



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Stanovení calprotectinu ve stolici metodou chemiluminiscence.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: [Specializace ve zdravotnictví](#)

Autor: Klára Zázvorková

Vedoucí práce: Mgr. David Benda

České Budějovice 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou/diplomovou práci s názvem „*Stanovení calprotectinu ve stolici metodou chemiluminiscence*“ jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů 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 elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích 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 bakalářské/diplomové práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské/diplomové práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 14.6.2021

.....

podpis

Poděkování

Ráda bych touthle cestou poděkovala mému vedoucí práce Mgr. Davidu Bendovi za pomoc při výběru tématu práce a cenné rady při zpracování. Také bych chtěla moc poděkovat celé své rodině a blízkým za podporu nejen při studiu.

Obsah

1.	Úvod	5
2.	TEORETICKÁ ČÁST	6
2.1.	Historie	6
2.2.	Idiopatické střevní záněty	6
2.3.	Rozdělení	7
	2.3.1. <i>Crohnova choroba</i>	8
	2.3.2. <i>Ulcerózní kolitida</i>	11
2.4.	Léčba	13
2.5.	Diagnostika IBD	15
3.	Calprotectin	16
3.1.	Úloha calprotectinu	16
3.2.	Možnosti stanovení	17
4.	PRAKTICKÁ ČÁST	19
4.1.	Cíl práce	19
4.2.	Výzkumné otázky a hypotézy	19
4.3.	Odběr a transport vzorků	19
5.	STANOVENÍ KALPROTEKTINU	20
5.1.	Princip	20
5.2.	Reagencie a vybavení	21
5.3.	Postup analýzy	23
6.	VÝSLEDKY A STATISTICKÉ ZHODNOCENÍ	24
6.1.	Základní statistické údaje	24
7.	DISKUZE	36
8.	ZÁVĚR	39

9.	Literatura	40
10.	Seznam	44
10.1.	Seznam obrázků	44
10.2.	Seznam tabulek	44
10.3.	Seznam grafů	45
11.	Seznam zkratk	46

Stanovení calprotectinu metodou chemiluminiscence

Abstrakt

Má bakalářská práce se zabývá idiopatickými střevními onemocněními a laboratorním stanovením calprotectinu metodou chemiluminiscence. V teoretické části jsem se zaměřila na jednotlivá onemocnění, jejich popis a možnosti léčby. Hlavní část práce je věnována laboratorní diagnostice calprotectinu ze stolice, který je aktuálně jedním z hlavních diagnostických markerů těchto onemocnění. Statisticky jsem zhodnotila více jak 7929 vzorků u pacientů, u kterých lékař má podezření na idiopatické střevní onemocnění. Cílem této práce bylo zjištění, zda IBD postihuje více určité věkové skupiny obyvatelstva, popřípadě se zaměřit na pohlaví, diagnózu apod.

Klíčová slova

Idiopatické střevní onemocnění, Crohnova choroba, Ulcerózní kolitida, Calprotectin, Chemiluminiscence

Determination of calprotectin in stool by chemiluminescence

Abstract

My bachelor thesis deals with idiopathic intestinal diseases and laboratory determination of calprotectin by chemiluminescence method. In the theoretical part I focused on individual diseases their description and treatment options. The main focus is on the laboratory diagnosis of calprotectin from stool which is currently one of the main diagnostic markers of idiopathic intestinal diseases. I statistically evaluated more than 7929 samples in patients in whom the physician suspects idiopathic intestinal disease. The aim of this thesis was to determine if IBD affects more certain age groups, gender, diagnosis, etc.

Key words

Idiopathic bowel disease, Crohn's disease, Ulcerative colitis, Calprotectin, Chemiluminescence

1. Úvod

Onemocnění trávicího traktu jsou čím dál častějším problémem současné populace. Idiopatické střevní záněty (IBD) patří mezi chronická zánětlivá onemocnění střev, u kterých není úplně známá příčina vzniku. Jako možné faktory přispívající k rozvoji těchto onemocnění můžeme považovat genetickou výbavu, skladu potravin, infekce střevní sliznice, kouření, atd. V poslední době lze již hovořit o globálním onemocnění vyskytující se převážně v průmyslově urbanizované společnosti se stále zvyšující se incidencí. Mezi tyto onemocnění řadíme Crohnovu chorobu, která může postihnout jakoukoli část gastrointestinálního traktu, a Ulcerózní kolitidu, jež je primárně lokalizována na sliznici tlustého střeva až po konečník. Včasné stanovení diagnózy, sledování akutního stavu pacienta a započetí léčby může výrazně zmírnit komplikace a následky vyplývající z těchto onemocnění. Toto se však zatím neobejde bez invazivních metod vyšetření, která nejsou pro pacienta vždy příjemná. Zavádění nových neinvazivních a snadněji dostupných vyšetřovacích metod je velmi přínosné jak pro pacienty i pro lékaře. Stanovení množství calprotectinu ve vzorku stolice je jedním z nich. Z laboratorního hlediska je nutné zvolit si dostatečně citlivou a správnou metodu stanovení, která bude korelovat s klinickými projevy těchto onemocnění. (Halling, M. L., 2017).

V první části práce teoreticky popisují jednotlivé choroby idiopatických střevních zánětů, zaměřují se na hlavní rysy, projevy a lokalizaci. Dále se zabývám jednotlivými diagnostickými postupy nemocí IBD a jejich následnou léčbou. Závěr teoretické části se týká popisu calprotectinu, jeho charakteristika, význam v IBD a možnosti stanovení. V praktické části této práce se budu zabývat laboratorním stanovením tohoto proteinu a statisticky vyhodnotím výsledky poskytnuté laboratoří Klinické imunologie a alergologie AeskuLab Praha.

Toto téma pro svou bakalářskou práci jsem si vybrala z důvodu toho, že problematika Idiopatických střevních zánětů se mě osobně dotýká, jelikož mám ve svém okolí a rodině několik osob trpících tímto onemocněním. Osobně jsem zažila jak jim toto onemocnění komplikuje jejich životy a jak náročná je s touto chorobou žít.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. *Historie*

První zmínka o smrtelném onemocnění střev, která odpovídá nynější Ulcerózní kolitidě byla roku 1793. Později název “ulcerózní kolitida” vytvořil Samuel Wilks v roce 1859.

Můžeme identifikovat tři hlavní období v historii IBD. Mezi 19. a 20. stoletím bylo hlavním úkolem definovat diagnostická kritéria a odlišení od střevní tuberkulózy. Ve 20. století převládal intenzivní a plodný terapeutický výzkum, který vyvrcholil zavedením biologických léků do klinické praxe. Od počátku 21. století jsou tradiční definiční kritéria zpochybňována holistickými kritérii ve snaze hledat dosud nedosažitelné vyléčení. (Actis GC, 2019)

2.2. *Idiopatické střevní záněty*

Jedná se o chronické poškozující záněty s případnou remisí onemocnění. Označujeme je jako idiopatické střevní záněty nebo nespecifické střevní záněty (inflammatory bowel disease - IBD). “Nespecifické” z dosud nepoznaných příčin a neúplně prozkoumané patogeneze. Za možnou příčinu vzniku idiopatických střevních zánětů můžeme považovat sníženou rozmanitost střevní mikroflóry. Zejména některých druhů enterokoků a proteobakterií, popřípadě hrají negativní roli i kvasinky, zvláště u Crohnovy choroby. (J.Ehrmann, M. Konečný, 2011) (J. Krejsek, 2016)

Dalším příkladem může být genetická predispozice pacienta. Za zmínku stojí to, že Turnerův syndrom, onemocnění, při kterém se x-monosomie vyskytuje v každé buňce, je spojen se zvýšeným výskytem Idiopatických střevních zánětů. Geografický výskyt, kdy u pacientů z rozvojových zemí můžeme zjistit nízký výskyt onemocnění, ať už z důsledku negativního diagnostického povědomí, životního stylu či stravování.

Důležitou roli hraje i pohlaví, kdy u Crohnovy choroby můžeme zaznamenat vyšší výskyt u žen, zejména v pozdním dospívání a rané dospělosti. Díky hormonálním faktorům. Za to u ulcerózní kolitidy máme procentuálně vyšší zastoupení mužů.

Mezi nejdůležitější rizika pro rozvinutí idiopatických střevních zánětů je kouření, a to zejména pro Crohnovu chorobu – v průměru dvakrát vyšší. Perorální antikoncepce může negativně ovlivnit výskyt IBD díky trombogenním vlastnostem.

