

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta

Diagnostika a terapie infekce *Helicobacter pylori*

bakalářská práce

Autor práce: Michaela Pospíšilová
Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: MUDr. Radim Kramář, CSc.

Datum odevzdání práce: 3. května 2013

Abstrakt

Infekce *Helicobacter pylori* patří mezi celosvětově nejčastější infekce. Odhaduje se, že je infikována více než polovina lidstva. Ve vyspělých zemích je prevalence této infekce 15 – 40 %, v rozvojových zemích 75 – 99 %. Při zhoršených socioekonomických podmínkách se prevalence zvyšuje. V České republice je infikováno kolem 42 % obyvatel.

H pylori je pohyblivá gramnegativní mikroaerofilní tyčka. Je charakteristická produkcí ureázy. Kolonizuje povrch žaludeční sliznice. Přítomnost bakterie vyvolá ve všech případech rozvoj chronické gastritidy, na jejímž podkladě mohou vzniknout další závažné choroby – gastroduodenální vředová choroba nebo adenokarcinom žaludku. V roce 1994 byla tato bakterie vyhlášena za karcinogen 1. třídy.

K diagnostice infekce *H pylori* využíváme invazivní a neinvazivní metody. Mezi invazivní metody patří kultivace, histologické vyšetření a rychlý ureázový test. K neinvazivním metodám řadíme dechový test s ureou značenou izotopem uhlíku ¹³C, test vyšetření antigenu HpSA ve stolici a sérologické vyšetření.

H pylori je citlivý na betalaktamová antibiotika, proto by měla být základem léčebného schématu. Rezistence bakterie na tato antibiotika je výjimečná. Pokud je pacient alergický na betalaktamová antibiotika, můžeme je nahradit nitroimidazoly. Bakterie je citlivá i na makrolidy.

Hlavním cílem mé bakalářské práce je osvojení si praktických znalostí správné laboratorní praxe při zpracování stolice a krevního séra při podezření na výskyt bakterie *H pylori*. Ve své práci jsem chtěla též popsat současné trendy v diagnostice a terapii infekce *H pylori* a zjistit četnost výskytu bakterie v závislosti na věku, pohlaví a ročním období. Zjištěné skutečnosti jsem porovnávala s údaji uváděnými v odborné literatuře. Dále jsem zjišťovala v ambulancích českobudějovických gastroenterologů způsoby, jakými je v současné době diagnostikována a léčena gastroduodenální vředová choroba způsobená infekcí *H pylori*.

Sběr dat pro kvantitativní výzkum jsem prováděla v mikrobiologické laboratoři Synlab czech s.r.o. v Českých Budějovicích. Tato laboratoř má spádovou oblast z celého

jihočeského kraje. Vyšetřovaný materiál pocházel nejčastěji z ordinací praktických lékařů, ale i lékařů jiných specializací. Sběr dat jsem prováděla od 1. ledna 2012 do 31. prosince 2012. Data jsem sbírala pomocí dvou vyšetřovacích metod. Jednalo se o metodu euroSCREEN HP a metodu EIA Helicobacter MONO IgG. Metoda euroSCREEN HP je založena na detekci antigenu HpSA ve stolici. EIA Helicobacter MONO IgG je imunoenzymatická metoda pro stanovení IgG protilátek proti *H pylori* v lidském séru nebo plazmě.

Výzkumný soubor pro kvalitativní výzkum byl tvořen lékaři, kteří působí v gastroenterologických ambulancích v Českých Budějovicích. Z každé ambulance byl vybrán jeden lékař. Jako metodu zpracování získaných informací jsem zvolila řízený polostrukturovaný rozhovor. Získané rozhovory jsem zpracovala do kazuistik, na jejichž základě jsem pak vytvořila kategorizační tabulky.

V kvantitativním výzkumu se mi podařilo potvrdit všechny tři hypotézy. Ve vyšších věkových kategoriích pacientů byl vyšší výskyt infekce *H pylori*. Výskyt infekce *H pylori* nebyl závislý na pohlaví pacientů ani na ročním období. V kvalitativním výzkumu jsem zjistila, že českobudějovičtí gastroenterologové diagnostikují gastroduodenální vředovou chorobu především gastroskopicky s odběrem bioptických vzorků. Vzorky následně odesílají do mikrobiologické laboratoře na kultivaci, histologické vyšetření a rychlý ureázový test. Infekci *H pylori* léčí klasickou trojkombinační léčbou inhibitorem protonové pumpy, amoxicilinem a klaritromycinem. Při přecitlivělosti na betalaktamová antibiotika užívají trojkombinaci inhibitoru protonové pumpy, metronidazolu a klaritromycinu. S rezistencí na metronidazol a klaritromycin se setkávají občas. V případě rezistence provedou kultivaci se stanovením citlivosti na antibiotika. Efekt eradikační léčby ověřují vždy 6 až 8 týdnů po eradikaci pomocí kontrolní gastroskopie s odběrem bioptických vzorků, které jsou odeslány do mikrobiologické laboratoře. Někteří využívají i stanovení antigenu HpSA ve stolici.

Všechny cíle mé bakalářské práce se mi podařilo splnit. Práce může sloužit jako přehled dané problematiky pro studenty zdravotnických oborů a zdravotní laboranty. Může být rovněž užitečná pro širokou veřejnost se zájmem o danou problematiku.

Abstract

Helicobacter pylori infection is among the most frequent infections in the world. It is estimated that more than a half of the world's population is infected, with the prevalence of 15 – 40 % in developed and 75 – 99 % in developing countries. The prevalence increases due to worsening socio-economic conditions. The infection rate in the Czech Republic is around 42 %.

H pylori is a Gram-negative, microaerophilic rod-shaped moving bacterium, notorious for its urease production. It colonizes gastric mucosa and always leads to chronic gastritis, which may result in the development of other serious diseases, such as gastroduodenal ulcer disease and gastric adenocarcinoma. In 1994, *H pylori* was classified as a category 1 carcinogen.

H pylori infection can be tested for invasively and noninvasively. The invasive methods include cultivation, histological examination and a rapid urease test. Noninvasive options are the carbon urea breath test, a stool antigen (HpSA) test and a blood antibody test.

H pylori is sensitive to β -lactam antibiotics. These should therefore be the essential part of the treatment; the instances of resistance are rare. Should the patient be allergic to β -lactam antibiotics, nitroimidazoles can be used instead. *H pylori* is also sensitive to macrolides.

The objective of my bachelor thesis was to acquire practical knowledge necessary for the correct processing of stool and serum samples in laboratory practice. I also intended to describe current trends in diagnosis and treatment of *H pylori* infection, together with the infection rates depending on age, sex and the season of the year. The findings were discussed in the context of relevant academic literature. Finally, I monitored the ways in which gastroduodenal ulcer disease caused by *H pylori* infection is diagnosed and treated by gastroenterologists in České Budějovice.

The collection of the data for quantitative research was carried out between 1 January 2012 and 31 December 2012 in the microbiological laboratory Synlab czech s.r.o. in České Budějovice, which covers the whole of the South Bohemian Region. The

samples were supplied mostly, but not exclusively, by GPs, and two methods of medical examination (euroSCREEN HP and EIA Helicobacter MONO IgG) were used. EuroSCREEN HP is based on the stool antigen (HpSA) detection, EIA Helicobacter MONO IgG is an immunoenzymatic method detecting IgG antibodies against *H pylori* in human serum or plasma.

The data for qualitative research were collected in gastroenterologic ambulances in České Budějovice. Guided semi-structured interviews were carried out with one doctor in each ambulance. The acquired data were then processed as case studies and used to obtain categorization tables.

The quantitative research confirmed all three hypotheses subject to evaluation. Higher age groups were found to have higher infections rates. However, no effect of either sex or the season of the year on the infection rates was registered. The qualitative research showed that gastroduodenal ulcer disease is most frequently diagnosed by České Budějovice gastroenterologists by the means of a biopsy check during gastroscopy. The samples are then sent to a microbiological laboratory for cultivation, histological examination and a rapid urease test. *H pylori* infection is usually treated by the standard triple therapy: amoxicillin, clarithromycin and a proton pump inhibitor. In case of hypersensitivity to β -lactam antibiotics clarithromycin, a proton pump inhibitor and metronidazole are used instead. Occasional resistance to metronidazole and clarithromycin was reported. In these situations, cultivation is carried out in order to determine the sensitivity to antibiotics. The effects of the eradication treatment are evaluated by the means of a biopsy check during gastroscopy 6-8 weeks after its application. The samples are analysed in a microbiological laboratory. Some gastroenterologists also use a stool antigen (HpSA) test.

All the objectives outlined for this thesis have been achieved successfully. The text could serve as a useful reference material for medical and paramedical students, but also for the general public.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval(a) samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 3. 5. 2013

.....

Michaela Pospíšilová

Poděkování

Děkuji vedoucímu bakalářské práce MUDr. Radimovi Kramářovi, CSc. za cenné rady, připomínky a metodické vedení práce. Dále pak děkuji všem osloveným českobudějovickým gastroenterologům za jejich vstřícnost a ochotu, s kterou mi poskytli rozhovory pro můj výzkum.

Obsah

Úvod	10
1. Současný stav dané problematiky	12
1.1 Historie	12
1.2 Rod <i>Helicobacter</i>	12
1.3 Morfologie a fyziologie	13
1.4 Faktory patogenity a virulence	14
1.5 Patogeneze	15
1.6 Epidemiologie	16
1.7 Laboratorní diagnostika	17
1.7.1 Invazivní metody	18
1.7.2 Neinvazivní metody	19
1.8 Nemoci způsobené <i>H pylori</i>	21
1.9 Terapie	22
2. Cíl práce, hypotézy a výzkumné otázky	25
2.1 Cíle práce	25
2.2 Hypotézy pro kvantitativní výzkum	25
2.3 Výzkumné otázky pro kvalitativní výzkum	26
3. Metodické postupy	27
3.1 Kvantitativní výzkum	27
3.1.1 Charakteristika výzkumného souboru	27
3.1.2 Použité metody a techniky	27
3.2 Kvalitativní výzkum	31
3.2.1 Charakteristika výzkumného souboru	31
3.2.2 Použité metody a techniky	32
4. Výsledky	33
4.1 Kvantitativní výzkum	33
4.1.1 Četnost infekce <i>H pylori</i> dle věkových kategorií pacientů	33
4.1.2 Četnost infekce <i>H pylori</i> dle pohlaví pacientů	34

4.1.3 Četnost infekce <i>H pylori</i> dle ročního období.....	34
4.2 Kvalitativní výzkum	35
4.2.1 Kazuistiky respondentů výzkumu	35
4.2.2 Kategorizace dat v tabulkách	39
5. Diskuse	44
6. Závěr	48
7. Seznam informačních zdrojů	50
8. Klíčová slova	55
9. Přílohy	56

Úvod

Zvolila jsem si toto téma bakalářské práce, protože infekce *Helicobacter pylori* patří mezi celosvětově nejčastější infekce. Odhaduje se, že je infikována více než polovina lidstva. Ve vyspělých zemích je prevalence této infekce 15 – 40 %, v rozvojových zemích 75 – 99 %. Při zhoršených socioekonomických podmínkách se prevalence zvyšuje. V České republice je infikováno kolem 42 % obyvatel. Přenos infekce není ještě zcela objasněn. Předpokládá se cesta oro-orální a oro-fekální.

H pylori je gramnegativní nesporeující mikroaerofilní tyčka s 3 až 4 pohyblivými bičíky. Bakterie má spirálovitý tvar, při prodloužené nebo opakované kultivaci převažují kokoidní formy. Je charakteristická produkcí ureázy, katalázy, oxidázy, alkoholdehydrogenázy a peroxidismutázy. Kolonizuje povrch žaludeční sliznice. Přítomnost bakterie vyvolá ve všech případech rozvoj chronické gastritidy, na jejímž podkladě mohou vzniknout další závažné choroby – gastroduodenální vředová choroba nebo adenokarcinom žaludku. V roce 1994 byla tato bakterie vyhlášena za karcinogen 1. třídy. Souvislost mezi infekcí *H pylori* a karcinomem byla odvozena z rozsáhlých epidemiologických studií.

K diagnostice infekce *H pylori* využíváme invazivní a neinvazivní metody. Mezi invazivní metody patří kultivace, histologické vyšetření a rychlý ureázový test. K neinvazivním metodám řadíme dechový test s ureou značenou izotopem uhlíku ¹³C, test vyšetření antigenu *H pylori* ve stolici a sérologické vyšetření.

H pylori je vysoce citlivý na betalaktamová antibiotika, proto by měla být základem léčebného schématu. Rezistence bakterie na tato antibiotika je výjimečná. Pokud je pacient alergický na betalaktamová antibiotika, můžeme je nahradit nitroimidazoly. Bakterie je citlivá i na makrolidy.

Hlavním cílem mé bakalářské práce je osvojení si praktických znalostí správné laboratorní praxe při zpracování stolice a krevního séra při podezření na výskyt bakterie *H pylori*. Ve své práci jsem chtěla též popsat současné trendy v diagnostice a terapii infekce *H pylori* a zjistit četnost výskytu bakterie v závislosti na věku, pohlaví a ročním období. Zjištěné skutečnosti jsem porovnála s údaji uváděnými v odborné literatuře.

