

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

**Vliv chemoterapie na mikroflóru dutiny ústní a střevní
mikroflóru u onkologických pacientů**

Diplomová práce

Hradec Králové, 2012

Bc. Martina Plšková

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Náchodě 30. dubna 2012

Děkuji Mgr. Marcele Vejsové, Ph.D., za vedení diplomové práce a pracovníkům onkologického oddělení Oblastní nemocnice Náchod, a. s., za spolupráci při odběru biologického materiálu.

SOUHRN

Autor: Bc. Martina Plšková

Název: Vliv chemoterapie na mikroflóru v dutině ústní a střevní mikroflóru u onkologických pacientů

Studijní obor: Odborný pracovník v laboratorních metodách

Cíl práce: Cílem práce je posoudit a porovnat změny nežádoucích účinků chemoterapie na mikroflóru v dutině ústní a v konečniku u pacientů s kolorektálním karcinomem a karcinomem prsu a vyhodnotit bakteriální kolonizaci v průběhu onkologické léčby.

Metody: Mikrobiologická diagnostika kultivačního vyšetření výtěrů z dutiny ústní a konečniku.

Výsledky: Výsledkem bylo zjištění, že chemoterapie má výrazný vliv na složení mikroflóry v dutině ústní a ve střevě. Největší změny ve výskytu mikroorganismů byly zaznamenány u kvasinky *Candida albicans*, která je zodpovědná za mukoziditu.

Závěry: Chemoterapie vede k poškození sliznic jak v dutině ústní, tak ve střevě, což má za následek nerovnováhu v bakteriálním osídlení těchto sliznic. Tím dochází k zvýšenému zastoupení podmíněně patogenních bakterií, které jsou za normálních okolností potlačovány přirozenou mikroflórou.

ABSTRACT

Author: Bc. Martina PIšková

Title: The effect of chemotherapy on the microflora in the oral cavity and intestinal microflora in cancer patients

Field of study: Specialist in laboratory methods

Objective: The aim of this study is to assess and compare changes of side effects of chemotherapy on the microflora in the oral cavity and large intestine in patients with colorectal cancer and breast cancer and to evaluate bacterial colonization during cancer treatment.

Methods: Microbiological diagnostic testing of culture of swabs from the mouth and rectum.

Results: The investigators found that chemotherapy has a important influence on the composition of microflora in the oral cavity and rectum. The biggest changes in the incidence of micro-organisms were observed in the *Candida albicans*, which is parcipitated for mucositis.

Conclusions: Chemotherapy can damage the mucous membrane as in the oral cavity and in the intestine, resulting in an imbalance in the bacterial colonization of mucous membranes. This leads to an increased representation of conditionally pathogenic bacteria that are normally suppressed by the natural microflora.

Obsah

1	ÚVOD	10
1.1	Zadání práce - cíl práce	10
1.2	Historie nádorových onemocnění	11
1.3	Filozofie léčby nádorových onemocnění.....	11
1.4	Rozvoj onkologické problematiky	11
2	TEORETICKÁ ČÁST	13
2.1	Biologie zhoubných nádorů	13
2.2	Fáze maligního onemocnění	13
2.2.1	Maligní transformace a onkogeny	13
2.2.2	Invaze a neoangiogeneze	14
2.2.3	Metastatický proces.....	15
2.2.4	Růstové faktory nádorových buněk	16
2.3	Etiologie nádorů.....	16
2.3.1	Kancerogenní účinky chemických látek	17
2.3.2	Fyzikální kancerogenní látky	17
2.3.3	Infekční kancerogenní faktory	18
2.3.4	Geneticky podmíněné nádory.....	18
2.4	Rizikové faktory vzniku zhoubných nádorů.....	20
2.5	Prevence nádorových onemocnění	21
2.6	Národní onkologický registr	22
2.7	Postavení chemoterapie v komplexní léčbě nádorů.....	22
2.7.1	Mechanismus účinku konvenčních cytostatik.....	23
2.7.2	Chemoterapie v různých léčebných etapách	24
2.8	Hodnocení léčebné odpovědi	25
2.9	Nežádoucí účinky cytostatické léčby	26
2.10	Protinádorová terapie u pacientů s kolorektálním karcinomem a karcinomem prsu .	27
2.10.1	5-fluorouracil.....	28
2.10.2	Leukovorin.....	28
2.10.3	Oxaliplatina.....	28

2.10.4	Doxorubicin	28
2.10.5	Cyklofosamid.....	29
2.10.6	Paklitaxel.....	29
2.11	Přirozená slizniční bakteriální flóra	29
2.11.1	Respirační trakt a dutina ústní	33
2.11.2	Zažívací trakt.....	36
2.12	Vyšetřovací metody v lékařské mikrobiologii	41
2.12.1	Přímý průkaz	41
2.12.2	Nepřímý průkaz	42
2.12.3	Bližší určení izolovaného bakteriálního kmene.....	43
2.12.4	Nejčastější mikroorganismy izolované u sledovaných pacientů	44
2.13	Kolorektální karcinom	47
2.13.1	Patologie kolorektálního karcinomu	47
2.13.2	Účast bakterií mikroflóry při vzniku kolorektálního karcinomu	51
2.14	Karcinom prsu.....	54
2.14.1	Karcinomy <i>in situ</i>	55
2.14.2	Invazivní formy karcinomu	56
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	58
3.1	Mikrobiologická diagnostika	58
3.1.1	Laboratorní zpracování výtěrů z konečníku	58
3.1.2	Laboratorní zpracování výtěrů z dutiny ústní	59
4	VÝSLEDKY	60
4.1	Změny mikroflóry v dutině ústní a v konečníku u pacientů s kolorektálním karcinomem	61
4.2	Změny mikroflóry v dutině ústní a konečníku u pacientek s karcinomem prsu	65
4.3	Výskyt <i>Candida albicans</i> u sledovaných pacientů	69
4.4	Výsledky kultivačních nálezů u nemocných s karcinomem prsu v průběhu (neo)adjuvantní chemoterapie a klinický projev infekčního onemocnění	73
4.5	Výsledky kultivačních nálezů u nemocných s kolorektálním karcinomem v průběhu (neo)adjuvantní chemoterapie a klinický projev infekčního onemocnění	77
5	DISKUSE.....	81

6	ZÁVĚR.....	85
7	LITERATURA.....	87
8	SEZNAM TABULEK	94
9	SEZNAM GRAFŮ.....	95

Seznam zkratek

AC	Doxorubicin + Cyklofosamid
AC/T	Doxorubicin + Cyklofosamid / Paclitaxel
APC	anaphase promoting komplex (anafázi podporující komplex)
BRCA	breast cancer antigen (gen pro hereditární karcinom prsu)
DC agar	desoxycholátcitrátový agar
DCIS	duktální karcinom <i>in situ</i>
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EGF	epidermal growth factor (epidermální růstový faktor)
EIEC	enteroinazivní <i>Escherichia coli</i>
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay (imunoanalýza)
FAP	familial adenomatous polyposis (familiární adenomatózní polypóza)
FOLFOX	Oxaliplatina + 5-fluorouracil + Leukovorin
FU/FA	5-fluorouracil + Leukovorin
GIT	gastrointestinální trakt
IARC	international agency for research on cancer (Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny)
IGF	insulin-like growth factor (insulinu podobný růstový faktor)
KFR	komplement fixační reakce
LCIS	lobulární karcinom <i>in situ</i>
NOR	národní onkologický registr
PAU	polycyklické aromatické uhlovodíky
PCR	polymerázová řetězová reakce
PDGF	platelet derived growth factor (destičkový růstový faktor)
PTEN	phosphatase and tensin homolog (regulační supresorový gen)
RNA	ribonukleová kyselina
STK11	serine/threonine kinase 11 (serin/threonin kináza 11)
TGF	transforming growth factor (transformující růstový faktor)
VEGF	vascular endothelial growth factor (vaskulární endoteliální růstový faktor)

1 Úvod

1.1 Zadání práce - cíl práce

- Cílem této práce je posoudit nežádoucí účinky chemoterapie na mikroflóru v dutině ústní a v konečniku u pacientů s kolorektálním karcinomem a karcinomem prsu.
- Porovnat změny mikroflóry v dutině ústní a v konečniku u pacientů s kolorektálním karcinomem léčených režimy FOLFOX a FU/FA.
- Porovnat změny mikroflóry v dutině ústní a v konečniku u pacientů s karcinomem prsu léčených AC a AC/T.
- Zjistit zastoupení jednotlivých bakterií v dutině ústní a konečniku před zahájením chemoterapie, v průběhu chemoterapie a po skončení chemoterapie u obou onkologických diagnóz.
- Zjistit výskyt podmíněně patogenních mikroorganismů (kvasinek) u sledovaných pacientů v jednotlivých etapách onkologické léčby.

Onkologická onemocnění patří stále mezi nejzávažnější a nejobávanější skupinou chorob. Jsou na druhém místě v příčině smrti, a to jak u dospělých, tak u dětí. Zhoubné nádory vzbuzují obavy nejen pro případné fyzické utrpení a možnou smrt, ale navozují u nemocných i řadu psychologických, sociálních a duchovních problémů (Vorlíček et al., 2000).

V současné době je pro zdravotníky i nemocné k dispozici stále více informací o prevenci, diagnostice a léčbě zhoubných nádorů. Onkologická problematika vyžaduje práci multidisciplinárního týmu, který představuje spolupráci od praktického lékaře, přes kvalifikovaného onkologa až po úzce zaměřeného specialistu na klinice či ústavu (Vorlíček et al., 2000).

Charakteristika nádorového růstu a jeho rozmanité formy jsou dány nejen rozdílnými etiologickými faktory, ale i různorodou patogenezí. Léčba tohoto typu onemocnění je velmi obtížná. Ve většině případů nestačí k úspěšnému léčení nebo dokonce vyléčení jediná, byť velmi účinná léčebná metoda. Větší naději na úspěch má komplexní přístup, vyjádřený možnou kombinací základních terapeutických metod. Chirurgické léčby, léčby zářením, chemoterapie, do níž

se zahrnuje i hormonální léčba, nově zaváděná biologická léčba, u některých typů nádorů i imunoterapie. Je zřejmé, že i přes veškerá úskalí, chemoterapie zůstává nepostradatelnou léčebnou metodou (Klener, 1996).

1.2 Historie nádorových onemocnění

Archeologické nálezy kosterních pozůstatků pravěkých lidí přinášejí důkazy, že nádorová onemocnění sužují lidstvo od nepaměti. U egyptských mumíí byly nalezeny známky svědčící o nádorových onemocněních malé pánve. Zmínky o nádorech a jejich léčbě najdeme v egyptských papyrech i v písemnictví mezopotamském, čínském, indickém, arabském a japonském.

Slavný řecký lékař Hippokrates použil jako první termín karcinom. Traduje se, že zvolil tento název podle pokročilého karcinomu prsu, který při svém šíření s průvodní lymfagoitidou připomíná siluetu pobřežního kraba (*Carcinides meanas*) (De Vita et al., 2001).

1.3 Filozofie léčby nádorových onemocnění

I léčba nádorových onemocnění má kořeny v hluboké historii. Např. Hippokrates doporučoval léčbu rozžhaveným železem u nádorů uložených na povrchu těla. Ostatní pacienty doporučoval ponechat bez léčby, protože léčení pacienti umírali rychleji než neléčení. Už v antickém Řecku se řešily filozofické a etické aspekty spojené s medicínou. Klasik antické medicíny Galénos věnoval značnou pozornost nádorovým onemocněním, včetně prognostických faktorů. V jeho době se s úspěchem používala chirurgická léčba u lokalizovaných forem nádorů a profilovali se první onkochirurgové, např. Leonidas, který se specializoval na operace karcinomu prsu.

Zkoušela se také medikamentózní léčba, arsenik a extrakty rostlin nebo plodů (Petera, 2005).

1.4 Rozvoj onkologické problematiky

Velký zájem o onkologickou problematiku přineslo 19. století. Pokroky v patologické anatomii, anestezii a chirurgických technikách rozšířily léčebné

možnosti. Přelom 19. a 20. století přinesl objev paprsků X a gamma záření a radioterapie se postavila po bok chirurgické léčbě jako druhá nejúčinnější metoda v léčbě zhoubných onemocnění. Ve druhé polovině 20. století započal rozvoj chemoterapie, která umožnila účinně postihnout systémový metastatický proces a výrazně zlepšila šanci pacientů na vyléčení či prodloužení života (Klener, 2002).

2 Teoretická část

2.1 Biologie zhoubných nádorů

Podstatou zhoubného bujení je nekontrolovaný růst buněk. Proliferační aktivita buněk jednotlivých tkání je za normálních okolností regulována homeostatickými mechanismy, které jsou zprostředkovány jednak faktory humorální povahy (hormony nebo cytokiny), nebo kontaktem buněk s okolními buňkami a extracelulární hmotou. Tyto faktory za normálních okolností usměřují proliferaci nádorových buněk tak, aby odpovídala potřebám organismu jako celku. Při zhoubném bujení dochází k proliferaci buněk, které nereagují nebo omezeně reagují na regulační podněty z okolí. Dochází ke ztrátě kontaktní inhibice (kontakt buněk je fyziologickým regulátorem proliferace), snižuje se závislost proliferace buněk na stimulačních endokrinních, parakrinních nebo autokrinních růstových faktorech a maligní buňky získávají schopnost proliferovat bez kontaktu s extracelulární hmotou.

Rozdílem odlišujícím nádor od normální tkáně je autonomie regulace růstu nádoru, nikoliv jeho rychlost, nádorové buňky v řadě případů proliferují pomaleji než normální tkáně (v opačném případě by bylo obtížné používat cytotoxické léky). Samotná neregulovaná proliferace by ve většině případů neznamenal život ohrožující onemocnění, případně by byla řešitelná jednoduchým chirurgickým zákrokem. Kromě deregulované proliferace jsou za maligní chování buněk nádoru odpovědné invazivita, což je schopnost nádorových buněk pronikat anatomickými bariérami tvořenými extracelulární hmotou nebo vrstvami buněk, a schopnost zakládat metastázy v jiných orgánech (Mendelson et al., 2001).

2.2 Fáze maligního onemocnění

2.2.1 Maligní transformace a onkogeny

Deregulace proliferace, invazivita a schopnost tvořit metastázy jsou podmíněny změnami DNA buňky. Změna struktury DNA buňky, které vedou k zhoubnému bujení, mohou být dědičné, většina těchto změn však vzniká

de novo účinkem zevního prostředí, tzv. mutagenů, které mohou být povahy fyzikální (záření, chemické nebo biologické - onkogenní viry). Změny struktury DNA mohou mít podobu záměny jedné báze jinou, delece bází, nebo větších úseků DNA, inserce virové DNA, amplifikace genů, změny metylace genů, translokace či změny počtu chromozómů.

Onkogeneze představuje několikastupňový proces, který lze zjednodušeně rozdělit do 3 fází: iniciace, promoce a progresse.

Změny DNA hrají rozhodující roli zejména v iniciaci a progresi, promoce odráží zejména extragenetické vlivy (např. hormonální stimulaci). Pouze výjimečně může dojít k nádorové transformaci změnou jediného genu (např. u retinoblastomu), u většiny běžných nádorových onemocnění je nádorová transformace důsledkem změny mnoha genů.

Za fyziologického stavu za funkci buněk zodpovídají regulační geny-protoonkogeny. Jejich poškozením se mění v onkogeny a jsou základem maligní transformace. V případě poškození protoonkogenů je produkována funkčně odlišná bílkovina (onkoprotein). Regulační geny můžeme v zásadě rozdělit do 3 skupin: proonkogeny, antionkogeny a geny kontrolující stabilitu DNA (Mendelson et al., 2005).

2.2.2 Invaze a neoangiogeneze

Invazivita je jednou z vlastností definujících nádorové bujení. Jako invazivitu označujeme schopnost nádorových buněk šířit se bez ohledu na mikroskopické a makroskopické anatomické bariéry (např. bazální membránu). K tomu, aby došlo k invazi nádorových buněk, musí tyto buňky ztratit kontaktní inhibici, získat schopnost rozrušovat anatomické bariéry a zvýšit svou pohyblivost. Ve zdravých tkáních dochází mezi buňkami navzájem nebo mezi buňkami a mezibuněčnou hmotou k interakcím, které vedou k tomu, že jednotlivá buňka zachovává určitou strukturu tkáně. Tato vlastnost normálních buněk se nazývá kontaktní inhibice a je zprostředkována např. kadheriny nebo β -kateninem. Při maligní transformaci může dojít k mutaci genů pro molekuly zprostředkující kontaktní inhibici, v jiných případech bývá pozorována tzv. epitel-mezenchymální tranzice nádorových buněk (Peters, 2005).

Narušení anatomických bariér je dosaženo účinkem různých proteáz (např. kolagenáz, elastáz nebo matrixových metaloproteináz) nebo enzymů odbourávajících polysacharidy mezibuněčné hmoty na makromolekulární složky extracelulární hmoty. Zdrojem těchto enzymů, které odbourávají makromolekuly, může být nejen sama nádorová buňka, ale i leukocyty, především neutrofily a makrofágy, hostitele.

Novotvorba cév (neoangiogeneze) je nutný předpoklad nádorové progresi. Průnik živin, včetně kyslíku, prostou difúzí je možný pouze pro několik vrstev buněk, novotvorba cév je proto pro růst nádoru kritickým faktorem. Indukce angiogeneze je jedním z klíčových momentů pro progresi nádorového onemocnění. Tento moment je nazýván angiogenní přesmyk (angiogenic switch). Vlivem faktorů (VEGF, PDGF a dalších) produkovaných nádorovými buňkami i buňkami nádorového stromatu dochází k proliferaci a migraci endotelových cév z okolí nádoru. Stimulem pro produkci VEGF je hypoxie nádorových buněk.

Angiogeneze je proces, který probíhá i fyziologicky, např. při hojení rány. Jako i jiné fyziologické pochody je i angiogeneze regulována faktory stimulačními i inhibujícími. Podobně je i nádorová angiogeneze výsledkem interakce účinků proangiogenetických a antiangiogenetických faktorů (Petera, 2005).

2.2.3 Metastatický proces

Schopnost tvořit metastázy je základní vlastností maligního bujení. Právě metastázy jsou odpovědné za většinu úmrtí na maligní onemocnění. K tvorbě metastáz může docházet cestou krevní cirkulace (hematogenně), cestou lymfatických cév (lymfogenně) nebo implantací v tělních dutinách (např. peritonea).

Proces vzniku metastáz zahrnuje řadu nutných a po sobě následujících kroků:

- průnik bazální membránou
- průnik do lumina cévy
- transport cirkulací

- mechanické zaklínění v koncové kapiláře
 - průnik stěnou kapiláry do cílového orgánu
 - proliferace nádorových buněk v cílovém orgánu
 - neoangiogeneze v cílovém orgánu
 - nejčastějším místem vzniku metastáz jsou játra
- (Mendelson et al., 2001)

2.2.4 Růstové faktory nádorových buněk

Důležitým předpokladem pro proliferaci normálních a nádorových buněk jsou růstové faktory. Jedná se o bílkoviny, které stimulují proliferaci a i určitý směr diferenciaci buněčných populací. Může se jednat o hormony (např. inzulin), většinou jsou růstovými faktory cytokiny. Cytokiny jsou produkovány i fyziologicky. Růstové faktory působí na specifické receptory. Vazba růstového faktoru na specifický receptor vede k dalším dějům uvnitř buňky, které zprostředkují přenos signálu. Příkladem růstových faktorů, které mají významnou roli v progresi nádorového onemocnění, mohou být EGF, IGF-1, VEGF, IGF-2 nebo TGF- α (Paul, 1999).

2.3 Etiologie nádorů

Mezi faktory zevního prostředí, které se podílejí na vzniku nádorů, řadíme nejen vlastní kancerogeny, látky, které mají schopnost vyvolat změny genetické informace, ale též kancerogeny (promotory), které mají schopnost již existující genetické změny prohloubit a tak urychlovat vznik nádoru. Mezi expozicí a vznikem nádoru mohou uplynout desítky let. Kancerogenní látky lze rozdělit na 3 skupiny, látky chemické, fyzikální a biologické. Je snaha tyto faktory poznat a pokud možno eliminovat z vnějšího prostředí popřípadě omezit jejich působení na lidské zdraví a tím snížit pravděpodobnost rozvoje nádorového onemocnění (De Vita et al., 2001).

2.3.1 Kancerogenní účinky chemických látek

Kancerogenní účinky chemických látek byly poprvé popsány v 18. století londýnským chirurgem Percivalem Pottem, který pozoroval zvýšený výskyt karcinomu šourku u kominíků, kteří byli vystaveni působení kouřových zplodin.

V roce 1885 byla prokázána souvislost mezi aromatickými aminy přítomnými v některých barvivech a nádory močového měchýře. Později byl prokázán vztah mezi expozicí azbestu a nádory pohrudnice.

Mezinárodní agentura pro výzkum zhoubných novotvarů při světové zdravotnické organizaci vytvořila v roce 1969 mezinárodní program hodnocení karcinogenního rizika chemických látek pro člověka. Bylo prověřeno kolem 800 agens, které byly zařazeny do skupin podle kancerogenní síly (Klener, 2002).

2.3.1.1 Léky spojené s rizikem vzniku nádorů

Mezi léky, které mohou mít kancerogenní efekt, patří paradoxně především léky k léčbě nádorových onemocnění. Mezi cytostatika, jejichž nežádoucím účinkem může být vznik sekundárních nádorů, patří například alkylační cytostatika. Bylo prokázáno, melfalan nebo cyklofosfamid mohou navodit vznik leukémie či nádory močového měchýře.

Mezi tyto léky patří i léky, které obsahují estrogeny a mohou vyvolat například karcinom pochvy, endometria, ale i karcinom prsu. I některá imunosupresiva, jako je azathioprim nebo cyklosporin zvyšují riziko vzniku lymfomů, nádorů kůže či sarkomů měkkých tkání (De Vita et al., 2001).

2.3.2 Fyzikální kancerogenní látky

Nejdůležitějším fyzikálním kancerogenem je záření. I sluneční záření může vyvolat rakovinu kůže v místech, kde je mu kůže nejvíce vystavena. Dále i nárazové krátkodobé vystavení kůže intenzivnímu slunečnímu záření může být rizikové pro vznik především maligního melanomu.

Kancerogenní účinek ionizačního záření byl zjištěn zanedlouho po objevu rentgenových paprsků.

Indukce nádorů zářením je komplexní jev, který závisí na řadě dalších faktorů, jako jsou například hladina hormonů, věk a další (De Vita et al., 2001).

2.3.3 Infekční kancerogenní faktory

Poprvé byla myšlenka, že infekční agens může být rizikový faktor pro vznik maligního onemocnění, vyslovena v roce 1910 Rousem. Ve své práci o kuřecím sarkoma viru (RSV, retroviry) prokázal, že karcinom může být vyvolán infekčním původcem.