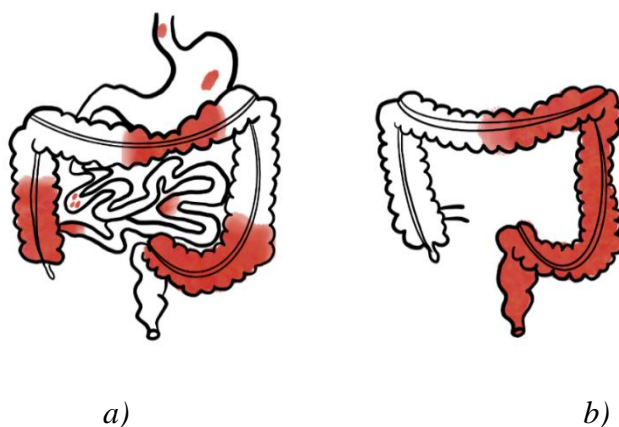
Strava je důležitým ukazatelem výskytu IBD, zejména při zvýšeném příjmu cukrů. Vysoký příjem vlákniny, ovoce a zeleniny může dokonce chránit před rozvojem onemocnění. Jako další faktor je slepé střevo, kdy bylo zjištěno, že apendektomie chrání před vznikem ulcerózní kolitidy. (E. V. Loftus ml, 2004) (T.Greuter, C. Manser, V. Pittet 2020)

2.3. Rozdělení

Idiopatické střevní záněty rozdělujeme na:

Crohnovu chorobu

Ulcerózní kolitidu



Obr. 1 a) Crohnova choroba, b) Ulcerózní kolitida (vlastní ilustrace)

2.3.1. Crohnova choroba

Crohnova choroba je chronické onemocnění, které postihuje gastrointestinální trakt. Je charakterizováno transmurálním granulomatózním zánětem, který probíhá diskontinuálně a má tendenci vytvářet píštěle. Způsobuje léze od úst až po konečník a může vyústit v mimostřevní komplikace. Většina případů je omezena na distální část tenkého a tlustého střeva. (Veauthier B, 2018)

Mezi nejčastější příznaky patří průjem, bolest břicha, horečka, úbytek hmotnosti a únava. Při dlouhodobém zatížení a postižení tenkého střeva dochází k postupnému hubnutí a malasorbci. Může také docházet k průjmům s příměsí krve. (Ranasinghe I.R., 2020)

U pacientů velmi často dochází ke střídání relapsů a remisí onemocnění.

Příčina není známa, ale může záviset na interakci mezi genetickou predispozicí, faktory prostředí a slizniční imunitou.

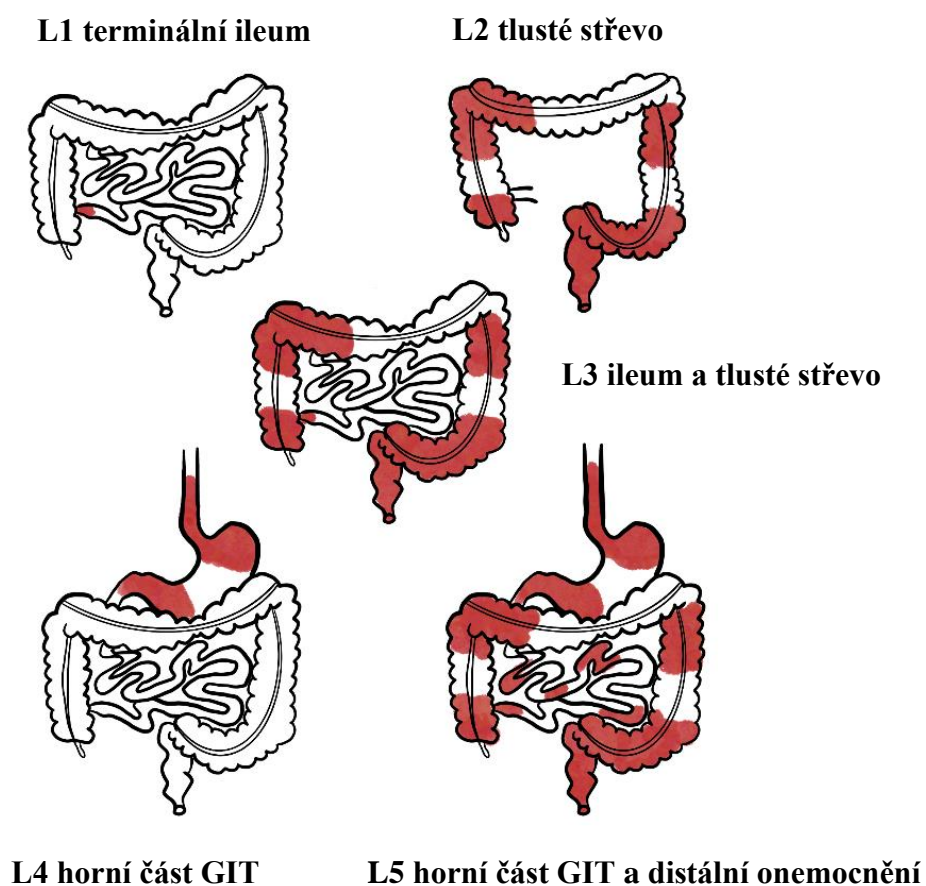
Byla zjištěna genetická asociace s fenotypy, konkrétně mutace NOD2/CARD15 souvisí s fenotypem Crohnovy choroby, který byl spojen s těmi, kteří byli diagnostikováni v mladším věku s ileálním postižením nebo zvýšenou závažností ileálního onemocnění vyžadující chirurgický zákrok. V budoucnu by tento genotyp mohl potenciálně poskytnout prognostické informace o závažnosti onemocnění. (Lata, 2010) (Keil, 2012)

Toto onemocnění nejčastěji postihuje mladé lidi, ale stále více pacientů, zhruba 15% všech diagnostikovaných případů, se poprvé objeví ve vyšším věku. Výskyt starších dospělých s nově diagnostikovanou Crohnovou chorobou v posledních letech neustále stoupá, ročně se zvyšuje o 5% a celková prevalence je 1 ze 160 starších dospělých. (Nachand D. 2020)

Pacienti s Crohnovou chorobou jsou vystaveni zvýšenému riziku rakoviny, osteoporózy, anémie, nedostatků ve výživě, deprese, infekce a trombotických příhod. (Wofl J.H., 2020) (Veauthier B. 2018)

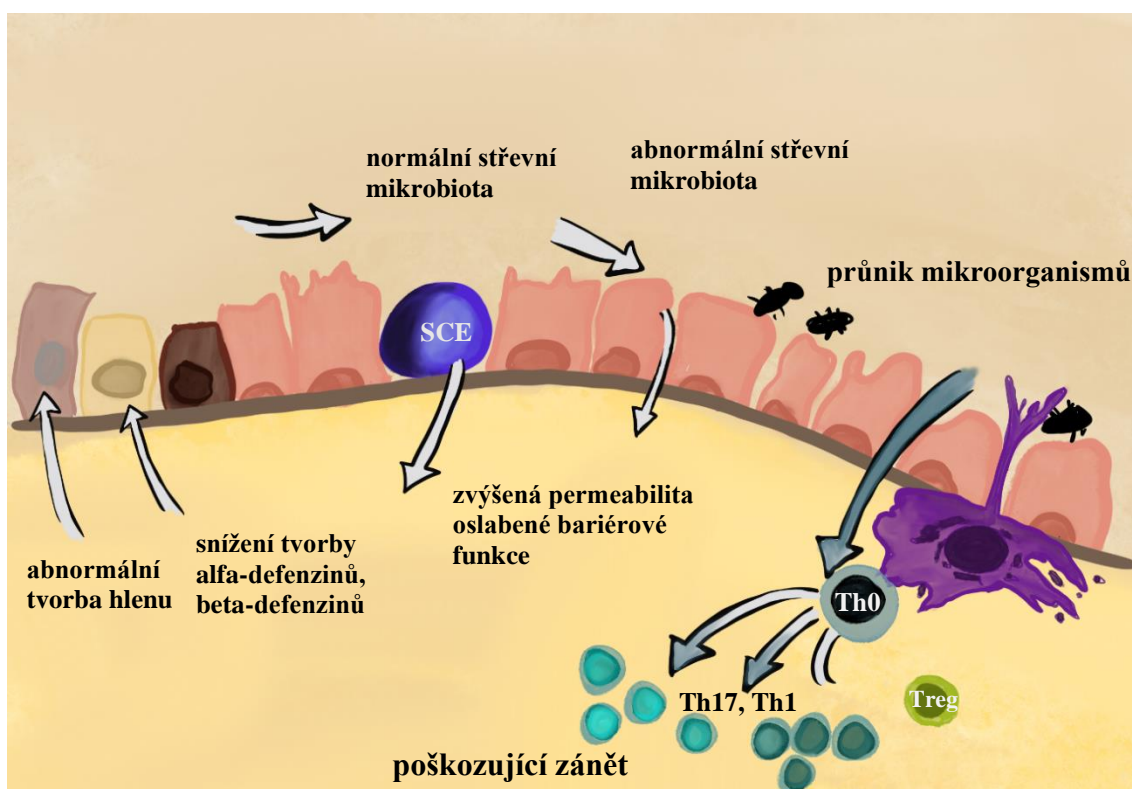
Pro včasnou diagnostiku používáme ileokolonoskopii, zobrazovací diagnostiku, která hraje stále důležitou roli při hodnocení dalších míst onemocnění v segmentech střeva s intramurálním zánětem nebo nepřístupnou endoskopií a při hodnocení léčebné odpovědi vzhledem k tomu, že je neinvazivní, má zvýšenou přijatelnost pro pacienty a je velmi

přesná. Po stanovení diagnózy Crohnovy choroby by měli být pacienti fenotypizováni podle Montrealské klasifikace a vyšetřeni na mimostřevní projevy a přidružená autoimunitní onemocnění. Hodnocení aktivity onemocnění v kombinaci s fenotypem a endoskopickými znaky umožňuje lékařům zvolit nejlepší možný léčebný režim, protože tyto faktory jsou důležitými prediktory průběhu onemocnění a komplikací. (Baumgart D.C. 2012)



Obr.2 Montrealská klasifikace (vlastní ilustrace)

Pacienti s Crohnovou chorobou mají dnes vynikající prognózu dlouhodobého přežití a přijatelné kvality života. Nové léky, nutriční terapie, pokroky ve vývoji chirurgické techniky, lepší pooperační péče a rozpoznání rizika rakoviny zlepšily vyhlídky. Zejména strikturoplastiky se používají k prevenci syndromu krátkého střeva, závažnému malabsorpčnímu syndromu, který je důsledkem opakovaných dlouhých resekcí. Pacienti se syndromem krátkého střeva mohou vyžadovat domácí parenterální výživu nebo dokonce transplantaci tenkého střeva. (Cohen R.D., 2002)



Obr. 3 Crohnova choroba, imunopatogenetické mechanismy (vlastní ilustrace)

2.3.2. *Ulcerózní kolitida*

Ulcerózní kolitida je chronické zánětlivé onemocnění sliznice tlustého střeva, které začíná v konečniku a postupuje proximálně kontinuálním způsobem částí nebo celým tlustým střevem. Je to vyčerpávající, celoživotní, recidivující a remitentní onemocnění s nepředvídatelným průběhem. (Ordas I. 2012)

Charakteristickým příznakem onemocnění je krvavý průjem, doprovázený bolestí břicha.

