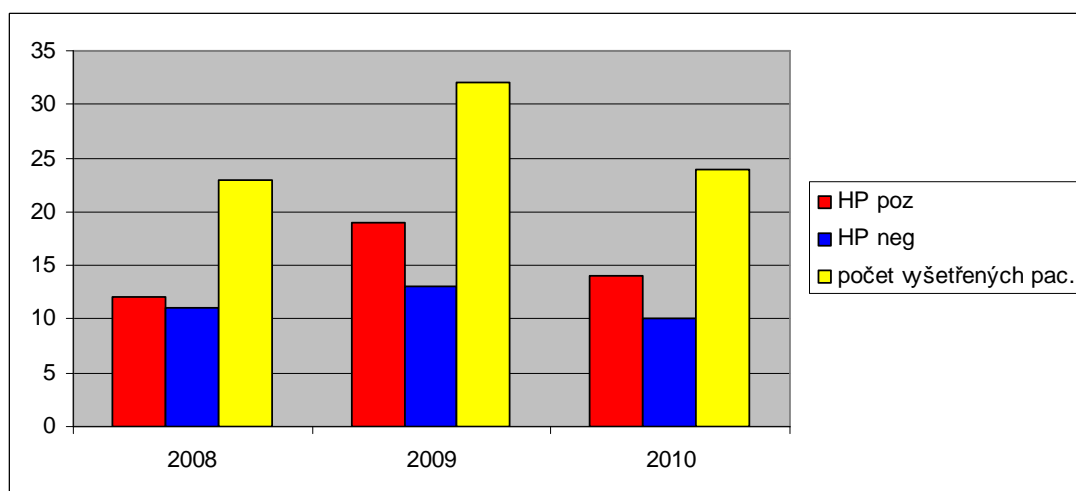


Graf 14. Počet HP pozitivních pacientů vyšetřených kulturační metodou z hlediska věkové distribuce

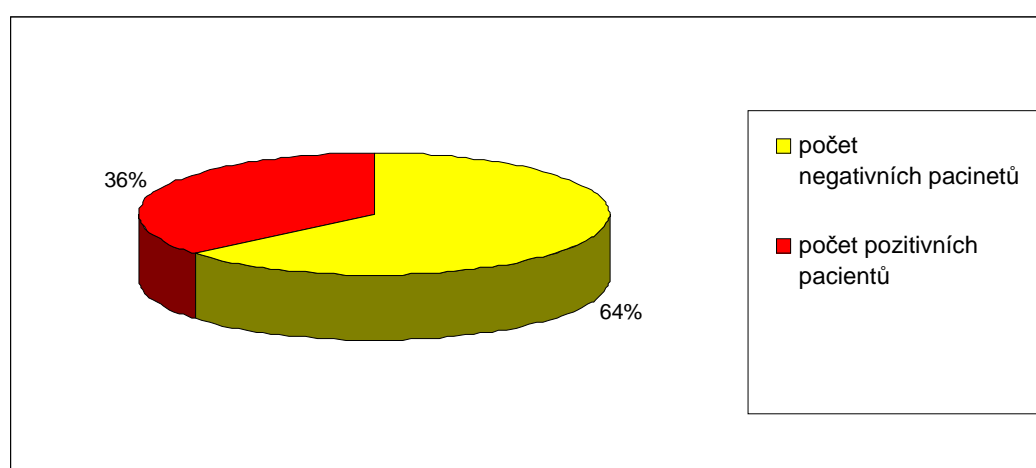
Největší záchyt HP pozitivních pacientů je ve věkovém rozmezí 41-50 a 51-60 let.

Tab. 6. Celkový přehled vyšetřených pacientů na přítomnost HP kulturační metodou v daném období 2008-2010

	2008	2009	2010
HP poz	12	19	14
HP neg	11	13	10
Počet vyšetřených pacientů	23	32	24



Graf 15. Celkový přehled vyšetřených pacientů na přítomnost HP kulturační metodou v daném období 2008-2010



Graf 16. Procentuální zastoupení HP pozitivních a HP negativních pacientů

Na přítomnost HP bylo kulturační metodou vyšetřeno 79 pacientů a z toho bylo 45 HP pozitivních a 34 HP negativních.



### 5.1.3 Přehled diagnóz u pacientů vyšetřovaných na přítomnost HP a HP pozitivních pacientů metodou – Průkaz Ag HP ve stolici

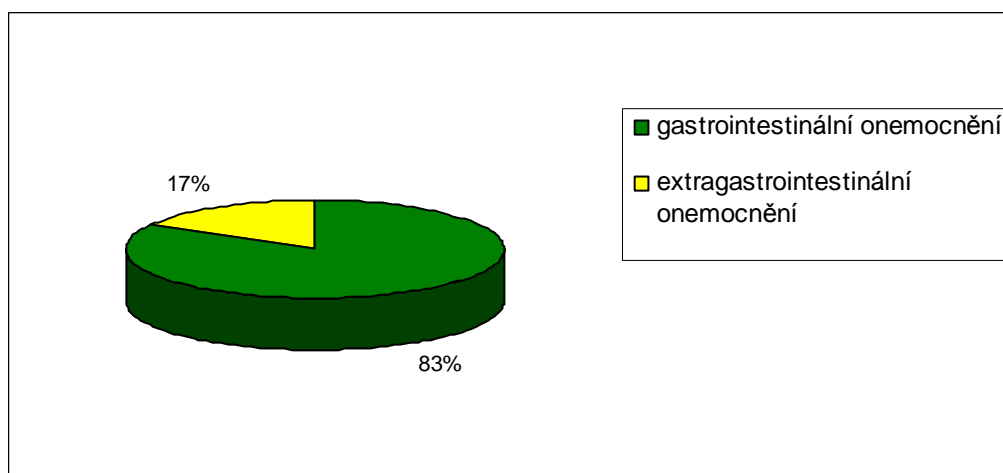
Podkladový materiál- tzn. diagnózy vyšetřovaných pacientů na přítomnost HP, provedené metodou – Průkaz antigenu HP ve stolici (H.pylori Card, CerTest - VIDITEST), jsem získala z ÚKM FNHK. Touto metodou bylo vyšetřeno celkem 343 pacientů a z toho bylo 59 HP pozitivních a 284 negativních pacientů. Tyto diagnózy byly sledovány v období od 1.1. 2008 do 31.12. 2010.