Dále jsem zjišťovala v ambulancích českobudějovických gastroenterologů způsoby, jakými je v současné době diagnostikována a léčena gastroduodenální vředová choroba způsobená infekcí *H pylori*.

1. Současný stav dané problematiky

1.1 Historie

Za objevem bakterie *Helicobacter pylori* stáli dva australští vědci z Royal Perth Hospital – patolog Robin Warren a gastroenterolog Barry J. Marshall, kteří se zabývali bakteriální kolonizací žaludku. Potvrdili v žaludku přítomnost drobných, zakřivených bakterií, které bylo možné rozpoznat při barvení stříbrem. Vědci požádali o pomoc s izolací této bakterie mikrobiologa Stewarda Goodwina z téže nemocnice. Při standardní inkubaci dlouhé 48 hodin se jim však nepodařilo bakterii vykultivovat. Díky dlouhému pracovnímu volnu v důsledku oslav Velikonoc zjistili po návratu do práce, že zapomněli před svátky odečíst plotny. Na plotnách tak našli po 5 dnech narostlé kolonie bakterií, které se podobaly kampylobakterům. Jednalo se o kolonie bakterie *H pylori*. Australští vědci pak tuto bakterii vykultivovali téměř všem svým pacientům s gastroduodenální vředovou chorobou. Na základě toho se domnívali, že by tato bakterie mohla hrát významnou úlohu v rozvoji této nemoci. Výsledky svých bádání pak prezentovali roku 1983 v Bruselu na II. mezinárodním pracovním zasedání o kampylobakterových infekcích (22).

Roku 1987 byla v Copenhagenu založena Evropská společnost pro studium *Helicobacter pylori*. Tato společnost se věnuje problematice *H pylori* a gastroduodenální patologii. Zasedá jednou za rok (22).

H pylori stojí za vznikem téměř poloviny karcinomů žaludku. Proto v roce 1994 vyhlásila International Agency for Research on Cancer, World Health Organization a National Institutes of Health tuto bakterii za karcinogen 1. třídy. Souvislost mezi infekcí *H pylori* a karcinomem byla odvozena z rozsáhlých epidemiologických studií (25).

1.2 Rod *Helicobacter*

Tento rod byl vyčleněn z rodu *Campylobacter* Goodwinem a jeho spolupracovníky roku 1989. Oba rody se liší v počtu bičíků. Bakterie z rodu *Campylobacter* mají jeden

neobalený bičík, bakterie z rodu *Helicobacter* 3 až 4 obalené bičíky. Další důležitou odlišností je schopnost produkce ureázy (22).

Rod *Helicobacter* patří mezi gramnegativní nesporulující mikroaerofilní tyčky. Bakterie mají spirálovitý tvar a jsou charakteristické produkcí ureázy (24). Helikální bakterie byly dosud pozorovány kromě člověka také v žaludku koček, psů, fretek, opic a prasat. Společným znakem těchto bakterií je výskyt v hlenové vrstvě a obtížná kultivace in vitro. Tento druh má v současné době 29 zástupců a zdá se, že počet druhů patřících mezi helikobaktery není ještě ukončen. Do tohoto rodu patří i *H pylori*, který osidluje žaludeční sliznici člověka, vepřů, primátů a koček. Podílí se na vzniku řady lidských onemocnění např. gastroduodenální vředové choroby a chronické gastritidy (22).

1.3 Morfologie a fyziologie

Bakterie kolonizují žaludeční sliznici. Jsou uloženy v hlenu, který ji pokrývá. V hlenu jsou distribuovány nerovnoměrně. Morfologicky mají vzhled spirály či vlnovky, mohou vypadat i jako písmena V či Y. Jsou dlouhé až 3 μm . V primokulturách na kultivačních půdách převažují tyčky, při opakovaném pasážování či prodloužené kultivaci začínají převažovat kokoidní formy (15). Mají bičíky, které jsou umístěné unipolárně a jsou ve svazku. V jednom svazku jsou tři až čtyři bičíky, které jsou obalené a na konci paličkovitě rozšířené. Vzácně však mohou být i bez bičíků. Při histologickém vyšetření má ostře ohraničené konce (4).

Při kultivaci se doporučuje inkubovat homogenizovaný vzorek tkáně současně na dvou půdách – neselektivní a selektivní (s přídavkem antibiotik a antimykotik). Vhodné je to zejména u pacientů s hypoaciditou žaludku, u nichž může být žaludeční sliznice kontaminována kvasinkami, grampozitivními koky či nefermentujícími bakteriemi. Kultivační půdy pro helikobaktery jsou tvořeny čokoládovým agarem z koňských erytrocytů. Tyto půdy jsou obohaceny o sérum, koňskou krev a hemin (29). Kultivace pak probíhá při 37 °C ve vlhkém mikroaerofilním prostředí. Vhodná atmosféra pro kultivaci obsahuje 5 % kyslíku, 10 % oxidu uhličitého a 85 % dusíku. Kolonie helikobakterů narostou za tři až pět dnů. Pokud pacientovi již byla podána antibiotika,

pak dojde k zpoždění při nárůstu kolonií. Z tohoto důvodu se doporučuje prodloužit kultivaci až na sedm dní. Kolonie *H pylori* u pacienta zaléčeného antibiotiky jsou drobné, nenápadné, s našedlým povrchem, částečně transparentní. Kolonie mají v průměru 2 - 3 mm. U neléčeného pacienta jsou zřetelně větší. Některé kmeny tvoří úzkou zónu hemolýzy (3).

H pylori má bohatou biochemickou aktivitu. Je schopen produkovat oxidázu, katalázu a ureázu. Ureáza katalyzuje rozklad močoviny za vzniku amoniaku. Produkce ureázy se využívá k biochemickému průkazu přítomnosti *H pylori* přímo v odebraném bioptickém materiálu. Bakterie rovněž produkuje alkoholdehydrogenázu a peroxidismutázu. Nefermentuje ani neoxiduje sacharidy (30).

1.4 Faktory patogenity a virulence

H pylori je patogenní pouze pro člověka. Byla prokázána jeho spoluúčast při vzniku chronické gastritidy typu B a gastroduodenální vředové choroby. Mimo žaludeční sliznici vytváří bakterie kokoidní útvary, které jsou zřejmě infekční formou mikroba. V této formě, která je rezistentní vůči vlivům okolního prostředí, se bakterie přenáší vzduchem. Bakterie má mnoho faktorů patogenity: adheziny, stěnový lipopolysacharid, bičíky, přechod v kokoidní formu, toxiny, oxidázu, katalázu, ureázu, fosfolipázu, glykofosfatázu, proteázu, aldehyddehydrogenázu, hemolyziny, cytotoxiny a protein inhibující tvorbu HCl. *H pylori* prostřednictvím svých exogenních produktů ovlivňuje indukci leukotrienů, prokoagulační aktivitu interleukinů, dále aktivaci cytochromu P450, indukci některých destičkových faktorů a autoimunitních reakcí (3).

Virulence jednotlivých kmenů se může lišit jak v množství jednotlivých faktorů, tak v jejich zastoupení. Mezi faktory virulence *H pylori* patří antigenní produkty genů *cagA* a *vacA*. Tyto faktory hrají roli v efektivní infiltraci žaludečních sliznic a jsou spojeny s přetrváváním infekce. Rovněž přispívají k zánětlivé odpovědi, tvorbě vředů (gastrických i peptických), k alergiím a snížení účinnosti terapie. Vakuolizační toxin *vacA* se váže na membrány epiteliálních buněk a vytváří kanál, kterým pak mohou procházet bikarbonáty a organické anionty. Dále se váže na mitochondrie, kde

způsobuje uvolnění cytochromu C a indukuje apoptózu. Některé varianty *vacA* jsou spojeny s těžkými formami chronické gastritidy. Klinicky důležitým je silně imunogenní *cagA* protein, který je vylučován do žaludečních buněk. Pacienti s protilátkami proti genu *cagA* mají pětikrát větší pravděpodobnost rizika vzniku adenokarcinomu žaludku než referenční skupina infikovaná negativním bakteriálním kmenem *cagA* (26).

1.5 Patogeneze

Bakterie se přenáší v kokoidní formě, ve které dobře odolává vlivům okolního prostředí. Poté, co se usadí na žaludeční sliznici, začne produkovat ureázu. Ureáza štěpí ureu na amoniak a oxid uhličitý. Amoniak pak neutralizuje kyselinu chlorovodíkovou v okolí bakterie. Tímto způsobem je zajištěna ochrana před kyselým žaludečním prostředím, které je pro bakterii nepříznivé. *H pylori* je rovněž schopen zablokovat tvorbu kyseliny chlorovodíkové pomocí speciálního proteinu. Bakterie se váže na slizniční povrch pomocí adhezínů. Díky svému tvaru a bičíkům snadno proniká pod hlenovou vrstvu žaludeční sliznice. Po průniku hlenovou vrstvou začne bakterie produkovat proteázu a fosfolipázu, které pomáhají šíření bakterie po sliznici. *H pylori* produkuje též glykosulfatázu, která interferuje s glykoproteiny slizničního hlenu (16).

H pylori má řadu únikových mechanismů, které mu pomáhají unikat před imunitním systémem. K těmto mechanismům patří např. tvorba katalázy, která ho chrání před fagocytózou. Bakterie poškozují epitel pomocí zánětlivých mediátorů, fosfolipáz, etanolu, acetaldehydu, cytotoxinů a amoniaku. Fosfolipázy poškozují fosfolipidy buněčných membrán. Amoniak škodí degradací lecitinu na toxický lysolecitin. Přítomnost bakterie *H pylori* rovněž stimuluje degranulaci leukocytů, lokální tvorbu protilátek, tvorbu interleukinů a TNF. Aktivní chronická gastritida typu B je provázena zánětlivou infiltrací a tvorbou lymfatických folikulů (16).

H pylori způsobuje gastritidu typu B, na jejíž podkladě může vzniknout gastroduodenální vředová choroba. Gastritida však může přejít ve formu atrofickou, kdy se postupně začne vyvíjet intestinální metaplázie s možným rozvojem dysplastických

změn. Významné jsou však především regenerační děje. Buněčná proliferace totiž zvyšuje pravděpodobnost mylné replikace genetické informace pod vlivem mutagenů ze zevního prostředí, což může vést k malignímu zvratu a k rozvoji adenokarcinomu žaludku (26).

1.6 Epidemiologie

Největším rezervoárem a vektorem přenosu infekce je člověk. Rezervoárem však mohou být i domácí zvířata (zejména psi a kočky) a dále i kontaminovaná voda (studny). Nejpravděpodobnější způsob šíření infekce je z osoby na osobu. Bakterie se přenáší v kokoidní formě, ve které dobře odolává vlivům okolního prostředí. Přenos se děje nejčastěji cestou oro-orální. K infekci může dojít i po perorálním podání kontaminované vody. Proto se uvažuje o možné cestě oro-fekální. Cesta přenosu infekce nebyla dosud zcela objasněna. Vyšší výskyt infekce byl pozorován v rodinách, větších kolektivech, u lékařů (gastroenterologů) a u zdravotnických pracovníků, kteří se dostanou do styku s histologickým materiálem získaným z žaludeční biopsie infikovaných jedinců. Inkubační doba je asi 1 týden (17).

Infekce *H pylori* je v současnosti v populaci velmi rozšířená. Ve vyspělých zemích je ve věku 60 let infikována až polovina populace. Bylo prokázáno, že prevalence infekce stoupá s věkem. Vyšší výskyt bakterie byl také pozorován u rodinných příslušníků infikovaných osob. Prevalence infekce byla mnohonásobně vyšší v rozvojových zemích, kde bylo do 20 let věku nakaženo až 80 % populace. Prevalence a věk jedince v době získání infekce jsou odlišné v různých částech světa a velmi se liší v různých populacích. Výskyt infekce závisí tedy na rozdílech mezi kulturami, národnostmi, etniky, na stupni vzdělanosti a na socioekonomických podmínkách. K těmto podmínkám patří nízké socioekonomické postavení, život v přelidněných lokalitách a špatná hygienická opatření. Rovněž je třeba počítat s odlišnou virulencí kmenů *H pylori* a rozdílnou geneticky zakotvenou individuální vnímavostí jedinců k infekci. Někteří autoři ukázali, že za vnímavost nebo rezistenci k infekci *H pylori* může být zodpovědný gen HLA-DQA1 (22).

Ve vyspělých zemích je typická minimální prevalence infekce v dětství, mírný vzestup před 50. rokem života a pak výrazný nárůst po 50. roce života. Tato křivka by mohla být chybně interpretována jako postupné přibývání infekce ve středním věku. Spíše se však jedná o sníženou incidenci nových infekcí *H pylori* u dnešních dětí a mladých lidí. Dochází tedy k efektu kohorty, což je snížení výskytu onemocnění v po sobě jdoucích generacích, které je důsledkem zlepšené sociálně-ekonomické situace, ve které nové generace vyrůstají. Mezi typické oblasti s vysokým výskytem infekce patří Brazílie, Afrika, Asie a východní Evropa. Imigrace lidí z těchto oblastí do vyspělých zemí může zvyšovat prevalenci této infekce (22).