Ulcerózní kolitida se může objevit v různých formách, například jako zánět sliznice konečniku a panikulitida, které se vyskytuje ve 20 % případů. U tohoto onemocnění výsledky kolonoskopického vyšetření ukazují na postupující zánět, který postihuje celou oblast konečniku a tlustého střeva. Jakmile se UC zhorší, mohou se ve stěně střeva vyvinout nezhoubné nádory (polypy). Jedním z nejvýraznějších příznaků UC těžký zánět vrstev hlenu tlustého střeva a také těžký zánět konečniku, který se může rozšířit i do hlubších oblastí střeva. Může také postihnout svalovou vrstvu tlustého střeva. V důsledku toho se snižuje počet střevních pohybů. Jedná se o tzv. toxický megakolon. (Kohout, Pavlíčková, 2006)

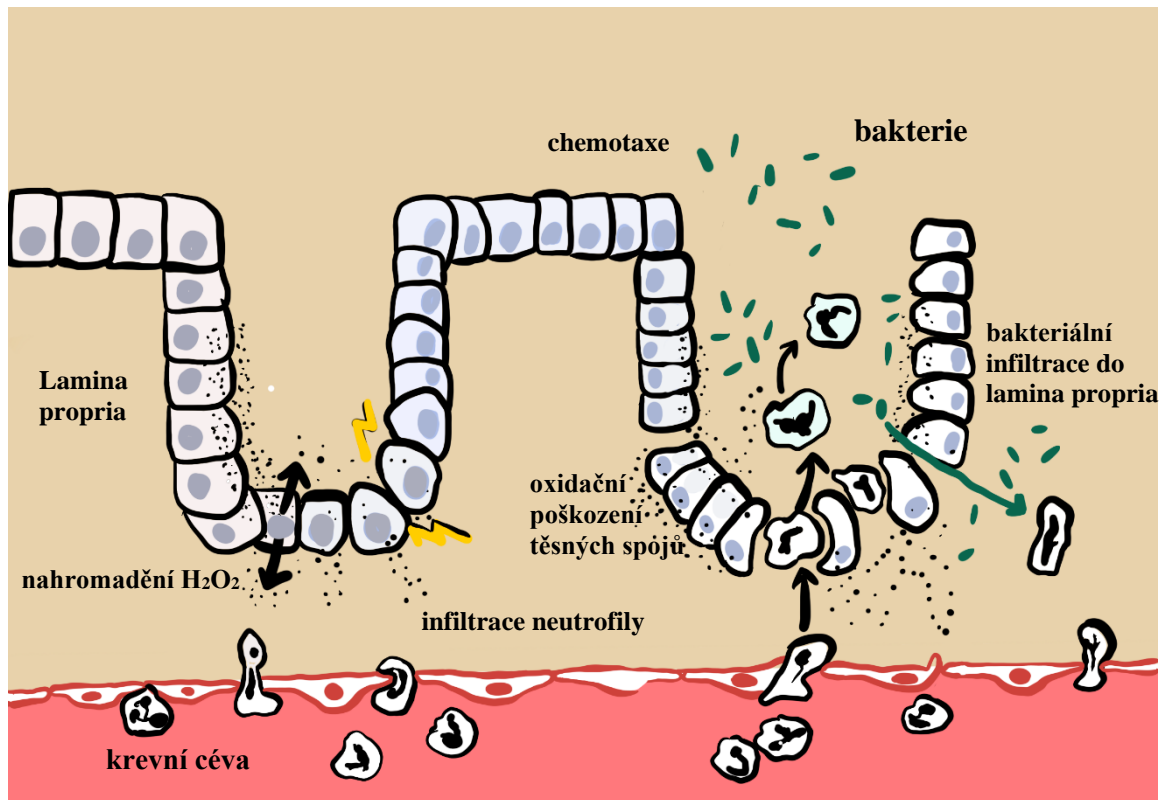
Odběr biopsických vzorků patří mezi nejdůležitější diagnostickou metodu a mělo by být odebráno z rekta nebo segmentu střeva, u té části, která není postižena zánětem. (Kagueyama F. M., 2014)

Patogeneze je multifaktoriální a zahrnuje genetickou predispozici, ale také faktory prostředí a neregulovatelné imunitní odpovědi. Do rizikových faktorů můžeme zařadit i nedávné infekce salmonelou nebo campylobakterem. (Pravda J. 2019)

Výskyt onemocnění vrcholí v časně dospělosti, ale pacienti mohou onemocnět od raného dětství.

Pacienti s ulcerózní kolitidou mají zvýšené riziko vzniku rakoviny tlustého střeva a měli by pravidelně podstupovat kolonoskopii počínaje osmi až deseti lety po stanovení diagnózy.

Dále můžeme zaznamenat nedostatek železa u více než 50 % lidí trpících ulcerózní kolitidou. (S. Seyedian, 2019)



Obr. 4 Schéma patogeneze ulcerózní kolitidy (vlastní ilustrace)

2.3.3. Nespecifický střevní zánět

Neklasifikované zánětlivé střevní onemocnění (IBDU) je chronické onemocnění gastrointestinálního traktu a nejvzácnější z podskupin IBD, kam patří ulcerózní kolitida a Crohnova choroba. IBDU je charakterizována klinickými a endoskopickými příznaky chronické kolitidy bez specifických znaků pro UC nebo Crohnovu chorobu, ale má spíše rysy obou. (Dignass, 2012)

IBDU u dětí je dvakrát častější než onemocnění dospělých.

Termín IBDU se používá v případech kolitidy, kdy endoskopický a histologický nález neumožňuje rozlišit mezi UC a Crohnovou chorobou. (Thurgate L.E, 2019)

2.4. Léčba

Cílem léčby je navodit remisi UC nebo Crohnovy choroby. Léčba IBD se dělí na léčbu mírného, středně těžkého a těžkého onemocnění. (McDowell C., 2020)

Farmakologická léčba

První volbou u léčby je terapie kyselinou 5-aminosalicylovou, buďto per os nebo per rectum. Rektální podání poskytuje až 100krát vyšší koncentraci účinné látky v místě zánětu, a proto je pro navození remise preferováno před perorálním užitím. Pokud je léčba neúčinná, lze přidat kortikosteroidy, které můžeme podávat i intravenózně. (Pithadia A.B., 2011)

U pacientů, kterým jsou podávány steroidy, je nezbytné posoudit hustotu kostí; osteoporóza má u těchto pacientů významnou morbiditu. Pokud se předpokládá užívání steroidů po dobu delší než 3 měsíce, měly by být zavedeny doplňky vápníku a bisfosfonáty. (McDowell C., 2020)

Některá antibiotika, jako je amoxicilin, ciprofloxacín, metronidazol a azitromycin, mohou zlepšit příznaky a používají se jako podpůrná léčba.

Chirurgická léčba

V případě neúčinné medikamentózní léčby, je u závažného onemocnění indikován chirurgický zákrok. Potřeba chirurgického zákroku je častá. Až 57% pacientů potřebuje alespoň jednu operaci. Chirurgický zákrok je často nutný k léčbě píštělí, abscesů a peritoneálních onemocnění. Chirurgickou léčbu však lze použít v případech, kdy farmakologická léčba nezlepšuje příznaky IBD. (Veauthier B. 2018) Tato léčba nemusí chorobu vyléčit. Pooperační recidiva je charakteristickým rysem klinického průběhu onemocnění. Po resekci terminálního ilea u Crohnovy choroby lze u většiny pacientů během několika týdnů prokázat aftózní léze v místě anastomózy a až u 80 % pacientů se do 12 měsíců endoskopicky prokáže recidiva. (Pathirana W.G.W.,2018)

Biologická léčba

Biologická léčba IBD pomocí monoklonálních protilátek proti cytokinům: anti-TNF, antiintegrinové látky a protilátky proti interleukinu 12/23p40. Celková účinnost anti-TNF látek je největší, pokud jsou podávány do dvou let od začátku onemocnění. Tyto léčebné

postupy sice zlepšují časné příznaky onemocnění, ale z dlouhodobého hlediska mohou příznaky zhoršovat. (S. Seyedian, 2019) (Ehrmann J., Konečný M., 2011)