Tab. 7. Přehled nejčastějších diagnóz u pacientů vyšetřovaných na přítomnost HP metodou Průkaz Ag HP ve stolici

kód	diagnóza
R 104	Břišní a pánevní bolest
K 30	Dyspepsie
K 317	Polyp žaludku a dvanáctníku
K 922	Krvácení z žaludku a střev
K 250	Žaludeční vřed - akutní s krvácením
K 259	Žaludeční vřed - neurčený jako akutní nebo chronický bez krvácení nebo perforace
K 299	Zánět žaludku a dvanáctníku - Gastroduodenitida
K 297	Zánět žaludku a dvanáctníku - gastritida
K 291	Zánět žaludku a dvanáctníku - jiná akutní gastritida
K 280	Gastrojejunální vřed
K 270	Peptický vřed - neurčená lokalizace
K 260	Dvanáctníkový vřed
K 317	Polyp tlustého střeva
R 12	Pálení žáhy
K 921	Jiné nemoci trávicí soustavy - Meléna
K 920	Jiné nemoci trávicí soustavy - Hemateméza
K 509	Crohova nemoc
K 859	Akutní zánět slinivky břišní
K 307	Alkoholické onemocnění jater
L 209	Atopická dermatitida
L 309	Jiná dermatitida - ekzém
D 690	Purpura a jiné krvácivé stavy - alergická purpura
D 72	Jiné poruchy bílých krvinek
D 508	Anémie z nedostatku železa
R 51	Bolest hlavy - bolest obličeje
I 64	Cévní příhoda mozková neurčená jako krvácení nebo infarkt
I 864	Žilní městky jiných lokalizací - žaludeční varixy
G 98	Jiné poruchy nervové soustavy
I 352	Nerevmatické onemocnění aortální chlopně - stenóza s insufiencí
E 871	Jiné poruchy tekutin, elektrolytů a acidobazické rovnováhy - hypoosmolalita a hyponatremie
E 343	Jiné endokrinní poruchy - trpaslictví nezařaditelné jinam
C 21	Zhoubný novotvar částí jazyka - Hrana jazyka
Z 039	Pozorování pro podezření na nemoc nebo patologický stav

Tab. 8. Přehled diagnóz u pozitivních pacientů na přítomnost HP

kód	diagnóza	Počet poz.pac.
R 104	Břišní a pánevní bolest	21
K 250	Žaludeční vřed - akutní s krvácením	6
K 259	Žaludeční vřed - neurčený jako akutní nebo chronický bez krvácení nebo perforace	5
K 922	Krvácení ze žaludku a střev	5
K 30	Dyspepsie	4
K 299	Gastroduodenitida	4
R 12	Pálení žáhy	2
K 921	Jiné nemoci trávicí soustavy - Meléna	2
K 920	Jiné nemoci trávicí soustavy - Hematemeza	1
K 859	Akutní zánět slinivky břišní	1
K 509	Crohnova nemoc	1
L 209	Atopická dermatitida	2
L 309	Jiná dermatitida - ekzém	1
D 690	Purpura a jiné krvácivé stavy - alergická purpura	1
D 508	Anémie z nedostatku železa	1
I 64	Cévní příhoda mozková neurčená jako krvácení nebo infarkt	1
I 352	Nerevmatické onemocnění aortální chlopně - stenóza s insuficiencí	1

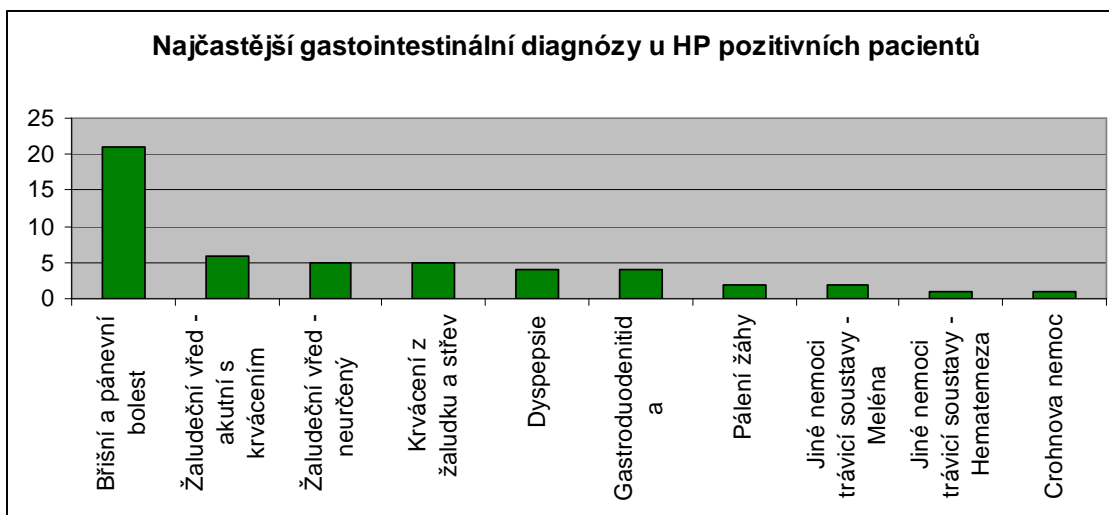


Graf 15. Procentuální zastoupení gastrointestinálních a extragastrointestinálních diagnóz u pozitivních pacientů na přítomnost HP