S vyšetřením struktury DNA v roce 1953 se započala nová epocha v genetice a biologii vůbec. Nádorová virologie tuto epochu výrazně obohatila. Snaha poznat životní cyklus RSV a jemu podobných virů vedla k odhalení molekulárně biologického mechanismu zásadního významu – RNA závislé syntézy DNA zvané reverzní transkripce a k identifikaci virových genů odpovědných za nádorový zvrát buňky – onkogenů. Ukázalo se, že tyto geny jsou buněčného původu a byly začleněny do virového genomu v průběhu životního cyklu viru. Za odhalení vlastností onkogenů byla v roce 1989 udělena Nobelova cena v oboru retrovirologie (Michael Bishop, Harold Varmus). Viry, u kterých bylo prokázáno, že mohou vyvolat nádorová onemocnění u člověka, jsou: herpesviry, retroviry, papilomaviry, flaviviry a další (Petera, 2005).

V dalších letech epidemiologické studie ukázaly, že více než 15 % maligních onemocnění vzniká v souvislosti s prodělaným infekčním onemocněním. Běžné bakteriální i virové infekce jsou provázeny změnou cytokinového spektra. Tyto cytokiny se podílí na promoční fázi nádorového růstu.

2.3.4 Geneticky podmíněné nádory

Většina nádorů není dědičná, ale asi 5-10% nádorů může mít hereditární původ. Zárodečná mutace jedné alely genu je přítomna ve všech buňkách jedince. Druhá alela genu funguje normálně a klinicky se mutace projeví, až když je somatickou mutací vyřízena i druhá kopie stejného genu a tím je porušena regulace buněčného cyklu nebo oprava chyb v DNA (Petera, 2005).

a) *Dědičná forma nádorů prsu a ovarií*

V roce 1994 a 1995 byly objeveny tumor supresorové geny BRCA1 a BRCA2, které jsou zodpovědné asi za 80 % dědičných forem nádorů prsu nebo vaječníku. Nositelka zárodečné mutace v genu BRCA1 má až 50 % celoživotní riziko onemocnění nádorem prsu a zvýšené riziko onemocnění nádorem vaječníků. Nositelka zárodečné mutace v BRCA2 genu má stejně vysoké riziko nádoru prsu a nádoru vaječníků – 20 % a rovněž je zvýšené riziko nádorů kolorekta, žlučníku a žlučových cest, slinivky a žaludku (Abeloff, 2008).

b) *Dědičný nepolymatózní kolorektální karcinom (Lynchův syndrom)*

V roce 1992 byl objeven první gen pro Lynchův syndrom. Od té doby bylo objeveno dalších pět genů, které se podílejí na vzniku tohoto onemocnění. Přenašeč zárodečné mutace má až 75% riziko onemocnění nádorem kolorekta. Zvýšené riziko může být i pro nádory ovaria, žaludku, tenkého střeva, močového a hepatobiliárního systému a mozku (Abeloff, 2008).

c) *Familiární adenomatózní polypóza*

Zodpovídá asi za 1 % kolorektálních karcinomů. Je prokázána mutace APC genu. Mnohočetné polypy se objevují v distální části tlustého střeva a v konečníku. Nádor tlustého střeva se objevuje mnohdy již v dospívání. Je zvýšené riziko i jiných nádorů jako například nádorů štítné žlázy, sarkomů, nádorů mozku.

d) *Juvenilní střevní polypóza*

Gen zodpovědný za polypózu je PTEN. Tvorba polypů tlustého střeva, někdy i tenkého střeva a žaludku je vysoká stejně jako riziko vzniku kolorektálního karcinomu.

e) *Peutz-Jeghersův syndrom*

Gen STK11 je zodpovědný za dominantně dědičný syndrom, jehož součástí je tvorba polypů v žaludku, tenkém i tlustém střevě, které mohou malignizovat. Zvyšuje se riziko i nádorů čípku, ovarií a testes (Abeloff, 2008).

2.4 Rizikové faktory vzniku zhoubných nádorů

Většina lidských zhoubných nádorů je vyvolána zevními vlivy.

- **Nikotinismus**

Tabák je rizikovým faktorem pro nádory dutiny ústní, faryngu, laryngu, jícnu, plic, pankreatu, ledvin, čípku děložního, ureteru, močového měchýře. Stupeň rizika koreluje s délkou kouření, počtem vykouřených cigaret, hloubkou inhalace, obsahem dehtu. Tabákový kouř obsahuje bohatou škálu kancerogenů: arsen, benzen, benzidin, benzopyren, nitrosoaminy, PAU, vinylchlorid a další (Adam et al., 2002).

- **Alkoholismus**

Alkohol je rizikovým faktorem nádorů dutiny ústní, faryngu, laryngu a jater. Patrně souvisí se vznikem karcinomu prsu a rekta. Kombinovaná expozice alkoholu a tabáku má na svědomí 75-85 % všech karcinomů dutiny ústní, faryngu a jícnu. Mechanismus účinku je vícečetný. Lokální cytotoxicita zvyšuje permeabilitu sliznice pro kancerogeny.

- **Dietetické vlivy**

Tyto faktory hrají důležitou roli u celé řady nádorů. Nadváha a obezita zvyšují riziko karcinomu endometria, prsu, ledvin, žlučníku a tlustého střeva.

- **Ionizující záření**

Toto záření je rizikovým faktorem pro zhoubná onemocnění kostní dřeně, štítné žlázy, plic, pojivové a kostní tkáně. Radon v interiérech budov je zodpovědný asi za 50 % radiační expozice v běžné populaci a odhaduje se, že způsobuje mnoho úmrtí na karcinom plic (Adam et al., 2002).

- **UV záření**

UV záření se uplatňuje při vzniku melanomu, spinocelulárního a basocelulárního karcinomu kůže. Incidence melanomu nekoreluje s prací v exteriéru, je vysoká i u vyšších manažerských a profesních kategorií a na rozdíl od dlaždicobuněčného karcinomu nezávisí na věku.

Mezi další rizikové faktory bychom mohli zařadit exogenní estrogény, které hrají důležitou roli v riziku karcinomu prsu a endometria, dále pak infekční agens, průmyslově vyráběné chemikálie a určitým rizikem je i profesionální riziko, kdy se pracuje především s anilinovými barvami (karcinom močového měchýře), azbestem (karcinom plic a pleury), dřevným prachem (karcinom paranazálních dutin) nebo uranem (karcinom plic) (Klener, 2002).

2.5 Prevence nádorových onemocnění

Prevence nádorů je významný prostředek k redukci jejich morbidity a mortality. Bylo prokázáno, že v době klinické manifestace zhoubného bujení uplynulo více než 90 % biologického času nádoru a nejvyšší šance na dosažení jeho kontroly byly ztraceny. Proto je prevence tak významná nejen pro pacienty, ale i z pohledů na léčbu.

- a) Primární prevence – je zaměřena na asymptomatické jedince a má zabránit vzniku nádorového procesu. Patří do ní především úprava životního stylu. Uvádí se, že 50-70 % všech nádorů je preventabilních.
- b) Sekundární prevence – týká se lidí s preneoplastickým nálezem, ale bez manifestní malignity (časná detekce a léčba leukoplakie na sliznici dutiny ústní).
- c) Terciální prevence – je zaměřena na jedince, kteří prodělali zhoubné onemocnění, a má zabránit vzniku sekundárních malignit.
- d) Screening – znamená aktivní vyhledávání klinicky němého, časného a léčitelného onemocnění v populaci. Screening je vhodný pro nádory s vysokou incidencí, kde je k dispozici účinná léčba časných stádií a jednoduchý test umožňuje detekci onemocnění. Screening se v současné době testuje u karcinomu prsu, kolorektálního karcinomu děložního čípku, prostaty a maligního melanomu.
- e) Časná detekce - znamená včasnou diagnózu u nemocných symptomatických.

- f) Chemoprevence – je aktivní farmakologická intervence s cílem zabránit vzniku zhoubného bujení (Adam et al., 2006).

2.6 Národní onkologický registr

V roce 1951 zavedlo Ministerstvo zdravotnictví povinné hlášení každého zhoubného novotvaru. Od roku 1975 působí v České republice Národní onkologický registr (NOR) splňující kritéria Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) v Lyonu, který umožňuje sledovat základní údaje nádorové epidemiologie, stav nemocných, úroveň jejich diagnostiky, terapie a dispenzarizace.

Hlášení novotvaru podává lékař zdravotnického zařízení, ve kterém byl případ diagnostikován, na předepsaném tiskopise. Vývoj nemoci je sledován kontrolním hlášením, které zasílá dispenzarizující lékař spádovému centru NOR v intervalu 1, 2, 3, 4, 5, 7 a 10 let a dále po 5 letech a při úmrtí pacienta.

Rozsah nemoci se určuje pomocí klinické TNM klasifikace. Touto klasifikací se určuje rozsah primárního ložiska (kategorie T), metastatického postižení regionálních mízních uzlin (kategorie N), přítomnost či absence vzdálených metastáz (kategorie M). TNM se používá u histologicky ověřených nádorů (Adam et al., 2003).

2.7 Postavení chemoterapie v komplexní léčbě nádorů

Charakter nádorového růstu a jeho rozmanité formy jsou nepochybně dány nejen rozdílnými etiologickými faktory, ale i velmi různorodou patogenezí. Léčba tohoto onemocnění je obtížná. Ve většině případů nestačí k úspěšnému léčení nebo dokonce k vyléčení jediná, byť velmi účinná metoda. Větší naději na úspěch má komplexní přístup, vyjádřený kombinací základních terapeutických metod. Chirurgické léčby, léčby zářením, chemoterapie (do níž zahrnujeme i hormonální léčbu), u některých typů nádorů imunoterapie a biologická léčba. Nezastupitelné místo v moderní léčbě nádorů patří též

podpůrné léčbě, která může do jisté míry ovlivnit výsledky dosažené zmíněnými základními metodami.

Protinádorová chemoterapie prodělala v uplynulých desetiletích bouřlivý rozvoj. Stala se ve své indikační oblasti rovnocennou chirurgické léčbě a radioterapii.

Současně se v protinádorové léčbě začaly uplatňovat i regulátory biologické odpovědi a značně pokročily i výzkumy, které hledají možnosti ovlivnění genomu (Klener, 2002).

2.7.1 Mechanismus účinku konvenčních cytostatik

Mechanismy účinku cytostatik a jeho osud v organismu by měly být známy dříve, než se lék použije v klinické praxi. Přes současné znalosti o mechanismech účinku cytostatik používaných v léčbě nádorů na molekulární úrovni, neznamená, že by byl mechanismus účinku probádán do všech podrobností. Každé cytostatikum může zasahovat do nejrůznějších metabolických pochodů, blokovat rozmanité enzymatické systémy, ovlivňovat jak fyziologické, tak patologické signální cesty. Cytotoxický účinek chemoterapeutik používaných v současné době v onkologické praxi lze vysvětlit několika hlavními mechanismy:

- a) inhibice klíčových enzymů metabolismu, jež vede k poruše biosyntézy nukleových kyselin s následnou inhibicí buněčného dělení
 - b) přímé poškození struktury již hotových nukleových kyselin, strukturní změny s sebou přinášejí i poruchu funkce nukleových kyselin
 - c) alterace mikrotubulárního proteinu, jež má za následek abnormální průběh mitózy a její blokádu v metafázi, a kterou se vysvětluje účinek některých látek přirozeného původu
 - d) porucha syntézy proteinů
 - e) kombinované účinky, při nichž se uplatňují jak dříve uvedené mechanismy, tak i některé účinky zvláštní
 - f) poškození buněčné membrány
- (Klener, 2002).

2.7.2 Chemoterapie v různých léčebných etapách

2.7.2.1 Kurativní chemoterapie

Kurativní chemoterapie si klade za cíl vyléčit nemocného. Naděje na vyléčení je vykoupená dočasným snížením kvality života. Chemoterapie s kurativním cílem se podává nemocným s krevními malignitami (Vorlíček et al., 2000).

2.7.2.2 Adjuvantní chemoterapie

Adjuvantní léčbou rozumíme podávání cytostatik nemocným, u nichž byl chirurgicky odstraněn nádor až do zdravé tkáně a u nichž není další nádorová tkáň dostupnými diagnostickými postupy prokazatelná (Ro resekce). Předpokládá se ale existence mikrometastáz, které by tato léčba měla zničit.

Cílem adjuvantní chemoterapie je snížit riziko relapsu nádoru (Vorlíček et al., 2000).

2.7.2.3 Neadjuvantní léčba

Neadjuvantní léčbou rozumíme podání cytostatik před vlastní operací nádoru. Má za cíl zmenšit lokálně pokročilý tumor a zlepšit operabilitu tumoru a snížit riziko lokální recidivy.

2.7.2.4 Paliativní chemoterapie

Paliativní chemoterapie potlačuje nádorový růst a vede ke zmírnění příznaků způsobených nádorem. Cílem je zlepšení kvality života nemocného a prodloužení života, ne však úplné vyléčení.

Tento typ chemoterapie by neměl zhoršovat kvalitu života nemocného svými nežádoucími účinky (Vorlíček et al., 2000).

2.7.2.5 Imunoterapie

Imunoterapie je léčebnou metodou, jejímž cílem je obnovit porušenou funkci protinádorové imunity a zapojit ji do léčby zhoubného onemocnění. Proti záření a chemoterapii má imunoterapie tu přednost, že je schopna ničit nádorové buňky nezávisle na jejich generačním cyklu. Buněčná populace není ničena frakcionálně, nýbrž může být zlikvidována totálně, pokud není příliš

početná a pokud všechny její buňky nesou specifický nádorový antigen, který je schopen vyvolat odhojovací reakci. Na základě experimentálních studií bylo zjištěno, že optimální účinnost imunoterapie lze očekávat u nádorů s populací menších než 10^5 buněk.

Imunoterapie se uplatňuje v praxi jako doplňková metoda v případech, kdy hlavní nádorová masa byla odstraněna jiným způsobem. Imunoterapie by tak měla přispět k likvidaci tzv. zbytkové nemoci a zaručit tak trvalé vyléčení (Klener, 2002).

2.7.2.6 *Biologická léčba*

Biologická léčba vychází z nejnovějších vědeckých poznatků týkajících se struktur a pochodů na povrchu a uvnitř buněk. A tak zatímco chemoterapie působí na obecné buněčné struktury, například na DNA, která je vlastní všem buňkám, biologické preparáty jsou nasměrovány na molekuly a pochody specifické pro buňky nádoru. Díky tomu působí minimálně na normální buňky. S výjimkou alergických – anafylaktických reakcí při podání léčby, mají jen minimální vedlejší účinky (Rosenberg, 2000).

2.8 Hodnocení léčebné odpovědi

- a) Kompletní remise – je definována jako úplné vymizení známek tumoru při použití všech dosažitelných vyšetřovacích metod a obvykle znamená prodloužení života.
- b) Parciální remise – je definována jako 50% zmenšení nádoru. Je však sporné, zda tento léčebný efekt povede k delšímu přežití nemocného. Dočasné zmenšení tumoru může jen povzbudit proliferaci klidových nádorových buněk a ne vždy musí být spojeno s prodloužením života.
- c) Bezpříznakové období (event free survival) – interval je vymezen ukončením chemoterapie a časem progresu nemoci. Používá se obvykle v případě, kdy pacient nesplňuje kritéria kompletní ani parciální remise.

- d) Celkové přežití (overall survival) – udává interval od stanovení diagnózy do úmrtí. Jeho prodloužení nemusí následovat zlepšení kvality života. Je nutné hodnotit i vliv léčby na kvalitu života, neboť vliv chemoterapie na kvalitu života by měl být jedním z důležitých faktorů při indikování léčby (Vorlíček et al., 2000).

Nádory se liší v senzitivitě na chemoterapii. Některé typy nádorů jsou chemosenzitivní a část z nich lze chemoterapií úplně vyléčit. Jiná maligní onemocnění jsou chemorezistentní, chemoterapie má jen parciální efekt nebo žádný. Mimo histologického typu nádoru a histopatologického gradingu záleží efekt léčby na dalších faktorech, jako je stav výživy, věk, délka terapie a dalších (Vorlíček, 2000).

2.9 Nežádoucí účinky cytostatické léčby

Protinádorová chemoterapie je provázena vedlejšími účinky, orgánovými a tkáňovými reakcemi různé intenzity a závažnosti. Nejčastěji jsou to příznaky z oblasti gastrointestinálního traktu. Projevují se jako nevolnost, nechutenství, nauzea až zvracení. Některá cytostatika poškozují sliznice gastrointestinálního traktu, což se projevuje chronickými vodnatými až hemoragickými průjmy, které mohou vyvrcholit rozvratem homeostázy.

Dalším, často postiženým systémem je kostní dřeň. Její poškození se projevuje leukopenií, trombocytopenií nebo anemií.

Na kůži a jejich adnexech se nežádoucí účinky projevují nejčastěji alopecíí, která je obvykle přechodná, reverzibilní. Příznaky kardiotoxicity a kardiopatie jsou typické pro antracyklinová cytostatika a při latentním onemocnění myokardu se mohou projevit. Dalšími orgány, jejichž funkce je nutné sledovat, jsou ledviny, uroteliální systém a játra, příkladem jsou deriváty cisplatiny nebo cyklofosamid.

Při dlouhodobém podávání cytostatik může dojít k poškození funkce gonád, které se manifestuje poruchami menstruačního cyklu nebo azoospermii. Změny jsou většinou přechodné, ale návrat k normě bývá velmi pomalý. Může dojít i trvalé sterilitě.

K vedlejším účinkům cytostatické léčby patří neurotoxické příznaky, které nejsou vzácností. Projevují se parestéziemi, svalovou ztuhlostí, bolestmi v končetinách. Cytostatika mají rovněž vliv imunosupresivní (Vysloužil, 2005).

Chemoterapie má výrazný vliv i na imunitní systém a s tímto účinkem je třeba v průběhu léčby počítat, protože změny reaktivity imunitního systému mohou být příčinou fatálních komplikací léčby onkologických onemocnění s jinak příznivou prognózou (febrilní neutropenie). Mezi nežádoucí účinky imunitního systému náleží hypersenzitivní reakce na podávaná cytostatika. (Klener, 2002).

Základem prevence nežádoucích účinků je důkladná znalost farmakodynamiky, kinetiky a dlouholeté zkušenosti z klinické praxe. Proto léčba těmito léky by měla být vedena jen erudovanými lékaři, kteří se této problematice věnují. Pacientům léčeným chemoterapií je třeba věnovat mimořádnou pozornost a péči, a to nejen po stránce somatické, ale především psychické (Vysloužil, 2005).

2.10 Protinádorová terapie u pacientů s kolorektálním karcinomem a karcinomem prsu

Cytostatická léčba může být v praxi realizována různou formou. Nejčastějším způsobem, který v plné míře využívá nových teoretických poznatků o cytotkinetice a mechanismu účinku cytostatik, je kombinovaná chemoterapie.

Kombinovanou chemoterapií rozumíme současné, popř. následné podávání dvou nebo několika chemoterapeutik. Tímto způsobem lze dosáhnout lepších léčebných výsledků než jen jednodélkovou chemoterapií. Již podání dvou cytostatik současně může velmi podstatně změnit léčebnou odezvu. Po léčbě chemoterapeutickou kombinací bylo dosaženo delšího trvání remise a delší doby přežití než po léčbě jedním cytostatikem. Kombinace se v mnoha případech jeví méně toxická než cytostatická monoterapie. Výhodou kombinované léčby je také zpomalení vzniku rezistence, která při jednodélkové terapii může znemožnit další účinnou léčbu (Klener, 1996).

2.10.1 5-fluorouracil

5-fluorouracil je základní sloučenina z celé skupiny fluorovaných pyrimidinů a jeden z nejvíce používaných antimetabolitů této skupiny. 5-fluorouracil se v organismu rychle metabolizuje (hlavně v játrech) a v nezměněné formě se vylučuje do moči. V buněčném cyklu působí převážně ve fázi S, částečně zpomaluje přechod G₁-S. Mezi nežádoucí účinky působení 5-fluorouracilu patří nevolnost, zvracení, dermatitida, stomatitida, průjemy, konjunktivitida, leukopenie, trombocytopenie a mukozitida (Klener, 1996).

2.10.2 Leukovorin

Leukovorin se řadí mezi doplňkové léky, které jsou nezbytnou součástí onkologické léčby. Samy o sobě nemají protinádorový účinek, ale jejich současné nebo následné podání umožňuje lépe využít protinádorové účinky chemoterapie. Patří mezi derivát kyseliny listové (redukovaný folát), který je schopen zrušit blokádu dihydrofolátreduktázy vyvolanou účinkem antifolika. Zvyšuje protinádorovou účinnost 5-fluorouracilu. Vylučuje se ledvinami (Klener, 1996).

2.10.3 Oxaliplatin

Je to diaminocyklohexanový platinový komplex se substitucí atomů chlóru oxalátem. Ve srovnání s cisplatinou má nízkou nefrotoxicitu a širší spektrum protinádorové účinnosti. Pozoruhodná je aktivita přípravku u kolorektálního karcinomu, včetně případů rezistentních na 5-fluorouracil. Mezi nežádoucí účinky působení patří nevolnost, zvracení, mírná hematologická toxicita, velmi častá je neurotoxocita, jejímž prvním příznakem jsou parestézie (Klener, 1996).

2.10.4 Doxorubicin

Byl izolován z kultur plísně *Streptomyces peuceutius*. Je považován za jedno ze základních a nepostradatelných cytostatik, jak pro léčbu hematologických malignit, tak solidních nádorů. Za hlavní indikace lze

považovat karcinom prsu. Jeho nežádoucí účinky jsou především v oblasti krvetvorby, kdy dochází k dřevným útlumům. Je kardiotoxický. Z dalších nežádoucích účinků to je reverzibilní alopecie, mukozidita, nekrózy v dutině ústní (Klener, 1996).

2.10.5 Cyklofosamid

Patří mezi bifunkční alkylační látky, které z hlediska buněčného cyklu patří mezi fázově nescifická cytostatika. Má též výrazné účinky imunosupresivní. Tlumí jak imunitu zprostředkovanou buňkami, tak i imunitu protilátkovou. Za zmínku stojí pozoruhodné zjištění, že v malých dávkách může cyklofosamid imunitu stimulovat (selektivním potlačením supresorových T_s -lymfocytů). Vylučuje se převážně do moči, asi 25 % v nezměněné formě. Jen asi 4 % se vylučují do stolice. Cyklofosamid proniká placentární bariérou. Může se též vylučovat mateřským mlékem. Podává se vždy v kombinaci s jinými cytostatiky. Mimo onkologii našel cyklofosamid široké uplatnění pro své imunosupresivní účinky. Používá se u různých autoimunitních onemocnění. Při konvenčních dávkách jsou jeho nežádoucí účinky mírné.

2.10.6 Paklitaxel

Je diterpenová sloučenina velmi málo rozpustná ve vodě, s výraznými protinádorovými účinky. Byla získána z kůry pacifického tisu *Taxus brevifolia* a z endofytické houby *Taxomyces andreae*. Mezi nežádoucí účinky patří granulocytopenie, která je často limitujícím faktorem další léčby a alopecie. Z gastrointestinální toxicity je nejčastější nevolnost, zvracení, mukozidita, anorexie a zácpa (Klener, 1996).