Mezi nežádoucí účinky biologické léčby patří imunitně zprostředkované infuzní reakce, kožní léze, artritida a demyelinizační poruchy, které však obvykle buď samy ustupují při ukončení léčby, nebo jsou relativně vzácné. (Ganzetti G., 2016)

K dnešnímu dni jsou pro použití u IBD schváleny čtyři různé anti-TNF- α přípravky. (Paramsothy, S, 2018) Mezi ně například řadíme Infliximab (IFX), což je 75% humánní a 25% myší monoklonální protilátka. (Zbořil V., 2005), Adalimumab (ADA) je humánní IgG1 imunoglobulin a golimumab (GLM) používáme u pacientů s ulcerózní kolitidou ve vysokém stádiu aktivity, při které již nefunguje základní medikamentózní terapie. (Douda T., 2017)

Fekální mikrobiální transplantace

Léčba IBD pomocí fekálií se zkouší již několik let. Je to metoda přímé změny střevní mikroflóry příjemce, která normalizuje její složení a přináší terapeutický prospěch. Před transplantací by měl být důsledně proveden výběr dárců pomocí dotazníku, pohovoru, krevních testů a vyšetření stolice, aby se snížil výskyt nežádoucích účinků a zabránilo se jim. (Weingarden A.R., 2017) Cílem FMT je obnovit střevní mikrobiotu zavedením vhodné bakteriální populace infuzí střevní mikrobioty, například prostřednictvím kolonoskopie, orogastrické sondy, klyzmatu nebo perorálně ve formě kapsle, která obsahuje lyofilizovanou látku. (Tan P., 2020)

Dieta

Enterální výživa - zahrnující monomerní, oligomerní nebo polymerní diety - používaná po dobu 1-2 měsíců, může přinést krátkodobou remisi přibližně u 70 % pacientů. Mezi samotnými dietami není žádný zvláštní rozdíl. Toto zlepšení však musí být podpořeno další medikamentózní léčbou. (Di Caro S., 2019) Strava hraje u IBD významnou roli a dietní faktory se podílejí na patogenezi, rekurenci a léčbě IBD. (Gatti S., 2017)

Podpůrná léčba

Analgetika, anticholinergika a antidiarhoika hrají podpůrnou roli ke snížení příznaků a zlepšování kvality života. Tyto léky by měly být individualizovány na základě příznaků pacienta a podávány navíc k protizánětlivým lékům. (Pithadia A.B., 2011)

Léčba IBD během těhotenství

Těhotenství je u pacientek s klidovou formou IBD obvykle bezproblémové. U pacientek s aktivním onemocněním je vyšší pravděpodobnost potratu, předčasného porodu nebo narození dítěte s porodní hmotností pod normou. Vhodnou léčbou pro těhotné můžou být kortikosteroidy, které se již mnoho let bezpečně používají. Za naprosto nežádoucí léčbu považujeme imunosupresiva, která mohou zvýšit riziko vzniku vrozených malformací. (Pithadia A.B., 2011)

2.5. Diagnostika IBD

K diagnostice IBD se často používají klinická, endoskopická, histologická a radiologická vyšetření. Přibližně 7-10% nespecifických střevních zánětů je nejasných.

Mezi klinické příznaky tohoto onemocnění patří poruchy růstu u dětí, anémie, bolesti břicha, krvavé průjmy a artritida. (Oliveira S.B., 2018)

K přesné diagnostice Crohnovy choroby a Ulcerózní kolitidy se používá moderní lékařské vybavení, jako je radiografie horní části trávicího traktu, endoskopie, kolonoskopie a odběr vzorků z trávicího traktu. Výše uvedené vybavení pomůže rozlišit tato dvě onemocnění. V závažných případech a při těžké infekci tlustého střeva je však diagnostikování těchto dvou onemocnění velmi obtížné. (Lata, 2010)

Crohnova choroba může způsobovat mechanické obstrukce střeva v důsledku jizvení a otoků. Vředy ve střevním traktu se mohou vyvinout do vlastních traktů, tzv. píštělí. Aby bylo možné zavést nejlepší léčbu Crohnovy choroby, je třeba identifikovat oblasti těla postižené onemocněním. K tomuto účelu lze použít radiografické metody. (Keil, 2012)

Přestože neexistuje žádný specifický test pro diagnózu CD nebo UC, jsou pro stanovení diagnózy nutná některá fyzikální vyšetření, laboratorní vyšetření a endoskopie. V některých případech lze zánětlivé střevní onemocnění diagnostikovat pomocí přesných lékařských vyšetření, jako je vyšetření stolice, kompletní krevní obraz, baryový rentgen, radiologické testy, sigmoideoskopie, kolonoskopie, horní endoskopie, kapslová endoskopie a některé další krevní testy. (S. Seyedian, 2019)

3. Calprotectin

Calprotectin je protein patřící do rodiny proteinů S-100.1 o velikosti 36,5 KDa vázající na sebe vápník a zinek. Je složen z jednoho lehkého, dvou těžkých řetězců vázající vápník. Uvolňuje se v době buněčného stresu nebo poškození postupně z leukocytů během jejich aktivace nebo po rozpadu. (Khaki-Khatibi F. 2020) Akumulace neutrofilů ve sliznici, což je vlastnost zánětlivého vzplanutí, má za následek uvolňování fekálního calprotectinu (FC) do stolice, kde může být snadno měřen. Zejména přítomnost calprotectinu ve stolici kvantitativně souvisí s migrací neutrofilů do gastrointestinálního traktu (GI). Je to užitečný marker střevního zánětu také proto, že na rozdíl od jiných systémových zánětlivých markerů jeho hladina není ovlivněna jinými příčinami zánětu. než jsou střevní. (Caviglia GP, 2018)

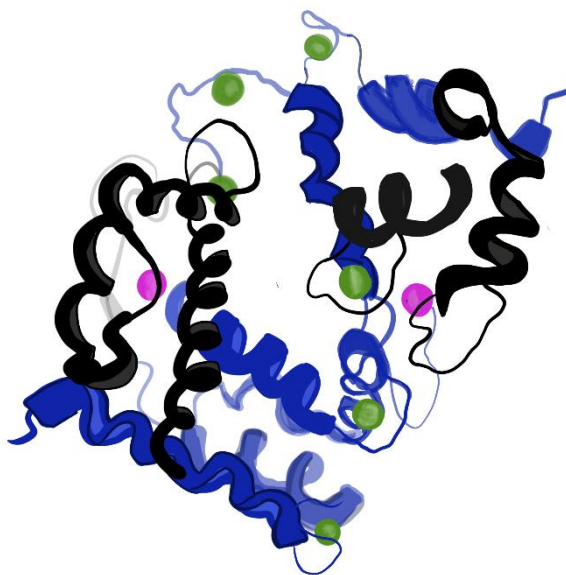
Calprotectin má několik biologických vlastností včetně antimikrobiálních, imunomodulačních a antiproliferačních aktivit.

Stanovení calprotectinu je neinvazivní prediktivní test s vysokou účinností a vysokou citlivostí pro zánětlivé střevní onemocnění, ale i jako marker kolorektálního karcinomu. Kromě toho má mnoho klinických využití, například zvýšená hladina v séru značí různé imunologické a imunopatologické stavy. Hladiny calprotectinu v séru se rychle zvyšují v reakci na bakteriální infekce ledvin a srdce nebo při odmítnutí transplantátu. Calprotectin v séru u pacientů s IBD přímo koreluje s hladinami Calprotectinu ve stolici a jsou tak účinnější v diagnostice IBD ve srovnání s CRP a albuminem. I když je citlivý, není specifický, protože může být zvýšený mimo jiné i u rakoviny tlustého střeva, divertikulitidy, infekční kolitidy a ischemické kolitidy. (Sridhar M. 2019) (Edith Pérez de Arce 2020)

3.1. Úloha calprotectinu

Funkčnost fekálního calprotectinu jako laboratorního markeru byla studována v různých oblastech diagnostiky a léčby idiopatických střevních zánětů, včetně odlišení IBD od syndromu dráždivého tračníku, hodnocení endoskopické aktivity onemocnění, hodnocení histologické aktivity onemocnění, předpovědi recidivy onemocnění a odpovědi na léčbu.

Používá se k diagnostice, sledování aktivity onemocnění, vedení léčby a předpovědi relapsu onemocnění a pooperační recidivy u IBD. (Khaki F., 2020) (Pathirana W.G. 2018)



Obr.5 Krystalová struktura calprotectinu (vlastní ilustrace)

Černý a modrý řetězec představují S100A8 a S100A9. Růžové kuličky představují Mn²⁺ a zelené kuličky Ca²⁺.

3.2. Možnosti stanovení

Lze jej detekovat v tělesných tekutinách, vzorcích tkání a stolici a je považován za marker aktivity neutrofilů, protože calprotectin představuje přibližně 60 % celkového množství bílkovin v těchto buňkách. (Rokkas T. 2018)

Měření fekálního calprotectinu lze provádět kvalitativně i kvantitativně.