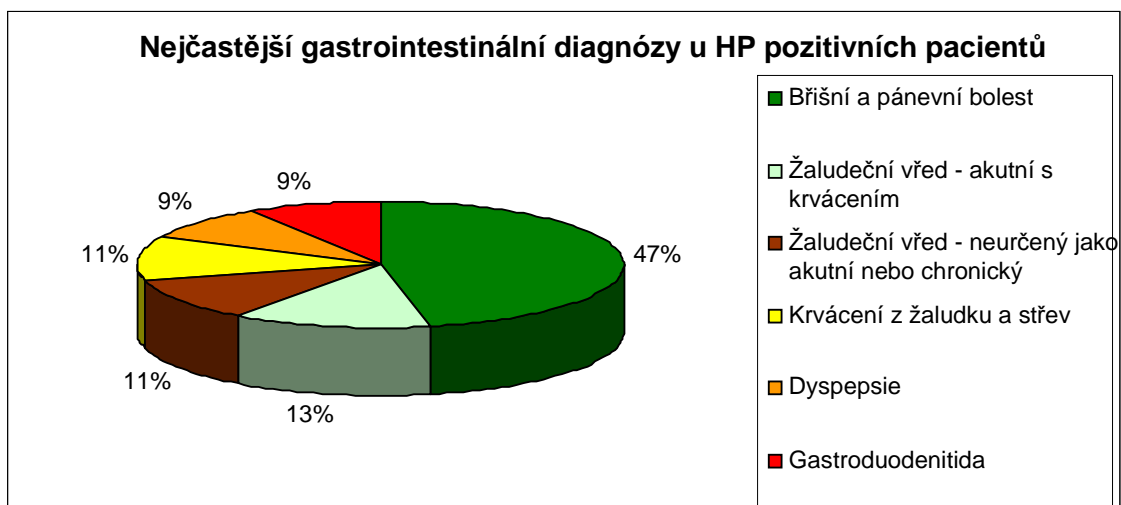
Gastrointestinální diagnózy byly zjištěny u 49 pacientů a extraintestinální diagnózy u 10 HP pozitivních pacientů.

Tab. 9. Přehled nejčastějších gastrointestinálních diagnóz u HP pozitivních pacientů

Gastrointestinální diagnózy	Počet poz.pac.
Břišní a pánevní bolest	21
Žaludeční vřed - akutní s krvácením	6
Žaludeční vřed - neurčený jako akutní nebo chronický	5
Krvácení z žaludku a střev	5
Dyspepsie	4
Gastroduodenitida	4
Pálení žáhy	2
Jiné nemoci trávicí soustavy - Meléna	2
Jiné nemoci trávicí soustavy - Hemateméza	1
Crohnova nemoc	1



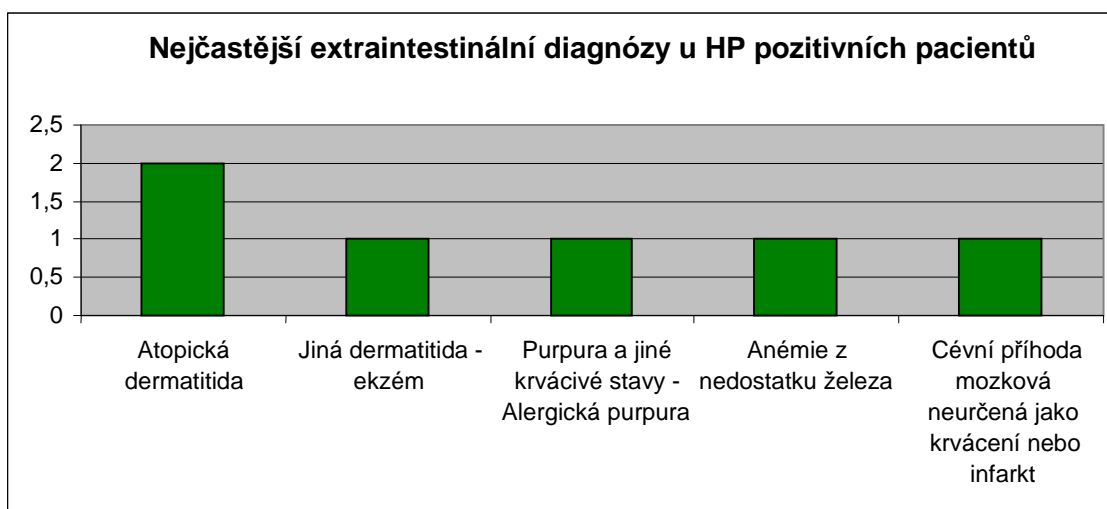
Graf 16. Přehled nejčastějších gastrointestinálních diagnóz u HP pozitivních pacientů



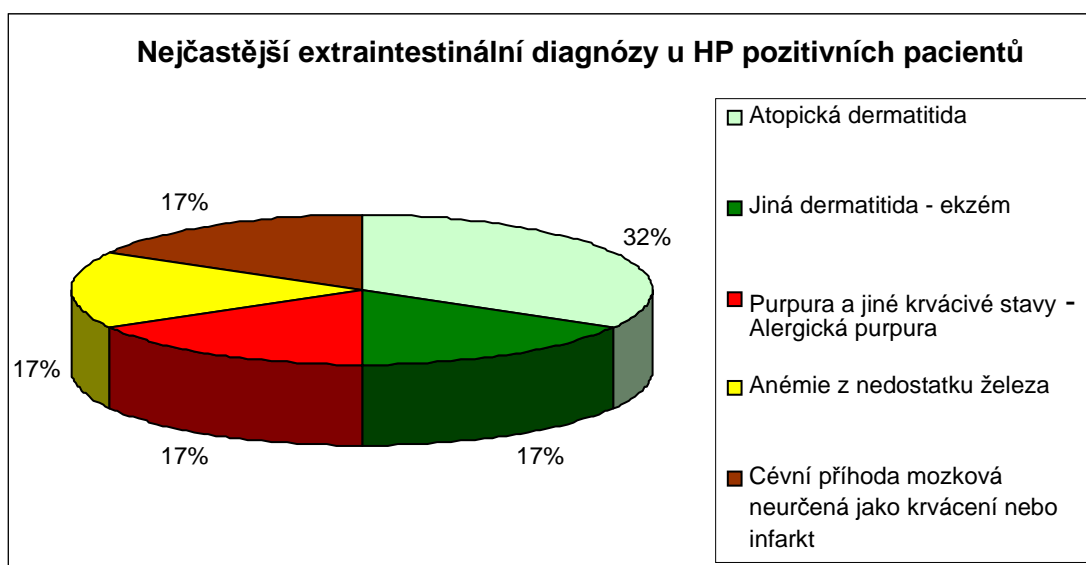
Graf 17. Procentuální zastoupení gastrointestinálních diagnóz u HP pozitivních pacientů