2.11 Přirozená slizniční bakteriální flóra

Trvalé osídlení člověka bakteriální flórou je nezbytnou podmínkou jeho vývoje a zdraví.

Člověk je ihned po narození postupně osídlován ohromným množstvím bakterií, s nimiž pak koexistuje celý život. Lidské tělo se skládá asi

z 10^{13} vlastních eukaryotních buněk, současně však v něm žije asi 10^{14} buněk bakteriálních, které jsou sice velmi malé, přesto na sobě a v sobě každý člověk nosí 1,0 kg až 1,5 kg bakterií. Jen ve střevě každého člověka žije 200krát více bakterií než všech lidí, kteří kdy žili na Zemi. Složení bakteriální mikroflóry je velmi pestré, ve zdravém člověku je možno nalézt 500 až 1000 a podle některých odhadů až 1500 bakteriálních druhů. Bakteriální mikroflóra velmi významně ovlivňuje zdravý vývoj i momentální zdravotní stav každého z nás a znalost o jejím významu je pro lékaře nezbytná, jak pro pochopení příčin vzniku některých onemocnění, tak i pro diagnostiku, terapii a prevenci řady chorobných stavů (Julák, 2006).

Příslušníci mikroflóry lidského těla mohou být rozděleni na autochtonní, tj. původní flóru charakteristickou pro zdravý organismus v daném prostředí, a allochtonní, tj. organismy vyskytující se nepravidelně nebo náhodně. Jednou z hlavních funkcí autochtonní mikroflóry je ochrana před kolonizací patogeny. Allochtonní mikroorganismy se mohou vyskytovat náhodně a nepravidelně, zvláště po narušení stability autochtonní složky. Taková situace se může vyvinout například po aplikaci antibiotik, chemoterapeutik, radiačním zářením, hladovění, změně diety nebo geografické lokality (Klaban, 2011).

Organismy tvořící stabilní flóru můžeme definovat jako rezidentní, osídlují lidský organismus v komenzalisticím smyslu a nezpůsobují mu žádné onemocnění. Mikroflóra tranzientní zahrnuje mikroorganismy, které se přechodně za určitých podmínek nacházejí v konkrétní oblasti daného mikroorganismu. Mohou přetrvávat hodiny, ale i delší dobu, pokud budou v potřebných podmínkách. Například tranzientní mikroflóra se objevuje v ústní dutině po konzumaci potravin nebo na kůži v případě, že je teplejší a vlhčí počasí než obvykle. Dokonce i patogenní mikroby mohou tvořit tranzientní mikroflóru (Klaban, 2011).

Složení bakteriální mikroflóry se v různých lokalitách těla výrazně liší a nacházíme velké rozdíly v zastoupení jednotlivých bakteriálních druhů. Osídlení v jedné lokalitě často souvisí s osídlením v lokalitách jiných, zejména sousedních: osídlení dutiny ústní souvisí s osídlením nasofaryngu, kožní flóra ovlivňuje osídlení vaginální, střevní flóra osídlení urogenitální apod. Kvantitativní zastoupení jednotlivých druhů bakterií je ve fyziologické flóře

různé. Pokud je vnějšími vlivy porušena, například antibiotiky, mohou se potenciální patogeny přemnožit a vyvolat onemocnění. K poruše rovnováhy může dojít i ze strany hostitele, zejména při poruchách imunity. Tak tomu je u nemocných s diabetes mellitus, nebo v průběhu podávání cytostatik či imunosupresiv. Závažnými patogeny se pak mohou stát i příslušníci normální autochtonní mikroflóry. Patologický proces může být vyvolán také průnikem mikroflóry fyziologické v jedné lokalitě do lokality jiné, zvláště je-li tato lokalita fyziologicky sterilní. Typickým příkladem jsou bakteriémie a sepse nebo močové infekce (Julák, 2006).

Rezidentní mikroflóra se v těle může vyskytovat jako planktonická, tj. volně rozptýlená v tekutinách, častěji je však adherována na povrchu kůže a sliznic v podobě různých mikrostruktur. Nejjednodušší z nich jsou mikrokolonie, podobné na povrchu agarových kultivačních půd. Mikrokolonie bývají obaleny extracelulárními polymery. Minoritní druhy, přítomné někdy jen ve stopových množstvích, není možno opomíjet hlavně proto, že je mezi nimi i řada potenciálních, ale i primárních patogenů. V dané lokalitě je pro fyziologické poměry důležitá rovnováha mezi jednotlivými zástupci mikroorganismů. Mohou se uvolňovat vlastním pohybem nebo proudem okolní tekutiny, celé mikrokolonie jsou též odlučovány a vylučovány s odloučenými buňkami kožního nebo slizničního epitelu. Rezidentní mikroflóry však též často tvoří povlaky zvané biofilmy. Jsou to komplexní společenstva se strukturní a funkční heterogenitou. Biofilmy se mohou tvořit jak na povrchu tvořeném epiteliálními buňkami, tak i inertním organickým či anorganickým povrchem. Nevyskytují se jen v lidském těle, ale i na různých površích v přírodě a i na řadě lidských výtvorů, včetně lékařských materiálů, jako jsou různé implantáty, katétry, kanyly apod. Tvorba biofilmů začíná adhezí bakterií zprostředkovanou jejich povrchovými strukturami za vzniku mikrokolonií, které rychle rostou do výšky dělením adherovaných bakterií i další adhezí stejných nebo jiných bakterií z okolí. Výsledkem tohoto procesu je složitě strukturovaný trojrozměrný útvar, tvořený jedním nebo několika bakteriálními druhy pospojovanými svými adheziny a obalenými extracelulárními polymery. Biofilmy mohou být tvořeny nejen bakteriemi, ale i vyššími organismy. V lidském těle se na nich účastní např. *Candida albicans*. Bakterie žijící v biofilmu mohou mít některé fenotypické

vlastnosti odlišné od těch bakterií žijících volně. Biofilm vytvořený uvnitř lidského organismu pak bakterie účinně chrání před obrannými mechanismy hostitele a před antibiotiky. Nejznámějším příkladem biofilmu je povlak zubů, zvaný zubní plak (Julák, 2006).

Mezi jednotlivými druhy bakteriální flóry panují velmi složité vztahy, které podporují nebo omezují jejich růst a množení. Prospěšné pro všechny účastníky jsou soužití zvaná komensalismus, synergismus. Konkurenční vztahy se nazývají antagonismus, amensalismus nebo parazitismus. Vztahy bez interakcí jsou vztahy neutrální.

Populace jednotlivých bakterií se kromě spolupráce a konkurenční soutěže vzájemně ovlivňují též produkcí různých metabolitů, které působí nepříznivě na příslušníky jiných než vlastních druhů. Jednoduchými metabolity z této kategorie jsou např. inhibičně působící kyselé produkty fermentace aerobních a fakultativně anaerobních druhů. Řada bakterií produkuje též látky povahy antibiotik, tzv. bakteriociny, působící různými mechanismy cidně na citlivé bakterie jiných druhů, přičemž produkční druh je na vlastní produkty imunní. Bakteriociny jsou solubilní nebo strukturní proteiny, kódované na plastidech a uvolňované do prostředí, u gramnegativních bakterií obvykle po lýze produkční bakterie. Nazývají se podle produkční bakterie, nejznámější jsou koliciny, produkované *E.coli*. Dalšími jsou i ústní viridující streptokoky, které produkují bakteriociny inhibující patogenní *Streptococcus pyogenes* nebo *Streptococcus pneumoniae*. Tohoto efektu lze využít terapeuticky při léčbě rekurentních tonzilitid. Bakteriociny jsou používány v mikrobiologické diagnostice, kde mohou být například šigely typizovány podle své citlivosti nebo rezistence ke kolicinům (Julák, 2006).

Populace bakteriálních druhů není regulována jednoduchými vztahy spolupráce a konkurence, ale i mechanismy, kterými bakterie mohou vnímat přítomnost jiných bakterií ve svém okolí a přizpůsobovat jim velikost své populace (kvórum). Tento fenomén, zvaný „quorum sensing“, je zprostředkován tzv. autoinduktory, což jsou metabolity produkované bakteriemi do okolí. Toto významně ovlivňuje bakteriální populaci zvláště v biofilmu, kde jsou bakterie v blízkém kontaktu (Julák, 2006).

Význam normální mikroflóry spočívá v její schopnosti bránit usídlení patogenních mikroorganismů, jakož i stimulovat imunitní systém tvorbou protilátek, především imunoglobulinů třídy IgA. U člověka může hrát pozitivní roli tvorba některých vitamínů střevní mikroflórou.

O prospěšnosti normální mikroflóry nás přesvědčí antibiotická terapie, která může drasticky potlačit některé převládající druhy, takže přerostou mikroby přítomné jen v nepatrném počtu, což mohou být i oportunní patogeny. Takto přemnožené mikroby se mohou samozřejmě snáz uplatnit a způsobit onemocnění.

Nebezpečím je schopnost příslušníků normální mikroflóry proniknout za určitých okolností do jinak sterilních částí makroorganismu. Nemusí to být jen následkem porušení celistvosti tělesného povrchu. Například *Escherichia coli* je schopna vcestovat močovou trubicí do měchýře bez zjevného poranění sliznice (Votava, 2005).

2.11.1 Respirační trakt a dutina ústní

Nosní dutina je chráněna chloupky před vnikáním prachu. Odstranit bakterie, které se zachytí v hlenu, se organismus snaží kýčáním. Důležitý ochranný význam pro dolní části dýchacího traktu má zvlhčování vdechovaného vzduchu nosní sliznicí. Pokud místo nosem člověk dýchá ústy, obchází tím důležitý obranný mechanismus respiračního traktu. Dýchání ústy jednak vysouší sliznici hrdla a hrtanu a usnadňuje tak průnik bakterií, například meningokoků, které by se jinak na řádně zvlhčené sliznici vůbec nemusely patogenně uplatnit, jednak otevírá vdechovaným mikrobům přímou cestu do dolních cest dýchacích a do plic.

Obranu v dutině ústní poskytuje proud slin, který brání hromadění bakterií. Ústní dutina a s ní související část horních cest dýchacích je velmi hustě osídlena bakteriemi. V dutině ústní může být více než 500 bakteriálních druhů. Ve slinách jsou přítomny antibakteriálně působící enzymy (lysozym, laktoferin a thiokyanatan). Důležitá je též přítomnost normální flóry dutiny ústní. K netapogenním streptokokům, neisseriím, hemofilům a stafylokokům se v dutině ústní připojují anaeroby: příslušníci rodu *Lactobacillus*, *Actinomyces*,

Peptostreptococcus, *Veillonella*, *Bacterioides*, *Prevotella*, *Fusobacterium* a mnoha dalších. Jejich vzájemné zastoupení se liší podle lokalizace v dutině ústní a podle věku a zdravotního stavu chrupu. Například z viridujících streptokoků se ve slinách, na jazyku a na sliznici vyskytuje hlavně *Streptococcus salivarius*, kdežto na povrchu zubů jsou častěji *Streptococcus sanguis* a *Streptococcus mitis*. V subgingiválních prostorech stejně jako v tonsilárních kryptách převládají anaeroby.

I když v různých částech ústní dutiny jsou zastoupeny různé mikroby, jedno mají společné: soutěží s přicházejícími patogeny o místa vhodná ke kolonizaci a přispívají tak k protibakteriální obraně (Votava, 2005).

Přirozená ústní mikroflóra může mít značný patogenetický význam jak pro rozvoj lokálních onemocnění, tak i pro vznik různých fokálních infekcí. Typickým příkladem lokálního onemocnění je zubní kaz, který je nejčastějším lidským onemocněním. Za jeho etiologické agens je považován *Streptococcus mutans*, snad i *Streptococcus sobrinus* a další, které sídlí v zubním plaku a fermentují cukry za vzniku kyselin demineralizujících sklovinu a posléze dentin. Na zubním kazu se dále podílejí i laktobacily, aktinomycey a další. Jiným příkladem lokálního onemocnění jsou i různá periodontální onemocnění, která se nečasto vyskytují v dutině ústní. Podle povahy bývají rozděleny na gingivitidy, tj. nespecifické gingivální záněty vyvolané zvýšeným množstvím grampozitivních i gramnegativních bakterií a periodontitidy, vyvolané především gramnegativními bakteriemi (Julák, 2006).

Kromě lokálních infekcí jsou nebezpečné endogenní fokální infekce, vyvolané ústními bakteriemi přenesenými do jiných kompartmentů. Z nich je asi nejzávažnější proniknutí ústní mikroflóry do krevního oběhu nebo do lymfatického systému, k němuž může nejčastěji dojít při dentálních zákrocích, extrakcích zubů nebo při špatně léčené periodontitidě. Součástí zubního plaku bývá též *Helicobacter pylori*, který v něm může odolat eradikací terapii a po jejím skončení reinfikovat žaludeční sliznici (Julák, 2006).

Zásadním cílem obrany dýchacího traktu je udržet relativní sterilitu plic. Největší prachové částice s nasedlými bakteriemi se zachytí na bohatě profilovaném povrchu nosní dutiny a v ohybu tvořeném nosohltanem, menší částice ulpí na hlenu v průdušnici a v bronších a nejmenší se mohou dostat až

do alveolů, kde na ně čekají alveolární makrofágy, které je zničí. Partikule včetně bakterií zachycené na vrstvičce hlenu jsou odnášeny pohybem řasinek a s hlenovými vločkami jsou vykašlávány, případně polykány. Na pohybu řasinek je důležité, že pohyb je uspořádaný. V určité malé oblasti sliznice je pohyb řasinek sladěn časově (řasinky sousedících buněk kmitají synchronně), v celém respiračním traktu je pak pohyb řasinek uspořádán co do směru, takže vločky hlenu jsou doslova vystrkovány z respiračního traktu ven. Zničení řasinkového epitelu kouřením nebo virovou infekcí, zastavení pohybu řasinek podchlazením nebo při užívání drog vedou k retenci hlenu s patogenními mikroby a ke vzniku stafylokokové, pneumokokové nebo hemofilové bronchopneumonie (například po infekci virem chřipky).

V dutině nosní jsou přítomny *Staphylococcus epidermidis* a nepatogenní grampozitivní tyčky označované difteroidy. Ve *vestibulum nasi* často nacházíme *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* a *Streptococcus pneumoniae*. Vedlejší dutiny nosní bývají sterilní, stejně jako Eustachova trubice a střední ucho. V nosohltanu se nacházejí viridující streptokoky, které mají ochranný vliv. Dalšími běžnými součástmi normální flóry nosohltanu a trachey jsou nepatogenní druhy rodů *Neisseria* a *Haemophilus*, difteroidy a koaguláza negativní stafylokoky – *Staphylococcus epidermidis*. Přesto se může stát, že u menší části zdravé populace izolujeme z krku zároveň mikroorganismy řazené mezi patogeny, jako je *Streptococcus pneumoniae* (Votava, 2005).

Tabulka 1 Fyziologické složení mikroflóry dutiny ústní a orofaryngu (podle Mirandy a Langrehra) (Zbořil, 2005)

mikroorganismus	počet (ml)	výskyt (%)
anaeroby	10^7	100
aeroby		100
<i>Streptococcus viridans</i>	10^{5-7}	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	10^3	> 40
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10^3	> 40
<i>Haemophilus influenzae</i>	10^3	> 40
<i>Candida albicans</i>	10^3	> 40
Gramnegativní bakterie	$0 - 10^3$	> 1

2.11.2 Zaživací trakt

2.11.2.1 Vývoj mikroflóry trávicího traktu

Mikroflóra trávicího traktu představuje komplexní, vyvážený mikrobiální, otevřený ekosystém, který prodělává specifické změny v poměrném zastoupení aerobů a anaerobů. Jejich funkce se vzájemně doplňují.

Do okamžiku narození je gastrointestinální trakt plodu prostý mikrobiální flóry. Osídlování mikroorganismy probíhá v prvních dnech po narození orální cestou, kdy je přes dutinu ústní osídlován žaludek a poté střevní část trávicího traktu. Hlavním zdrojem mikroorganismů flóry kožní, ústní a nosní je těsný a pravidelný kontakt s matkou. Při porodu *per vias naturales* dochází také ke kontaktu s mikroflórou vaginální. V kojeneckém období dochází k rychlé kolonizaci trávicího traktu potřebnými mikroorganismy hlavně z mateřského mléka nebo jeho náhražek. Konzumací mléka dochází k nárůstu především bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*, *Bacterioides* a dominanci anaerobů.

Následují dvě zásadní fáze formace mikroflóry intestinální a kolonické:

- a) První je provázena striktním růstem *anaerobních bifidobakterií* ve stolici s jejich 90% predominancí – jedná se tedy o formace kolonické mikroflóry jako první.
- b) Jako druhá se konstituuje mikroflóra intestinální, kde rostou především gramnegativní anaeroby (zejména rod *Bacteroides*), znovu stoupají počty koliformních bakterií, enterokoků a klostridií, zatímco bifidobakterie již stagnují.

(Zbořil, 2005).

Významné rozdíly můžeme pozorovat při formaci definitivní mikroflóry mezi kojenci a příjemci náhražek mateřského mléka. U nekojených dětí se relativně v krátkém čase v prvních měsících po narození vytváří komplex takřka úplného spektra mikroflóry, za celkové dominance *Enterobacteriaceae* a z anaerobů pak bakterioidy. Naproti tomu u kojených dětí dominují ve stolici uniformně anaeroby s 90% převahou bifidobakterií. Tento stav se udržuje až do odstavení od mateřského mléka. V tomto okamžiku se začnou obě skupiny – kojení a nekojení – rychle sblížovat. U odstavených dětí prudce roste výskyt gramnegativních anaerobů (zejména bakterioidů), přibývá koliformních bakterií, enterokoků a klostridií a naopak lehce klesá původně dominantních bifidobakterií. Pozitivní vliv kojení na formaci digestivní mikroflóry je jak strukturální, tak i funkční, což souvisí s obsahem dalších látek v mateřském mléce, jako jsou laktoferin, imunoglobuliny a další (Zbořil, 2005).

Mimořádně důležitý a pozoruhodný je vývoj osídlování kmeny *E.coli* po narození. Novorozenci 3-24 hodin po porodu jsou osídlovány *E. coli*. Osídlování probíhá prostřednictvím matčiných bakterií orálním přenosem. Dokazuje to sérotypizace, biochemická typizace a antibiotická rezistence u vzorků mikroflóry novorozence a matky (Zbořil, 2005).

V časném postnatálním období dochází však současně k vývoji mechanismů, které v několika týdnech po narození umožní stabilizaci imunitních reakcí probíhajících na sliznicích, tj. kontrolovanou stimulaci střevní flórou a zajištění systémové nereaktivnosti na luminální antigeny (Cebra et al., 1999). Mechanismus vedoucí k nereaktivnosti na antigeny přítomné ve střevě a na sliznicích vůbec se nazývá „orální (slizniční) tolerance“. Jeho podstatou je

aktivace regulace T-buněk se supresorovou aktivitou (T-buňky pomocného typu 2 a 3, které produkují inhibiční cytokiny, především transformující růstový faktor beta) nebo delece případně anergie efektorových T-buněk s příslušnou specifikou. Tento inhibiční mechanismus hraje významnou roli v zajištění zdraví jedince, jeho porucha má za následek vývoj nemocí, které mají základ v narušené imunologické reaktivitě. Je pravděpodobné, že velká část alergií, zvláště potravinových, dále celiakie a její kožní forma, ale také nespecifické střevní záněty a některé autoimunitní choroby vznikají jako důsledek nedostatečné indukce nebo poruchy orální tolerance k antigenům vyvolávajícím nemoc (Tlaskalová et al., 1997).

Ve vyšším věku jsou odlišnosti ve složení mikroflóry trávicího traktu závislé především etnicky, geograficky a podle stravovacích návyků. Změny jsou charakterizovány zachováním kvalitativní struktury, mění se pouze kvantitativní zastoupení jednotlivých složek, především anaerobů (Zbořil, 2005).

2.11.2.2 Mikrobiální spektrum fyziologické mikroflóry trávicího traktu

Významnou bariérou v žaludku je kyselé pH a přítomnost pepsinu. Pacienti s achlorhydrií, trpí daleko častěji střevními infekcemi. I když je v žaludku nepříznivé prostředí, jsou zde nalézány občas menší počty relativně acidorezistentních mikrobů, jako jsou laktobacily, enterokoky nebo kandidy. *Helicobacter pylori* není považován za normální mikroflóru, i když se zdá, že přítomnost některých kmenů, byť škodlivá pro žaludek a duodenum, působí protektivně na epitel jícnu.

Ve dvanáctníku se pH mění, objevuje se trypsin a především žlučové soli, které jsou pro nepatogenní mikroby toxické, neboť na ně působí jako detergens. Běžné střevní mikroby jako enterobakterie a enterokoky jsou na žlučové soli zvyklé, a proto se s nimi v nepatrném počtu setkáváme již v duodenu.

Ochrana střevní sliznice je zajišťována mechanismem odlučování epitelíí buněk z hrotu villů do střevního lumen a krypty pohárkových buněk tvoří hlen. Zárodečné buňky krypt jsou chráněny Panethovými buňkami, které kromě lysozymu produkují antibakteriální peptidy z kategorie defensinů – cryptidiny.

Souběžným vlivem žaludeční kyseliny, žlučových solí, odlupováním epitelíí a poměrně rychlé pasáže střevní tekutiny je tenké střevo bakterií relativně prosto. Nelze říci, že je sterilní, ale zvláště jeho proximální část mnoho bakterií neobsahuje.

Naproti tomu obsah tlustého střeva je představován alespoň z poloviny bakteriemi. Jeho obranu zajišťuje rezidentní normální flóra, která je tvořena z 99 % anaerobními mikroby. V 1g stolice je přítomno téměř 10^{12} živých baterií patřících nejméně do 300 druhů. Převládají anaerobní tyčky z rodu *Bifidobacterium* a *Eubacterium*. Z anaerobních koků nalézáme hlavně rod *Peptostreptococcus*. Anaeroby ze skupiny *Bacteroides fragilis* nedosahují velkého počtu, jsou ale nejčastějšími anaeroby izolovaných z hnisavých břišních infekcí. Zbytek normální mikroflóry tlustého střeva představují hlavně *Escherichia coli* a enterokoky, můžeme nalézt i jiné enterobakterie a další mikroby, včetně kvasinek rodu *Candida* (zejména druh *Candida albicans*) a neškodné komenzální prvky, jako jsou *Endolimax nana*, *Trichomonas hominis*, *Entamoeba hartmanii*. Vzhledem k obrovskému počtu anaerobních mikrobů, představuje *Escherichia coli* méně než 1 % z celé mikrobiální populace tlustého střeva.