Při kvalitativním měření se k detekci fekálního calprotectinu používají monoklonální protilátky a při pozitivním výsledku se zjišťuje, zda je fekální calprotectin pozitivní. Pozitivní výsledky jsou charakterizovány výskytem barevných čar na testu či kazetě. Při kvalitativním měření se však uvádějí pouze pozitivní nebo negativní výsledky. (Khaki-Khatibi F. 2020)

Pro kvantitativní hodnocení calprotectinu lze použít různé metody, většina z nich je založena na enzymovém imunosorbčním testu (ELISA); byly také zavedeny chemiluminiscenční imunoanalýzy (CLIA), fluoroenzymové imunoanalýzy (FEIA) a turbidimetrické imunoanalýzy se zvýšeným obsahem částic (PETIA). (Mumolo M.G.,2018)

Point-of-Care Tests

Vzhledem k tomu, že test ELISA má řadu nevýhod, jako je jeho časová náročnost a přístrojové vybavení, staly se v klinických podmínkách populárními testy na calprotectin point-of-care (POC), i když stále vyžadují odběr vzorku stolice, což snižuje uživatelský komfort. Metodou často používanou v POC testech je kvantitativní imunochromatografie. Tento rychlý test umožňuje pacientům měřit si hodnoty calprotectinu ve stolici doma. (Pathirana W.G.W.,2018)

4. PRAKTICKÁ ČÁST

4.1. Cíl práce

Cílem mé bakalářské práce bylo zmapovat problematiku idiopatických střevních zánětů. Jako úkol jsem si zadala popis a celkové vyšetření calprotectinu metodou chemiluminiscence na přístroji LIAISON® XL.

Jako poslední cíl práce jsem se pokusila prokázat, zda IBD postihuje více určité věkové skupiny.

4.2. Výzkumné otázky a hypotézy

První hypotézou je, že předpokládáme zda výskyt pozitivního nálezu u pacientů z gastrologické ambulance je menší než 10%

Druhou hypotézou zjišťujeme výskyt pozitivního nálezu v procentech u pacientů nad 60 let bude vyšší než u ostatních věkových skupin.

Třetí hypotézou, je výskyt vyššího pozitivního nálezu u žen, oproti mužům.

4.3. Odběr a transport vzorků

Odběr stolice na vyšetření calprotectinu zvládne pacient sám po poučení lékařem, popřípadě pomocí návodu, který dostane v ordinaci.

Vzorek, nejlépe první ranní stolice odebírá pacient do prázdné speciální odběrné nádoby, jakékoliv jiné čisté nádoby nebo na suchý čistý odběrový papír. Odebíraná stolice nesmí přijít do kontaktu s biologickými či chemickými látkami, například v připravené nádobě a také s vodou z toalety. Dostačující je velikost lískového oříšku.

Stabilita nativní stolice je 5 dní při 2-8 °C, při delším skladování -20 °C.

5. STANOVENÍ KALPROTEKTINU

5.1. *Princip*

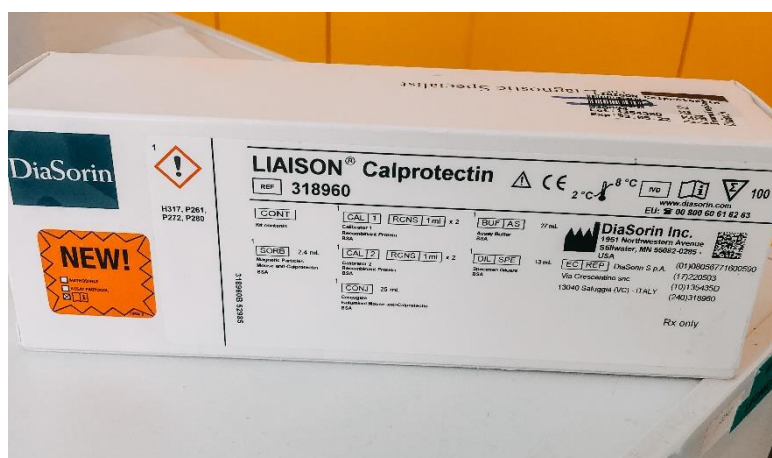
Soupravu LIAISON Calprotectin můžeme zařadit mezi principy sendvičového stanovení. Jedná se o chemiluminiscenční imunoanalytické stanovení (CLIA) in vitro určené pro kvantitativní měření fekálního calprotektinu v lidské stolici. Při tomto stanovení se inkubuje extrahovaný vzorek stolice s paramagnetickými částicemi potaženými monoklonální protilátkou, která se specificky váže na calprotectinový heterokomplex. Po inkubaci pomocí promývacího cyklu se odstraní nenavázaný materiál. Do reakce se přidá monoklonální protilátka konjugovaná s isoluminolem, která se váže na jiné vazebné místo calprotektinu a provede se inkubace. Nenavázaný konjugát se odstraní druhým promytím. Poté se přidají startovací činidla, čímž se spustí prudká chemiluminiscenční reakce. Světelný signál se měří fotonásobičem v relativních světelných jednotkách. Množství přítomného calprotektinu je určeno kalibrační křivkou, která je měřena pomocí kalibračních roztoků před začátkem měření a určuje závislost mezi světelnými jednotkami a koncentrací calprotektinu přítomného ve vzorcích.

Mezi výhody stanovení calprotektinu metodami CLIA můžeme zařadit vysokou citlivost, která je důležitým faktorem diagnostické schopnosti měření calprotektinu pro screeningové účely. Další výhodou je vysoký průchod vzorků analyzátozem, z tohoto důvodu nejsme omezeni počtem pacientů, kteří by se vešli na destičku. Podstatný je i krátký čas detekce. Metoda také přináší vysokou linearitu měření při opakovatelnosti.

Nevýhody stanovení jsou vysoké nároky na čistotu samotné analýzy – možná kontaminace vody či reagensů.

5.2. Reagencie a vybavení

Pro stanovení calprotectinu jsem využívala test LIAISON[®] Calprotectin Assay od firmy DiaSorin.

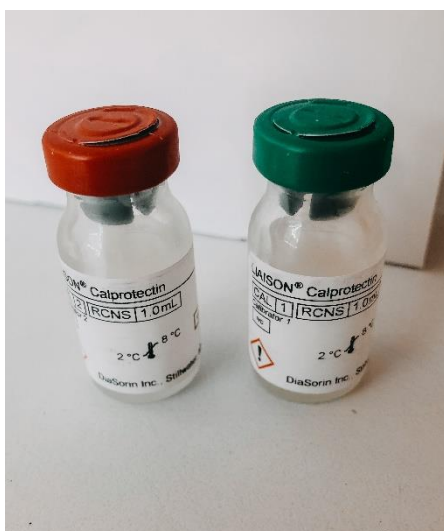


Obr. 6 Souprava LIAISON[®] Calprotectin Assay (zdroj vlastní)

Set obsahuje: činidlo s magnetickými částicemi potažené myši monoklonální protilátkou proti calprotectinu, konjugát, reakční pufr a činidlo pro ředění vzorků. V balení dále nalezneme reagentie potřebné pro samotnou analýzu, jež zahrnuje lyofilizované kalibrátory, LIAISON[®] Q.S.E.T. Buffer a LIAISON[®] Calprotectin Control Set.

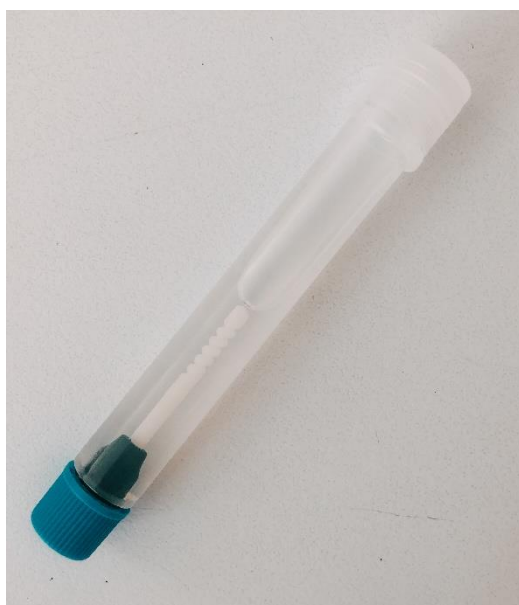


Obr. 7 Komplexní činidlo (zdroj vlastní)



Obr. 8 Lyofilizované kalibrátory (zdroj vlastní)

Pro provedení metody dále potřebujeme polypropylenové zkumavky s inokulační kličkou o objemu 15ml se šroubovacím víčkem, třepačku typu vortex a analyzátor LIAISON[®] XL.



Obr. 9 Polypropylenové zkumavky s inokulační kličkou (zdroj vlastní)



Obr. 10 Analyzátor LIAISON® XL. (zdroj vlastní)

5.3. *Postup analýzy*

Postup metody pro účely výzkumu této bakalářské práce byl následující:

1. Zkumavky se naplní 6 ml 5x ředěného pufru
2. Tyčinkou na víčku se nabere stolice tak, aby se drážky plně zaplnily.
3. Odběrovou tyčinku vložíme zpět do zkumavky, kdy přebytek stolice zůstane ve víčku. Do roztoku se dostane přesné množství stolice dané velikosti drážek.
4. Zkumavka se otočí dnem vzhůru a 60 minut necháme klepat na třepače.
5. Poté protřepeme v ruce tak, aby v zářezech nezůstaly zbytky stolice.
6. Dáváme pozor na pěnu, pokud se vytvoří, odstraníme jí
7. Otevřeme, vložíme do stojánku pro calprotectin, vložíme do Liaisonu a měříme.
8. Měření trvá cca. 45 minut.