Tab. 10. Přehled nejčastějších extraintestinálních diagnóz u HP pozitivních pacientů

Extraintestinální diagnózy	Počet poz.pac.
Atopická dermatitida	2
Jiná dermatitida - ekzém	1
Purpura a jiné krvácivé stavy - Alergická purpura	1
Anémie z nedostatku železa	1
Cévní příhoda mozková neurčená jako krvácení nebo infarkt	1



Graf 18. Přehled nejčastějších extraintestinálních diagnóz u HP pozitivních pacientů



Graf 19. Procentuální zastoupení extraintestinálních diagnóz u HP pozitivních pacientů

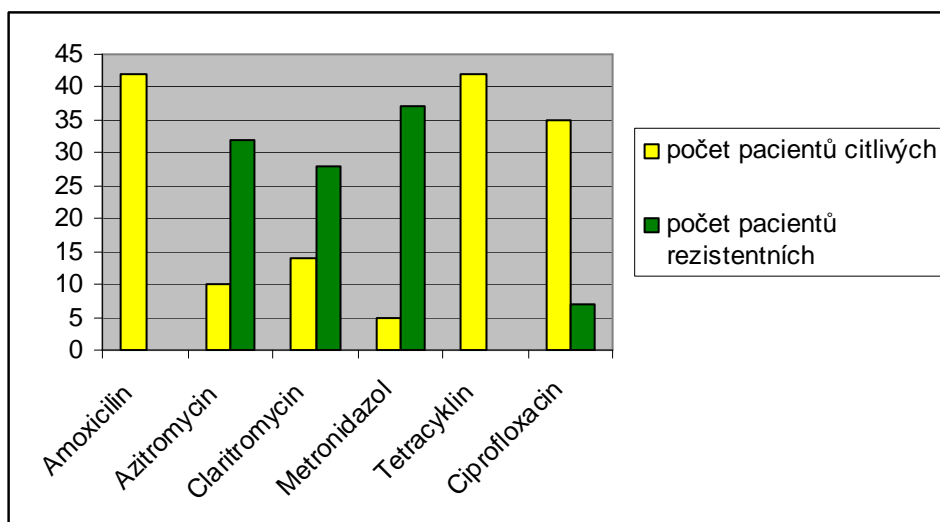
### 5.1.4 Přehled rezistence a citlivosti k jednotlivým ATB u pacientů vyšetřených kultivační metodou (zpracování žaludeční biopsie)

Od 1.1. 2008 do 31.12. 2010 bylo vyšetřeno kultivační metodou celkem 79 pacientů, z toho bylo 45 HP pozitivních. U těchto HP pozitivních pacientů byla zjišťována citlivost k jednotlivým ATB.

V našem přehledu hodnotíme pouze 42 pacientů, protože 3 HP pozitivní pacienti byli kultivační metodou vyšetřeni dvakrát se stejnou citlivostí.

Tab. 11. Počet HP pozitivních pacientů citlivých a rezistentních na jednotlivá ATB

ATB	počet pacientů		% rezistence
	citlivý	rezistentní	
Amoxicilin	42	0	0
Azithromycin	10	32	76
Clarithromycin	14	28	67
Metronidazol	5	37	88
Tetracyklin	42	0	0
Ciprofloxacin	35	7	19



Graf 20. Přehled HP pozitivních pacientů citlivých a rezistentních k jednotlivým ATB

### 5.1.5 Přehled zpracovaných dat

**Data pacientů z ÚKM FNHK vyšetřovaných metodou Průkaz antigenu HP ve stolici (H.pylori Card – CerTest - VIDITEST) za období od 1.1. 2008 do 31.12. 2010. :**

Z grafu 3 je patrné, že počet vyšetření metodou H.pylori Card na přítomnost HP se od roku 2008 do roku 2010 zvyšuje, stejně jako u grafu 4- Počet vyšetřovaných pacientů. Počty vyšetření s počty vyšetřovaných pacientů se neshodují, protože někteří pacienti podstoupili toto vyšetření opakovaně a to nejčastěji jako kontroly po léčbě. Zvyšující se počet vyšetřených pacientů je dán faktem, že metoda stanovení Ag HP ze stolice je metoda rychlá, citlivá a neinvazivní, tedy je pro pacienta méně zatěžující. I z tohoto důvodu jsou nejvyšetřovanější skupinou děti a mládež od 11-30 let a staří lidé nad 60 let, jak je patrné z grafu 6. A právě jak znázorňuje graf 7, i v těchto věkových skupinách nacházíme nejvíce HP pozitivních pacientů.

**Data pacientů z ÚKM FNHK vyšetřovaných kultivačním vyšetřením (zpracováním žaludeční biopsie) za období od 1.1. 2008 do 31.12. 2010.:**

Graf 10 znázorňuje, že nejvíce vyšetření bylo provedeno v roce 2009, stejně jako u grafu 11 - Počet vyšetřovaných pacientů. Opět se počty mezi těmito dvěma skupinami liší, protože někteří pacienti podstoupili toto vyšetření opakovaně a to nejčastěji z toho důvodu, že adekvátně nereagovali na léčbu. Kultivační vyšetření, jemuž předchází žaludeční biopsie je metoda invazivní a pro pacienty velmi zatěžující. Právě proto, jak naznačuje graf 13, jsou nejvíce vyšetřovanou skupinou pacienti ve věkovém rozmezí 41-50 a 51-60 let a méně děti a staří lidé, pro které by bylo toto vyšetření více stresující. V těchto dvou skupinách také nacházíme největší záchyt HP pozitivních pacientů (graf 14).

## **Porovnání metod:**

V 90. letech byly užívány a zkoušeny různé metody a půdy k záchytu HP. HP byl hojně vyšetřován i u pacientů, kteří neměli tak závažné obtíže. Proto gastroenterologická společnost rozhodla o ústupu od invazivních metod a do popředí se dostaly metody neinvazivní, tedy stanovení Ag HP ze stolice a dechové testy.