I ve střevě normální flóra soutěží s patogeny. Ani ne tak o živiny, těch je ve střevním obsahu dostatek, ale především o místo k přichycení na sliznici. Na význam fyziologické mikroflóry ukazuje například vznik kolitidy po vybití části normální flóry antibiotiky. To uvolní prostor k množení oportunních patogenů (pseudomonád, proteů, kvasinek, *Clostridium difficile* aj.), jež jsou jinak ve střevě přítomny v malém množství a regulovány přirozenou nepatogenní mikroflórou (Votava, 2005).

Potenciální patogenita většiny příslušníků střevní mikroflóry se uplatňuje hlavně při proniknutí mimo střevní lumen. Typickým příkladem jsou močové infekce, vyvolané v převážné většině případů střevní flórou (enterobakterie, enterokoky aj.) pronikající ascendentně uretrou. Gramnegativní střevní tyčky (*Enterobacteriaceae*, zejména *E. coli*) se mohou za určitých podmínek usazovat i na tonzilách a posléze vyvolávat nebezpečné bronchopneumonie. Asi nejzávažnější extraintestinální infekcí je peritonitida, ke které dochází buď po

spontánní perforaci střeva, nebo jako komplikace chirurgických zákroků (Julák, 2006).

Význam střevní mikroflóry je pro zdraví nezbytný. Nepříznivé důsledky činnosti střevních bakterií, např. dekarboxylace aminokyselin anaeroby za vzniku toxických aminů, které jsou navíc prekurzory karcinogenních nitrosaminů, nepochybně existují. Převažují však prospěšné až nezbytné aktivity harmonicky vyvážené střevní mikroflóry, označované jako eubakteriόza nebo eubiόza. Rovnováha této mikroflóry je nejčastěji porušována širokospektrými antibiotiky, která navozují stav dismikrobie nebo disbakteriόzy s řadou možných závažných důsledků (průjmy, hypovitaminόza, deplece minerálů apod.). Význam ovlivnění střevní mikroflóry dietou není zcela jednoznačný. Zdá se však, že např. záměna masové diety za rostlinnou významně potlačuje některé anaerobní složky (*Bacteroides*, *Peptococcus*, *Clostridium*) ve prospěch fakultativních anaerobů, laktobacilů a bifidobakterií. Tento posun pravděpodobně ovlivňuje i riziko kolorektálního karcinomu (Julák, 2006).

Snahy ovlivnit střevní mikroflóru ve prospěch „užitečných“ bakterií se tradují už od Mečnikova, který předpokládal jako první benefiční účinky „mléčných“ bakterií v kysaných mléčných produktech. V současnosti je používána a propagována řada tzv. probiotik, tj. produktů obsahujících jednu nebo více živých bakteriálních kultur, jejichž požívání má mít pozitivní účinek na střevní mikroflóru. Probiotika obsahují nejčastěji kultury příslušníků rodů *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, *Streptococcus thermophilus* a další, které jsou podávány ve formě kapslí nebo tablet (Julák, 2006).

Tabulka 2 Profilizace mikroflóry trávicího traktu směrem aborálním (podle Simona, Gorbacha (Zbořil, 2005))

	žaludek	jejunum	ileum	kolon
celkové množství bakterií (ml)	10-10 ³	0-10 ⁵	10 ³ -10 ⁹	10 ¹⁰ -10 ¹²
aeroby nebo fakultativní anaeroby				
koliformní bakterie	0-10 ²	0-10 ³	10 ² -10 ⁷	10 ⁴ -10 ¹⁰
streptokoky aerobní	0-10 ³	0-10 ⁴	10 ² -10 ⁶	10 ⁵ -10 ¹⁰
stafylokoky	0-10 ²	0-10 ³	10 ² -10 ⁵	10 ⁴ -10 ⁹
laktobacily	0-10 ³	0-10 ⁴	10 ² -10 ⁵	10 ⁶ -10 ¹⁰
plísň/kvasinky	0-10 ²	0-10 ²	10 ² -10 ⁴	10 ⁴ -10 ⁶
Anaeroby				
bakteroidy	ojediněle	0-10 ³	10 ³ -10 ⁷	10 ¹⁰ -10 ¹²
bifidobakterie	ojediněle	0-10 ⁴	10 ³ -10 ⁸	10 ⁸ -10 ¹¹
streptokoky anaerobní	ojediněle	0-10 ³	10 ² -10 ⁶	10 ¹⁰ -10 ¹²
klostridie	ojediněle	ojediněle	10 ² -10 ⁴	10 ⁶ -10 ¹¹
eubakterie	ojediněle	ojediněle	ojediněle	10 ⁹ -10 ¹²

2.12 Vyšetřovací metody v lékařské mikrobiologii

2.12.1 Přímý průkaz

Původce infekce spočívá v nálezu mikroba ve vyšetřovaném vzorku. Nálezem mikroba rozumíme, že ho buď přímo vidíme pod mikroskopem (mikroskopický průkaz – nejčastěji používáme Gramovo barvení) nebo ho vypěstujeme (izolace mikroba) na kultivačních půdách (Votava, 2005).

Kultivace bakterií je základním kamenem bakteriologické diagnostiky, proto je nutné k přípravě půd, jejich volbě pro jednotlivý biologický materiál a k jejich očkování přistupovat s náležitou pozorností.

Kultivační půdy slouží k pěstování – kultivaci mikrobů *in vitro*. Aby se mikroby *in vitro* množily, musíme jim zabezpečit řadu podmínek (dostatek vody, živin a zdrojů energie, růstové faktory, optimální teplotu, vhodné složení atmosféry, optimální pH, vhodný osmotický tlak, ochranu před zářením, sterilitu prostředí, tedy nepřítomnost jiných mikroorganismů). Tyto podmínky jsou splněny při pěstování mikrobů na kultivačních půdách inkubovaných ve vhodné atmosféře v biologických termostatech – inkubátorech.

Kultivační půdy se liší podle konzistence, složení a účelu na celou řadu druhů. Podle konzistence se rozeznávají půdy tekuté a pevné, podle složení na přirozené a syntetické, podle účelu na půdy základní, obohacené, diagnostické, selektivní a selektivně diagnostické, dále půdy k antibiotickým zkouškám a ke stanovení účinných látek, půdy k uchování kultur a půdy transportní.

Nejběžnějšími tekutými půdami jsou ty, jejichž základem jsou různé druhy bujónů. Rozvařením agarové řasy v tekutém základu vzniknou půdy pevné neboli agarové.

Přidáním různých obohacovadel (hydrolyzáty bílkovin, krev, sérum, vejce, glukóza apod.) k základům půd vznikají půdy obohacené, nejběžnější z nich je krevní agar. Když přidáme různé chemikálie (např. 10% NaCl) vytváříme půdy selektivní, na nichž vyrůstají jen některé mikroby a ostatní jsou příslušným přídatkem potlačeny.

Půdy diagnostické nám umožní poznat různé, hlavně biochemické vlastnosti mikrobů, a tak tyto mikroby diagnostikovat. Kromě základů obsahují tzv. substrát, na něj zkoumaný mikrob působí a obvykle ještě indikátor změny tohoto substrátu. Nejčastějšími substráty bývají různé druhy sacharidů.

Kombinací diagnostických a selektivních půd vznikají půdy selektivně diagnostické. Příkladem je půda Endova, na níž vyrůstají gramnegativní bakterie (Votava et al., 2010).

2.12.2 Nepřímý průkaz

Nepřímým průkazem rozumíme průkaz infekčního agens podle nálezu stop, které zanechalo v organismu, tzn. podle nálezu protilátek. K diagnóze právě probíhající infekce nestačí pouhý průkaz přítomnosti protilátek. Je třeba

dokázat, že se protilátky během vyšetřovaného onemocnění teprve objevily, případně vzrostlo jejich množství. Mezi metody nepřímého průkazu patří precipitace, aglutinace, aglutinace na nosičích, KFR, neutralizační reakce, ELISA další (Votava, 2005).

2.12.3 Bližší určení izolovaného bakteriálního kmene

Izolovaného mikroba se mikrobiolog pokusí nejprve identifikovat orientačně. Řídí se tím, co vidí, eventuálně co cítí (např. pseudomonády). Důležitou kultivační půdou v mikrobiologii je krevní agar, protože ke vzhledu kolonií na něm je i typická hemolýza, která je charakteristická pro mnoho lékařsky důležitých bakterií.

Dalším kritériem je růst na dalších půdách, selektivních nebo selektivně diagnostických. Například grampozitivní mikroby nevyrostou na Endově půdě, naopak stafylokoky porostou na půdě s 10 % NaCl.

K orientační identifikaci bakterie můžeme využít i rychlé biochemické testy. Jejich principem je vyšetření podezřelé kolonie například otiskem na papírek nasycením vhodným činidlem (důkaz oxidázy apod.)

Dalším orientačním postupem je také zhotovení mikroskopického preparátu z nejasné bakteriální kolonie a jejího obarvení podle Grama. Tím zjistíme tvar bakterie, velikost a uspořádání a barvitelnost podle Grama, což nám pomůže správně zvolit další, přesnější identifikační postupy (Votava, 2005).

Ke konečné identifikaci mikroba se nejčastěji užívá zjišťování biochemických a fyziologických vlastností izolovaného bakteriálního kmene. K tomu je nutné pracovat s čistou bakteriální kulturou. K vyhodnocení výsledku se využívají komerčně vyráběné diagnostické soupravy (Enterotest16, Nefermtest24, Auxacolor, Fungitest a další).

U některých mikrobů výsledky biochemických testů k bližšímu určení nestačí. Například jednotlivé druhy šigel, serotypy salmonel se určují na základě antigenní struktury vyšetřovaného kmene. Pro zjištění antigenní struktury se užívá postup zvaný sklíčková aglutinace. K ní je potřeba mít k dispozici antiséra proti různým antigenům vyšetřovaného mikroba. Aglutinace

na sklíčku se také používá k identifikaci enteropatogenních serotypů *Escherichia coli* (například O55, O111 a jiné), enterohemoragických *Escherichia coli* (O157), citrobakterů, pseudomonád, bordetel, meningokoků a některých dalších bakterií. Beta-hemolytické streptokoky se určují podle latexové aglutinace, kdy protilátky proti skupinově specifickému polysacharidu jsou navázány na povrch latexových částic.

Zásadní průlom v typizaci kmenů představují postupy na molekulární úrovni, především postupy založené na průkazu DNA. Ta se enzymy (restrikční endonukleázy) rozštěpí na mnoho fragmentů, které se následně rozdělí v elektrickém poli. Vzniklý profil DNA je pro každý mikrobiální klon naprosto jedinečný. V praxi se nejvíce uplatnily restrikční endonukleazová analýza plastidové DNA a restrikční endonukleazová analýzy chromozomální DNA (Votava, 2005).

2.12.4 Nejčastější mikroorganismy izolované u sledovaných pacientů

2.12.4.1 Alfa-hemolytické streptokoky

Mezi tzv. ústní (orální) nebo také viridující streptokoky se řadí většinou alfa-hemolytické druhy. Alfa hemolýza se projevuje jako zelenavé nebo zelenošedé zbarvení kolem kolonií a je způsobena pouze částečným rozkladem hemoglobinu na methemoglobin. Dělíme je do několika skupin.

Skupina mitis: Obsahuje hlavně *Streptococcus mitis* a *Streptococcus orali*, nově i *Streptococcus sanguinis* a *Streptococcus gordonii*. Všechny jsou hlavními původci subakutní bakteriální endokarditidy.

Skupina mutans: V této skupině to jsou *Streptococcus mutans* a *Streptococcus sobrinus*. Nalézají se většinou na povrchu zubů a patří mezi hlavní původce zubního kazu.

Skupina salivarius: Sem patří především *Streptococcus salivarius*, který se nalézá hlavně ve slinách a povrchu jazyka.

Všechny tyto streptokoky patří mezi oportunní patogeny a vyvolávají onemocnění jen u disponovaných jedinců. U pacientů, kteří jsou podrobeni cytostatické léčbě, která u nich sníží počet neutrofilů, vyvolává prolongovanou

bakteriémii. Naopak jako součást normální flóry brání orální streptokoky sliznici dutiny ústní a nosohltanu před uplatněním patogenních druhů jako jsou *Streptococcus pyogenes* nebo *Streptococcus pneumoniae* (Votava et al., 2010).

2.12.4.2 *Neisserie*

Neisserie jsou gramnegativní diplokoky. Ústní neisserie mají nízkou patogenitu a jsou jednou z hlavních složek fyziologické mikroflóry. Jen občas mohou způsobovat infekce. Na kultivaci jsou méně náročné, vyhovuje jim běžný krevní agar. Většina druhů a kmenů produkuje žlutavé pigmenty. Rostou při 37°C, ale i při pokojové teplotě. Jsou biochemicky aktivní a dají se biochemicky rozlišovat.

Jsou důležitou složkou ekosystému v ústní dutině. To se týká hlavně druhů *Neisseria sicca*, *Neisseria subflava* a *Neisseria lactamica*. Spolu s ostatními bakteriemi ve faryngu a ústní dutině se podílejí na složení zubního a dásňového biofilmu. Patogenita je u nich vzácná a týká se většinou oslabených osob (Votava et al., 2010). V naší mikrobiologické laboratoři nazýváme nepatogenní neisserie jako *Neisseria species* (*Neisseria sp.*).

2.12.4.3 *Haemophilus parainfluenzae*

Hemofily jsou gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky, které vyžadují růstové faktory přítomné v krvi, a proto rostou jen na obohacených půdách. Patří mezi příslušníky normální mikroflóry nosohltanu a dutiny ústní a jeho patogenita je omezená. Příležitostně může vyvolat sinusitidu, bakteriémii, endokarditidu nebo uretritidu (Votava et al., 2010).

2.12.4.4 *Candida albicans*

Kvasinky rodu *Candida* jsou nejčastějšími původci mykotických onemocnění u člověka. S rozvojem moderní medicíny, který s sebou nese rostoucí počet imunokompromitovaných osob, stále častější zavádění implantátů a hojné používání antibiotik, se závažné mykózy způsobené těmito houbami vyskytují stále častěji. Na etiologii těchto infekcí se kromě *Candida albicans*, která je původcem více než poloviny těchto infekcí, podílejí i další

druhy kandid, jako jsou *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* a *Candida krusei*.

Candida albicans je nejčastější izolovaná kvasinka z klinického materiálu a patří mezi typický oportunní patogen. Je častý původce vaginálních mykóz a velmi často způsobuje infekce v dutině ústní zvláště u onkologických pacientů, u pacientů s poruchou obranyschopnosti, hormonálními poruchami (diabetes mellitus) a u pacientů, kteří dostávají především širokospektrá antibiotika. Vlivem antibiotik dojde k narušení a potlačení bakteriální mikroflóry a dochází k přemnožení kvasinek a k rozvoji onemocnění (Votava et al., 2010).

2.12.4.5 *Escherichia coli*

Je to asi nejznámější bakterie vůbec a nejvýznamnější potenciálně patogenní enterobakterie. Morfologicky se nijak neodlišuje od ostatních enterobakterií, je pohyblivá a dobře kultivovatelná na široké škále půd. Její antigenní struktura odpovídá OHK-systému, ale pouze O-antigeny se rutinně používají v diagnostice.

Escherichia coli je běžnou součástí střevní mikroflóry zdravých lidí. Znemožňuje průnik patogenů a podílí se na tvorbě některých vitamínů, především vitamínu K. Jde ale o podmíněně patogenního mikroba, který se může projevit ve střevě i mimo ně.

Ve střevě jde o kmeny několika skupin, které skoro všechny způsobují nějaký druh průjmů (Votava et al., 2010). U některých pacientů s kolorektálním karcinomem byl prokázán výskyt EIEC (enteroinvazivní *E. coli*) (Jablonská et al., 2000).

2.12.4.6 *Citrobacter freundii*

Citrobaktery jsou považovány za fyziologické obyvatele střevního systému, jsou podmíněnými patogeny ve střevě, ale mohou způsobovat i močové infekce a jsou i původci nozokomiálních nákaz (Votava et al., 2010).

2.13 Kolorektální karcinom

Kolorektální karcinom je maligní nádor celosvětového významu a představuje jeden z nezávažnějších problémů veřejného zdravotnictví. Je nejčastějším zhoubným nádorem gastrointestinálního traktu, karcinom rektu je pak nejčastější lokalizací zhoubného bujení na tlustém střevě a rektu. Incidence kolorektálního karcinomu a s ním spojená úmrtnost v České republice patří mezi nejvyšší na světě (Vysloužil, 2005).

2.13.1 Patologie kolorektálního karcinomu

Naprostá většina kolorektálních karcinomů vzniká maligním zvratem adenomu. Pouze malá část karcinomů vychází z dysplastických změn sliznice tlustého střeva, které se pravidelně vyskytují u ulcerózní kolitidy nebo Cronovy nemoci. Adenom tlustého střeva je proto pokládán za prekancerózní lézi (Harpaz, 1996).

2.13.1.1 Vývoj kolorektálního karcinomu

V současné době se předpokládá, že vývoj karcinomu tlustého střeva probíhá v následujících fázích: normální epitel - „field defect“ ložisko dysplastických aberantních krypt – adenom s nízkým rizikem maligního zvratu – adenom s vysokým rizikem maligního zvratu – maligní zvrát adenomu (adenokarcinom v adenomu) – adenokarcinom – metastazující adenokarcinom.

2.13.1.2 Polypy a syndromy polypózy střeva

Polyp je každý útvar, který prominuje nad slizniční povrch. Polypy vycházejí ze sliznice nebo z hlubších vrstev střevní stěny a mohou mít nádorový nebo nenádorový původ. Jejich rozlišení umožňuje pouze histologické vyšetření.

a) Nádorové, hamartogenní a hyperplastické polypy

Klasifikace nádorových, hamartogenních a hyperplastických polypů tlustého střeva vychází z histologického nálezu, doplněného molekulární genetikou. Polypy se mohou vyskytovat sporadicky nebo mnohočetně.

Přítomnost velkého množství polypů se nazývá polypóza nebo také syndrom střevní polypózy.

Benigní nádorové polypy se nazývají adenomy. Vznikají v důsledku dysplastické proliferace epitelu a od normální sliznice se liší tím, že mají jinou strukturu a cytologické vlastnosti. Podle struktury se rozlišují adenomy tubulární, které jsou nejčastější, pak adenomy vilózní a smíšené tubulovilózní.

Význam adenomů spočívá v možnosti jejich maligního zvratu. Riziko maligního zvratu ovlivňují velikost adenomu, struktura a stupeň dysplazie. Zvláštním typem je plochý adenom, který tvoří 7,8-41 % všech adenomů tlustého střeva. Vyznačuje se těžkým stupněm dysplazie a často malignizuje (Jablonská at al., 2000).

b) Familiární adenomatózní polypóza (FAP)

U FAP se v tlustém střevě nachází více než 100, ale obvykle nepočitatelné množství, různě velkých adenomů, jejichž velikost kolísá od mikroskopických rozměrů do několika centimetrů. Bez profylaktické kolektomie dochází u těchto nemocných ve věku kolem 40-50 let k rozvoji karcinomu tlustého střeva. Ve všech případech je možno prokázat vrozenou mutaci APC genu. Kromě polypů se u FAP běžně vyskytují i ploché adenomy.

Adenomy vznikají také v tenkém střevě, nebezpečí jejich maligního zvratu je poměrně však nízké.

Mutace APC genu se neuplatňuje pouze v zažívacím traktu, ale i v jiných lokalizacích. Klasickým příkladem je Gardnerův syndrom, u něhož je polypóza střeva sdružena s benigními nádory kůže, kostí a měkkých tkání (Jablonská et al., 2000).

c) Juvenilní polypy a juvenilní polypóza

Sporadické juvenilní polypy jsou nejčastějším typem polypů u dětí a mladistvých, příležitostně může vznikat i u dospělých. Obvykle jsou lokalizovány v rektu a projevují se krvácením.

Juvenilní polypóza dětského věku je velmi vzácná a prognosticky nepříznivá. V tlustém střevě se nachází velký počet typických juvenilních polypů. Při těžkých formách umírají pacienti v časném věku.

Množství polypů u juvenilní polypózy kolísá mezi 50-200 a je tedy ve srovnání s FAP podstatně nižší.

Z molekulárně genetických studií vyplývá, že se u solárního juvenilního polypu a juvenilní polypózy neuplatňuje mutace APC genu, ale defekt supresorového genu mapující 10q22. Fluorescenční hybridizací *in situ* se podařilo zachytit buňky s mutací genu pouze ve stromatu, nikoliv v epitelu polypů (Jablonská, 2000).

d) *Peutzův-Jeghersův syndrom*

Jedná se o dědičné autozomálně dominantní onemocnění, pravděpodobně vázané na chromozom 19. Polypy se mohou vyskytovat v celém zažívacím traktu, ale nejčastěji postihují tenké střevo. Byly popsány také v nazofaryngu a v močových cestách (Jablonská et al., 2000).

e) *Hyperplastické (metaplastické) polypy a polypóza*

Jde o nejčastější polypy u dospělých. Často bývají mnohočetné a seskupené kolem karcinomu rekta. Vykazují podobné histochemické reakce jako adenomy a karcinomy tlustého střeva, ale jejich patogeneze a význam zůstávají nejasné. Téměř v polovině hyperplastických polypů lze prokázat delecii k-ras, ale nikoliv mutaci APC genu nebo p53. Riziko maligního zvratu u hyperplastické (metaplastické) polypózy souvisí s přítomností smíšených polypů, jejichž průměr obvykle přesahuje 1 cm (Jablonská et al., 2000).

f) *Lymfoidní polypóza a další syndromy*

Nejčastěji se vyskytuje v rektu u dětí a endoskopicky nápadně připomíná syndromy polypózy, zvláště FAP. Vznik je pravděpodobně v důsledku přehnané imunitní reakce na virové infekce, může se objevit i při imunodeficienci (Shepherd, 1997).

2.13.1.3 *Maligní zvrát adenomu*

Při maligním zvratu stopkatého adenomu dochází nejprve k růstu karcinomu přes bazální membránu žláz do přilehlého stromatu, případně do *muscularis mucosae*. V této fázi růstu je označován jako intramukózní nebo

neinvazivní karcinom. Protože sliznice tlustého střeva a rovněž stroma adenomu neobsahují lymfatické cévy, nemůže intramukózní karcinom metastazovat (Cooper et al., 1998).

K prorůstání nádoru do lymfatických cév dochází v submukóze. Nádorová infiltrace lymfatických kapilár je prognosticky závažná zvláště u nízké diferencovaných karcinomů.

Venózní invaze je definována jako přítomnost nádorových embolů v drobných žilách. Její prognostický význam je podobný jako při prorůstání nádoru do lymfatických cév.

Ke stanovení stagingu malignizovaného polypózního adenomu se užívá Haggitův systém, který rozlišuje 4 stadia nádorové invaze. Karcinomy I.–III. stadia bez invaze do lymfatických cév nebo žil mohou být úspěšně léčeny pouhou polypektomií. Karcinomy IV. stadia není možno odstranit endoskopicky (Haggit et al., 1985).