Prevalence infekce *H pylori* byla v České republice v době poválečné a za vládnoucího komunistického režimu mezi 60 až 95 %. V roce 2001 byla provedena studie, která měla znovu zhodnotit prevalenci této infekce na vzorku 2 509 osob ve věku 5 až 100 let. Bylo zjištěno, že prevalence u mužů dosahovala 41,9 % a u žen 41,4 %. Prevalence vzrůstala s věkem, ale nezávisela na pohlaví osob. Za nejvíce rizikovou skupinu byly označeni děti matek se základním nebo nižším vzděláním, žijící v malých městech v přeplněných domácnostech a bez přístupu k teplé tekoucí vodě. Nízká vzdělanost a kouření byly asociovány s výskytem infekce *H pylori* (6). Nejen z této studie, ale i ze studie provedené týmiž vědci v roce 2006, vyplývá, že v České republice trvale dochází k poklesu prevalence infekce. Jako hlavní důvod jsou uváděny příznivé a zlepšující se socioekonomické podmínky (5).

1.7 Laboratorní diagnostika

K diagnostice infekce *H pylori* využíváme invazivní a neinvazivní metody. Mezi invazivní metody patří kultivace, histologické vyšetření a rychlý ureázový test. K neinvazivním metodám řadíme dechový test s ureou značenou izotopem uhlíku ¹³C, test vyšetření antigenu *H pylori* ve stolici a sérologické vyšetření (8).

1.7.1 Invazivní metody

Invazivní metody prokazují bakterii v bioptickém materiálu odebraném ze žaludeční nebo duodenální sliznice při fibroskopickém vyšetření. Transport do laboratoře se provádí rychle, v chladu a pomocí speciálního transportního media např. Stuartova. V laboratoři je třeba nejprve vzorek zhomogenizovat. Vzorky se pak vyšetřují kultivačně, histologicky, nebo pomocí rychlého ureázového testu (22).

Mezi invazivní metody patří kultivace *H pylori*, která se provádí v anaerostatech na speciálních tuhých kultivačních půdách. Identifikace bakterie je snadná na základě morfologie buněk, pozitivní katalázové a oxidázové reakce. Dále se dá bakterie prokázat svojí citlivostí k cefalotinu a rezistencí ke kyselině nalidixové (31). Kultivační test vykazuje nejvyšší senzitivitu a specifitu. K jeho dalším výhodám patří snadná příprava v laboratoři a možnost stanovení citlivosti na antibiotika. Omezení této metody jsou obtížná kultivace ze stolice, málo informací o životaschopnosti bakterií a dlouhá doba čekání na výsledek (13).

K invazivním metodám řadíme i histologickou diagnostiku, která zpracovává bioptické vzorky naložené v 10% roztoku formaldehydu. Následně dochází k barvení hematoxylinem a eozinem a pozorování vzorků světelným mikroskopem. Tato metoda je považována za zlatý standart v rutinní nemocniční diagnostice. Ukázalo se, že histologie je dostatečně senzitivní metoda k průkazu infekce *H pylori* u pacientů s žaludečním vředem. Častěji byla pozorována falešná negativita než falešná pozitivita. Za faktory, které se podílely na vzniku tohoto jevu, byly identifikovány: věk, pohlaví, lokalizace vředu, velikost vředu, počet biopsií, stupeň malignity, atrofie žaludeční sliznice a střevní metaplázie (18). Bakterii *H pylori* lze prokazovat i stříbřením (22).

Mezi invazivní metody patří dále i rychlý ureázový test. Tento test spočívá v průkazu enzymu ureázy, který je produkován bakterií *H pylori*. Odebraný vzorek žaludeční sliznice se zanoří do polotuhé půdy s močovinou. Ureáza štěpí močovinu na amoniak za současného vzestupu pH. Změna pH je prokazována pomocí pH senzitivního chemického indikátoru. Pozitivní výsledek se projeví do dvou hodin. Tento test má vysokou senzitivitu a specifitu – okolo 90 %. Je však známo, že tyto vlastnosti

ovlivňují různé léky – inhibitory protonové pumpy, antibiotika, antagonisté H₂-receptorů a bismut. Zmíněné skutečnosti si všimli íránští vědci v Imam Hossein nemocnici v Teheránu, a proto se rozhodli zkoumat vliv užití nesteroidních protizánětlivých látek na senzitivitu, specifitu a přesnost této diagnostické metody. Zjistili, že užívání nesteroidních antiflogistik nevede k falešně negativním výsledkům, proto není třeba tyto léky vysazovat před plánovaným vyšetřením pomocí rychlého ureázového testu (12).

1.7.2 Neinvazivní metody

K neinvazivním metodám řadíme dechový test s ureou značenou izotopem uhlíku ¹³C. Tento test je považován za zlatý standart a má vysokou specifitu a senzitivitu. Test probíhá tak, že se pacientovi podá perorálně izotopem značená urea, která je v žaludku rychle hydrolyzována ureázou *H pylori* na amoniak a oxid uhličitý. Získaný ¹³CO₂ přechází žaludeční stěnou do systémové cirkulace. Její pomocí se dostává do plic a následně je detekován ve vydechovaném vzduchu (21). Metoda je však velmi finančně nákladná, proto není běžně dostupná (22).

Mezi neinvazivní metody patří dále detekce antigenu ve stolici standardní sendvičovou ELISOU. Zředěný vzorek pacientovy stolice přidáme na mikrotitrační destičku s polyklonální protilátkou konjugovanou s peroxidázou. Po vymytí přidáme substrát. Výsledky odečítáme spektrofotometrem při $\lambda = 450$ nm. Studie provedená v Helsinkách, jíž se účastnilo 1574 pacientů, zjistila že v případě užití polyklonálních protilátek má tato metoda užitá v primární diagnostice *H pylori* vysokou senzitivitu a specifitu – 92 %, 96 %. K hodnocení účinnosti eradikační léčby se však nehodí, protože se snižuje senzitivita na 81 % a zvyšuje se riziko falešné positivity (29).

K detekci antigenu ve stolici lze užít i monoklonální protilátky. Ve Španělsku se uskutečnila studie porovnávající užití polyklonálních (HpSA) a monoklonálních protilátek (HpStAR) k detekci antigenu *H pylori* ve stolici. 177 vzorků bylo vyšetřeno metodou HpSA a 182 metodou HpStAR. Prokázalo se, že při použití monoklonálních protilátek k hodnocení účinnosti eradikační léčby se výrazně zvyšuje senzitivita – až na

91 %. Monoklonální protilátky jsou proto k hodnocení účinnosti eradikační léčby vhodnější než polyklonální (9).

Dechový test s ureou značenou izotopem uhlíku ^{13}C a test detekce povrchového antigenu *H pylori* ve stolici jsou vhodné pro primární diagnostiku a též pro hodnocení efektu eradikační léčby (23).

Na íránské univerzitě v Isfahánu proběhla studie 94 pacientů s indikací k endoskopickému vyšetření, jejíž cílem bylo porovnat výše uvedené diagnostické metody. Vědci hodnotili senzitivitu, specifitu a přesnost metod. Nejlépe dopadla metoda vyšetření antigenu HpSA ve stolici – 96 %, 83 %, 91 %, naopak nejhorší výsledky mělo sérologické vyšetření – 50 %, 54 %, 52 % (14).

Sérologické testy patří mezi neinvazivní metody. Protilátky lze detekovat celou řadou imunologických a sérologických technik jako je imunobloting, imunofluorescence, hemaglutinace, fixace komplementu, latexové testy apod. Stanovení je možno provádět v krevním séru, v moči a ve slinách. Nejčastěji používanou sérologickou metodou je ELISA. Při vyšetření stanovujeme specifické IgG a IgA protilátky proti antigenům CagA a VacA. Tato metoda je jednoduchá, rychlá, levná a spolehlivá. Specifita a senzitivita metody je však značně závislá na použitém antigenu. Diagnostický význam stanovení protilátek proti *H pylori* je stále předmětem výzkumu, pro screeningové programy vhodné není (1).

Mezi sérologické testy patří i Western Blot. Tato metoda využívá gelovou elektroforézu k separaci proteinů podle jejich velikosti. Po separaci jsou proteiny přeneseny na povrch membrány, kde jsou následně detekovány specifickými protilátkami. Studie provedená vědci z Londýna ukázala, že stanovení IgG ve slinách touto metodou je užitečná pro diagnózu infekce *H pylori*. Tato metoda je v tomto případě nadřazena i ELISE, neboť umožňuje identifikaci patogenních řetězců (2).

Sérologické testy se pro diagnostiku a hodnocení efektu eradikační léčby v současné době považují za nevhodné. K vymizení protilátek k *H pylori* dochází až po řadě měsíců a navíc ne u všech úspěšně eradikovaných. U části pacientů s infekcí se protilátky neobjeví vůbec (27).

Dále lze prokazovat infekci *H pylori* metodou PCR, která má vysokou specifitu a senzitivitu. Tato metoda umožňuje diagnostikovat bakterie i ve vysoce kontaminovaném prostředí (13).

Pro diagnostiku infekce *H pylori* je tedy nejvhodnější užít některý z invazivních testů z bioptického vzorku při gastroskopii (rychlý ureázový test, histologie, kultivace). Z neinvazivních testů je nejvhodnější dechový test s ¹³C ureou nebo stanovení antigenu HpSA ve stolici. K ověření úspěšnosti eradikace *H pylori* je nejvhodnější dechový test s ¹³C ureou a stanovení antigenu HpSA ve stolici (7).

1.8 Nemoci způsobené *H pylori*

Infekce *H pylori* může probíhat zcela asymptomaticky, nebo může být provázena různými dyspeptickými obtížemi. K těmto obtížím patří např. indigestce, bolesti v epigastriu, pálení žáhy, regurgitace, říhání, nechutenství, nevolnost, zvracení, váhový úbytek, meteorismus a flatulence. Infekce může být lokalizována v žaludečním antru, duodenu nebo jícnu (17). U 5 – 10 % nositelů však v průběhu života nezpůsobí žádné onemocnění. V poslední době se tedy objevila domněnka, že by u těchto lidí mohl být *H pylori* přirozenou součástí fyziologických funkcí žaludku. Z tohoto důvodu dochází také k odklonu od úvah celoplošné eradikace infekce *H pylori* (7).

H pylori způsobuje chronickou gastritidu typu B, atrofickou gastritidu, gastroduodenální vředovou chorobu, adenokarcinom žaludku a MALT lymfom žaludku. U řady dalších onemocnění se význam infekce zatím zkoumá. K těmto onemocněním patří ischemická choroba srdeční, idiopatická trombocytopenická purpura, různá orgánově specifická autoimunitní onemocnění, autoimunitní thyreopatie, kožní onemocnění, neurologické choroby, sideropenická anemie a hepatobiliární choroby (10).

1.9 Terapie

Léčiva užívaná k léčbě gastroduodenální vředové choroby lze rozdělit podle mechanismu účinku do několika skupin – látky snižující sekreci HCl, léčiva ochraňující gastroduodenální sliznici, cytoprotektiva, antacida a látky sloužící k eradikaci helikobakterové infekce (19).

K látkám, které snižují tvorbu HCl v žaludku, patří H₂-antihistaminika, inhibitory protonové pumpy a selektivní parasymptolytika. H₂-antihistaminika jsou antagonisty histaminu na H₂-receptorech. Inhibují také sekreci HCl. Současně klesá i množství pepsinu, který podmiňuje autodigesci žaludeční sliznice. Inhibitory protonové pumpy způsobují ireverzibilní blokádu protonové pumpy a v důsledku toho i blokádu sekrece HCl do lumen žaludku. Blokáda sekrece kompletně vymizí po 4 až 5 dnech, kdy je již vytvořena nová protonová pumpa. Snížení žaludeční sekrece HCl lze také dosáhnout selektivními antagonisty acetylcholinu na M₁-receptorech. S jejich pomocí dochází i k tlumení uvolňování histaminu z parakrinních buněk (19).

K látkám chránící žaludeční sliznici patří sukralfát a soli bismutu. Sukralfát vytváří ochrannou vrstvu na sliznici, váže pepsin a stimuluje tvorbu cytoprotektivních prostaglandinů. Soli bismutu mají výrazný antibakteriální účinek na infekci *H pylori* (19).

Cytoprotektiva zvyšují tvorbu hlenu, sekreci bikarbonátu a zlepšují prokrvení žaludeční sliznice a obnovu jejích buněk. Antacida neutralizují HCl již vytvořenou a přítomnou v žaludku. Dále zvyšují pH žaludečního obsahu a tím snižují aktivaci pepsinogenu. Vytvářejí na žaludeční sliznici ochrannou vrstvu. Mohou také stimulovat sekreci endogenních prostaglandinů (19).

Důsledkem léčby pomocí předcházejících skupin léčiv může dojít ke zhojení peptického vředu. Zůstává však zcela zásadní problém, neboť se do dvou let objevuje asi u 80 % pacientů recidiva, pokud nebyla zároveň eradikována infekce *H pylori* (19).