6. VÝSLEDKY A STATISTICKÉ ZHODNOCENÍ

6.1. Základní statistické údaje

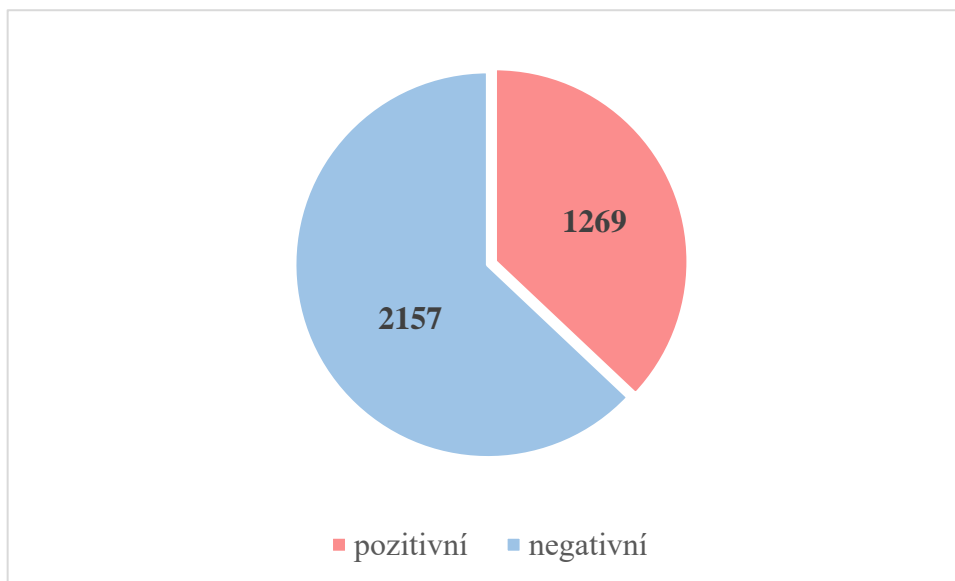
Pro statistické zhodnocení bylo celkem použito 7929 patientských vzorků bez rozdílu pohlaví či věku, ve kterých byla stanovena hladina calprotectinu.

Tabulka 1: Počet pozitivních a negativních nálezů ze souboru vzorků za rok 2019-2021

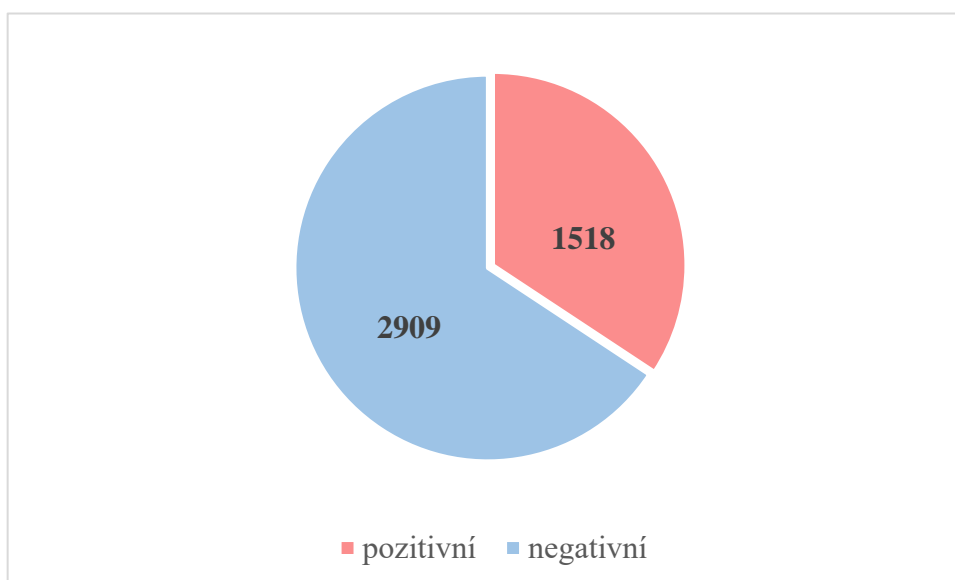
Celkový počet	Pozitivní	Negativní
7855	2789	5066

Z důvodu nedodaného materiálu, špatného odběru bylo ze statistického zhodnocení vyřazeno celkem 74 vzorků.

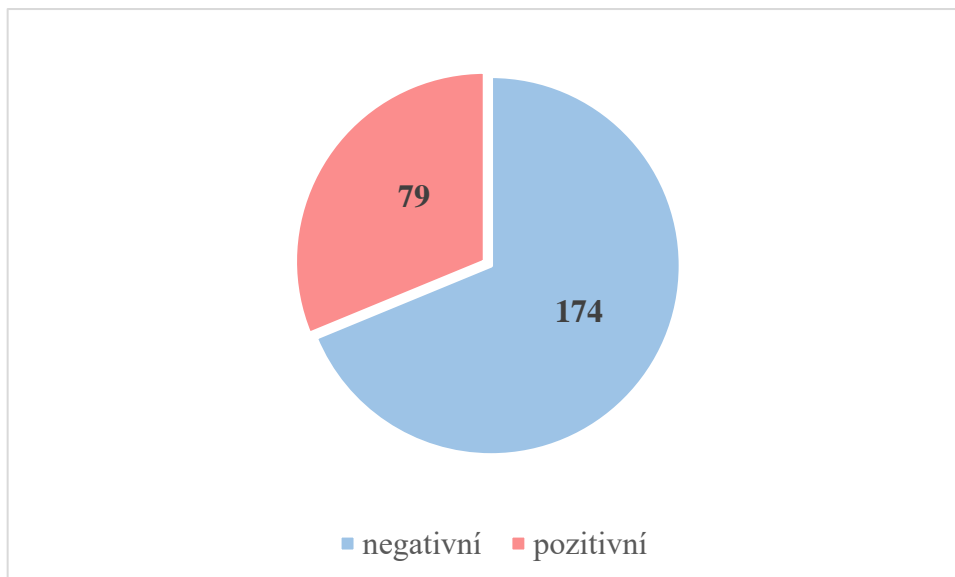
Graf 1: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů z celkového počtu 3426 vzorků za rok 2019-2020



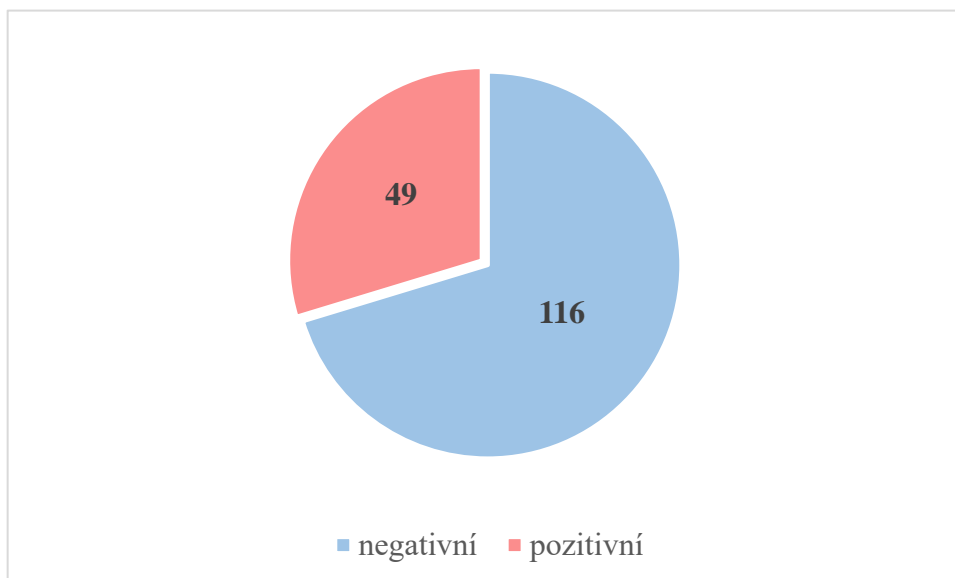
Graf 2: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen z celkového počtu 4428 vzorků za rok 2019-2021



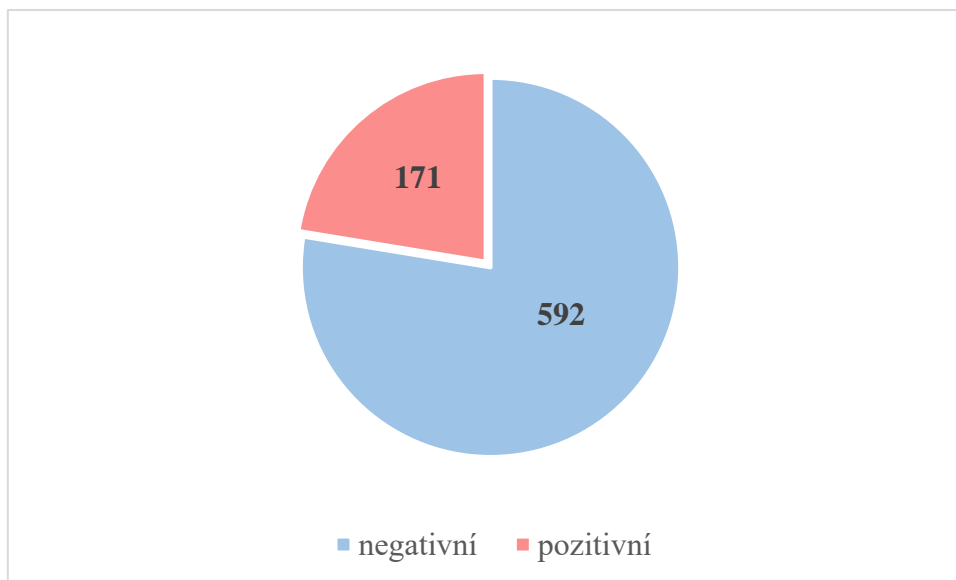
Graf 3: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 0-5 let.