ÚKM FNHK využívá ke stanovení HP metodu stanovení Ag HP ze stolice a kultivační vyšetření.

**Průkaz antigenu HP ve stolici (H.pylori Card – CerTest - VIDITEST)** je jednokrokové imunochromatografické stanovení. Je to metoda neinvazivní, pro pacienta nezatěžující a není náročná na laboratorní vybavení. Je snadná, rychlá a každý jednotlivý vzorek může být ihned po odběru stanovován, neboť na každý vzorek připadá jeden testovací strip. Senzitivita soupravy je dle údajů výrobce 95%. Jak ukazuje graf 9, ze všech vyšetřených pacientů bylo touto metodou zachyceno pouze 15% HP pozitivních pacientů. Je to zřejmě z toho důvodu, že stanovení Ag HP ve stolici je pro pacienty nezatěžující a používá se k primární diagnostice.

**Kultivační vyšetření** se na ÚKM FNHK nepoužívá k primární diagnostice v klinické praxi, ale u pacientů, kteří mají vážné zdravotní problémy, neodpovídají na léčbu nebo jako kontrola po léčbě. I proto, jak je patrné z grafu 16, byl nalezen vyšší záchyt HP pozitivních pacientů z kultivačního vyšetření (36%) než ze stanovení Ag HP ze stolice. Kultivační metoda je časově náročná. Doporučuje se kultivace trvající 10 dní, ale jsou známy případy, kdy bakterie narostla až za 14 dní. Metoda je i finančně náročná a závislá na vybavení laboratoře. Senzitivita je ve srovnání s ostatními metodami menší (80–90%), specifita je z definice mikrobiologického vyšetření stoprocentní.

Stále si ale drží nezastupitelné místo při stanovování citlivosti a rezistence konkrétního kmene HP k jednotlivým ATB. Dále se kultivační vyšetření hojně užívá v rámci výzkumu.

## **Přehled gastrointestinálních a extragastrointestinálních diagnóz u HP pozitivních pacientů z ÚKM FNHK:**

Metodou Průkaz Ag HP ve stolici bylo na ÚKM FNHK vyšetřeno 343 pacientů. U těchto pacientů byly zjištěny nejčastější gastrointestinální i extraintestinální diagnózy. (Tab. 7) Je zajímavé, že i přes kontroverzní informace o HP jako původci extraintestinálních onemocnění, jsou pacienti s extraintestinálními projevy lékaři doporučováni k vyšetření na přítomnost této bakterie. 59 pacientů z naší studie bylo HP pozitivních a u nich se setkáváme nejčastěji s kožními projevy, a to s atopickou dermatitidou a ekzémem, a dále s hematologickými onemocněními jako purpura a jiné krvácivé stavy a anémie z nedostatku železa (Tab. 10). Přesto bylo u více pacientů, u nichž byla přítomnost HP prokázána, zjištěno více gastrointestinálních diagnóz. Procentuální zastoupení gastrointestinálních diagnóz činilo 83%, jak vyplývá z grafu 15 a z toho nejčastěji pacienty trápí břišní a pánevní bolest, žaludeční vředy, krvácení z žaludku a střev a dyspepsie (Tab. 9).

## **Přehled rezistence a citlivosti k jednotlivým ATB u pacientů vyšetřených kultivační metodou (zpracování žaludeční biopsie):**

Od 1.1.2008 do 31.12.2010 bylo vyšetřeno kultivační metodou celkem 79 pacientů, z toho bylo 45 HP pozitivních. U těchto HP pozitivních pacientů byla zjišťována citlivost k jednotlivým ATB.

V přehledu citlivosti a rezistence na jednotlivá ATB je hodnoceno pouze 42 pacientů, protože 3 HP pozitivní pacienti byli kultivační metodou vyšetřeni dvakrát se stejnou citlivostí.

Nejvyšší míru rezistence pozorujeme u metronidazolu – 88% (Tab.11). Toto ATB je užíváno i u jiných onemocnění, jako u anaerobních infekcí, infekcí měkkých tkání či parazitárních infekcí. Právě jeho časté užívání je zřejmě příčinou vysoké rezistence. Vysoké hodnoty rezistence pozorujeme i u azithromycinu – 76%, a klarytromycinu – 67% (Tab.11). Podobně vysoké hodnoty jsou dány faktem, že tyto ATB patří do stejné skupiny makrolidových ATB. Klarytromycin je lékem první volby u dětí.



## 6 Diskuze

HP infekce je běžná po celém světě a prevalence vykazuje výrazné geografické, ale i populační rozdíly. U drtivé většiny infikovaných jedinců, je infekce získána během raného dětství v rodinách s nižší socioekonomickou úrovní. Tato zjištění jsou jedny z výsledků studie J. Bureše et al. (2006), jehož cílem bylo vyhodnotit prevalenci a sociální determinanty HP infekce v reprezentativním vzorku české populace ve věku 5 a více let pomocí dechových testů. Výskyt HP positivity v této studii ukázal mírný pokles mezi 5-14 a 15-24 lety, a potom postupný nárůst s věkem až do nejstarší studované skupiny 65 a více let. [10]

Při srovnání těchto výsledků s daty v naší studii (bereme-li v úvahu výsledky vyšetřované metodou stanovení Ag HP ve stolici z důvodu, že je tato metoda používána k primární diagnostice) zjistíme, že nejvyšší výskyt HP positivity nacházíme právě ve věkovém rozmezí 11-30 let. Tyto výsledky však nejsou přímo srovnatelné, protože obě studie využívají zcela jiné metody k zjišťování přítomnosti HP.

V jiné studii zjišťoval Singh et al. (2006) prevalenci infekce HP u různých věkových skupin dětí a její souvislost s gastroduodenálním onemocněním. Ve svém výzkumu využil endoskopické vyšetření k získání antrální biopsie. Výsledkem této studie je zvyšující se četnost infekce HP s přibývajícím věkem, a tedy nejvyšší výskyt positivity ve věkovém rozmezí 16-18 let. [21]

Většina autorů se shoduje, že k získání primární infekce dochází v dětském věku, a to s největší pravděpodobností již před 5. rokem života. Jedním z hlavních rizikových faktorů přenosu infekce je nízká životní úroveň v dětství. U dětí v rozvojových zemích mezi 2. a 8. rokem života je roční nárůst infekce asi 10%, zatímco údaje ze Severní Ameriky ukazují nárůst pouze 1% za rok. [22]

Výsledky naší studie ukazují, že více vyšetřovaných i HP pozitivních pacientů je z řad mladých lidí ve věku 11-30 let, ale jsou hojně vyšetřovány i děti od 0-10 let a z nich je asi 14% HP pozitivních.