Ideální léčba helikobakterové infekce by měla splňovat několik podmínek: účinnost, dobrou snášenlivost, jednoduchost a ekonomickou dostupnost. Existuje celá řada schémat pro eradikaci infekce *H pylori*. Žádné z nich nesplňuje všechny podmínky

a ani nezaručuje 100% úspěšnost. Pro správný efekt léčby je velmi důležitá compliance pacienta. Dále je třeba volit taková terapeutická schémata, která mají vysokou léčebnou úspěšnost. *H pylori* je vysoce citlivý na betalaktamová antibiotika, proto by měla být základem léčebného schématu. Rezistence bakterie na tato antibiotika je výjimečná. Pokud je pacient alergický na betalaktamová antibiotika, můžeme je nahradit nitroimidazoly. Bakterie je citlivá i na makrolidy (32).

Léčbou první volby je trojkombinace inhibitor protonové pumpy + klaritromycin + amoxicilin (nebo nitroimidazol) na 7 dní. Při rezistenci na klaritromycin je možno místo něj užít azitromycin na 5 dní. Dalším léčebným schématem první volby je ranitidin-vizmut-citrát + klaritromycin + amoxicilin (nebo nitroimidazol) na 7 dní. Vysokou úspěšnost terapie zaručuje i trojkombinace inhibitor protonové pumpy + amoxicilin + ciprofloxacin na 7 dní (20).

Efekt eradikační léčby vždy ověřujeme a to nejdříve 4 týdny po ukončení terapie. K ověření efektu se užívá stanovení HpSA antigenu ve stolici a ureázový dechový test. Pokud je pacient někdy v tomto období endoskopován, tak se mu odeberou bioptické vzorky, které se pak zpracují buď histologicky nebo pomocí rychlého ureázového testu. Vzorky se odebírají ze třech míst – žaludečního antra, středu žaludečního těla a z fundu. Sérologické testy se pro hodnocení efektu eradikační léčby v současné době považují za nevhodné. K vymizení antihelikobakterových protilátek dochází až po řadě měsíců a navíc ne u všech úspěšně eradikovaných. U části pacientů s infekcí se protilátky neobjeví vůbec (7).

Mezi hlavní příčiny selhání eradikační léčby je nedostatečná compliance pacienta a rezistence *H pylori* na antibiotika. V poslední době stoupá rezistence bakterií hlavně vůči metronidazolu a klaritromycinu. V České republice se udává stupeň rezistence na metronidazol 20 – 30 % a na klaritromycin přes 4 % (7). V případě selhání eradikační terapie se doporučuje odebrat vzorky žaludeční sliznice ke kultivaci a stanovení citlivosti na antibiotika (27).

Při selhání trojkombinační léčby inhibitor protonové pumpy + klaritromycin + amoxicilin je v zahraničí doporučována čtyřkombinační léčba, která se skládá z následujících účinných látek: koloidní vizmut + inhibitor protonové pumpy +

nitroimidazol + tetracyklin (nebo amoxicilin) na 7 až 14 dní. Tato léčba však v České republice není možná pro nedostupnost koloidního vizmutu a tetracyklinu. Alternativou k tomuto terapeutickému schématu je ranitidin-vizmut-citrát na 4 týdny + amoxicilin na 2 týdny (20).

Při selhání trojkombinace inhibitor protonové pumpy + klaritromycin + nitroimidazol je doporučeno užití trojkombinace inhibitor protonové pumpy + klaritromycin + amoxicilin na 14 dní. Alternativou je kombinace inhibitor protonové pumpy + amoxicilin + antibiotikum, které nám vyšlo jako nejúčinnější při stanovení citlivosti bakterie na antibiotika z odebraných bioptických vzorků (7).

Záchrannou léčbou je inhibitor protonové pumpy + rifabutin + amoxicilin na 14 dní. Tato léčba se podává při opakovaném selhání eradikační terapie či při kultivaci kmenů bakterie, které jsou rezistentní jak na klaritromycin tak na nitroimidazoly. Aplikaci této terapie je třeba vždy pečlivě uvážit, neboť je zde riziko selekce multirezistentních kmenů *Mycobacterium tuberculosis*. Tato léčba je rovněž spojena se vznikem leukopenie a trombocytopenie (28).

Novým léčebným postupem je metoda formou sekvenční léčby. Nejprve se podá inhibitor protonové pumpy + amoxicilin na 3 až 5 dní. Na tuto léčbu navazuje kombinace inhibitor protonové pumpy + makrolid + nitroimidazol opět na dobu 3 až 5 dní. Tento způsob terapie má vyšší eradikační schopnost a nižší vznik antibiotické rezistence než klasická trojkombinační léčba. Úspěšnost této formy terapie potvrdila již řada studií (28).

2. Cíl práce, hypotézy a výzkumné otázky

2.1 Cíle práce

Hlavním cílem mé bakalářské práce je osvojení si praktických znalostí správné laboratorní praxe při zpracování stolice a krevního séra při podezření na výskyt bakterie *H pylori*.

Ve své práci jsem chtěla též popsat současné trendy v diagnostice a terapii infekce *H pylori*. Tyto trendy jsem již popsala v kapitole 1 Současný stav.

Dalším cílem bylo zjistit četnost výskytu bakterie v závislosti na věku, pohlaví a ročním období. Zjištěné skutečnosti jsem porovнала s údaji uváděnými v odborné literatuře.

Posledním cílem bylo zjistit, jak je v současné době diagnostikována a léčena gastroduodenální vředová choroba způsobená infekcí *H. pylori* v ambulancích českobudějovických gastroenterologů.

Cíle by se tedy daly shrnout do několika bodů:

1. Osvojit si identifikační metody *H pylori* v rámci laboratorní praxe.
2. Zjistit současné trendy v diagnostice a terapii infekce *H pylori*.
3. Zjistit četnost výskytu a porovnat ji s četností výskytu uváděnou v odborné literatuře.
4. Zjistit postup lékařů při podezření na gastroduodenální vředovou chorobu.

2.2 Hypotézy pro kvantitativní výzkum

Hypotéza 1:

Ve vyšších věkových kategoriích pacientů je vyšší četnost infekce *H pylori*.

Hypotéza 2:

Četnost infekce *H pylori* nezávisí na pohlaví pacientů.

Hypotéza 3:

Četnost infekce *H pylori* nezávisí na ročním období.

2.3 Výzkumné otázky pro kvalitativní výzkum

Výzkumná otázka 1:

Jaké jsou postupy při diagnostice gastroduodenální vředové choroby?

Výzkumná otázka 2:

Jaká jsou terapeutická schémata pro eradikaci helikobakterové infekce?

Výzkumná otázka 3:

Jak se ověřuje efekt eradikační léčby?

3. Metodické postupy

3.1 Kvantitativní výzkum

Cílem tohoto výzkumu bylo zjistit četnost výskytu bakterie *H pylori* v závislosti na věku, pohlaví a ročním období.

3.1.1 Charakteristika výzkumného souboru

Sběr dat pro svoji bakalářskou práci jsem prováděla v mikrobiologické laboratoři Synlab czech s.r.o. v Českých Budějovicích. Tato laboratoř má spádovou oblast z celého jihočeského kraje. Vyšetřovaný materiál pocházel nejčastěji z ordinací praktických lékařů, ale i lékařů jiných specializací. Sběr dat jsem prováděla od 1. ledna 2012 do 31. prosince 2012. Výzkumný soubor je tvořen lidmi různého věku a socioekonomického postavení. Díky multikulturalitě dnešní společnosti se ve výzkumném souboru mohou vyskytnout i jedinci odlišných národností, kultur či etnik.

3.1.2 Použité metody a techniky

Data jsem sbírala pomocí dvou vyšetřovacích metod, které jsou součástí rutinní diagnostiky infekce *H pylori* v mikrobiologické laboratoři Synlab czech s.r.o. v Českých Budějovicích. Jednalo se o metodu euroSCREEN HP a metodu EIA Helicobacter MONO IgG. Metoda euroSCREEN HP je založena na detekci antigenu HpSA ve stolici. EIA Helicobacter MONO IgG je imunoenzymatická metoda pro stanovení IgG protilátek proti *H pylori* v lidském séru nebo plazmě.

Metoda euroSCREEN HP

Jedná se o imunochromatografický test na kvalitativní stanovení antigenu *H pylori* ve stolici. *H pylori* je detekován pomocí specifických protilátek proti *H pylori*. Po

přidání vzorku stolice zředěného pufrům se barevně značené protilátky specificky naváží na bakterie, pokud jsou přítomné ve vzorku. Takto vzniklé komplexy migrují do testovací zóny, kde jsou zachyceny pomocí jiné specifické protilátky a vytvoří červený proužek. Pokud bakterie nejsou přítomny, barevně značené protilátky se nenaváží na testovací linii a červený proužek se nevytvoří. Přítomnost červeného proužku indikuje pozitivní výsledek. Pokud červený proužek chybí, výsledek je negativní. Vytvoření kontrolního proužku potvrzuje funkčnost a správnost zacházení s testem. Senzitivita tohoto testu je > 95,0 %, specifita > 95,7 %.

Odběr vzorku od pacienta se provádí do čisté suché nádoby na odběr stolice z libovolné části stolice z 3 různých míst. Z nádoby na odběr stolice se nabere vzorek pomocí odběrové tyčinky, která vyčnívá z uzávěru zkumavky s pufrům. Zředěný vzorek musí být testován v ten samý den, nebo musí být do testování uskladněn maximálně 2 dny při 4 °C, nebo maximálně 4 dny při -20 °C, jinak výsledek nebude správný.

Před vlastním testováním by měly mít testovací kazety, vzorky pacientů a pufr pokojovou teplotu mezi 15 a 30 °C. Kazety by se neměly otevírat hned po vytáhnutí z lednice, aby nedošlo ke kondenzaci na testovací membráně.

Pracovní postup:

1. Nejprve jsem odšroubovala uzávěr na zkumavce s pufrům a připravila jsem si odběrovou tyčinku. Nabrala jsem vzorek z 3 různých míst stolice.
2. Vložila jsem odběrovou tyčinku zpět do zkumavky a dobře jsem ji uzavřela.
3. Silným třepáním jsem pečlivě promíchala obsah zkumavky. Takto upravený vzorek lze skladovat.
4. Před vykonáním testu jsem si připravila testovací kazetu a položila ji na čistý rovný povrch. Označila jsem kazetu jménem a číslem pacienta. Test je třeba vykonat do 1 hodiny.
5. Papírovým kapesníkem jsem odlomila špičku na uzávěru zkumavky. Pokračovala jsem nakapáním 3 kapek zředěného vzorku do jamky označené S na kazetě. Spustila jsem stopky.

6. Čekala jsem, dokud se neobjevil barevný proužek, či proužky. Po 10 minutách jsem odečetala výsledek. Silně pozitivní vzorky je možné odečítat dříve. Výsledek se nesmí odečítat po uplynutí 20 minut od nakapání vzorku.

Pokud se na membráně objeví 2 barevné proužky (jeden proužek v kontrolní oblasti C, druhý proužek v testovací oblasti T), pak je výsledek pozitivní. Pokud se objeví pouze 1 červený proužek v kontrolní oblasti C a červený proužek v testovací oblasti T není přítomný, pak výsledek je negativní. V případě že se neobjeví žádný proužek v kontrolní oblasti C, anebo se objeví pouze proužek v testovací oblasti T, pak je výsledek neplatný. V tomto případě je třeba zopakovat test s novou testovací kazetou přesně podle návodu na použití.

Intenzita zbarvení proužku v testovací oblasti T může být různá v závislosti na koncentraci substancí přítomných ve vzorku. Proto i slabě zbarvený proužek v testovací oblasti se považuje za pozitivní výsledek. Nejčastějšími příčinami selhání testu a tím i chybějícího proužku v kontrolní oblasti je nedostatečné množství nakapaného vzorku, nedodržení pracovního postupu, či použití proexpirovaného testu.

Metoda EIA *Helicobacter* MONO IgG

Test je určen pro stanovení IgG protilátek proti kmenu *H pylori* s obsahem proteinů *cagA* a *vacA* v lidském séru a plazmě metodou EIA, typ sandwich, tj. pevná fáze – antigen – protilátka – značená protilátka. Značenou protilátkou je prasečí imunoglobulinová frakce proti lidskému IgG konjugovaná křenovou peroxidázou. Stanovení peroxidázové aktivity se provádí pomocí substrátu s TMB. Pozitivita se projevuje modrým zbarvením, které se Zastavovacím roztokem mění na žluté, jehož intenzita se měří na fotometru při vlnové délce 450 nm. Diagnostická senzitivita tohoto testu je 98,9 % a specifita 98,8 %.

Jako vzorek k vyšetření může být použito sérum nebo citrátová plazma. Vzorky je třeba uchovávat v lednici při +2 až +8 °C. Při skladování delším než 4 dny je nutné vzorky zmrazit na -20 °C. Před započítáním testu je ještě potřeba naředit Promývací

roztok destilovanou vodou v poměru 1:19. Takto naředěný roztok je stabilní jeden týden při uskladnění v lednici při +2 až +8 °C. Před zahájením testu je třeba nechat všechny reagensie vytemperovat na laboratorní teplotu a důkladně promíchat.