2.13.1.4 *Kolorektální karcinom*

Přibližně 98 % všech karcinomů tlustého střeva jsou adenokarcinomy. Karcinom bývá nejčastěji lokalizován v oblasti rektosigmoidea, ale v posledních letech se pozoruje určitý nárůst incidence adenokarcinomu vzestupného tračníku. Nejčastěji se vyskytuje solitárně, synchronní nebo asynchronní výskyt nádoru tlustého střeva je u nedědičných forem vzácný.

Ačkoliv naprostá většina karcinomů vzniká maligní transformací polypózního adenomu, bývá jejich další růst, ovlivňující makroskopický vzhled nádoru, rozdílný. Karcinomy vycházející z pravého tračníku mají tendenci k polypóznímu růstu, karcinomy levého tračníku rostou cirkulárně ve stěně střeva. Histologicky se pravostranné a levostranné karcinomy tlustého střeva neliší (Cotran et al., 1995).

Nejdůležitějším prognostickým faktorem při hodnocení kolorektálního karcinomu je hloubka nádorové invaze v době diagnózy, vyjádřená jako T 1–4 klasifikace O stadiu (stage) onemocnění rozhoduje ještě hodnocení infiltrace uzlin N 0-2 a přítomnost vzdálených metastáz M 0-1. K jeho posouzení se stále používá Dukesova klasifikace, jejíž původní verze byla v roce 1954

modifikována Astlerem a Collerem. Klasifikace vychází z histologického vyšetření karcinomu v resekovaném střevě (Astler a Coller, 1954).

2.13.1.5 *Anální karcinom*

Anální karcinom může vycházet z análního kanálu nebo ze zevního análního okraje. Makroskopicky se anální karcinom neliší od kolorektálního karcinomu, mikroskopicky odpovídá dlaždicobuněčnému karcinomu s různým stupněm vyzrávání (Williams a Tablot, 1995).

2.13.1.6 *Karcinoid*

Karcinoidy vycházejí z neuroendokrinních buněk zažívacího traktu a vyznačují se potenciální malignitou. O jejich biologickém chování rozhoduje hloubka invazivního růstu ve stěně střeva nebo žaludku, lokalizace a velikost.

Karcinoidy mohou produkovat různé bioaktivní látky. Serotonin, produkovaný nádorovými buňkami, je uvolňován do portálního oběhu a metabolizován v játrech. Vyjádření karcinoidového syndromu je nepravidelné obvykle je projevem pokročilého procesu (Cotran et al., 1994).

2.13.2 Účast bakterií mikroflóry při vzniku kolorektálního karcinomu

Epitelové buňky střeva jsou ve stálém kontaktu s obsahem střevního lumen a tím i s bakteriální mikroflórou. Vývoj kolorektálního karcinomu je několikastupňový proces, který zahrnuje jak zvýšenou proliferaci, tak vznik somatických mutací v epitelu. Rozhodujícím faktorem při vzniku karcinomu je právě rychlá proliferace epitelových buněk. Epitelové buňky tenkého a tlustého střeva patří k nejrychleji se dělícím buňkám těla. Již delší dobu je známo, že bakteriální flóra ovlivňuje vznik kolorektálního karcinomu. Karcinom postihuje s velkou převahou tlusté střevo – tím vzniká hypotéza, že rozdíl ve výskytu nádorů je dán tím, že tenké střevo má jen minimální osídlení mikroflórou. Rozdíl mezi počtem bakterií v ileu a tlustém střevě je v oblasti 6 řádů.

Hlavními poškozujícími mechanismy, kterými mikroflóra napomáhá vývoji karcinomu, jsou dekonjugace žlučových kyselin a tvorba sekundárních žlučových kyselin, aktivace prokarcinogenů, fermentace vedoucí k tvorbě

butyrátu a ostatních mastných kyselin s krátkými řetězci, tvorba diacylglycerolu, syntéza pentanů a adsorpce hydrofobních molekul (Jablonská et al., 2000).

2.13.2.1 *Dekonjugace žlučových kyselin*

Je známo, že 2-5 % žlučových kyselin není v tenkém střevě absorbováno a dostává se do tlustého střeva. Bakterie přítomné v tlustém střevě jsou schopné nekonjugovat taurinové a glycinové deriváty žlučových kyselin, některé z těchto bakterií tyto deriváty odštěpují. Některé odštěpují 7-alfa-hydroxylovou skupinu a tvoří tak sekundární žlučové kyseliny. Z cholátu tak vzniká deoxycholát a z chenodeoxycholátu lithocholát. Je známo, že právě žlučové kyseliny a jejich deriváty podporují vznik karcinomu (Christl et al., 1997).

Sekrece žluči je stimulována obsahem tuků ve stravě. Bylo zjištěno, že populace s vysokým rizikem kolorektálního karcinomu mají vysokou koncentraci žlučových kyselin ve stolici. Důležitější se však zdá být koncentrace žlučových kyselin volných, které jsou přítomné ve vodní fázi stolice. Právě tyto kyseliny jsou totiž v přímém kontaktu s epitelovými buňkami tračníku, na které tak mohou působit. Molekulární mechanismus působení sekundárních žlučových kyselin na epitelové buňky tlustého střeva je neustále zkoumán. Zdá se, že přímý cytotoxický efekt není tak výrazný a že hlavní efekt žlučových kyselin na epitel je mediován přímou nebo nepřímou aktivací proteinkinázy C epitelových buněk (Robertson, 1993).

2.13.2.2 *Aktivace prokarcinogenů*

Bakteriální flóra obsahuje mnoho enzymů, které hrají roli při aktivaci prokarcinogenů. Jsou to nitroreduktáza, azoreduktáza, různé glykosidázy, betaglukoronidáza. První dva enzymy redukují aromatické nitro- a azo- složky na aromatické aminy a mnohé jak z intermediárních tak konečných produktů jsou mutagenní a karcinogenní látky. Některé bakteriální glykosidázy hydrolyzují glykosidy rostlinného původu a uvolňují mutagenní aglykon. Další reakcí, kterou realizují mnohé bakterie střevní mikroflóry, je hydrolyza konjugátů glukoronidů přítomných ve žluči. Tuto reakci katalyzuje enzym betaglukoronidáza. Mnohé z glukoronidových konjugátů se objevují ve žluči

a bakterie z těchto inaktivních glukoronidových preparátů uvolňují karcinogeny v aktivní formě (Jablonská et al., 2000).

2.13.2.3 *Fermentace bakterií*

Hlavní metabolickou funkcí bakterií v tlustém střevě je degradace a fermentace potenciálních zdrojů energie. Jako substráty slouží polysacharidy z rostlinných buněčných stěn, škrobů, lipidů, proteinů a glykoproteidů. Produkty těchto reakcí jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které vykazují různé účinky na epitelové buňky. Jedním z hlavních produktů je butyrát, hlavní zdroj energie pro kolonocyty a prekurzor syntézy lipidů sliznice. Butyrát snižuje *in vitro* proliferační aktivitu epitelových buněk karcinomových linií a naopak *in vivo* stimuluje proliferaci epitelových krypt. Produkce butyrátu je největší proximální části tlustého střeva, směrem distálním jeho produkce klesá. Ukázalo se, že butyrát a další mastné kyseliny s krátkým řetězcem indukují v buňkách karcinomových linií apoptózu (Hauge et al., 1995).

2.13.2.4 *Tvorba diacylglycerolu*

Bakterie jsou schopné produkovat z fosfolipidů diacylglycerol, který zvyšuje premaligní proliferaci kolonocytů. Kromě toho diacylglycerol stimuluje respirační vzplanutí v neutrofilech, což vede k produkci superoxidových radikálů. Volné radikály produkované některými složkami mikroflóry jsou odpovědné za vznik mutagenů a genotoxicity (Jablonská et al., 2000).

2.13.2.5 *Pentany*

Stolice obsahuje poměrně velké množství pentanů, které mají silné mutagenní účinky. Jsou syntetizovány z fosfolipidových prekurzorů bakterií rodu *Bacteroides*. Jejich produkce je stimulována žlučovými kyselinami, ale přesný mechanismus působení a podílu na vzniku karcinomu není přesně znám.

2.13.2.6 *Fyzikální vlastnosti bakterií*

Vnější membrána bakterií obsahuje velké množství hydrofobních látek. Mezi ně řadíme lipid A, který je v zevní části buněčné stěny, fosfolipid, který tvoří vnitřní vrstvu stěny, lipoproteid, který přemostňuje buněčnou stěnu a vnější

membránu. Všechny tyto látky bakteriálního původu jsou schopné adsorbovat na sebe různé látky a tím zabránit jejich přímému kontaktu s epitelovými buňkami (Jablonská et al., 2000).

2.13.2.7 *Přítomnost bakterií ve střevní sliznici u lidí s kolorektálním karcinomem*

Kolorektální karcinom jako jedno z nejčastěji se vyskytujících nádorových onemocnění se vyvíjí v komplexním a nedostatečně definovaném bakteriálním prostředí tlustého střeva. Využitím metod molekulární biologie (PCR) byly prokázány v maligně transformovaném bioptickém vzorku bakterie. V bioptických vzorcích zdravých jedinců nebyly bakterie nalezeny. Velká většina bakterií kolonizujících sliznice pacientů s karcinomy nebo adenomy byla identifikována jako *Escherichia coli* projektivním gentamycinovým testem. Imunofluorescencí bylo zjištěno, že nejde o pouhou adhezenci bakterií na epitel. Byla potvrzena intracelulární lokalizace těchto bakterií v epitelových buňkách sliznice. Buď jde o poruchu slizniční imunity, která vede k invazi bakterií do sliznice nebo jde o expresi neobvyklých povrchových molekul umožňující adhezenci bakterií na epitel. Adherence je pak následována proniknutím mikrobů do buněk. Některé analýzy ukazují, že jde pravděpodobně o enteroinvazivní *E. coli* (EIEC). Nejdůležitější je ale otázka, zda kolonizace střevní sliznice *E.coli* je jevem primárním nebo sekundárním, který doprovází vývoj maligních změn sliznice (Jablonská et al., 2000).

2.14 Karcinom prsu

Karcinom prsu představuje jeden z největších zdravotních problémů současnosti. Jde o nejčastější zhoubné nádorové onemocnění žen a jeho výskyt stále stoupá. Nejdůležitějším faktorem, který rozhoduje o léčbě nemoci, je včasné rozpoznání karcinomu ještě v době, kdy tumor není hmatný.

Etiologie karcinomu prsu není doposud zcela jasná. Karcinom prsu patří mezi hormonálně dependentní nádory a velký význam se kancerogennímu účinku přisuzuje především estrogenům, které mají velký podíl na vzniku

karcinomu prsu. Stimulují expresi receptorů, aktivní proteolytické enzymy a zvyšují proliferační aktivitu.

Odhaduje se, že 10–15 % karcinomů prsu má genetický podklad, z nich asi třetina je vázána na přítomnost mutací genů BRCA1, BRCA2 a p53. Mezi nepříznivé prognostické faktory patří nadprodukce genu Her-2/neu.

Nejčastějšími zhoubnými nádory prsu jsou epiteliální nádory – karcinomy. Mezenchymální nádory jsou vzácné (např. sarkomy). Karcinom prsu nejčastěji vzniká z terminálních lalůček prsní žlázy a u jejich vývodů, a je většinou lokalizován v horním zevním kvadrantu prsu. Vznik karcinomu zpravidla předchází atypická duktální nebo lobulární hyperplazie, ze které se v první fázi vyvinou neinvazivní formy karcinomu, označované jako karcinom *in situ* (Hladíková et al., 2009).

2.14.1 Karcinomy *in situ*

Definice *in situ* karcinomů (preinvazivních) je založena na průkazu intaktní bazální membrány. Nádorové buňky prolifерují uvnitř dilatovaného ductu nebo acinu nepronikající přes bazální membránu. Její neporušenost lze nejlépe prokázat imunohistochemickým vyšetřením pomocí protilátek proti antigenům bazální membrány.

Podle posledních teorií je původ karcinomu prsu v buňkách duktolobulární jednotky. Rozlišují se dvě základní varianty *in situ* karcinomů prsu: duktální a lobulární. Mezi duktálními (DCIS) a lobulárními (LCIS) preinvazivními karcinomy je zásadní rozdíl v jejich biologickém chování. LCIS je považován za marker vysokého rizika vývoje invazivního karcinomu, zatímco DCIS za jeho jednoznačný prekursor.

Vzájemné rozlišení LCIS od DCIS je v některých případech obtížné. V takových případech se používá pro jejich rozlišení detekce transmembránového proteinu E-kadherinu pomocí imunohistochemie. E-kadherin je exprimován buňkami duktálních karcinomů, zatímco u lobulárních karcinomů chybí. Buňky duktálního karcinomu mohou progredovat do lobulů, tento jev se nazývá kancerizace lobulů, nebo naopak buňky lobulárního

karcinomu se mohou šířit do ductů. Z klinického hlediska je významnější DCIS (Pavlišta et al., 2008).

2.14.1.1 *Duktální karcinom in situ (DCIS)*

Vzniká proliferací transformovaných epitelových buněk ductálního systému. Na mammografii může vytvářet obraz mikrokalcifikací. Vyskytuje se v různých histologických formách. Málo diferencovaná forma s četnými mitózami často přechází v infiltrativní formu ductálního karcinomu *in situ*. Diferencované formy mohou být jak papilární, tak solidní. Zvláštní formou ductálního karcinomu *in situ* je Pagetův karcinom bradavky. Vyskytuje se asi ve 2 % a vzniká z epitelu v ústí hlavního vývodu a šíří se intraepidermálně v oblasti areoly a v okolí kůže. Může imitovat ekzematizaci uvedené oblasti (Hladíková et al., 2009).

O rizikových faktorech samotného DCIS je známo velmi málo. K rizikovým faktorům řadíme především pozitivní rodinnou anamnézu, genetickou zátěž, karcinom prsu v osobní anamnéze, biopsii prsu v anamnéze, nález atypické ductální hyperplazie v biopsii, nepříznivé reprodukční vzorce hormonální pozadí., exogenní přívod sexuálních hormonů a vysoký body mass index (Pavlišta et al., 2008).

2.14.1.2 *Lobulární karcinom in situ (LCIS)*

Vychází z epitelových buněk mamárních lobulů. Je charakterizován proliferací uniformních malých buněk v četných lalůčcích působících jejich dilataci. Mamograficky není detekovatelný. Má schopnost infiltračního růstu a metastazuje relativně velmi časně. Asi ve 40 % postihuje již v době diagnózy regionální lymfatické uzliny. Asi v 8 % jsou současně prokázány další vzdálené metastázy. Kolem 50 % těchto nádorů je lokalizováno v zevních horních kvadrantech. Centrální část prsu je postižena ve 20 % a ostatní kvadranty jsou postiženy asi v 10 % případů (Hladíková et al., 2009).

2.14.2 Invazivní formy karcinomu

- a) Mikroinvazivní karcinom je definován jako nádor, který proniká bazální membránou nejvýše do vzdálenosti 2 mm. Je typicky tvořený

komponentou high grade DCIS, méně často se ložiska mikroinvaze pojí s LCIS.

- b) Infiltrující lobulární karcinom se vyskytuje asi v 10 % všech nádorů prsu. Často metastazuje na serózní membrány, meningy a ovaria.
- c) Invazivní (infiltrující) duktální karcinom je nejčastějším typem karcinomu prsu. Je doprovázen reaktivní fibrózou, která je odpovědná za téměř kamennou ztuhlost nádorového útvaru při palpaci. Metastazuje do kostí, jater a plic. Nádory s hvězdicovým uspořádáním a s centrální nekrózou mají zpravidla špatnou prognózu.
- d) Inflammatorní (erysipeloidní) karcinom je nejagresivnější formou karcinomu prsu, s difúzním erytémem, edémem, indurací kůže, která má charakteristický vzhled pomerančové kůry. Vyznačuje se rychlým růstem, plošnou infiltrací prsu se zhuštěnou a zarudlou kůží, neohraničením a častým metastazováním. Metastatické postižení uzlin se vyskytuje ve více než 90 % případů. Téměř u poloviny nemocných se vyvine i ve druhém prsu. Histologicky jde o velmi špatně diferencovaný duktální karcinom s nedobrou prognózou.

(Havlíková et al., 2009).

3 Experimentální část

V období od začátku ledna 2011 do konce ledna 2012 jsme ve spolupráci s Onkologickým oddělením Oblastní nemocnice Náchod a.s. vyšetřovali u 30-ti pacientů, kterým bylo nově diagnostikováno onkologické onemocnění, složení mikroflóry v konečniku a v dutině ústní. Zaměřili jsme se na dvě onkologické diagnózy, na karcinom prsu a kolorektální karcinom. Výtěry z dutiny ústní a rekta byly prováděny před zahájením chemoterapie, v průběhu chemoterapie a po skončení chemoterapie. Výtěry v průběhu chemoterapie se prováděly po 3. cyklu onkologické léčby, což bylo po 3 týdnech u karcinomu prsu a po 6 nebo 9 týdnech u kolorektálního karcinomu. Provedení výtěrů po skončení chemoterapie bylo časově různé, záleželo na celkovém stavu pacienta a snášenlivosti chemoterapeutické léčby, většinou se jednalo o 3–6 měsíců.

U pacientů s kolorektálním karcinomem byla aplikovaná kombinace chemoterapeutik FU/FA (5-fluorouracil a Leukovorin) nebo FOLFOX (Oxaliplatin + 5-fluorouracil + Leukovorin), u pacientů s karcinomem prsu AC (Doxorubicin + Cyklofosfamid) nebo AC/T (Doxorubicin + Cyklofosfamid/Paclitaxel). Tato léčba je podávána u naprosté většiny nemocných.

3.1 Mikrobiologická diagnostika

Laboratoř lékařské mikrobiologie slouží jako diagnostické pracoviště, které zajišťuje mikrobiologické vyšetření zaslaného vzorku. Účelem vyšetření je zjistit, který mikrob je příčinou sledované choroby, tedy prokázat etiologickou agens. Zpracování vzorků bylo provedeno dle postupu správné laboratorní praxe.

3.1.1 Laboratorní zpracování výtěrů z konečniku

U zpracování výtěrů z konečniku je základní vyšetřovací metodou kultivace. Mikroskopický preparát se běžně neprovádí. Výtěr se naočkuje na 2-3 selektivně diagnostické pevné pudy (Endův agar a DC agar) a ponoří do jedné selektivní pudy tekuté. Jako selektivně pomnožovací medium se nejčastěji

používá selenitová půda, v níž se velmi dobře pomnožují salmonely. Kultivuje se 24-48 hodin při 37 °C. Po 24 hodinách kultivace se tekutá půda vyočkuje na 1-2 selektivně diagnostické pevné půdy (opět Endův agar a DC agar). Je-li výtěr správně proveden a zaslán do laboratoře, tj. jako výtěr v transportní půdě, kultivuje se ještě 48 hodin mikroaerofilně na kampylobaktery. V naší laboratoři používáme pro kultivaci kampylobakterů Karmali agar. Vzhledem k tomu, že jsem u sledovaných pacientů vyšetřovala i přítomnost kvasinek, výtěry se očkovaly ještě na kultivační půdu určenou pro kvasinky – Sabouraudův agar.

Vykultivované kolonie se identifikují na základě jejich biochemických vlastností. Příslušníci normální mikroflóry se druhově identifikují jen výjimečně. Salmonely, šigely a některé kmeny *Escherichia coli* se dále určují serotypizací (Votava, 2005).

3.1.2 Laboratorní zpracování výtěrů z dutiny ústní

Výtěry z dutiny ústní se zasílají do laboratoře zásadně v transportní půdě. Mikroskopický preparát se běžně neprovádí, základem je vyšetření kultivační. Kultivace se provádí na krevním agaru se stafylokokovou čárou v prostředí CO₂. Na Petriho misku se přidá disk s vankomycinem a kolistinem k záchytu meningokoků a na stafylokokovou čáru disk s bacitracinem k záchytu hemofilů. K lepšímu záchytu hemofilů lze přidat i čokoládový agar. Petriho misky s krevním agarem se nechávají kultivovat nejprve 24 hodin při 37 °C a po prohlédnutí bakteriálních kolonií lékařem mikrobiologem se kultivace prodlužuje o dalších 24 hodin, což zvýší záchyt hemofilů a beta – hemolytických streptokoků (Votava, 2005). Výtěry u sledovaných pacientů se očkovaly také na Sabouraudův agar pro záchyt kvasinek.

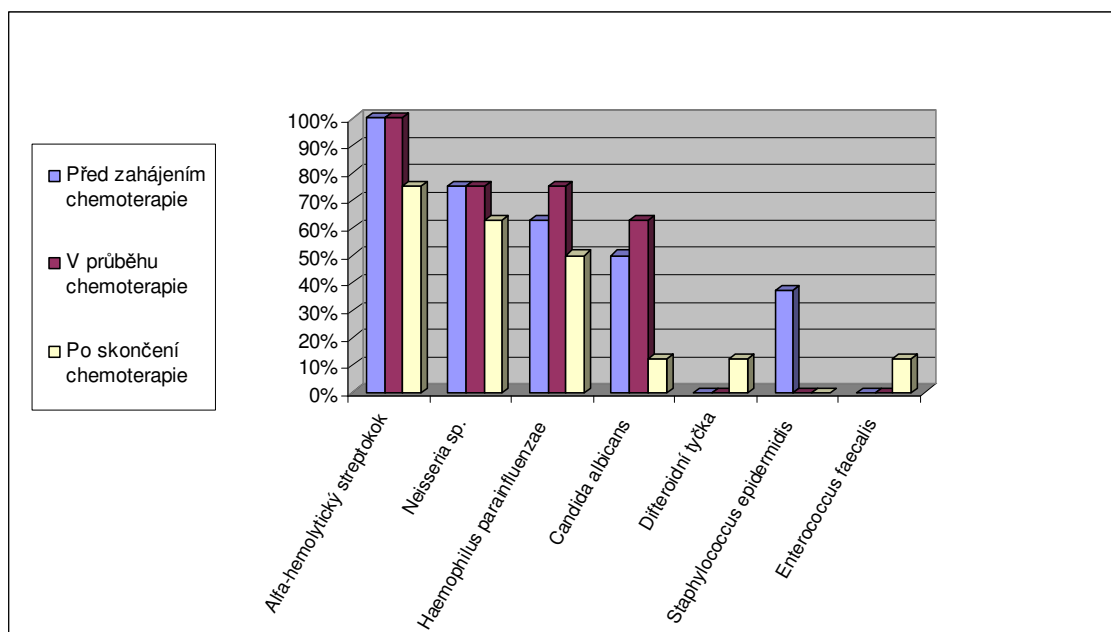
4 Výsledky

V období od začátku ledna 2011 do konce ledna 2012 bylo 30-ti pacientům v mikrobiologické laboratoři Oblastní nemocnice Náchod, a. s., provedeno opakované kultivační vyšetření výtěrů z dutiny ústní a z konečníku (viz kap. 3) u pacientů s nově diagnostickým kolorektálním karcinomem nebo karcinomem prsu. S diagnózou kolorektální karcinom bylo vyšetřeno 15 pacientů, s diagnózou karcinom prsu bylo vyšetřeno také 15 pacientů. Na konci šetření dva pacienti zemřeli. Na celkové výsledky to vliv nemělo, jejich úmrtí bylo až po skončení chemoterapie.