Ke stanovení přítomnosti HP je možné využít několik metod. Mezi invazivní metody, u nichž je potřeba provedení endoskopického vyšetření s odběrem vzorků sliznice žaludku, patří histologické vyšetření, rychlý ureázový test, kultivační vyšetření a metody molekulární biologie. Mezi neinvazivní patří sérologické testy, které však nejsou přesné v počáteční fázi infekce, navíc se u některých pacientů nevrátí séronegativita i roky po eradiaci, a dále vykazují malou citlivost u kojenců a malých

dětí. Dechové testy mají vynikající citlivost, avšak přesnost testů klesá u kojenců a malých dětí. U nich musí být vydechovaný vzduch odebrán s maskou a testy tedy vyžadují specializované zařízení. Obejít tyto problémy je možné využitím metody stanovení Ag HP ve stolici. Kalach et al. (2005) vytvořil studii zahrnující dvouleté období, do níž bylo zařazeno 128 dětí, u kterých byla přítomnost HP vyšetřována metodou stanovení Ag HP ve stolici a infekce prokázána žaludeční endoskopií. Největší přesnost testu byla u dětí starších 10 let a to s citlivostí 100%. Citlivost byla tedy ovlivněna věkem dětí a u mladších 5 let se pohybovala do 75%. Specifita 94,4% byla také mírně vyšší u starších dětí. [23]

I v naší studii byli pacienti vyšetřeni metodou stanovení Ag HP ze stolice (H.pylori Card – CerTest - VIDITEST), u které je senzitivita soupravy udaná výrobcem 95%. Tento test je kvalitativní, založený na použití monoklonální protilátky, a výsledek testu je patrný po 5 minutách inkubace při pokojové teplotě. Je rychlý, snadný a nevyžaduje drahé vybavení. Na ÚKM ve FNHK je využíván k primární diagnostice HP a je považován za velmi spolehlivý a přínosný.

Zálabská E. (2010) ve studii provedené na OKM Pardubické nemocnice také hodnotila průkaz Ag HP ve stolici, který byl pozitivní v 95 případech (87,2%) jako přesný a spolehlivý. Zarážející je ale nízké číslo pozitivních kultivací (69, odpovídá 63,3%). To vyvolává diskuzi, zda je tato metoda použitá jako jediná při endoskopiích dostatečně průkazná. Kultivační nálezy mohou být ovlivněny jednak chybou při odběru při nehomogenní distribuci bakterie v žaludeční sliznici, tak i možnou nedostatečnou homogenizací vzorku v laboratoři. V tomto souboru se kultivace jeví jako nedostatečné vyšetření, a bylo by tedy dobré ji vždy doplnit histologickým vyšetřením bioptátu a průkazem Ag ve stolici. [24]

I ze studie Zullo et al.(2002) vyplývá, že kultivace je invazivní metoda se stále menší citlivostí, jenž dosahuje hodnot 55-73%. [25]

Ve FNHK je kultivace HP užívána jako kontrolní test po léčbě nebo v situaci, kdy pacient adekvátně neodpovídá na léčbu. Je využívána stále méně nejen pro její invazivitu k osobě pacienta (nutnost endoskopického vyšetření a odběru žaludeční biopsie), ale i pro náročnost pracovní a časovou. Nezastupitelné místo si ale stále drží při stanovování citlivosti a rezistence k ATB a v epidemiologických a farmakologických výzkumech.

V naší studii jsme se dále zabývali nemocemi, kterými trpí pacienti vyšetřovaní na přítomnost HP nebo pacienti HP pozitivní. Dle našich dat je nejčastější příčinou,

kvůli které jsou pacienti na přítomnost této bakterie vyšetřováni, břišní a pánevní bolest a žaludeční vředy.

Většina studií o HP infekcí u dětí souvisí s opakující se bolestí v oblasti břicha – recurrent abdominal pain (RAP). Komplexem symptomů RAP u HP infekce u dětí, jak definovali Apley a Naish (1957), jsou nejméně tři epizody abdominální bolesti po dobu delší než tři měsíce zasahující do běžných denních činností. Tato bolest se nachází spíše v oblasti pánevní než v horní části břicha. Onemocnění jako žaludeční a duodenální vřed, karcinom žaludku nebo dyspepsie jsou charakterizovány symptomy, které jsou obvykle lokalizovány v horní abdominální oblasti. Proto byly infekce HP při analyzování bolesti v horní oblasti břicha u dětí považovány za málo významné. [21]

I Saadah et al. (2010) zjistil, že ačkoli to není pro HP gastritidu specifické, většinu pacientů s HP infekcí sužovala bolest v epigastriu. Narozdíl od klasického syndromu RAP, který je charakterizován opakující se bolestí břicha u jinak zdravých dětí, přítomnost bolesti v epigastriu je více spojena s abnormální žaludeční patologií.

U deseti dětí v této studii s hematemézou byla endoskopií zjištěna vředová choroba. To je u dětí s HP infekcí považováno za vzácné ve srovnání s dospělými. Není jasné proč děti s HP infekcí mají nižší tendenci k rozvoji vředové choroby než dospělí. [26]

Hemateméza a meléna byly zjištěny u HP pozitivních pacientů i v naší studii. Kromě gastrointestinálních diagnóz jsme našli i HP pozitivní pacienty s extraintestinálními diagnózami. U hematologických onemocnění byla několika studii prokázána pravděpodobná spojitost s HP infekcí. V naší studii se jedná o pacienty se sideropenickou anémií a alergickou purpurou – krvácivý stav.