Pracovní postup:

1. Nejprve jsem promíchané sérum zředila poměrem 1:100 Ředícím roztokem vzorků. Vše jsem znovu opět promíchala.
2. Potom jsem dávkovala Ředící roztok vzorků, kontroly a ředěné vzorky podle pracovního schématu. Do jamky A1 jsem pipetovala 100 µl Ředícího roztoku vzorků (blank), do jamky B1 jsem pipetovala 100 µl Negativní kontroly 10 AU/ml (Kal 1), do jamek C1 a D1 jsem pipetovala 100 µl CUT-OFF 20 AU/ml (Kal 2), do jamky E1 jsem pipetovala 100 µl Pozitivní kontroly 120 AU/ml (Kal 3), do jamek F1 a následujících jsem pipetovala 100 µl testovaných vzorků ředěných 1:100 Ředícím roztokem vzorků.
3. Destičku jsem přikryla víčkem a inkubovala 30 minut při 37 °C.
4. Odsála jsem obsah jamek a pětkrát promyla pracovním promývacím roztokem. Jamky jsem plnila k hornímu okraji. Na závěr jsem vyklepala zbytky roztoku do svého materiálu.
5. Pak jsem dávkovala do všech jamek 100 µl Konjugátu.
6. Destičku jsem přikryla víčkem a inkubovala 30 minut při 37 °C.
7. Opět jsem odsála obsah jamek a pětkrát promyla pracovním promývacím roztokem. Jamky jsem plnila k hornímu okraji. Na závěr jsem vyklepala zbytky roztoku do svého materiálu.
8. Následně jsem dávkovala do všech jamek (včetně blanku) 100 µl jednosložkového substrátu TMB-Complete.
9. Destičku jsem znovu přikryla víčkem a inkubovala 15 minut při 37 °C v temnu.
10. Zastavila jsem reakci přidáním 100 µl Zastavovacího roztoku ve stejném pořadí a intervalech jako byl dávkován substrát (ve všech jamkách včetně blanku).
11. Změřila jsem na fotometru při vlnové délce 450 nm intenzitu zbarvení roztoků v jamkách proti blanku (jamka A1), a to do 30 minut po zastavení reakce.

Dosažené výsledky jsou platné v případě naměření následujících hodnot. Absorbance blanku musí být nižší než 0,150 a absorbance Negativní kontroly (Kal 1) by měla být nižší než 0,200. Průměrná absorbance CUT-OFF (Kal 2) by měla být nejméně 1,5 násobkem absorbance Negativní kontroly (Kal 1) a měla by být v rozmezí 0,150 – 0,850. Průměrná absorbance Pozitivní kontroly (Kal 3) by měla být nejméně 1,5 násobkem průměrné absorbance CUT-OFF kontroly (Kal 2).

Pro interpretaci výsledků je třeba vypočítat hodnotu indexu pozitivity (IP). Hodnotu získáme tak, že dělíme absorbanci testovaného vzorku průměrnou absorbancí CUT-OFF naměřenou v téže sérii vyšetření. Při IP nižší než 0,9 interpretujeme výsledek jako negativní. Je-li IP vyšší než 1,1, pak výsledek hodnotíme jako pozitivní. U hraničních hodnot IP 0,9 až 1,1 je třeba vyšetření vzorku opakovat z nového odběru s časovým odstupem minimálně 3 týdny.

3.2 Kvalitativní výzkum

Cílem tohoto výzkumu bylo zjistit, jak je v současné době diagnostikována a léčena gastroduodenální vředová choroba způsobená infekcí *H pylori* v ambulancích českobudějovických gastroenterologů.

3.2.1 Charakteristika výzkumného souboru

Výzkumný soubor byl tvořen lékaři, kteří byly vybráni na základě určitých kritérií. K těmto kritériím patřila odbornost v oboru gastroenterologie a dále místo působení. Všichni byli z Českých Budějovic, kde v současné době poskytují své služby čtyři gastroenterologické ambulance. Z každé byl osloven pouze jeden lékař. Na základě těchto kritérií byli respondenti vyhledáni a následně pozváni k rozhovoru telefonickým kontaktem, při kterém byl domluven termín osobního setkání. Všichni oslovení gastroenterologové souhlasili s provedením výzkumu.

Rozhovory měly stejnou strukturu a byly uskutečněny v podobném prostředí. Za prostředí byla zvolena vlastní ordinace gastroenterologů, která je pro ně prostředím

známým a příjemným. Polostrukturované rozhovory byly vedeny systematicky ve specifických úsecích, které odpovídají výzkumným otázkám mé bakalářské práce. Otázky se týkaly hlavně diagnostiky a terapie infekce *H pylori* a dále ověření efektu eradikační léčby.

Na počátku každého rozhovoru jsem nejprve představila sebe a svoji bakalářskou práci. Vysvětlila jsem účel našeho setkání a seznámila je s tím, že budu náš rozhovor nahrávat na diktafon. Následně jsem respondenty upozornila, že veškeré informace, které mi poskytnou, budou zpracovány v mé bakalářské práci zcela anonymně. Jeden rozhovor trval kolem 20 minut.

3.2.2 Použité metody a techniky

K realizaci tohoto kvalitativního výzkumu jsem využila metodu řízeného polostrukturovaného rozhovoru. Tuto metodu jsem zvolila proto, že umožňuje hlouběji proniknout do dané problematiky v důsledku zachycení individuálních názorů a postojů jednotlivých respondentů. Výhodou této metody je rovněž přímé setkání s respondenty a položení doplňujících otázek při nedostačující odpovědi ze strany respondenta, či špatně formulované otázce ze strany tazatele.

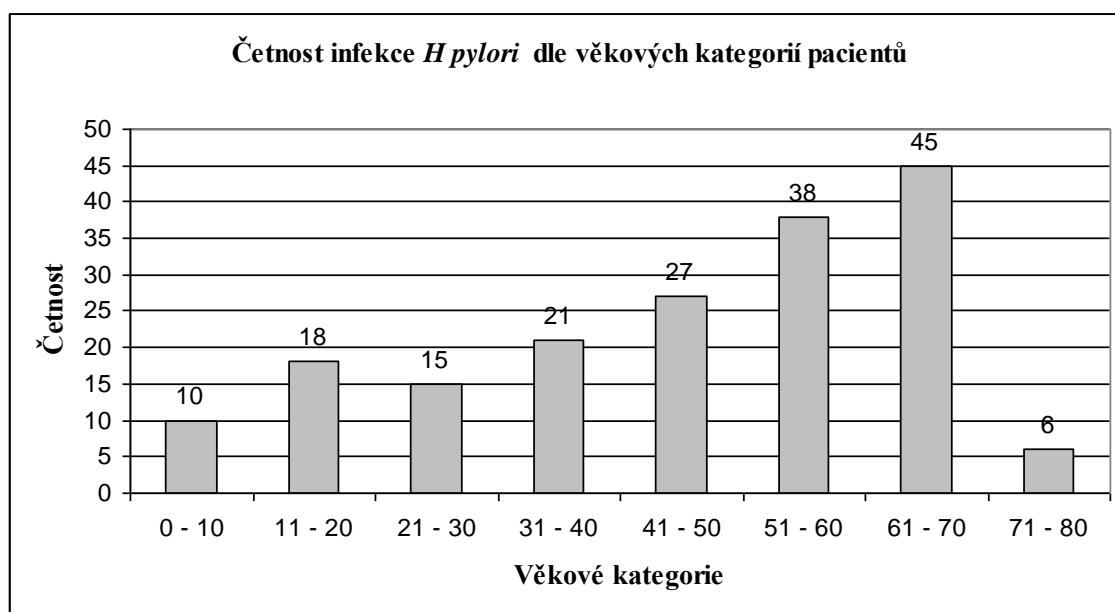
Při řízeném rozhovoru jsem použila předem připravený polostrukturovaný dotazník, který je součástí Přílohy 1. Dotazník byl vytvořen v souladu s cíli práce a s výzkumnými otázkami. Pro zachycení rozhovoru byl použit diktafon. Dříve než jsme začali rozhovor, získala jsem od každého respondenta souhlas s natáčením a se zpracováním osobních údajů. Získané rozhovory jsem zpracovala do kazuistik, na základě kterých jsem vytvořila kategorizační tabulky. Tyto tabulky jsem pak využila jako podklad pro diskusi a zpracování výsledků.

4. Výsledky

4.1 Kvantitativní výzkum

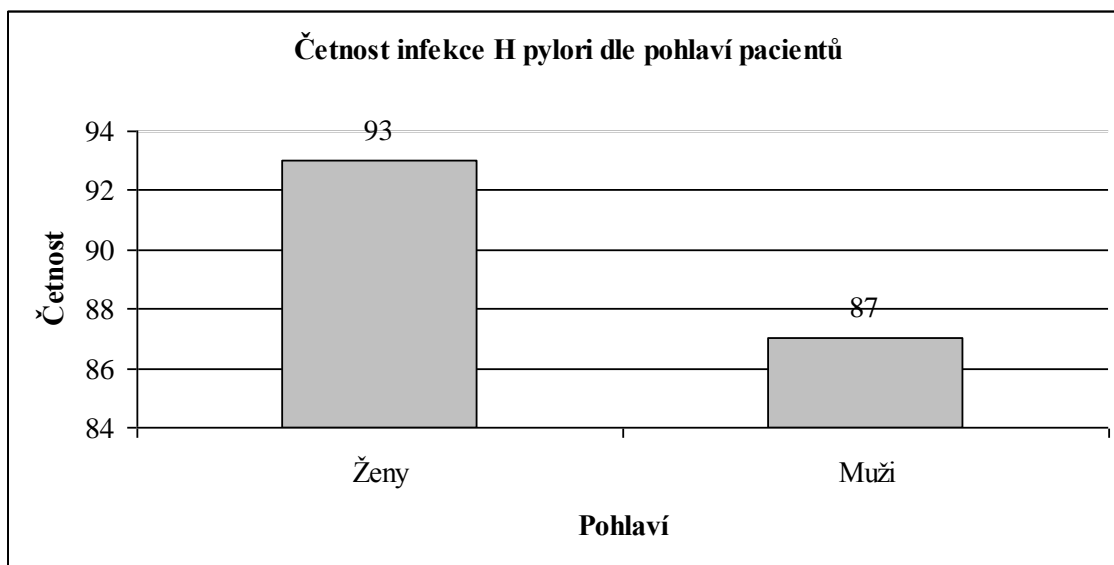
4.1.1 Četnost infekce *H pylori* dle věkových kategorií pacientů

Za rok 2012 bylo v mikrobiologické laboratoři Synlab czech s.r.o. v Českých Budějovicích vyšetřeno celkem 738 pacientů pro podezření na infekci *H pylori*. 318 vzorků bylo vyšetřeno metodou EIA Helicobacter MONO IgG, 420 vzorků bylo vyšetřeno metodou euroSCREEN HP. Z tohoto počtu pouze 180 vzorků bylo diagnostikováno jako pozitivní. Vzorky byly následně roztrženy dle věkových kategorií pacientů. Ve věkové kategorii 0 až 10 let bylo 10 pozitivních vzorků, ve věkové kategorii 11 až 20 let 18 pozitivních vzorků, ve věkové kategorii 21 až 30 let 15 pozitivních vzorků, ve věkové kategorii 31 až 40 let 21 pozitivních vzorků, ve věkové kategorii 41 až 50 let 27 pozitivních vzorků, ve věkové kategorii 51 až 60 let 38 pozitivních vzorků, ve věkové kategorii 61 až 70 let 45 pozitivních vzorků a ve věkové kategorii 71 až 80 let 6 pozitivních vzorků.



4.1.2 Četnost infekce *H pylori* dle pohlaví pacientů

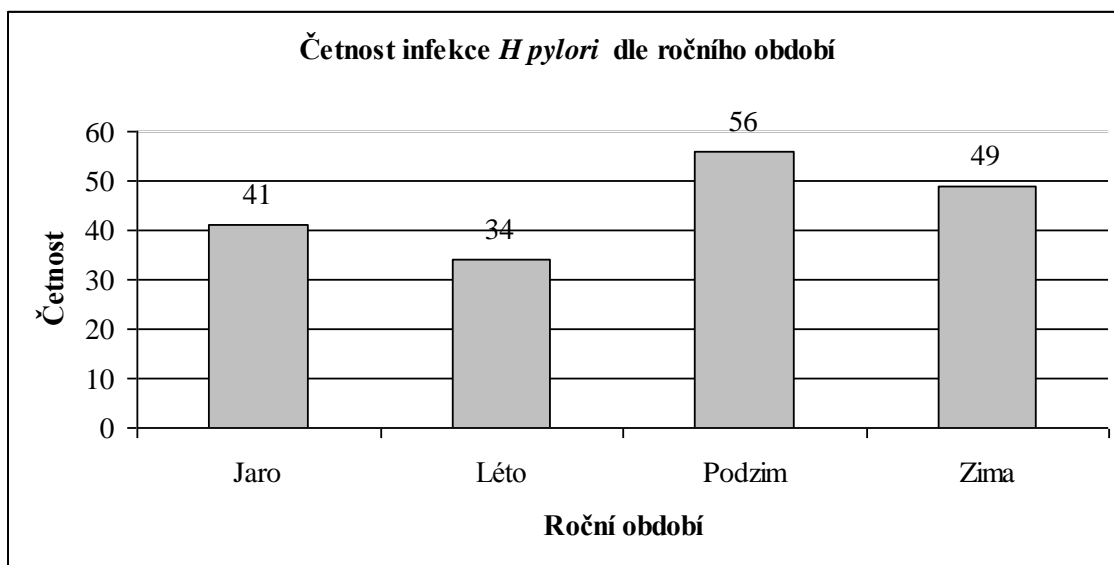
Za rok 2012 bylo v mikrobiologické laboratoři Synlab czech s.r.o. v Českých Budějovicích celkem 180 pozitivních testů na infekci *H pylori*. Celkový počet tvořilo 93 žen a 87 mužů. Ženy byly tedy infikovány v 51,67 % a muži v 48,33 %.