Tabulka 3 Počet pacientů léčených jednotlivými preparáty

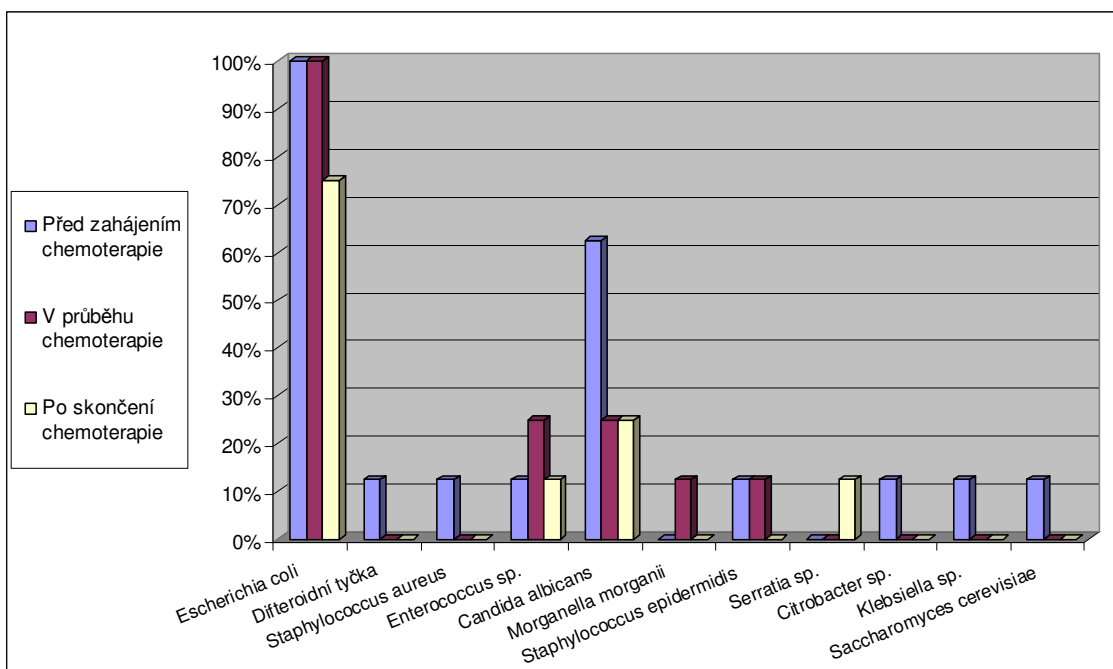
Léčba	Kolorektální karcinom	Karcinom prsu
Folfox	8	
FU/FA	7	
AC		5
AC/T		10

4.1 Změny mikroflóry v dutině ústní a v konečníku u pacientů s kolorektálním karcinomem



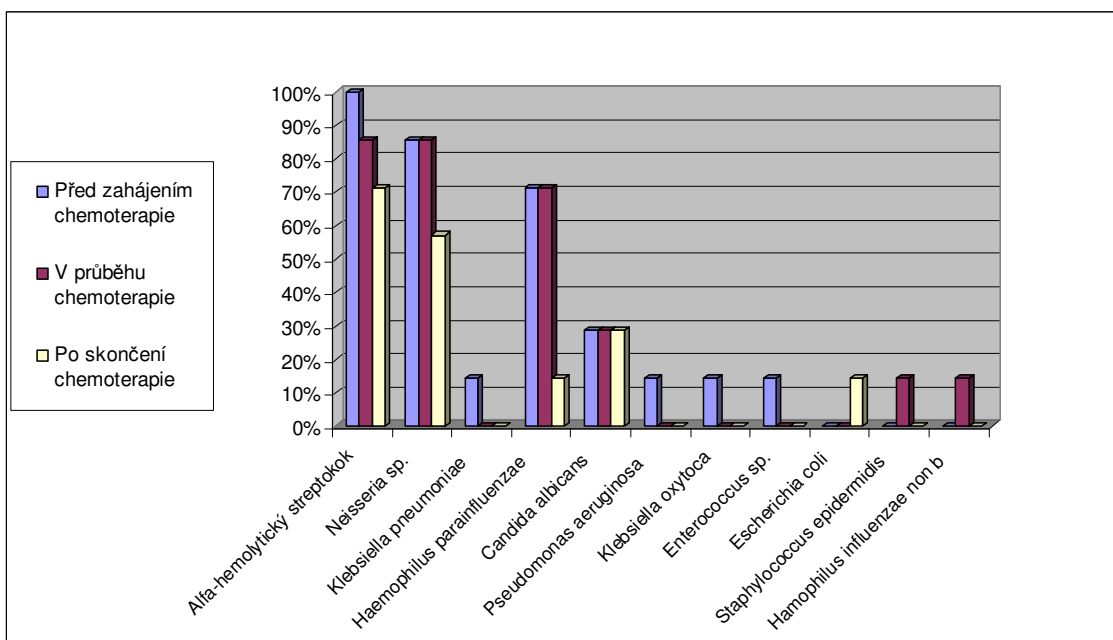
Graf 1 Výskyt mikroorganismů ve výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených FOLFOXEM

Z grafu 1 je patrné, že zastoupení *alfa-hemolytického streptokoka* a *Neisseria sp.* vlivem chemoterapie klesá, naopak výskyt *H. parainfluenzae* a *C. albicans* je nejvyšší v průběhu chemoterapie.



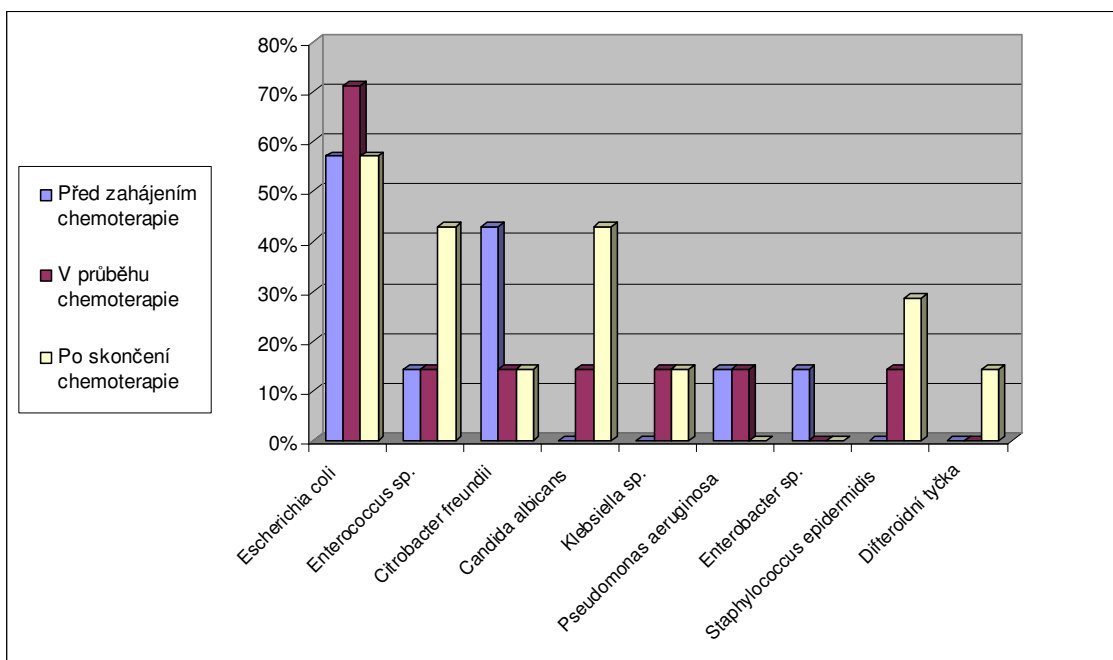
Graf 2 Výskyt mikroorganismů ve výtěru z konečníku u pacientů léčených FOLFOXEM

Z grafu 2 vyplývá, že největší výskyt mikroorganismů ve výtěru z konečníku je pouze před zahájením chemoterapie, v průběhu onkologické léčby jejich výskyt klesá. Největší procentuální zastoupení mají *E. coli* a *Candida albicans* a to před zahájením chemoterapie. *Enterococcus sp.* byl vykultivován u 25 % pacientů v průběhu chemoterapie.



Graf 3 Výskyt mikroorganismů ve výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených FU/FA

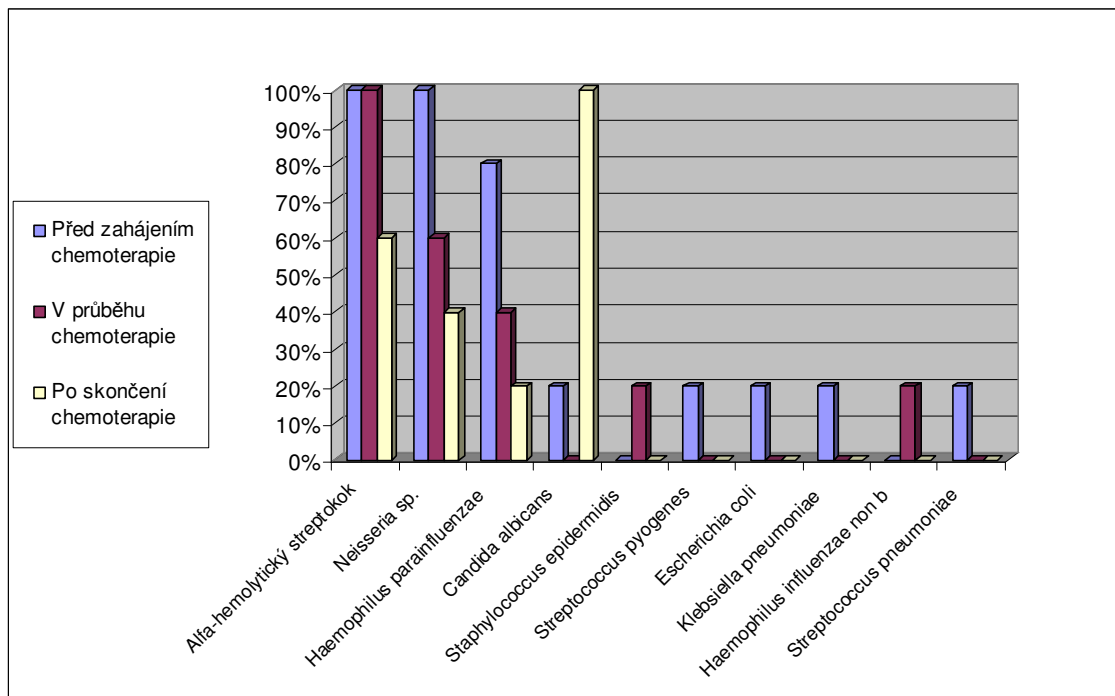
Graf 3 znázorňuje, že největší procentuální zastoupení mají alfa-hemolytický streptokok, *Neisseria sp.* a *H. parainfluenzae*, ale jejich výskyt v průběhu onkologické léčby klesá, stejné procentuální zastoupení má *Candida albicans*. Mikroby *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* a *Enterococcus sp.* se vyskytly pouze před zahájením chemoterapie.



Graf 4 Výskyt mikroorganismů ve výtěru z konečniku u pacientů léčených FU/FA

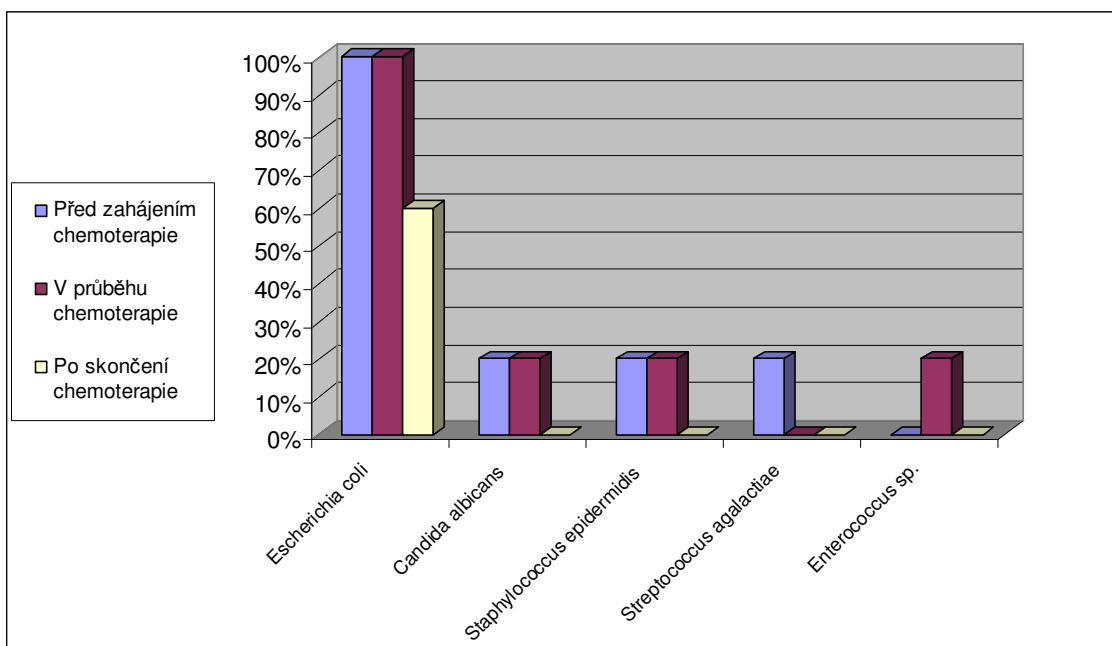
Z grafu 4 vyplývá, že největších změn zaznamenala *E. coli* – v průběhu chemoterapie se její výskyt zvýšil, výskyt mikrobů *Enterococcus sp.*, *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis* a difteroidních tyček se zvýšil naopak po skončení chemoterapie. Výskyt *Citrobacter freundii* byl největší na začátku chemoterapie.

4.2 Změny mikroflóry v dutině ústní a konečníku u pacientek s karcinomem prsu



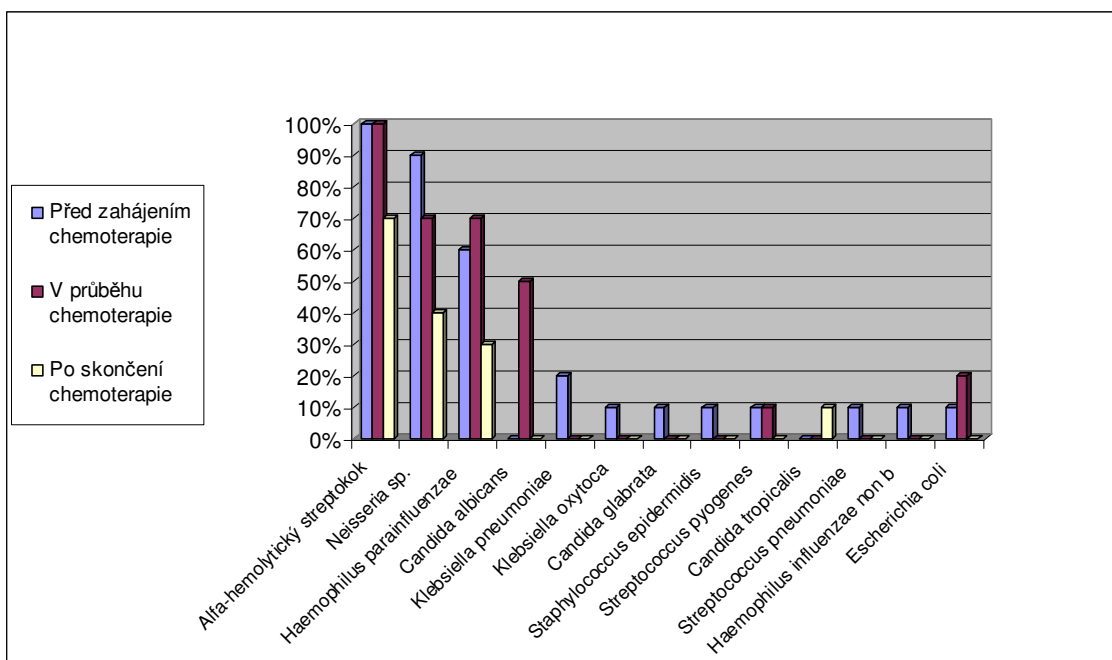
Graf 5 Výskyt mikroorganismů ve výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených AC

Ve výtěrech z dutiny ústní největší změnu ve výskytu zaznamenala *Candida albicans*, její výskyt byl po skončení chemoterapie u všech pacientek. *Streptococcus pyogenes*, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* a *Streptococcus pneumoniae* se vyskytl pouze na začátku chemoterapie. Alfa-hemolytický streptokok byl vykultivován u všech pacientů jak na začátku chemoterapie, tak i v průběhu onkologické léčby (viz graf 5).



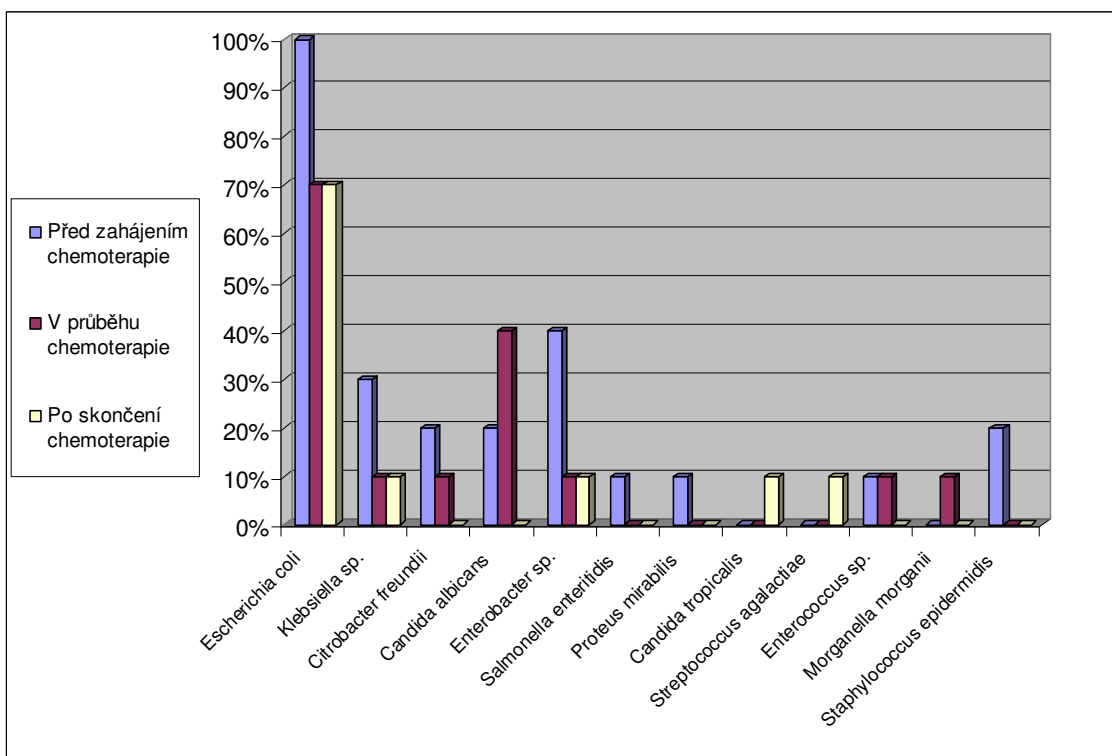
Graf 6 Výskyt mikroorganismů ve výtěru z konečníku u pacientů léčených AC

U pacientek léčených AC je patrné, že chemoterapie má negativní vliv na uvedené mikroorganismy, jejich výskyt ve výtěrech z konečníku v průběhu léčby klesá. *Enterococcus sp.* se nejvíce vyskytl v průběhu chemoterapie. *Streptococcus agalactiae* byl vykultivován u 20 % pacientů na začátku chemoterapie. Největší zastoupení má *E. coli* ve všech sledovaných etapách onkologické léčby (viz graf 6).



Graf 7 Výskyt mikroorganismů ve výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených AC/T

Při použití léčby AC byla u pacientů ve výtěrech z dutiny ústní zaznamenána změna u *C. albicans*, kdy její nejvyšší výskyt byl v průběhu chemoterapie. U ostatních gram pozitivních i gram negativních mikroorganismů uvedených v grafu došlo v průběhu onkologické léčby k poklesu (viz graf 7).

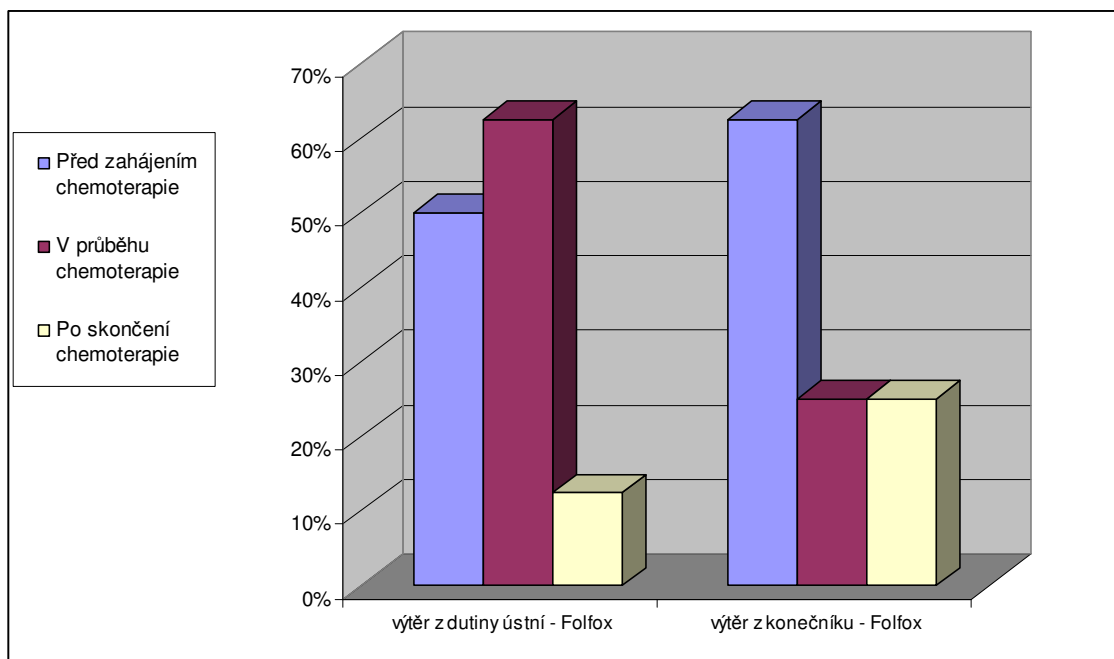


Graf 8 Výskyt mikroorganismů ve výtěru z konečníku u pacientů léčených AC/T

Z grafu 8 je patrné, že *E.coli* byla vykultivována ve výtěrech z konečníku na začátku chemoterapie u 100 % pacientů, jeho výskyt v průběhu léčby klesá. *Candida albicans* má nejvyšší výskyt v průběhu chemoterapie, *Klebsiella sp.*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus sp.* a *Staphylococcus epidermidis* na začátku chemoterapie.