Ve studii Saadah et al. (2010) byla zjištěna nízká hladina hemoglobinu u 58 pacientů ze 116, což odpovídá 50%. Pacienti s anémií měli vážnější chronické záněty, což naznačuje, že HP je faktorem, který přispívá k chudokrevnosti. Pacienti s HP gastritidou mají snížené množství žaludeční askorbové kyseliny, která je spolu s kyselým prostředím žaludku významným kofaktorem absorpce železa. Pacienti s anémií většinou špatně odpovídají na léčbu železem a mohou lépe reagovat na eradikaci HP i bez doplňování železa.

Eradikace HP má také příznivý vliv na projevy chronického kožního onemocnění – rosacea. Toto zjištění je výsledkem studie Serap et al. (1999). Rosacea je často spojena s hypochlorhydrií, gastritidou a s abnormální jejunální sliznicí. Sezónní výskyt rosacea a peptického vředu je také podobný. Právě tyto fakta naznačují možný

podíl HP na patogenezi rosacea. [27] Erel et al (1995) zjistil, že u pacientů trpících rosacea je výrazně vyšší výskyt HP než u kontrolních jedinců. [28]

Možnou souvislost mezi HP a kožními onemocněními potvrzuje i naše studie, kde se setkáváme se třemi HP pozitivními pacienty, kteří trpí kožními projevy dermatitidy.

Významným faktorem a stále se zvyšujícím problémem, který se podílí na selhání léčby infekcí způsobených HP, je rezistence na ATB. I v naší studii jsme se touto problematikou zabývali. V souboru našich pacientů, kteří byli vyšetřeni kultivační metodou, byla nejvyšší míra rezistence HP u metronidazolu, a to 88%. Tímto ATB se kromě infekcí gastrointestinálního traktu léčí i infekce v oblasti ženských pohlavních orgánů, infekce dolních cest dýchacích, a dále se používá jako prevence infekce při operačních zákrocích. A právě jeho časté užívání je zřejmě důvodem k tak vysoké hodnotě rezistence.

Míra rezistence na metronidazol je studována po celém světě a vysoké rozdíly nacházíme mezi vyspělými a rozvojovými státy. Banatvala et al.(1994) analyzoval rezistenci HP na metronidazol u rodin emigrantů a pacientů narozených v Londýně. Rezistence u pacientů z Bangladéše dosahovala 90%, 67% u pacientů z jiných zemí a 37% u pacientů z Anglie. Dle Alarcón et al. (1999) se rezistence HP na metronidazol v evropských zemích pohybuje mezi 5 a 50%. Rezistence HP na klarytromycin je obecně nižší, avšak vysoké hodnoty (okolo 50%) byly zjištěny v Peru. Nejvyšších hodnot z evropských zemí dosahuje Polsko. [20]

Z našeho přehledu jsme zjistili vysoké hodnoty HP rezistence na azithromycin (76%) a klarytromycin (67%), které jsou také hojně užívány k léčbě infekcí dolních a horních cest dýchacích, infekcí kůže či sexuálně přenosných infekcí.

## 7 Závěr

Cílem této práce bylo seznámit se s problematikou bakterie *Helicobacter pylori* a s úlohou tohoto mikroba v patogenezi gastroenterologických a extragastrických onemocnění. Dále zpracovat získaná data z ÚKM FNHK, porovnat je mezi sebou a odbornou literaturou. V rámci naší studie byl vytvořen přehled o pacientech vyšetřovaných neinvazivní metodou stanovení - Průkaz Ag HP ve stolici, tedy rychlým jednokrokovým imunochromatografickým testem (H.pylori Card - CerTest - VIDITEST) a invazivním kultivačním vyšetřením, jemuž předchází žaludeční biopsie. Cílem bylo evidovat výskyt této bakterie a vytvořit přehled o výskytu z hlediska počtu a věku pacientů.

V bakalářské práci jsem se také zabývala problematikou HP a to převážně charakteristikou HP, gastrointestinálními infekcemi, které způsobuje a prevalencí HP v České republice. Významná úloha tohoto mikroba mě zaujala natolik, že jsem v diplomové práci tyto aspekty rozšířila o klinické projevy extraintestinálních onemocnění, metody průkazu, eradikaci HP, účinnost léčby a antimikrobiální rezistenci HP.

## 8 Seznam literatury

[1]. SEDLÁČKOVÁ, M.: *Infekce Helicobacter pylori*, Praha: Maxdorf , 1996. 158 s. ISBN 80-85800-32-2.

[2]. Nobelprize.org : The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2005 [online]. Nobel Web AB, c2007 [cit. 2007-05-20]. Dostupný z WWW: [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2005/index.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2005/index.html)

[3]. LEE, Adrian, MÉGRAUD, Francis. *Helicobacter pylori: techniques for clinical diagnosis and basic research*, London: W.B.Saunders Company Ltd. 1996. 299 s. ISBN 0-7020-1999-2.

[4]. MARTÍNEK, Jan, ŠPIČÁK, Julius. *Onemocnění žaludku a dvanáctníku*, Praha: TRITON, 2000. 124 s. ISBN 80-7254-106-4.

[5]. FARTHING, Michael J.G., *GUT-European Helicobacter pylori Study Group, Abstracts of Scientific Presentations (XIVth International Workshop on Gastrointestinal Pathology and Helicobacter pylori)*, Strasbourg: 2001, 112 s.

[6]. MARTÍNEK, T. HUCL a kol. *Diagnostika a léčba infekce na přelomu milénia* , Klinická mikrobiologie a infekční lékařství 2001, vol. 7, is. 1, s. 58-65.

[7]. BUREŠ, Jan et al., *Infekce Helicobacter pylori : Doporučený postup České gastroenterologické společnosti ČSL JEP pro dospělé*. Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie. 2004, Vol. 58, is. 4, s. 151–155.

[8]. Laboratorní návod – Průkaz antigenu HP ve stolici (H.pylori Card – CerTest - VIDITEST)

[9]. SPECHLER, S.J. et al., *Clinical Aspects of Genetic Variability in Helicobacter pylori*, JAMA, 2000, Vol.283, is. 10, s. 1254-6

[10]. BUREŠ, J., et al., *Epidemiology of Helicobacter pylori Infection in the Czech Republic*, Helicobacter, 2006, Vol. 11, is. 1, s. 56–65.