4.1.3 Četnost infekce *H pylori* dle ročního období

Za rok 2012 bylo v mikrobiologické laboratoři Synlab czech s.r.o. v Českých Budějovicích celkem 180 pozitivních testů na infekci *H pylori*. Z tohoto počtu bylo celkem 41 případů infekce v jarních měsících, 34 případů infekce v letních měsících, 56 případů infekce v podzimních měsících a 49 případů infekce v zimních měsících. Jaro se tedy podílelo 22,78 %, léto 18,89 %, podzim 31,11 % a zima 27,23 %.

Při rozepsání pacientů na jednotlivé měsíce by na leden připadalo 18 pacientů, na únor 17 pacientů, na březen 10 pacientů, na duben 15 pacientů, na květen 16 pacientů, na červen 13 pacientů, na červenec 11 pacientů, na srpen 10 pacientů, na září 16 pacientů, na říjen 19 pacientů, na listopad 21 pacientů a na prosinec 14 pacientů.



4.2 Kvalitativní výzkum

4.2.1 Kazuistiky respondentů výzkumu

Kazuistiky respondentů byly zpracovány na základě rozhovorů, které se uskutečnily v gastroenterologických ambulancích v Českých Budějovicích.

Kazuistika č. 1

První respondentka uvedla, že hlavním příznakem, kvůli němuž pacienti zavítají do gastroenterologické ambulance, je bolest v nadbříšku. K rozvoji gastroduodenální vředové choroby podle ní kromě infekce *H pylori* přispívá také užívání léků – nesteroidních antiflogistik, kyseliny acetylsalicylové a kortikoidů. Dalšími faktory hrajícími roli v rozvoji této choroby jsou kouření, stres (např. při polytrauma) a Zollinger-Ellisonův syndrom.

Respondentka při diagnostice gastroduodenální vředové choroby postupuje tak, že nejprve pacientovi předepíše inhibitory protonové pumpy, pak provede odběr bioptických vzorků žaludeční sliznice, které odešle do mikrobiologické laboratoře. V

laboratoři nechá provést histologické vyšetření, kultivaci a rychlý ureázový test. Poté eventuelně přistoupí k eradikaci *H pylori*.

V případě prokázané positivity *H pylori* volí klasickou trojkombinační léčbu, která se skládá z inhibitoru protonové pumpy, amoxicilinu (1g dvakrát denně) a klaritromycinu (500 mg dvakrát denně) na týden. Léčba pak pokračuje pouze inhibitory protonové pumpy, které podává až do kontrolní gastroscopie. V případě přecitlivělosti na betalaktamová antibiotika volí trojkombinaci inhibitoru protonové pumpy, klaritromycinu (500 mg dvakrát denně) a metronidazolu (500 mg dvakrát denně) na týden, dále pak inhibitory protonové pumpy do GIF kontroly.

S rezistencí *H pylori* na metronidazol a na klaritromycin se setkává občas. Při rezistenci nechává dělat kultivaci se stanovením citlivosti na antibiotika. Ještě se jí nestalo, že by se setkala s tak rezistentním kmenem *H pylori*, že by jej nedokázala eradikovat. Úspěšnost léčby ověřuje kontrolní gastroscopii za 2 měsíce po eradikaci s kontrolním odběrem bioptických vzorků na stanovení *H pylori*.

Kazuistika č. 2

Druhý respondent uvedl, že mezi nejčastější příznaky, které doprovázejí gastroduodenální vředovou chorobu patří bolest v nadbříšku a projevy překyselení. K rozvoji choroby podle něj přispívají kromě infekce *H pylori* také nesteroidní protizánětlivé léky, stres, Zollinger-Ellisonův syndrom a špatná životospráva u seniorů.

Při diagnostice choroby postupuje tak, že provede gastroscopii s odběrem bioptických vzorků, které odešle do mikrobiologické laboratoře ke kultivaci a k provedení rychlého ureázového testu. Za 6 týdnů po eradikaci provede kontrolní gastroscopii.

V případě prokázané positivity *H pylori* léčí trojkombinací inhibitoru protonové pumpy, 1 g amoxicilinu a 500 mg klaritromycinu dvakrát denně po 7 dní, následně pak indikuje pouze inhibitory protonové pumpy až do kontrolní gastroscopie. Při přecitlivělosti na betalaktamová antibiotika indikuje klasickou trojkombinaci inhibitoru

protonové pumpy, 500 mg klaritromycinu a 500 mg amoxicilinu dvakrát denně na týden, dále pak inhibitory protonové pumpy až do kontrolní gastroscopie.

Respondent se s rezistencí na metronidazol a klaritromycin setkává zřídka. V případě rezistentního *H pylori* podává dvojkombinaci 40 mg omeprazolu čtyřikrát denně a 750 mg amoxicilinu rovněž čtyřikrát denně. Úspěšnost léčby ověřuje 6 týdnů po eradikaci kontrolní gastroscopií s vyšetřením bioptických vzorků (kultivace, rychlý ureázový test) a někdy též vyšetřením antigenu *H pylori* ve stolici.

Kazuistika č. 3

Třetí respondent uvedl, že mezi příznaky, jež provázejí gastroduodenální vředovou chorobu, patří bolest v epigastriu, projevy překyselení (pyróza, kyselé zvracení), dyspepsie, nevolnost a při prasknutí vředu též melena a hemateméza, což ale pozoruje pouze výjimečně. K faktorům, které přispívají k rozvoji gastroduodenální vředové choroby, přiřadil infekci *H pylori*, nesteroidní antiflogistika, kyselinu acetylsalicylovou, stres (pooperační, při polytraumatu), Zollinger-Ellisonův syndrom a kouření.

Při diagnostice zdůraznil potřebu důkladného odebrání osobní, rodinné a farmakologické anamnézy. Dále diagnostikuje pomocí gastroscopie. Biopsie odešle do mikrobiologické laboratoře, kde nechá provést kultivaci, rychlý ureázový test a histologické vyšetření.

V případě pozitivity infekce *H pylori* doporučuje pacientům klid, dostatek spánku, vyhýbání se stresu. Pacient by měl nekouřit a vyhýbat se potravinám, které zvyšují sekreci HCl v žaludku (alkohol, káva, silný čaj). Jako terapeutické schéma volí klasickou trojkombinační léčbu 20 mg omeprazolu, 500 mg klaritromycinu a 1000 mg amoxicilinu dvakrát denně na týden. V případě přecitlivělosti na betalaktamová antibiotika volí trojkombinaci inhibitoru protonové pumpy, 500 mg metronidazolu a 500 mg klaritromycinu dvakrát denně na 7 dní.

S rezistencí *H pylori* na metronidazol se setkává občas, s rezistencí na klaritromycin se setkává zřídka. V případě rezistentního *H pylori* podává kombinaci vysokých dávek amoxicilinu a vysokých dávek inhibitorů protonové pumpy. Úspěšnost

léčby ověřuje za 2 měsíce po eradikaci pomocí gastroscopie s odebráním biopsických vzorků ke kultivaci a k provedení rychlého ureázového testu. Někdy též ověřuje efekt eradikační léčby stanovením Ag *H pylori* ve stolici.

Kazuistika č. 4

Čtvrtý respondent uvedl mezi příznaky, jež provázejí gastroduodenální vředovou chorobu, bolest v epigastriu, změnu stravovacích zvyklostí (ztráta chutí k jídlu, nadměrný příjem potravy) a dyspepsii. K rozvoji choroby podle něj přispívají kromě infekce *H pylori* rovněž kouření, některé léky (nesteroidní antiflogistika, kortikoidy) a stres.

Při diagnostice vředové choroby provede gastroscopii s odebráním biopsických vzorků, které odešle do mikrobiologické laboratoře k provedení kultivace, rychlého ureázového testu a histologického vyšetření. Dále někdy provádí test vyšetření antigenu *H pylori* ve stolici.

V případě prokázané pozitivivity *H pylori* léčí pomocí trojkombinace inhibitoru protonové pumpy, 1g amoxicilinu a 500 mg klaritromycinu dvakrát denně na týden, případně využívá trojkombinace inhibitoru protonové pumpy, 1g amoxicilinu a 500 mg ciprofloxacinu dvakrát denně na týden. Při přecitlivělosti na betalaktamová antibiotika volí kombinaci inhibitor protonové pumpy, klaritromycin a metronidazol.

Respondent uvedl, že s rezistencí na klaritromycin a metronidazol se setkává občas. V případě rezistentního *H pylori* odebere vzorky žaludeční sliznice ke kultivaci *H pylori* a stanovení citlivosti na antibiotika. Jako terapeutické schéma pak volí inhibitor protonové pumpy, amoxicilin a druhé antibiotikum dle stanovené citlivosti. Efekt eradikační léčby pak ověřuje za 6 týdnů kontrolní gastroscopii s odebráním vzorků na mikrobiologické vyšetření (kultivace, rychlý ureázový test) a stanovením antigenu HpSA ve stolici.

4.2.2 Kategorizace dat v tabulkách

Seznam kategorizačních skupin

1. Příznaky gastroduodenální vředové choroby (tabulka 1)
2. Faktory přispívající k rozvoji gastroduodenální vředové choroby (tabulka 2)
3. Diagnostika gastroduodenální vředové choroby (tabulka 3)
4. Terapie v případě *H pylori* positivity (tabulka 4)
5. Terapeutické schéma při přecitlivělosti na betalaktamová antibiotika (tabulka 5)
6. Rezistence *H pylori* na metronidazol (tabulka 6)
7. Rezistence *H pylori* na klaritromycin (tabulka 7)
8. Postup v případě rezistentního *H pylori* (tabulka 8)
9. Ověřování efektu eradikační léčby (tabulka 9)

Tabulka 1 Příznaky gastroduodenální vředové choroby

	R1	R2	R3	R4	Součty
Bolest v epigastriu	1	1	1	1	4
Změna stravovacích návyků	0	0	0	1	1
Dyspepsie	0	0	1	1	2
Projevy překyselení	0	1	1	0	2
Nausea	0	0	1	0	1
Melena a hematemeze	0	0	1	0	1

Všichni respondenti uvedli, že hlavním příznakem gastroduodenální vředové choroby je bolest v epigastriu. R3 a R4 uváděli jako příznak též dyspepsii. R2 a R3 připomněli projevy překyselení jako je pyróza nebo kyselé zvracení. Za další příznaky uvedl R4 změnu stravovacích návyků (ztráta chuti k jídlu nebo nadměrný přísun potravy) a R5 nauseu. R5 poznamenal, že v případě prasknutí vředu může být patrná i melena a hematemeze. Tyto příznaky jsou však málo časté.

Tabulka 2 Faktory přispívající k rozvoji gastroduodenální vředové choroby

	R1	R2	R3	R4	Součty
Infekce <i>H pylori</i>	1	1	1	1	4
Nesteroidní antiflogistika	1	1	1	1	4
Kyselina acetylsalicylová	1	0	1	0	2
Kortikoidy	1	0	0	1	2
Stres	1	1	1	1	4
Zollinger-Ellisonův syndrom	1	1	1	0	3
Kouření	1	1	1	1	4
Špatná životospráva seniorů	0	1	0	0	1

Všichni respondenti uvedli, že k faktorům přispívajícím k rozvoji gastroduodenální vředové choroby patří infekce *H pylori*, nesteroidní antiflogistika, stres z různých příčin (polytrauma, po operaci) a kouření. R1, R2 a R3 připomněli i Zollinger-Ellisonův syndrom, který je charakterizován hypersekrecí HCl v žaludku. R1 a R3 uvedli také

souvislost choroby s užíváním kyseliny acetylsalicylové, R2 a R4 připomněli souvislost s užíváním kortikoidů. R2 uvedl jako další příčinu špatnou životosprávu seniorů.

Tabulka 3 Diagnostika gastroduodenální vředové choroby

	R1	R2	R3	R4	Součty
Odběr anamnézy	1	1	1	1	4
Gastroskopie	1	1	1	1	4
Odběr bioptických vzorků	1	1	1	1	4
Kultivace bioptických vzorků	1	1	1	1	4
Histologické vyšetření	1	1	1	1	4
Rychlý ureázový test	1	1	1	1	4
Stanovení antigenu HpSA ve stolici	0	0	0	1	1

Všichni respondenti diagnostikují gastroduodenální vředovou chorobu pečlivým odebráním anamnézy (osobní, rodinné a farmakologické). Dále provedou gastroskopii s odebráním bioptických vzorků, které pak odešlou do mikrobiologické laboratoře. V mikrobiologické laboratoři nechají zhotovit kultivaci, histologické vyšetření a rychlý ureázový test. R4 uvedl, že někdy též nechává stanovit antigen HpSA ve stolici.