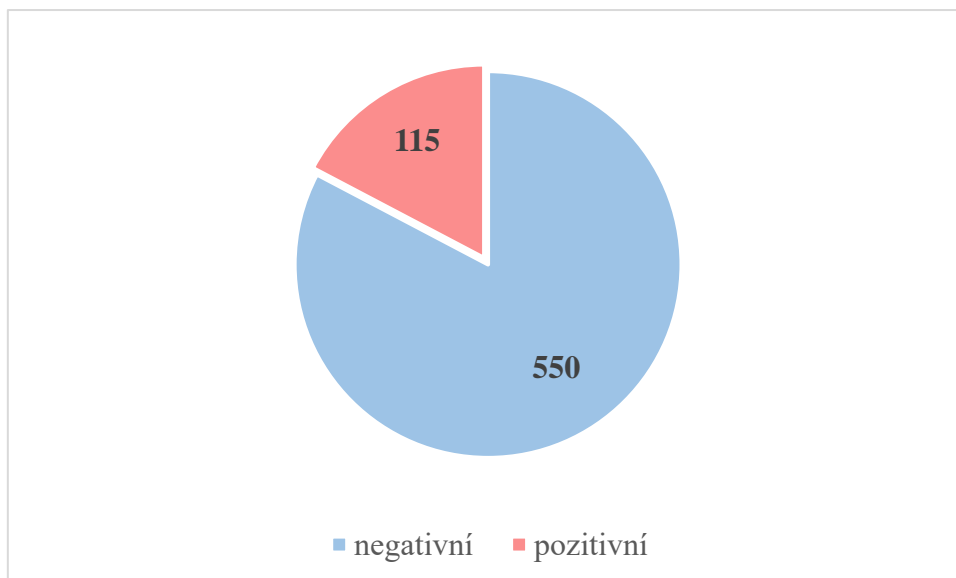
Graf 4: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 0-5 let.



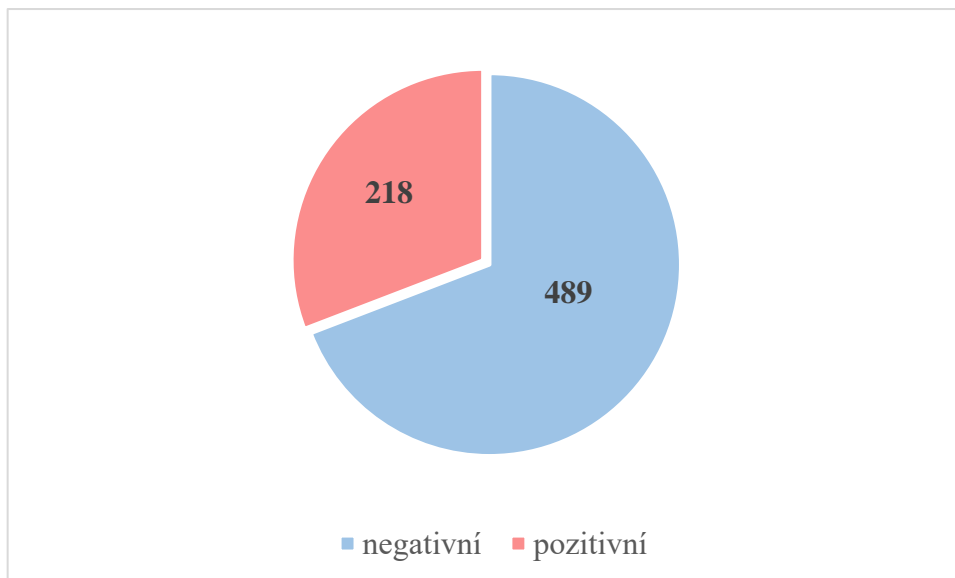
Graf 5: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 6-15 let.



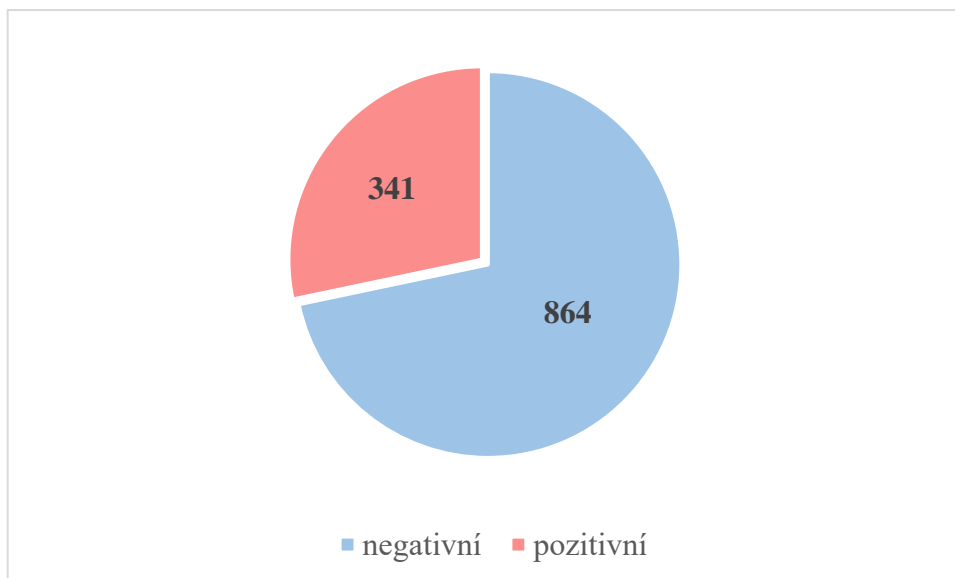
Graf 6: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 6-15 let.



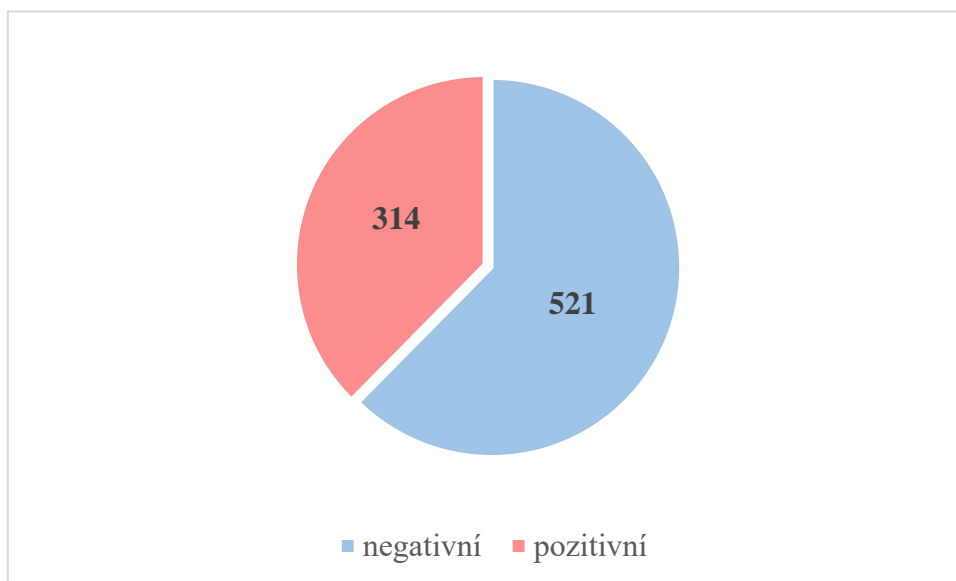
Graf 7: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 16-30 let.



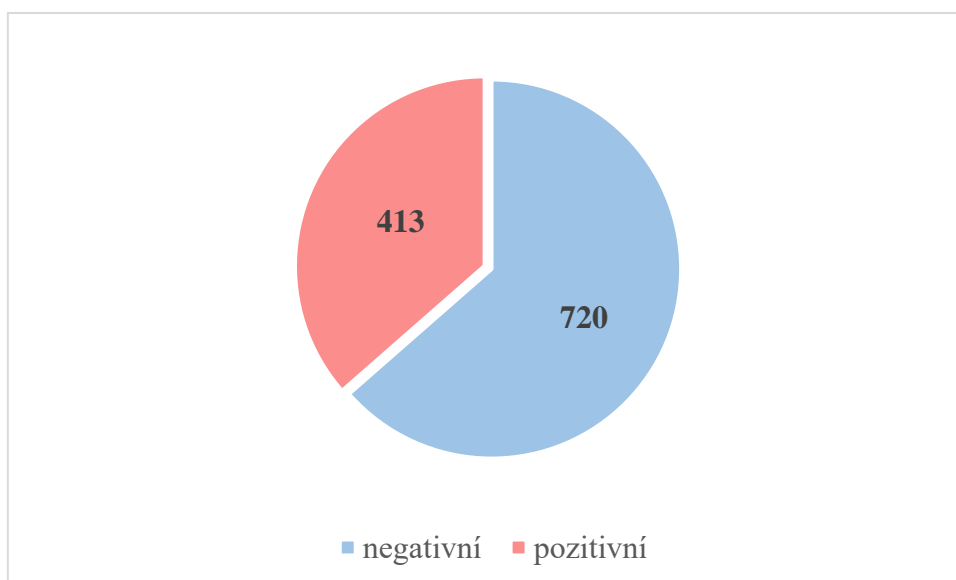
Graf 8: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 16-30 let.