- [11]. FRANCESCHI, F., GASBARRINI, A.: *Helicobacter pylori and extragastric diseases*, Best Practice and Research Clinical Gastroenterology, 2007, Vol. 21, No 2, s. 325-334
- [12]. TÜZÜN, Y., KESKIN, S., KOTE, E.: *The role of Helicobacter pylori infection in skin diseases: Facts and controversies*, Clinics in Dermatology, 2010, Vol.28, s.478-482
- [13]. KANBAY, M., KANBAY, A., BOYACIOGLU, S.: *Helicobacter pylori infection as a possible risk factor for respiratory system disease: A review of the literature*, Respiratory Medicine, 2007, Vol.101, s. 203-209
- [14]. PAKODI, F., ABDEL-SALAM, O., DEBRECENI, A., MÓZSIK, G.: *Helicobacter pylori. One bacterium and a broad spectrum of human disease! An overview*, Elsevier Science Ltd., 2000, Vol.94, s.139-152
- [15]. TORRES, J., PÉREZ-PÉREZ, G., GOODMAN, K.J. et al.: *Review article: A Comprehensive Review of the Natural History of Helicobacter pylori: Infection in Children*, Archives of Medical Research, 2000, Vol.31, s.431-469
- [16]. WOLLE, K., MALFERTHEINER, P.: *Treatment of Helicobacter pylori*, Best Practice and Research Clinical Gastroenterology, 2007, Vol.21, No.2, 315-324
- [17]. VAIRA, D., GATTA, L., RICCI, C., et al.: *Helicobacter pylori: Diseases, tests and treatment*, Digestive and Liver Disease, 2001, Vol.33, 788-94
- [18]. JIRÁSEK, V.: *Vývoj inhibitorů protonové pumpy – Etapy v léčbě onemocnění s acidopeptickou patogenezi*, Interní medicína pro praxi, 2003/10, 488-490  
Dostupný z WWW:  
<http://www.solen.cz/pdfs/int/2003/10/03.pdf>
- [19]. BAZZOLI, F., BIANCHI PORROL, G., MACONIL, G. Et al.: *Treatment of Helicobacter pylori infection: Indications and regimens: an update*, Digestive and Liver Disease, 2002, Vol.34, 70-83

- [20]. ALARCON, T., DOMINGO, D., LOPEZ-BREA, M.: *Antibiotic resistance problems with Helicobacter pylori*, International Journal of Antimicrobial Agents, 1999, Vol.12, 19–26
- [21]. SINGH, M., PRASAD, K.N., SURENDER, K.Y. et al.: *Helicobacter pylori infection in children: prevalence, diagnosis and treatment outcome*, Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2006, Vol.100, 227-233
- [22]. SÝKORA, J., *Helicobacter pylori a gastrointestinální projevy u dětí*, Pediatrie pro praxi, 2006, Vol. 2, s. 74-79.
- [23]. KALACH, N., NGUYEN, V.B., BERGERET, M. et al.: *Usefulness and influence of age of novel rapid monoclonal enzyme immunoassay stool antigen for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in children*, Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2005, Vol.52, 157-160
- [24]. ZÁLABSKÁ, E., *Průkaz Helicobacter pylori v bioptátu žaludku a ve stolici*, Klinická mikrobiologie a infekční lékařství, 2010, Vol.16, is.6, 203-205
- [25]. ZULLO, A., HASSAN, C., LORENZETTI, S. et al.: *A clinical practice viewpoint: to culture or not to culture Helicobacter pylori?*, Digestive and Liver Disease, 2003, Vol.35, 357-361
- [26]. SAADAH, O.I.: *Helicobacter pylori infection in Saudi children: clinical, endoscopic and pathological findings*, Arab Journal of Gastroenterology, 2010, Vol.11, 39-43
- [27]. UTAS, S., ÖZBAKIR, Ö., TURASAN, A., et al.: *Helicobacter pylori eradication treatment reduces the severity of rosacea*, Journal of the American Academy of dermatology, 1999, Vol.40, No.3, 433-35
- [28]. EREL, A., ÖZTAS, M., ILTER, N.: *Helicobacter pylori seroprevalence in patients with acne rosacea*, [abstract] J Eur Acad dermatol Venereol, 1995, Vol.5, No 1, 151



[29]. LOCHMAN, I., NOVÁK, V., KLOUDOVÁ, A. *Test na stanovení antigenů Helicobacter pylori ve stolici (HpSA) v gastroenterologii – naše zkušenosti.* Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie, 2004, Vol. 58, No. 3, 105–109

## 9 Seznam zkratek

HP – *Helicobacter pylori*

HH – *Helicobacter heilmannii*

PAF – faktor aktivující krevní destičky

Ag - antigen

ML – maligní lymfom

MALT-lymfom – lymfom lymfoidní tkáně mukózy

CMV – cytomegalovirus

E.coli – *Escherichia coli*

T.pallidum – *Treponema pallidum*

GIT – gastrointestinální trakt

IL - interleukin

TNF  $\alpha$  – Tumor necrosis factor  $\alpha$

IFN- $\gamma$  - interferon  $\gamma$

ICHS - ischemická choroba srdeční

MI – infarkt myokardu

CagA - cytotoxin-asociovaný gen A

CRP - C-reaktivní protein

MIP-1 $\alpha$  - makrofágových zánětlivých proteinů

CIK – chronická idiopatická kopřivka

HLA – Human leukocyte antigen

IgG – imunoglobulin G

IgM – imunoglobulin M

IgA – imunoglobulin A

ITP - idiopatické trombocytopenické purpuře

ATB – antibiotikum

PPI - inhibitor protonové pumpy

DNA – deoxyribonukleová kyselina

r-RNA – ribosomální ribonukleová kyselina

PCR - polymerázová řetězová reakce

ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay

HRP – monoklonální protilátka značená křenovou peroxidázou

TMB – tetrametylbenzidin

RAP - recurrent abdominal pain

ÚKM- Ústav klinické mikrobiologie

FNHK – Fakultní nemocnice Hradec Králové