Tabulka 4 Terapie v případě *H pylori* pozitivity

	R1	R2	R3	R4	Součty
IPP + amoxicilin + klaritromycin	1	1	1	1	4
IPP + amoxicilin + ciprofloxacín	0	0	0	1	1

V případě prokázané *H pylori* pozitivity volí všichni respondenti klasické trojkombinační schéma inhibitoru protonové pumpy, amoxicilinu a klaritromycinu. R4 uvedl, že někdy též užívá trojkombinace inhibitoru protonové pumpy s amoxicilinem a ciprofloxacinem.

Tabulka 5 Terapeutické schéma při přecitlivělosti na betalaktamová antibiotika

	R1	R2	R3	R4	Součty
IPP + metronidazol + klaritromycin	1	1	1	1	4

Všichni respondenti uvedli, že při přecitlivělosti na betalaktamová antibiotika volí terapeutické schéma inhibitor protonové pumpy, metronidazol a klaritromycin.

Tabulka 6 Rezistence *H pylori* na metronidazol

	R1	R2	R3	R4	Součty
Téměř nikdy	0	0	0	0	0
Zřídka	0	1	0	0	1
Občas	1	0	1	1	3
Často	0	0	0	0	0
Téměř vždy	0	0	0	0	0

R1, R3 a R4 uvedli, že se s rezistencí *H pylori* na metronidazol setkávají občas. R2 se s rezistencí bakterie na metronidazol setkává zřídka.

Tabulka 7 Rezistence *H pylori* na klaritromycin

	R1	R2	R3	R4	Součty
Téměř nikdy	0	0	0	0	0
Zřídka	0	1	1	0	2
Občas	1	0	0	1	2
Často	0	0	0	0	0
Téměř vždy	0	0	0	0	0

R1 a R4 uvedli, že se s rezistencí *H pylori* na klaritromycin setkávají občas. R2 a R3 se s rezistencí bakterie na klaritromycin setkávají zřídka.

Tabulka 8 Postup v případě rezistentního *H pylori*

	R1	R2	R3	R4	Součty
Kultivace se stanovením citlivosti na ATB	1	0	0	1	2
IPP + amoxicilin ve vysokých dávkách	0	1	1	0	2
IPP + amoxicilin + ATB dle stanovení citlivosti	1	0	0	1	2

V případě rezistentního *H pylori* provádí R1 a R4 kultivaci se stanovením citlivosti bakterie na antibiotika. Následně pak aplikují terapeutické schéma inhibitor protonové pumpy, amoxicilin a druhé antibiotikum dle testu citlivosti. R2 a R3 indikují v případě rezistentního *H pylori* vysoké dávky inhibitoru protonové pumpy a vysoké dávky amoxicilinu.

Tabulka 9 Ověřování efektu eradikační léčby

	R1	R2	R3	R4	Součty
Kontrolní gastroscopie	1	1	1	1	4
Odběr bioptických vzorků	1	1	1	1	4
Kultivace bioptických vzorků	1	1	1	1	4
Histologické vyšetření	1	1	1	1	4
Rychlý ureázový test	1	1	1	1	4
Stanovení antigenu HpSA ve stolici	0	1	1	1	3

Všichni respondenti ověřují efekt eradikační léčby kontrolní gastroscopií (za 6 - 8 týdnů po eradikaci) s odebráním bioptických vzorků, které následně odešlou do mikrobiologické laboratoře. V mikrobiologické laboratoři nechají provést kultivaci, histologické vyšetření a rychlý ureázový test. R2, R3 a R4 stanovují ještě antigen HpSA ve stolici.

5. Diskuse

Výsledky pro bakalářskou práci byly zhotoveny z výsledků praktických metod prováděných v mikrobiologické laboratoři Synlab czech s.r.o. v Českých Budějovicích, z informací a dat poskytnutých touto laboratoří a z řízených polostrukturovaných rozhovorů s českobudějovickými gastroenterology. Všechny hypotézy se mi podařilo potvrdit. Na všechny výzkumné otázky jsem našla odpověď.

Hypotéza 1: Ve vyšších věkových kategoriích pacientů je vyšší četnost infekce *H pylori*. Dle výsledků šetření se mi tato hypotéza podařila potvrdit. Ve věkové kategorii 21 až 30 let bylo 15 pozitivních vzorků, ve věkové kategorii 31 až 40 let 21 pozitivních vzorků, ve věkové kategorii 41 až 50 let 27 pozitivních vzorků, ve věkové kategorii 51 až 60 let 38 pozitivních vzorků a ve věkové kategorii 61 až 70 let 45 pozitivních vzorků. Z dat prokazatelně vyplývá nárůst četnosti infekce *H pylori* s přibývajícím věkem. Měli bychom si však uvědomit, že se nejedná o postupné přibývání infekce ve středním věku, ale o sníženou incidenci nových infekcí *H pylori* u dnešních dětí a mladých lidí. Dochází tedy k efektu kohorty, což je snížení výskytu onemocnění v po sobě jdoucích generacích, které je důsledkem zlepšené sociálně-ekonomické situace, ve které nové generace vyrůstají (Sedláčková, 1996, s. 86).

Hypotéza 2: Četnost infekce *H pylori* nezávisí na pohlaví pacientů. Dle výsledků šetření se mi tato hypotéza podařila potvrdit. Za rok 2012 bylo v mikrobiologické laboratoři Synlab czech s.r.o. v Českých Budějovicích celkem 180 pozitivních testů na infekci *H pylori*. Celkový počet tvořilo 93 žen a 87 mužů. Ženy byly tedy infikovány v 51,67 % a muži v 48,33 %. Výraznější rozdíly mezi pohlavími nebyly pozorovány. K podobnému výsledku dospěla i studie provedená roku 2001 na vzorku 2 509 osob ve věku 5 až 100 let v České republice (Bureš, 2006, s. 1).

Hypotéza 3: Četnost infekce *H pylori* nezávisí na ročním období. Dle výsledků šetření se mi tato hypotéza podařila potvrdit. Za rok 2012 bylo v mikrobiologické laboratoři Synlab czech s.r.o. v Českých Budějovicích celkem 180 pozitivních testů na infekci *H pylori*. Z tohoto počtu bylo celkem 41 případů infekce v jarních měsících, 34 případů infekce v letních měsících, 56 případů infekce v podzimních měsících a 49

případů infekce v zimních měsících. Jaro se tedy podílelo 22,78 %, léto 18,89 %, podzim 31,11 % a zima 27,23 %. Za mírné zvýšení četnosti infekce v jarních, podzimních a zimních měsících může nízký počet osob ve statistickém souboru, pobyt v kolektivech (zaměstnání, školky, školy) a počasí. Jaro, podzim a zima jsou chladnější měsíce, které zatěžují organismus člověka. Oslabený jedinec je pak v těchto měsících snadněji infikován. Dříve jsme se v klinických studiích setkávali se sezónní periodicitou obtíží spojených s infekcí *H pylori*, která byla nejvyšší na jaře a na podzim. Po zavedení eradikační léčby však tato sezónní periodicitu vymizela a s obtížemi se setkáváme rovnoměrně po celý rok (Seifert, 2012, s. 12).

Výzkumná otázka 1: Jaké jsou postupy při diagnostice gastroduodenální vředové choroby? V rámci této otázky jsem se respondentů ptala na příznaky gastroduodenální vředové choroby, faktory, které přispívají k jejímu rozvoji, a na diagnostické postupy.

Jako hlavní příznak nemoci uváděli bolest v epigastriu. Dále uváděli dyspepsii, projevy překyselení (pyrózu, kyselé zvracení), změnu stravovacích návyků (ztrátu chuti k jídlu, nadměrný přísun potravy) a nauseu. Gastroenterologové pozorují v případě prasknutí vředu i melenu a hematemezi. Kyzeková (1998, s. 67) uvádí jako tři nejčastější příznaky nauseu se zvracením, tlak v epigastriu a pyrózu.

Respondenti uvedli, že k hlavním faktorům, jež přispívají k rozvoji gastroduodenální vředové choroby, patří léky (nesteroidní antiflogistika, kyselina acetylsalicylová, kortikoidy), stres z různých příčin (při polytraumatu, po operaci), kouření, Zollinger-Ellisonův syndrom a špatná životospráva seniorů. Seifert (2012, s. 11) uvádí kromě předcházejících faktorů též tzv. hepatogenní vředy, které vznikají v závislosti na změnách prokrvení při portální hypertenzi.

Všichni respondenti diagnostikují gastroduodenální vředovou chorobu pečlivým odebráním anamnézy (osobní, rodinné a farmakologické). Dále provedou gastrokopii s odebráním bioptických vzorků, které pak odešlou do mikrobiologické laboratoře. V mikrobiologické laboratoři nechají zhotovit kultivaci, histologické vyšetření a rychlý ureázový test. Tento diagnostický postup je zcela ve shodě s doporučením České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně pro praktické lékaře. V doporučení se

považuje za klíčové gastroscopické vyšetření v kombinaci s minimálně 2 metodami na detekci infekce *H pylori* (Frič, 2001, s. 3).

Výzkumná otázka 2: Jaká jsou terapeutická schémata pro eradikaci helikobakterové infekce? V rámci této otázky jsem se respondentů ptala na terapeutické schéma první volby při prokázané infekci *H pylori* a na terapeutické schéma při rezistenci bakterie na betalaktamová antibiotika. Zajímala jsem se o četnost rezistencí *H pylori* na metronidazol a klaritromycin. Jako poslední mě zajímalo, jak respondenti postupují v případě rezistentního kmene *H pylori*.

V případě prokázané *H pylori* pozitivity volí všichni respondenti klasické trojkombinační schéma inhibitoru protonové pumpy, amoxicilinu a klaritromycinu. Jeden z respondentů uvedl, že někdy též užívá trojkombinace inhibitoru protonové pumpy s amoxicilinem a ciprofloxacinem. Základem těchto schémat je betalaktamové antibiotikum. Citlivost bakterie na toto antibiotikum je i v současné době stále nejvyšší (Šachlová, 2008, s. 31).

Všichni respondenti shodně uvedli, že při přecitlivělosti pacienta na betalaktamová antibiotika volí terapeutické schéma inhibitoru protonové pumpy, metronidazolu a klaritromycinu. Tento postup je zcela ve shodě s doporučeným postupem České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně pro praktické lékaře (Frič, 2001, s. 5).

Tři respondenti uvedli, že se s rezistencí *H pylori* na metronidazol setkávají občas. Jeden se s ní setkává zřídka. Dva respondenti uvedli, že se s rezistencí *H pylori* na klaritromycin setkávají občas. Dva se s ní setkávají zřídka. V poslední době stoupá rezistence bakterií zejména vůči metronidazolu a klaritromycinu. V České republice se udává stupeň rezistence na metronidazol 20 – 30 % a na klaritromycin přes 4 % (Seifert, 2001, s. 5).

V případě rezistentního *H pylori* provádí dva z respondentů kultivaci se stanovením citlivosti bakterie na antibiotika. Následně pak aplikují terapeutické schéma inhibitoru protonové pumpy, amoxicilinu a druhého antibiotika dle testu citlivosti. Další dva respondenti indikují v případě rezistentního *H pylori* vysoké dávky inhibitoru protonové pumpy a vysoké dávky amoxicilinu. Tyto postupy jsou zcela ve shodě s doporučenými

postupy České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně pro praktické lékaře (Seifert, 2012, s. 13).

Výzkumná otázka 3: Jak se ověřuje efekt eradikační léčby? Všichni respondenti ověřují efekt eradikační léčby kontrolní gastroskopií (za 6 – 8 týdnů po ukončení eradikace) s odebráním bioptických vzorků, které následně odešlou do mikrobiologické laboratoře. V mikrobiologické laboratoři nechají provést kultivaci, histologické vyšetření a rychlý ureázový test. Někteří ověřují efekt eradikační léčby ještě stanovením antigenu HpSA ve stolici. I tento postup je zcela ve shodě s doporučením České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně pro praktické lékaře. V doporučení se píše, že efekt eradikační léčby je třeba vždy ověřovat a to nejlépe pomocí invazivních metod. Není-li však indikována gastroskopie, pak je vhodný dechový test s ^{13}C ureou nebo stanovení antigenu HpSA ve stolici (Seifert, 2012, s. 14). Dechový test s ^{13}C ureou je vyhrazen specializovaným pracovištím z důvodu vysokých pořizovacích a provozních nákladů (Sedláčková, 1998, s. 79).

6. Závěr

Téma bakalářské práce nese název "Diagnostika a terapie infekce *Helicobacter pylori*". Stanovila jsem si celkem čtyři cíle a všechny se mi podařilo splnit. Mým hlavním cílem bylo osvojení si praktických znalostí správné laboratorní praxe při zpracování stolice a krevního séra při podezření na výskyt bakterie *H pylori*. Ve své práci jsem chtěla též popsat současné trendy v diagnostice a terapii infekce *H pylori* a zjistit četnost výskytu bakterie v závislosti na věku, pohlaví a ročním období. Zjištěné skutečnosti jsem porovnávala s údaji uváděnými v odborné literatuře. Dále jsem zjišťovala v ambulancích českobudějovických gastroenterologů způsoby, jakými je v současné době diagnostikována a léčena gastroduodenální vředová choroba způsobená infekcí *H pylori*.