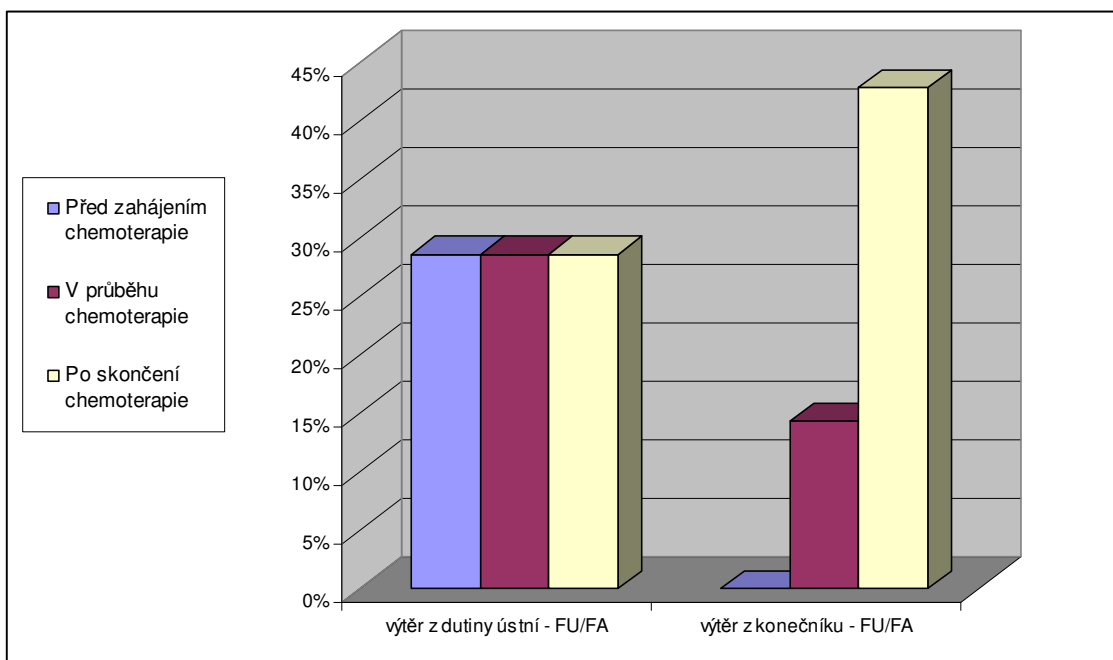
4.3 Výskyt *Candida albicans* u sledovaných pacientů

Jedním z cílů diplomové práce bylo zjistit výskyt podmíněně patogenních mikroorganismů (kvasinek) u sledovaných pacientů v jednotlivých etapách onkologické léčby.



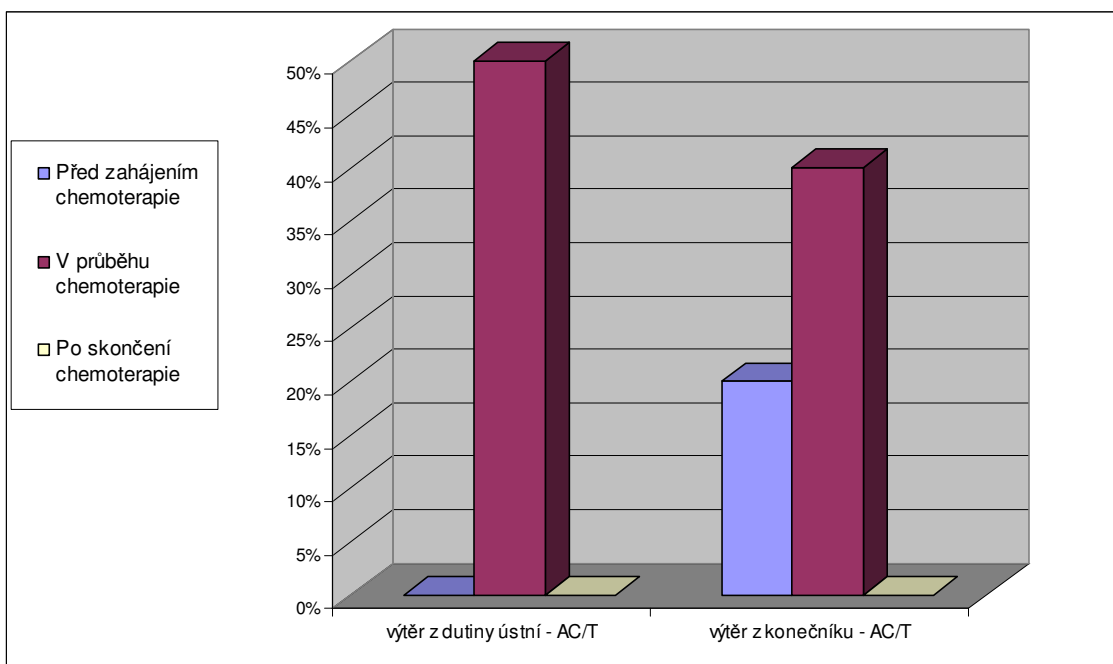
Graf 9 Výskyt *Candida albicans* u pacientů léčených Folfoxem

U pacientů léčených Folfoxem výskyt *C. albicans* v dutině ústní v průběhu onkologické léčby klesá, v konečníku je její výskyt nejvyšší před zahájením chemoterapie, v průběhu léčby se její výskyt sníží a zůstává stejný i po skončení chemoterapie (viz graf 9).



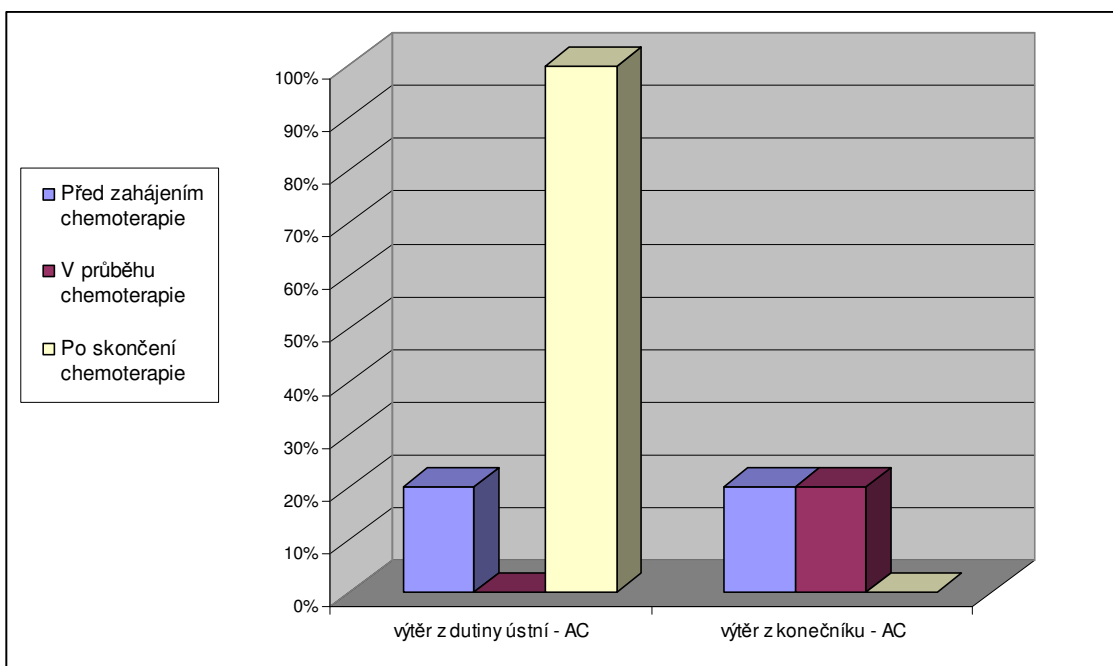
Graf 10 Výskyt *Candida albicans* u pacientů léčených FU/FA

Z grafu 10 vyplývá, že výskyt *C. albicans* je v dutině ústní shodný ve všech sledovaných etapách onkologické léčby, zvýšený výskyt (u 45 % pacientů) je v konečníku po skončení chemoterapie.



Graf 11 Výskyt *Candida albicans* u pacientů léčených AC/T

U pacientů léčených AC/T byla největší změna ve výskytu *C. albicans* v průběhu léčby a to jak v dutině ústní, tak v konečníku. V tomto období byl její výskyt nejvyšší (viz graf 11).



Graf 12 Výskyt *Candida albicans* u pacientů léčených AC

Grafu 12 znázorňuje, že největší změna ve výskytu *C. albicans* nastala po skončení chemoterapie v dutině ústní, kdy byl její výskyt nejvyšší. V konečníku její výskyt po skončení léčby AC klesl.

4.4 Výsledky kultivačních nálezů u nemocných s karcinomem prsu v průběhu (neo)adjuvantní chemoterapie a klinický projev infekčního onemocnění

Tabulka 4 Výsledky kultivací z dutiny ústní u pacientek léčených AC

Pacient č..	Věk	ATB	Infekční komplikace	Výsledky kultivace výtěru z dutiny ústní		
				Před zahájením chemoterapie	V průběhu chemoterapie	Po skončení chemoterapie
1	63	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>
2	35	0	mukozidita	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Candida albicans</i>
3	48	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>E.coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i> <i>Haemophilus influenzae non b</i>	<i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>
4	43	Azitromycin	faryngitida bronchitida	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok	Alfa-hemolytický streptokok <i>Candida albicans</i>
5	49	Augmentin	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok	<i>Candida albicans</i>

Tabulka 5 Výsledky kultivací výtěru z konečníku u pacientek léčených AC

Pacient č.	Věk	ATB	Infekční komplikace	Výsledky kultivace výtěru z konečníku		
				Před zahájením chemoterapie	V průběhu chemoterapie	Po skončení chemoterapie
1	63	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i>	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i>	<i>E.coli</i>
2	35	0	mukozidita	<i>E.coli</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>E.coli</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Enterococcus sp.</i>	<i>E.coli</i>
3	48	0	žádné	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	negativní
4	43	Azitromycin	žádné	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
5	49	Augmentin	žádné	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	negativní

Tabulka 6 Výsledky kultivací výtěru z dutiny ústní u pacientek léčených AC/T

Pacient č.	Věk	ATB	Infekční komplikace	Výsledky kultivace výtěru z dutiny ústní		
				Před zahájením chemoterapie	V průběhu chemoterapie	Po skončení chemoterapie
6	65	Sporamox Penicilin	soor erysipel	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida tropicalis</i>
7	66	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>E.coli</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i>
8	54	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok
9	72	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok
10	57	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i> <i>Haemophilus influenzae non b</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Candida albicans</i> <i>E.coli</i>	Alfa-hemolytický streptokok
11	77	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria sp.</i>
12	57	Canesten Nizoral	mukozidita	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok
13	72	0	zemřela	Alfa-hemolytický streptokok <i>Candida glabrata</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i> <i>E.coli</i>	<i>Neisseria sp.</i>
14	70	Herpesin	Herpes zoster (pravá paže)	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	<i>Neisseria sp.</i>
15	72	Augmentin Biseptol	cystitida	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i>

Tabulka 7 Výsledky kultivací výtěru z konečníku u pacientek léčených AC/T

Pacient č.	Věk	ATB	Infekční komplikace	Výsledky kultivace výtěru z konečníku		
				Před zahájením chemoterapie	V průběhu chemoterapie	Po skončení chemoterapie
6	65	Sporamox Penicilin	žádné	<i>E.coli</i> <i>Klebsiella sp.</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> <i>Candida tropicalis</i>
7	66	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i> <i>Klebsiella sp.</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
8	54	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter sp.</i> <i>Enterococcus sp.</i>	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i> <i>Enterococcus sp.</i> <i>Morganella morganii</i>	<i>E.coli</i>
9	72	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter sp.</i>	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter sp.</i>	<i>E.coli</i>
10	57	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Enterobacter sp.</i>
11	77	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
12	57	Canesten Nizoral	kolpitida	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
13	72	0	zemřela	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter sp.</i>	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Candida albicans</i> <i>Klebsiella sp.</i>	<i>Klebsiella sp.</i>
14	60	Herpesin	Herpes zoster (pravá paže)	<i>E.coli</i> <i>Enterobacter sp.</i> <i>Salmonella enteritidis</i>	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i>	<i>E.coli</i>
15	72	Augmentin Biseptol	průjem (ústup po ATB)	<i>E.coli</i> <i>Klebsiella sp.</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Proteus mirabilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>

4.5 Výsledky kultivačních nálezů u nemocných s kolorektálním karcinomem v průběhu (neo)adjuvantní chemoterapie a klinický projev infekčního onemocnění

Tabulka 8 Výsledky kultivací výtěrů z dutiny ústní u pacientů léčených FOLFOXEM

Pacient č	Věk	ATB	Infekční komplikace	Výsledky kultivace výtěru z dutiny ústní		
				Před zahájením chemoterapie	V průběhu chemoterapie	Po skončení chemoterapie
16	59	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>
17	53	Augmentin	bronchitida	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>
18	58	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i>
19	62	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>
20	60	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Candida albicans</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> Difteroidní tyčka
21	64	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Candida albicans</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i>
22	37	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok
23	71	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria sp.</i>

Tabulka 9 Výsledky kultivací výtěru z konečníku u pacientů léčených FOLFOXEM

Pacient č	Věk	ATB	Infekční komplikace	Výsledky kultivace výtěru z konečníku		
				Před zahájením chemoterapie	V průběhu chemoterapie	Po skončení chemoterapie
16	59	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Difteroidní tyčka	<i>E.coli</i> <i>Enterococcus sp.</i>	<i>E.coli</i>
17	53	Augmentin	žádné	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
18	58	0	žádné	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>E.coli</i>
19	62	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i> <i>Citrobacter sp.</i>	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i>	<i>E.coli</i> <i>Enterococcus sp.</i>
20	60	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i> <i>Enterococcus sp.</i>	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i>	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i>
21	64	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>E.coli</i>	<i>Serratia sp.</i>
22	37	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i> <i>Klebsiella sp.</i>	<i>E.coli</i> <i>Enterococcus sp.</i>	<i>E.coli</i>
23	71	0	žádné	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>	<i>Candida albicans</i>

Tabulka 10 Výsledky kultivací výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených FU/FA

Pacient č	Věk	ATB	Infekční komplikace	Výsledky kultivace výtěru z dutiny ústní		
				Před zahájením chemoterapie	V průběhu chemoterapie	Po skončení chemoterapie
24	61	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok
25	80	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok
26	82	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Enterococcus sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>
27	64	0	afty	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i> <i>Candida albicans</i> <i>E.coli</i>
28	71	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Neisseria sp.</i>
29	59	0	žádné	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	Alfa-hemolytický streptokok <i>Haemophilus parainfluenzae</i> <i>Neisseria sp.</i>	<i>Candida albicans</i>
30	53	Biseptol	cystitida	Alfa-hemolytický streptokok	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Haemophilus influenzae non b</i>	<i>Neisseria sp.</i>

Tabulka 11 Výsledky kultivací výtěru z konečnicku u pacientů léčených FU/FA

Pacient č	Věk	ATB	Infekční komplikace	Výsledky kultivace výtěru z konečnicku		
				Před zahájením chemoterapie	V průběhu chemoterapie	Po skončení chemoterapie
24	61	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Enterococcus sp.</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>E.coli</i> <i>Enterococcus sp.</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>E.coli</i>
25	80	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	<i>E.coli</i> <i>Candida albicans</i>	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Klebsiella sp.</i>
26	82	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>E.coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>E.coli</i> <i>Enterococcus sp.</i>
27	64	0	afty	negativní	<i>E.coli</i>	<i>Enterococcus sp.</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Candida albicans</i>
28	71	0	žádné	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>E.coli</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>E.coli</i> Difteroidní tyčka
29	59	0	žádné	<i>E.coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	negativní	<i>Enterococcus sp.</i> <i>Candida albicans</i>
30	53	Biseptol	cystitida	<i>Enterococcus sp.</i>	<i>Klebsiella sp.</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>

5 Diskuse

Cytostatika se zásadním způsobem liší od ostatních léčiv. Jejich specifita je v úzké terapeutické šíři, tedy rozdílem dávky, kdy mohou být neúčinná a naopak, kdy mohou člověka poškodit. Lékař indikující tyto léky, musí dobře znát jejich nežádoucí účinky, které jsou časté, různě závažné a provázejí aplikaci všech cytostatik. Některé účinky jsou všem lékům společné, některé jsou specifické pro určitá cytostatika nebo skupiny s podobným chemickým složením. Řada nežádoucích účinků se dostaví bezprostředně po aplikaci, jiné se mohou vyskytnout po několika dnech či týdnech a některé se projeví se značným odstupem po měsících nebo i letech (www.rakovinaprsu.cz, [vid. 2012-02-03]).

Jak vyplývá z uvedených grafů, jedním z nežádoucích účinků chemoterapie je i ovlivnění složení mikroflóry v dutině ústní a ve střevě. V důsledku poklesu bílých krvinek po aplikaci cytostatik je snížena obranyschopnost organismu a ten je pak náchylný k infekcím vyvolaných nejenom patogenními, ale i oportunními mikroorganismy, které představují závažnou komplikaci léčby. Za nejvýznamnější rizikové faktory pro vznik infekce se považuje poškození mechanických ochranných bariér, především slizniční výstelky a kůže. U nemocných s maligním onemocněním převládají infekce bakteriální a mykotické (Klener a Vorlíček, 1998). Zástupci běžné bakteriální flóry vlivu chemoterapie celkem nepodléhají, jen se mění zástupci jednotlivých rodů. Jak uvádí Klener a Vorlíček, u celkově oslabeného organismu mohou infekční komplikace vyvolat i tzv. oportunní patogeny, tj. mikroorganismy, které jsou u zdravého jedince běžnými komenzály. Není tedy vyloučeno, že u některého ze sledovaných pacientů mohla vzniknout infekce způsobená právě jedním z těchto komenzálů, protože ve výtěrech byla přítomna běžná bakteriální flóra.

V některých případech je ale dopad chemoterapie obrovský, jako u zástupců rodu *Candida*, hlavně *Candida albicans*. Jak uvádějí ve svých studiích Jablonská, Klener, Vyzula, Vorlíček a další *Candida albicans* je zodpovědná na mukoziditu, a to nejen v dutině ústní, ale i ve střevě. I v naší studii se jejich výsledky potvrdily. Ve svém výzkumu jsem zaznamenala, že

kvasinka *Candida albicans* prodělala ve výskytu v době onkologické léčby jako jediná z mikroorganismů významné rozdíly ve výskytu jak ve výtěrech z dutiny ústní, tak ve výtěrech z rektu. Votava et al. ve svých výzkumech uvádějí, že za mykózy u imunosuprimovaných pacientů jsou zodpovědné i jiné druhy kvasinek, jako je *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* a *Candida krusei*. A to se také potvrdilo u pacientů v námi sledovaném souboru, protože byly vykultivovány *Candida glabrata* a *Candida tropicalis*.

Mukozidita v dutině ústní a GIT traktu představuje klinicky významnou komplikaci, při které jsou v souvislosti s chemoterapií poškozeny sliznice a podslizniční tkáň. Mukozidita omezuje perorální příjem, zvyšuje incidenci sekundárních infekcí, vede k prodloužení hospitalizace a vyšším celkovým nákladům na léčbu pacienta. Zřetelně negativně ovlivňuje průběh onkologické léčby (Sonis et al., 2001).

GIT je vzhledem k výraznému prokrvení a vysoké mitotické aktivitě epitelu obzvláště citlivý na působení cytostatik. Mukozidita vede k atrofii sliznic, krypt, klků, případně i defektům. Klinicky se manifestuje převážně abdominálními bolestmi, průjmy, dyspepsií (Rubenstein et al., 2004). Je vstupní branou pro rozvoj systémových infekcí a toxemií, kdy může být postižený celý orgán nebo jeho podstatná část. Na těchto infekcích se podílí především gramnegativní tyčky, jako například *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* nebo *Clostridium difficile* a *Candida albicans* (Blijlevens et al., 2000). Téměř u všech našich pacientů byla ve výtěru z rektu prokázána *Escherichia coli*, která je součástí běžné bakteriální flóry, ale není vyloučeno, že nemůže vyvolat infekční komplikace. Jablonská et al. uvádí, že kolorektální karcinom má souvislost s výskytem enteroinvazivní *Escherichia coli* ve střevě u takto nemocných pacientů. U všech našich pacientů, kde byla vykultivována *E. coli*, výskyt enteroinvazivní *E. coli* nebyl prokázán. Výskyt *Clostridium difficile* jsem nesledovala, není možné ho diagnostikovat z výtěru, k jeho průkazu (toxinu A/B a antigenu) je nutný kousek stolice a to by bylo vzhledem k již tak zhoršené compliance pacientů obtížné a nevyžadoval to ani klinický stav nemocných. *Pseudomonas aeruginosa* byla vykultivována pouze u jednoho pacienta s diagnózou kolorektálního karcinomu před zahájením a v průběhu

chemoterapie. Je tedy možné, že pacient mohl mít infekci vyvolanou právě touto gramnegativní nefermentující tyčkou.

Výskyt mukozidity je velice variabilní a záleží na intenzitě a typu chemoterapie. I na našich grafech je patrné, jak mají jednotlivé skupiny cytostatik vliv na výskyt *Candida albicans*. V některých případech její výskyt v průběhu léčby klesá (v dutině ústní i v konečniku u pacientů léčených FOLFOXEM, v konečniku u pacientů léčených AC/T a AC), v některých výrazně stoupá (v konečniku u pacientů léčených FU/FA, v dutině ústní u pacientů léčených AC AC/T). U nemocných léčených FU/FA nedochází k ovlivnění mikroflóry v dutině ústní. U nemocných s adjuvantní léčbou FOLFOXEM pro kolorektální karcinom se vyskytly afty vyvolané oxaliplatinou (součást léčebného režimu). Tento nálezn byl provázen zvýšeným záchytem kvasinek. U pacientek léčených pro karcinom prsu režimem AC/T, byly opakovaně izolovány kvasinky jak z dutiny ústní, tak z konečniku. U jedné pacientky se vyskytl průjem, mukozidita v ústech byla pozorována u dvou pacientek. Z uvedených příkladů je patrné, že různé režimy chemoterapie jsou provázeny odlišnými projevy slizniční toxicity.

Mukozidita dutiny ústní a GIT skrývá rozsáhlý potenciál neznámých a nedořešených problémů. Je nutné pokračovat v poznávání detailů patofyziologie, pokusit se definovat rizikové faktory ovlivňující průběh této komplikace. Prioritou v přístupu vůči onkologickému pacientovi ohroženému mukoziditou by mělo být zajištění maximálně účinné podpůrné léčby, která zajistí ochranu sliznic dutiny ústní a GIT bez rizika sníženého efektu protinádorové léčby (Vokurka, 2007).