V úvodu výzkumné části jsem vymezila tři hypotézy a tři výzkumné otázky. Hypotéza 1: Ve vyšších věkových kategoriích pacientů je vyšší četnost infekce *H pylori*. Hypotéza 2: Četnost infekce *H pylori* nezávisí na pohlaví pacientů. Hypotéza 3: Četnost infekce *H pylori* nezávisí na ročním období. Výzkumná otázka 1: Jaké jsou postupy při diagnostice gastroduodenální vředové choroby? Výzkumná otázka 2: Jaká jsou terapeutická schémata pro eradikaci helicobakterové infekce? Výzkumná otázka 3: Jak se ověřuje efekt eradikační léčby?

V kvantitativním výzkumu se mi podařilo potvrdit všechny tři hypotézy. Z dosažených výsledků bylo zjištěno, že ve vyšších věkových kategoriích pacientů byl vyšší výskyt infekce *H pylori*. Výskyt infekce *H pylori* nebyl závislý na pohlaví pacientů ani na ročním období. V kvalitativním výzkumu se mi podařilo na všechny výzkumné otázky nalézt odpověď. Zjistila jsem, že českobudějovičtí gastroenterologové diagnostikují gastroduodenální vředovou chorobu především gastroskopicky s odběrem biotických vzorků. Vzorky následně odesílají do mikrobiologické laboratoře na provedení kultivace, histologického vyšetření a rychlého ureázového testu. Infekci *H pylori* léčí klasickou trojkombinační léčbou inhibítorem protonové pumpy, amoxicilinem a klaritromycinem. Při přecitlivělosti na betalaktamová antibiotika užívají trojkombinaci inhibítora protonové pumpy, metronidazolu a klaritromycinu. S

rezistencí na metronidazol a klaritromycin se setkávají občas. V případě rezistence provedou kultivaci se stanovením citlivosti na antibiotika. Efekt eradikační léčby ověřují vždy 6 až 8 týdnů po eradikaci pomocí kontrolní gastroscopie s odběrem bioptických vzorků, jež jsou odeslány do mikrobiologické laboratoře. Někteří využívají i stanovení antigenu HpSA ve stolici.

Výsledky této práce mohou sloužit jako přehled dané problematiky pro studenty zdravotnických oborů a zdravotní laboranty. Práce může být rovněž užitečná pro širokou veřejnost se zájmem o danou problematiku.

7. Seznam informačních zdrojů

1. ARORA, U., AGGARWAL, A., SINGH, K. Comparative evaluation of conventional methods and ELISA based IgG antibodies detection for diagnosis of Helicobacter pylori infection in cases of dyspepsia. *Indian J Med Microbiol* [online]. 2003, 21(1) [cit. 2013-04-01]. ISSN 0255-0857. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17642974>
2. BALLAM, L. D., MENDALL, M. A., ASANTE, M., MORRIS, J., STRACHAN, D. P., WHINCUP, P. H., COOK, D. G. Western blotting is useful in the salivary diagnosis of Helicobacter pylori infection. *J Clin Pathol* [online]. 2000, 53(4) [cit. 2013-04-01]. ISSN 0002-9173. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1731175>
3. BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. *Lékařská mikrobiologie*. 1. vyd. Praha: Marvil, 1999. s. 558. ISBN xxx.
4. BENEŠ, J. *Infekční lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, 2009. ISBN 978-80-726-2644-1.
5. BUREŠ, J., KOPÁČOVÁ, M., KOUPIL, I., SEIFERT, B., ŠKODOVÁ FENDRICHOVÁ, M., ŠPIRKOVÁ, J., VOŘÍŠEK, V., REJCHRT, S., DOUDA, T., KRÁL, N., TACHECÍ, I. Significant decrease in prevalence of Helicobacter pylori in the Czech Republic. *World J Gastroenterol* [online]. 2012, 18(32) [cit. 2013-04-01]. ISSN 1007-9327. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3436059>
6. BUREŠ, J., KOPÁČOVÁ, M., KOUPIL, I., VOŘÍŠEK, V., REJCHRT, S., BERÁNEK, M., SEIFERT, B., POZLER, O., ŽIVNÝ, P., DOUDA, T., KOLESÁROVÁ, M., PINTÉR, M., PALIČKA, V., HOLCÍK, J. Epidemiology of Helicobacter pylori in the Czech Republic. *Helicobacter* [online]. 2006, 11(1) [cit.

- 2013-04-01]. ISSN 1083-4389. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16423091>
7. BUREŠ, J. a pracovní skupina pro studium *Helicobacter pylori* při ČGS ČLS JEP. Infekce *Helicobacter pylori*: Doporučený postup České gastroenterologické společnosti ČSL JEP pro dospělé. *Gastroent Hepatol* [online]. 2013, XX(XX) [cit. 2013-04-01]. ISSN 1804-7874. Dostupné na: <http://lekari.cgs-cls.cz/guidelines>
 8. BYTZER, P., DAHLERUP, J. F., ERIKSEN, J. R., JARBØL, D. E., ROSENSTOCK, S., WILDT, S. Danish Society for Gastroenterology. Diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Dan Med Bull* [online]. 2011, 58(4) [cit. 2013-04-01]. ISSN 0907-8916. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21466771>
 9. DOMÍNGUEZ, J., FORNÉ, M., BLANCO, S., PRAT, C., GALÍ, N., LATORRE, I., VIVER, J. M., AUSINA, V. Comparison of a monoclonal with a polyclonal antibody-based enzyme immunoassay stool test in diagnosing *Helicobacter pylori* infection before and after eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* [online]. 2006, 44(7) [cit. 2013-04-01]. ISSN 0269-2813. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19458898>
 10. DOUDA, T., BUREŠ, J., REJCHRT, S. Extragastrické manifestace infekce *Helicobacter pylori*. *Čes a Slov Gastroent a Hepatol* [online]. 2008, 62(5) [cit. 2013-04-01]. ISSN 1804-7874. Dostupné z:
http://www.csgh.info/arch_detail.php?stat=351
 11. FRIČ, P., JIRÁSEK, V. *Gastroduodenální peptický vřed: Doporučený postup České gastroenterologické společnosti ČSL JEP pro praktické lékaře* [online]. 2001 [cit. 2013-04-01]. Dostupné z: <http://www.cls.cz/seznam-doporucenych-postupu>

12. FOROUTAN, M., LOLOEI, B., IRVANI, S., AZARGASHB, E. Accuracy of rapid urease test in diagnosing *Helicobacter pylori* infection in patients using NSAIDs. *Saudi J Gastroenterol* [online]. 2010, 16(2) [cit. 2013-04-01]. ISSN 1319-3767. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20339181>
13. KABIR, S. Detection of *Helicobacter pylori* in faeces by culture, PCR and enzyme immunoassay. *J Med Microbiol* [online]. 2011, 50(12) [cit. 2013-04-01]. ISSN 0022-2615. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11761185>
14. KAZEMI, S., TAVAKKOLI, H., HABIZADEH, M. R., EMAMI, M. H. Diagnostic values of *Helicobacter pylori* diagnostic tests: stool antigen test, urea breath test, rapid urease test, serology and histology. *J Res Med Sci* [online]. 2011, 16(9) [cit. 2013-04-01]. ISSN 1735-1995. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22973378>
15. KRAMÁŘ, R. *Lékařská mikrobiologie*. 1. vyd. České Budějovice: ZSF JU, 2007. s. 72. ISBN 978-80-739-4021-8.
16. KUSTERS, J. G., VLIET, A. H. M., KUIPERS, E. J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev* [online]. 2006, 19(3) [cit. 2013-04-01]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16847081>
17. KYZEKOVÁ, J. *Žaludeční dyspepsie a Helicobacter pylori*. 1. vyd. Praha: Grada, 1998. s. 144. ISBN 80-7169-621-8.
18. LEE, M. S., YEH, C. J., CHEN, H. Y., TSOU, Y. K., LIN, C. H., LIEN, J. M. Clinical utility of histological examination of gastric ulcer margin to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *Chang Gung Med J* [online]. 2012, 35(3) [cit. 2013-04-01]. ISSN 2072-0939. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22735055>

19. LINCOVÁ, D., FARGHALI, H. *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2. vyd. Praha: Galén, 2007. s. 672. ISBN 978-80-7262-373-0.
20. MALFERTHEINER, P., MEGRAUD, F., O'MORAIN, C., BAZZOLI, F., EL-OMAR, E., GRAHAM, D., HUNT, R., ROKKAS, T., VAKIL, N., KUIPERS, E. J. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* [online]. 2007, 56(6) [cit. 2013-04-01]. ISSN 0017-5749. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17170018>
21. SAVARINO, V., VIGNERI, S., CELLE, G. The ¹³C urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* [online]. 1998, 45(Suppl 1) [cit. 2013-04-01]. ISSN 0017-5749. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1766662>
22. SEDLÁČKOVÁ, M. *Infekce Helicobacter pylori: vředová choroba, karcinom žaludku, dyspepsie*. 1. vyd. Praha: Maxdorf, 1996. s. 162. ISBN 80-85800-32-2.
23. SEIFERT, B., CHARVÁTOVÁ, E. *Infekce Helicobacter pylori: Doporučený postup České gastroenterologické společnosti ČSL JEP pro praktické lékaře* [online]. 2001 [cit. 2013-04-01]. Dostupné z: <http://www.cls.cz/seznam-doporucenych-postupu>
24. SEIFERT, B., DÍTĚ, P., BUREŠ, J., HEP, A., JIRÁSEK, V., KROUPA, R., LUKÁŠ, K., VOJTÍŠKOVÁ, J. *Gastroenterologie: Doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře* [online]. 2012 [cit. 2013-04-01]. Dostupné z: http://www.svl.cz/Files/nastenka/page_4771/Version1/Gastro_2012.pdf
25. SCHINDLER, J. *Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vyd. Praha: Grada, 2010. s. 248. ISBN 978-80-247-3170-4.

26. ŠACHLOVÁ, M., KOUKALOVÁ, H., KAPIČKOVÁ, M., ŠTĚPÁNIKOVÁ, O. Vliv *Helicobacter pylori* na žaludeční kancerogenezi. *Klin Onkol* [online]. 2004, 17(4) [cit. 2013-04-01]. ISSN 0862-495X. Dostupné z: <http://www.linkos.cz/casopis-klinicka-onkologie/hledani-clanku/skupina/a/zobrazit/ids/253/>
27. ŠACHLOVÁ, M. *Zhoubné nádory žaludku a jejich souvislosti s výskytem rizikových faktorů a infekcí Helicobacter pylori* [online]. 2008 [cit. 2013-04-01]. Disertační práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Vedoucí práce Drahoslava Hrubá. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/71171/lf_d
28. ŠVESTKA, T. Infekce *Helicobacter pylori*. *Med. Praxi* [online]. 2011, 8(3) [cit. 2013-04-01]. ISSN 1214-8687. Dostupné z: <http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2011/03/06.pdf>
29. VEIJOLA, L., MYLLYLUOMA, E., KORPELA, R., RAUTELIN, H. Stool antigen tests in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection before and after eradication therapy. *World J Gastroenterol* [online]. 2005, 11(46) [cit. 2013-04-01]. ISSN 1007-9327. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16437639>
30. VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 1. vyd. Brno: Neptun, 2001. s. 247. ISBN 80-902896-2-2.
31. VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vyd. Brno: Neptun, 2003. s. 495. ISBN 80-902896-6-5.
32. ZIMANDLOVÁ, D., BUREŠ, J. Současné možnosti léčby peptických vředů. *Interní Med* [online]. 2012, 14(2) [cit. 2013-04-01]. ISSN 1212-7299. Dostupné z: <http://www.internimedcina.cz/pdfs/int/2012/02/02.pdf>

8. Klíčová slova

Epidemiologie

Farmakoterapie

Gastroduodenální vředová choroba

Gastroenterologie

Helicobacter pylori

Laboratorní diagnostika

Rezistence na antibiotika

9. Přílohy

Příloha 1 Polostrukturovaný rozhovor

Příloha 1 Polostrukturovaný rozhovor

Dobrý den,

jmenuji se Michaela Pospíšilová a studuji na Zdravotně sociální fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích obor Zdravotní laborant. Tématem mé bakalářské práce je diagnostika a terapie infekce *Helicobacter pylori*, proto bych Vás ráda požádala o zodpovězení následujících otázek, které budou součástí výzkumu v mé bakalářské práci. Výzkum bude zcela anonymní.

Předem děkuji za Vaši ochotu a vstřícnost!

Infekce *Helicobacter pylori* a gastroduodenální vředová choroba

1. S jakými příznaky pacienti přicházejí?
2. Jaké další faktory kromě infekce *H pylori* podle Vás přispívají k rozvoji gastroduodenální vředové choroby?
3. Jak postupujete při diagnostice gastroduodenální vředové choroby?
4. Jaký volíte léčebný postup v případě prokázané positivity *H pylori*?
5. Jaké terapeutické schéma volíte v případě přecitlivělosti na batalaktamová ATB?
6. Jak často se setkáváte s rezistencí *H pylori* na metronidazol či klaritromycin?
R na metronidazol: 1 téměř nikdy – 2 zřídka – 3 občas – 4 často – 5 téměř vždy
R na klaritromycin: 1 téměř nikdy – 2 zřídka – 3 občas – 4 často – 5 téměř vždy
7. Jak postupujete v případě rezistentního *H pylori*?
8. Jak ověřujete úspěšnost léčby?