Poškozená slizniční bariéra v dutině ústní usnadňuje průnik patogenům a zvyšuje tak incidenci bakteriémie viridujících (alfa-hemolytických) streptokoků. U našich sledovaných pacientů byl alfa-hemolytický streptokok vykultivován v každém výtěru z dutiny ústní na počátku chemoterapie, jeho záchyt nebyl konstantní a měnil se v průběhu chemoterapie. Výskyt *alfa-hemolytického streptokoka* klesal, při jeho nízké virulenci není riziko bakteriémie.

Poškozenou slizniční bariérou dále mohou pronikat i jiné mikroorganismy, jako jsou koaguláza-negativní stafylokoky (*Staphylococcus epidermidis*) a gramnegativní tyčky (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas*

aeruginosa) (Donnelly et al., 2003). Jejich výskyt byl také u našich pacientů zaznamenán, ale ne ve velké míře a bylo to jak před zahájením chemoterapie při neporušených slizničních bariérách, tak v průběhu i na konci chemoterapie, kdy jsou narušeny slizniční funkce. Jak uvádí ve své studii Klener a Vorlíček, infekční komplikace mohou být způsobeny libovolným mikrobiálním druhem, včetně oportunních patogenů. V průběhu posledních let byly zaznamenány značné změny ve spektru vyvolávajících mikroorganismů. Zatímco dříve jednoznačně dominovaly gramnegativní infekce, nyní je poměr gramnegativních ku grampozitivním vyvolatelům vyrovnaný, nebo dokonce grampozitivní převažují. Také záleží na tom, zda pacienti užívají v průběhu onkologické léčby nějaká antibiotika. Antibiotická terapie v těchto případech velmi výrazně podporuje rozvoj oportunních infekcí, včetně mykotických. U našich vyšetřovaných pacientů ve výtěrech, hlavně z dutiny ústní, převládaly grampozitivní bakterie. Tím jsou naše sledování ve shodě s výsledky uvedené v odborné literatuře.

6 Závěr

Nádorové onemocnění lze definovat jako soubor nemocí, jejichž společným znakem je nekontrolovaný růst buněk, který se vymyká koordinačním dějům v živém organismu. Buňky primárního nádoru se šíří do okolí a utlačují sousední tkáně, prorůstají do cévního a mízního oběhu a zakládají nová ložiska ve zdravých tkáních a orgánech (Skála, 2008).

Nádorová onemocnění patří k nejčastějším příčinám úmrtí a jejich výskyt neustále stoupá i přesto, že moderní medicína umožňuje u většiny nádorů relativně včasnou diagnostiku. U řady nemocných je nutné uplatnit multimodální přístup, včetně chemoterapie a radioterapie. Zlepšení výsledků léčby u onkologicky nemocných je dáno i novými intenzifikovanými režimy i cytostatiky. Tato léčba je často provázena závažnými projevy hematologické a gastrointestinální toxicity, které jsou spojeny s rizikem septického a toxického poškození (Dušek et al., 2010).

Mezi základní mechanismus onkologické prevence patří tzv. primární prevence, která je plně v rukou každého z nás, neboť nádory patří mezi preventabilní onemocnění. Kromě určité míry geneticky přenosné individuální vnímavosti ovlivňuje jejich výskyt a průběh řada vnějších faktorů. Moderně pojatá výchova ke zdraví se nemůže spokojit jen s předáváním informací o riziku a jeho následcích, ale musí usilovat o ovlivnění postojů a chování celé populace (Vyzula et al., 2007).

Primární prevence obecně jsou opatření prováděná v okamžiku, kdy ještě nehrozí onkologické onemocnění. Je to především zdravý životní styl, dostatek pohybu, vyhýbání se zlozvykům (kouření, alkohol) a omezení rizik prostředí.

V odhalení nádorů v časném stadiu slouží tzv. screening. V současné době se provádí v České republice screening karcinomu prsu (mamografie), karcinomu děložního čípku (vyšetření gynekologem a cytologické vyšetření) a karcinom tlustého střeva (vyšetření stolice na skryté krvácení). Bohužel, i přes možnosti screeningu, primární péče a sekundární péče je stále vysoké procento záchytu pozdních stadií nádorových onemocnění. U těchto nemocných musí být zahájena cytostatická léčba, která má celou řadu nežádoucích účinků, které se

projevují poškozením určitých orgánů a tkání - útlum krve tvorby, infekční komplikace, nevolnost a zvracení, poškození sliznic zažívacího traktu a dutiny ústní, kardiotoxicita, nefrotoxicita, plicní toxicita a další (Adam et al., 2006).

Poškození sliznic v dutině ústní a ve střevě vlivem cytostatické léčby se projeví především ve větším výskytu podmíněně patogenními mikroorganismy. Toto negativní působení cytostatik na mikroflóru v dutině ústní a ve střevě jsme sledovali u adjuvantně léčených onkologicky nemocných pacientů a naše výsledky se shodují s výzkumy uvedených v řadě publikací. Většinou se z mikrobiologického hlediska jednalo o zvýšený výskyt kvasinky *Candida albicans*, která je spoluzodpovědná za mukoziditu a má podíl na zdravotních komplikacích u onkologicky nemocných pacientů nejen v dutině ústní, ale i ve střevě (Adam et al., 2006).

Příčiny vzniku nádorových onemocnění je předmětem neustálého výzkumu. Ví se, že jde o působení více činitelů, které podporují nádorová onemocnění. Mnohé ovlivňuje sám jedinec nesprávným životním stylem. Je tedy na nás, abychom měli kladný přístup k programům prevence a screeningu, ale především kladný vztah k sobě samému.

7 Literatura

- ABELOFF, Martin D., ed. *Abeloff's clinical oncology*. 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, ©2008. [2555 s]. ISBN 978-0-443-06694-8.
- ADAM, Zdeněk, Jiří VORLÍČEK, a Jiří VANÍČEK. *Diagnostické a léčebné postupy u maligních chorob*. Praha: Grada, 2002. [604 s]. ISBN 80-7169-792-3.
- ADAM, Zdeněk, Jiří VORLÍČEK, a Šárka SEDLÁČKOVÁ. Přehled nežádoucích účinků cytostatik. *Praktické lékárenství*. Olomouc: Solen. 2006, **2**(1), 18-19. ISSN 1801-2434.
- AMES, B.N. Mutagenesis and carcinogenesis – endogenous and exogenous factors. *Environmental and molecular mutagenesis*. New York, Wiley-Liss, 1989, **14**(supp. 16), 66-77. ISSN 0898-3003.
- ASTLER, V.B. a F.A. COLLER. The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Annals of surgery*. Philadelphia: Lippincott, 1954, **139**(6), 846. ISSN 0003-4932.
- BAGCHI, Sanjit. Adjuvantní chemoterapii u karcinomu prsu je možno odložit. *The lancet oncology CZ*. Praha: Praha Publishing, 2007, **6**(1), 14. ISSN 1213-9432.
- BEDNÁŘ, Marek et al. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1996. [558 s].
- BLIJLEVENS, N., J. Peter DONELLY, a B.E. De PAU. Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: an overview. *Bone Marrow Transplant*. Basingstoke (Hampshire): Scientific & Medical Division, Macmillan Press, 2000, **25**(12), 1269-1278. ISSN 0268-3369.
- CEBRA, J.J., H.J. JUANY, J. ŠTERZL, H. TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ. The role of mucosal microbiota in the development and maintenance of the mucosal immune system. In: Pearay L. OGRA, ed. et al. *Mucosal immunology*. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1999. [1628 s]. ISBN 0-12-524725-7.

- COOPER, H.S., L.M. DEPPISCH, E.I. KAHN et al. Pathology of the malignant colorectal polyp. *Human pathology*. Philadelphia: Saunders, 1998, **29**(1), 15-25. ISSN 0046-8177.
- COTRAN, Ramzi S., Stanley L. ROBBINS, a Vinay KUMAR. *Robbins pathologic basis of disease*. 5th ed. Philadelphia: Saunders, ©1994. [1400 s]. ISBN 0-7216-5032-5.
- DEVITA, Vincent T., Samuel HELLMAN, a Steven A. ROSENBERG. *Cancer principles and practice of oncology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. 2 sv. ISBN 0-7817-2229-2; 0-7817-2387-6.
- DONELLY J. Peter, Lisa A. BELLM, Joel B. EPSTEIN, Stephen T. SONIS, R. Paul SYMONDS. Antimicrobial therapy to prevent or treat oral mucositis. *The Lancet Infectious Diseases*. New York: Elsevier Science, 2003, **3**(7), 405-412. ISSN 1473-3099.
- ELTING, L. S., COOKSLEY, C., CHAMBERS, M., CANTOR, S. B., MANZULLO, E., RUBENSTEIN, E. B. The burdens of cancer therapy. Clinical and economic outcomes of chemotherapy-induced mucositis. *Cancer*. New York: Wiley, Oct 2003, **98**(7), 1531-9. ISSN 0008-543X.
- FISCHEROVÁ, Daniela. Léčba karcinomu prsu. *Klimakterická medicína*. Praha: Jaroslav Jeníček - Domena, 2007, **12**(1), 41-44. ISSN 1211-4278.
- GARAJOVÁ, Ingrid, M. SVOBODA, a Ilona KOCÁKOVÁ et al. Možnosti predikcie rezistencie k neoadjuvantnej konkomitantnej chemorádioterapii u pacientov s karcinómom konečníka. *Klinická onkologie*. Praha: Ambit Media, 2008, **21**(6), 330-337. ISSN 0862-495X.
- HAGGIT, R.C., R.E. GLOTZBACH, E.E. SOFFER et al. Prognostic factors in colorectal carcinomas arising in adenomas: implications for lesions removed by endoscopic polypectomy. *Gastroenterology*. Philadelphia: Saunders, 1985, **89**(2), 328-336. ISSN 0016-5085.
- HARPAZ, N. a I.C. TALBOT. Colorectal cancer in idiopathic inflammatory bowel disease. *Seminars in Diagnostic Pathology*. Philadelphia: Saunders, 1996, **13**(4), 339-357. ISSN 0740-2570.
- HAUGE, A., D.J. ELDER, D.J. NICKA, C. PARASKEVA. Apoptosis in colorectal tumour cells: induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. *International journal of*

- cancer*. New York: Wiley-Liss, Jan 1995, **60**(3), 400-406.
ISSN 1019-6439.
- HLADÍKOVÁ, Zuzana. *Diagnostika a léčba onemocnění prsu*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2009. [105 s]. ISBN 978-80-244-2268-8.
- CHRISTL, S.U., H.P. BARTRAM, E. KELKER et al. Bile acid metabolism by colonic bacteria in continuous culture: effects of starch and pH. *Annals of nutrition and metabolism*. Basel: Karger, 1997, **41**(1), 45-51.
ISSN 0250-6807.
- IVESON, T.J., T. HICKISH, C. SCHMITT, a E. VAN CUTSEM. Irinotecan in second-line treatment of metastatic colorectal cancer: improved survival and cost-effect compared with infusional 5-FU. *European Journal of Cancer*. Oxford: Elsevier, 1999, **35**(13), 1796-1804. ISSN 0959-8049.
- JABLONSKÁ, Markéta. *Kolorektální karcinom: časná diagnóza a prevence*. Praha : Grada, 2000. [455 s]. ISBN 80-7169-777-X.
- JULÁK, Jaroslav. Úvod do lékařské bakteriologie. Praha: Karolinum, 2006. [404 s]. ISBN 80-246-1270-4.
- KATZ, Artur, Edvardo D. SAAD, a Peggy PORTER et al. Primární systémová chemoterapie invazivního lobulárního karcinomu prsu. *The lancet oncology CZ*. Praha: Praha Publishing, 2007, **6**(2), 154-160. ISSN 1213-9432.
- KLABAN, Vladimír. *Ekologie mikroorganismů: ilustrovaný lexikon biologie, ekologie a patogenity mikroorganismů*. Praha: Galén, ©2011. [549 s]. ISBN 978-80-7262-770-7.
- KLENER, Pavel. *Protinádorová chemoterapie*. Praha: Galén, 1996. [614 s]. ISBN 80-85824-36-1.
- KLENER, Pavel. *Klinická onkologie*. Praha: Galén, 2002. [686 s]. ISBN 80-7262-151-3.
- KLENER, Pavel a Jiří VORLÍČEK. *Podpůrná léčba v onkologii*. Praha: Galén, 1998. [231 s]. ISBN 80-902501-2-2.
- KLENER, Pavel a Pavel KLENER, jr. *Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii*. Praha: Grada, 2010. [209 s]. ISBN 978-80-247-2808-7.

- LOUTHAN, Oldřich. Neuroendokrinní nádory tlustého střeva. *Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie*. Praha: Česká lékařská společnost J.E. Purkyně, 2010, **64**(1), 22-26. ISSN 1213-323X.
- MECHL, Zdeněk a Dagmar BRANČÍKOVÁ. Nežádoucí účinky protinádorové léčby a jejich léčba. *Medicína pro praxi*. Konice: Solen, 2009, **6**(6), 325-329. ISSN 1214-8687.
- MENDELSON, John. *The molecular basis of cancer*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders, 2001. 691 s. ISBN: 0-7216-7291-4.
- NAPEÑAS, J.J., M.T. BRENNAN, F.K. BAHRANI-MOUGEOT, P.C. FOX, a P.B. LOCKHART. Relationship between mucositis and changes in oral microflora during cancer chemotherapy. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. St. Louis (Missouri): Elsevier, 2007, **103**(1), 48-59. ISSN 1079-2104.
- NAPEÑAS, J.J., M.T. BRENNAN, S. COLEMAN, M.L. KENT, J. NOLL, G. FRENETTE, M.L. NUSSBAUM, J.L. MOUGEOT, B.J. PASTER, P.B. LOCKHART, a F.K. BAHRANI-MOUGEOT. Molecular methodology to assess the impact of cancer chemotherapy on the oral bacterial flora: a pilot study. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. St. Louis (Missouri): Elsevier, 2010, **109**(4), 554-60. ISSN 1079-2104.
- NISCOLA, P., C. ROMANI, L. CUPELLI, L. SCARAMUCCI, A. TENDAS, A., T. DENTAMARO, S. AMADORI, a P. De FABRITIIS. Mucositis in patients with hematologic malignancies : an overview. *Haematologica*. Pavia(Italy): Ferrata Storti Foundation, 2007, **92**(2), 222-31. ISSN 0390-6078.
- NOVOTNÝ, Jan, Pavel VÍTEK, a Luboš PETRUŽELKA. *Klinická a radiační onkologie pro praxi*. Praha: Triton, 2005. [308 s]. ISBN 80-7254-736-4.
- Onkologie: doporučené postupy onkologické péče*. Praha: Galén, 2000. [59 s]. ISBN 80-7262-058-4.
- PAUL, William E. *Fundamental immunology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, c2003. 1701 s. ISBN: 0-7817-3514-9.
- PAVLIŠTA, David. *Neinvazivní karcinomy prsu*. Praha: Maxdorf, ©2008. [181 s]. ISBN 978-80-7345-173-8.

- PETERA, Jiří, ed. *Obecná onkologie: učebnice pro lékařské fakulty*. Praha: Karolinum, 2005. [205 s]. ISBN 80-246-0968-1.
- PETRÁKOVÁ, Katarína. Chemoterapie a hormonální léčba karcinomu prsu. *Medicína pro praxi*. Konice: Solen, 2009, **6**(6), 320-324. ISSN 1214-8687.
- ROBERTON, A.M. Role of endogenous substance and bacteria in colorectal cancer. *Mutation research*. Amsterdam: Elsevier, Nov 1993, **290**(1), 71-8. ISSN 0027-5107.
- ROSENBERG, Steven A. *Principles and practice of biologic therapy of cancer*. 3rd ed. Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins, c2000. 916 s. ISBN 0-7817-2272-1.
- RUBENSTEIN, E.B., D.E. PETERSON, M. SCHUBERT, D. KEEFE, D. MCGUIRE, J. EPSTEIN, J., L.S. ELTING, P.C. FOX, C. COOKSLEY, C., a S.T. SONIS. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral andgastrointestinal mucositis. *Cancer*. New York: Wiley, May 2004, **100**(9 Suppl), 2026-46. ISSN 0008-543X.
- SEPÚLVEDA TEBACHE, E., U. BRETHAUER MEIER, M. JIMÉNEZ MORAGA, R. MORALES FIGUEROA, J. ROJAS CASTRO, a P. LE FORT CANALES. Herpes simplex virus detection in oral mucosa lesions in patients undergoing oncologic therapy. *Medicina oral*. Valencia (Spain): Medicina Oral S.L., 2003, **8**(5) 329-333. ISSN 1137-2834.
- SHEPHERD, N.A. Polyps and polyposis syndromes of the intestines. *Current diagnostic pathology*. Oxford: Elsevier, Dec 1997, **4**(4), 222-238. ISSN 0968-6053.
- SKÁLA, Bohumil. Onkologická prevence v praxi praktického lékaře. *Lékařské listy*. Praha: Mladá fronta. 2008, **57**(8), 18-22.
- SONIS, S. T. et al. Oral mucositis and the clinical and economic outcomes of hematopoietic stem-cell transplantation. *Journal of clinical oncology*. New York: Grune & Stratton, 2001, **19**(8), 2201-2205. ISSN 0732-183X.
- SOUMAROVÁ, Renata. Konkomitantní chemoradioterapie solidních nádorů. *Lékařské listy*. Praha: Mladá fronta, 2007, **56**(9), 30-33.

- ŠLAMPA, Pavel, Pavel LOVAS, Zuzana LOVASOVÁ, a Hana DOLEŽELOVÁ. Konkomitantní chemoradioterapie solidních nádorů. *Postgraduální medicína*. Praha: Mladá fronta, 2009, **11**(3), 279-287. ISSN 1212-4184.
- ŠLAMPA, Pavel, Renata SOUMAROVÁ, a Ilona KOCÁKOVÁ. *Konkomitantní chemoradioterapie solidních nádorů*. Praha: Galén, ©2005. [167 s]. ISBN 80-7262-276-5.
- TUREK, Bohumil, Petr ŠÍMA, a Jan ŠEVČÍK. Střevní mikroflóra včera a dnes. *Hygiéna: časopis pro ochranu a podporu zdraví*. Praha: Státní zdravotní ústav, 2010, **55**(2), 61-63. ISSN 1802-6281.
- VOKURKA, Samuel. Mukozitida dutiny ústní a gastrointestinálního traktu u pacientů po chemoterapii - přehled. *Klinická onkologie*. Praha, Ambit Media. 2007, **20**(1), 23-28. ISSN 0862-495X.
- VORLÍČEK, Jiří, Rostislav VYZULA, a Zdeněk ADAM. *Praktická onkologie: vybrané kapitoly*. Praha: Grada, 2000. [339 s]. ISBN 80-7169-974-8.
- VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno: Neptun, 2001. [247 s]. ISBN 80-902896-2-2.
- VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. [351 s]. ISBN 80-86850-00-5.
- VOTAVA, Miroslav et al. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. [495 s]. ISBN 80-902896-6-5.
- VOTAVA, M., et al. *Lékařská mikrobiologie: sv. 2, Přehled vyšetřovacích metod v lékařské mikrobiologii*. Brno: Masarykova univerzita, 2000. [309 s]. ISBN 80-210-2272-8
- VOTAVA, Miroslav et al. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, ©2010. [495 s]. ISBN 978-80-86850-04-7.
- VYSLOUŽIL, Kamil. *Komplexní léčba nádorů rekta*. Praha: Grada, 2005. [196 s]. ISBN 80-247-0628-8.
- VYZULA, Rostislav a Marek SVOBODA. *Nové léky v onkologické praxi*. Brno: Ambit Media, 2010. [84 s]. ISBN 978-80-904596-1-8.
- VYZULA, Rostislav a Jan ŽALOUĐÍK. *Rakovina tlustého střeva a konečníku: vybrané kapitoly*. Praha: Maxdorf, 2007. [287 s]. ISBN 978-80-7345-140-0.

- WILLIAMS, G. R. a I.C. TALBOT. Anal carcinoma: a histological review.
Histopathology. Oxford: Blackwell Scientific Publications, Dec 1994,
25(6), 507-516. ISSN 0309-0167.
- ZBOŘIL, Vladimír. *Mikroflóra trávicího traktu: klinické souvislosti*. Praha :
Grada, 2005. [153 s]. ISBN 80-247-0584-2.
- ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén,
2007. [906 s]. ISBN 978-80-7262-372-3.
- <http://www.rakovinaprsu.cz/vedlejsi-ucinky-lecby/nezadouci-ucinky-chemoterapie/>

8 Seznam tabulek

Tabulka 1	Fyziologické složení mikroflóry dutiny ústní a orofaryngu	36
Tabulka 2	Profilizace mikroflóry trávicího traktu směrem aborálním	41
Tabulka 3	Počet pacientů léčených jednotlivými preparáty	60
Tabulka 4	Výsledky kultivací z dutiny ústní u pacientek léčených AC.....	73
Tabulka 5	Výsledky kultivací výtěru z konečníku u pacientek léčených AC	74
Tabulka 6	Výsledky kultivací výtěru z dutiny ústní u pacientek léčených AC/T	75
Tabulka 7	Výsledky kultivací výtěru z konečníku u pacientek léčených AC/T	76
Tabulka 8	Výsledky kultivací výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených FOLFOXEM	77
Tabulka 9	Výsledky kultivací výtěru z konečníku u pacientů léčených FOLFOXEM	78
Tabulka 10	Výsledky kultivací výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených FU/FA	79
Tabulka 11	Výsledky kultivací výtěru z konečníku u pacientů léčených FU/FA	80

9 Seznam grafů

Graf 1	Výskyt mikroorganismů ve výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených Folfoxem	61
Graf 2	Výskyt mikroorganismů ve výtěru z konečníku u pacientů léčených Folfoxem	62
Graf 3	Výskyt mikroorganismů ve výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených FU/FA.....	63
Graf 4	Výskyt mikroorganismů ve výtěru z konečníku u pacientů léčených FU/FA.....	64
Graf 5	Výskyt mikroorganismů ve výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených AC	65
Graf 6	Výskyt mikroorganismů ve výtěru z konečníku u pacientů léčených AC	66
Graf 7	Výskyt mikroorganismů ve výtěru z dutiny ústní u pacientů léčených AC/T	67
Graf 8	Výskyt mikroorganismů ve výtěru z konečníku u pacientů léčených AC/T	68
Graf 9	Výskyt <i>Candida albicans</i> u pacientů léčených Folfoxem	69
Graf 10	Výskyt <i>Candida albicans</i> u pacientů léčených FU/FA.....	70
Graf 11	Výskyt <i>Candida albicans</i> u pacientů léčených AC/T	71
Graf 12	Výskyt <i>Candida albicans</i> u pacientů léčených AC	72