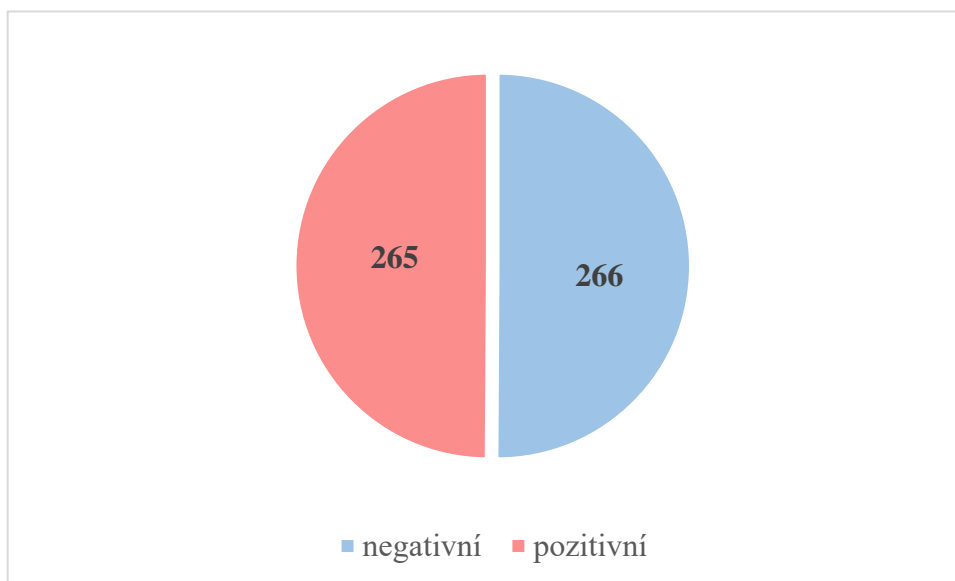
Graf 9: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 31-45 let.



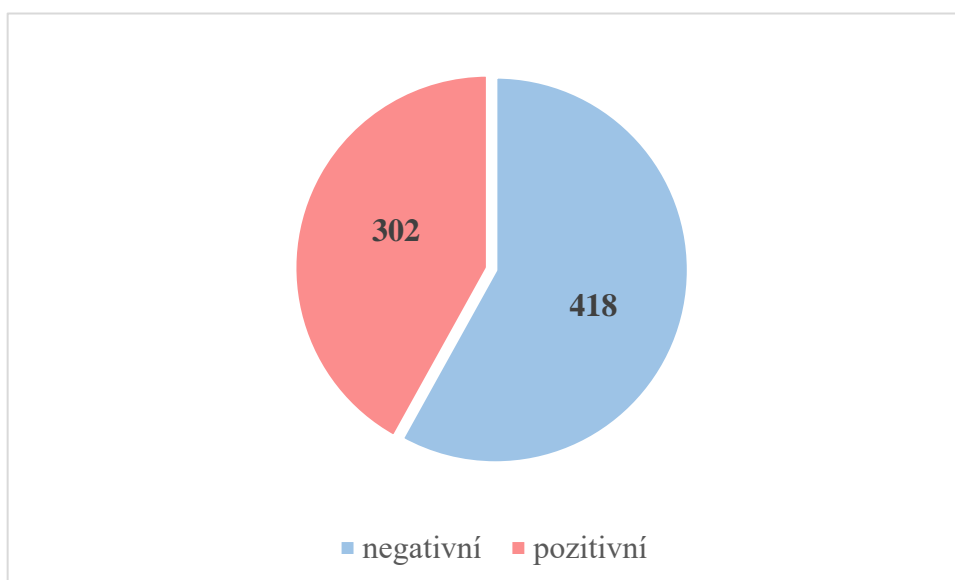
Graf 10: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 31-45 let.



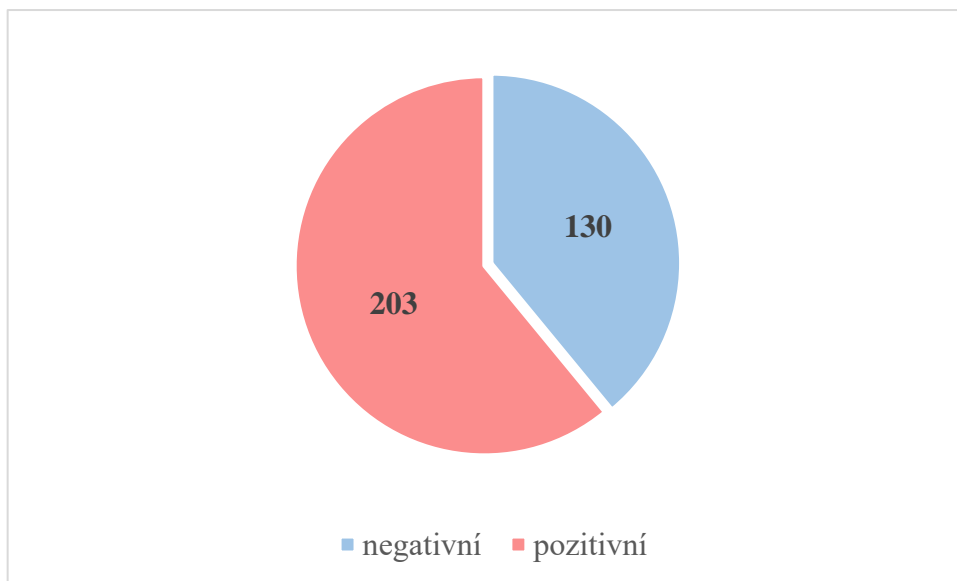
Graf 11: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 46-60 let.



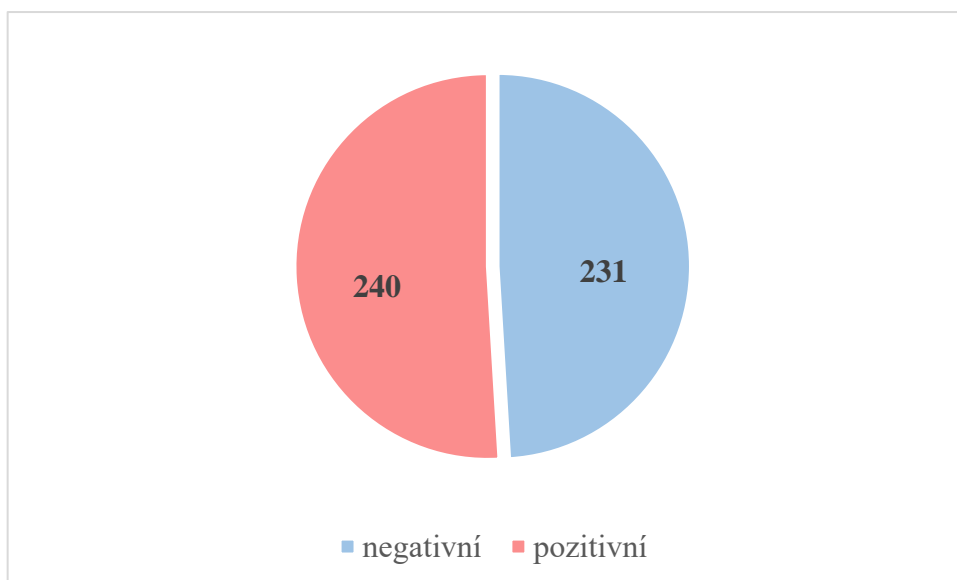
Graf 12: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 46-60 let.



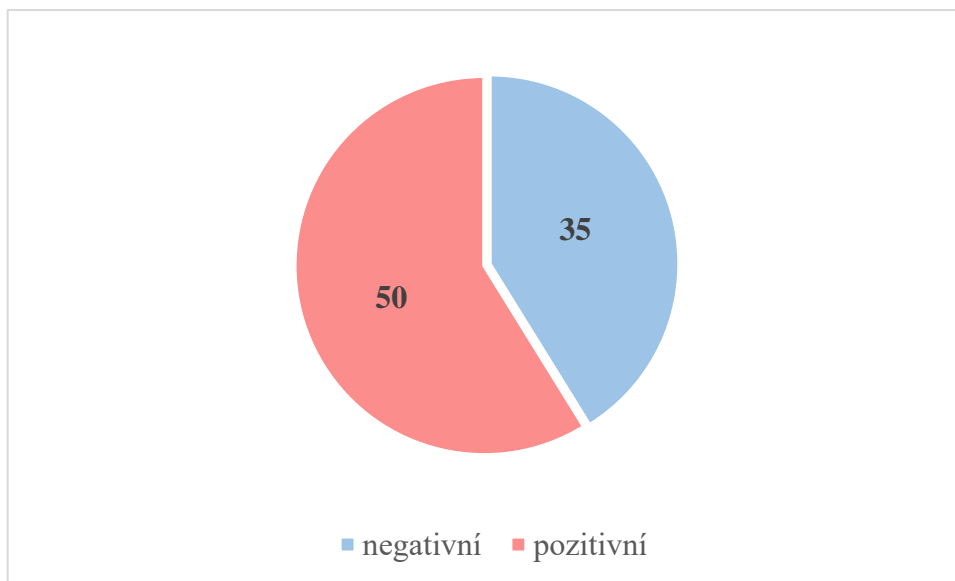
Graf 13: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 61-75 let.



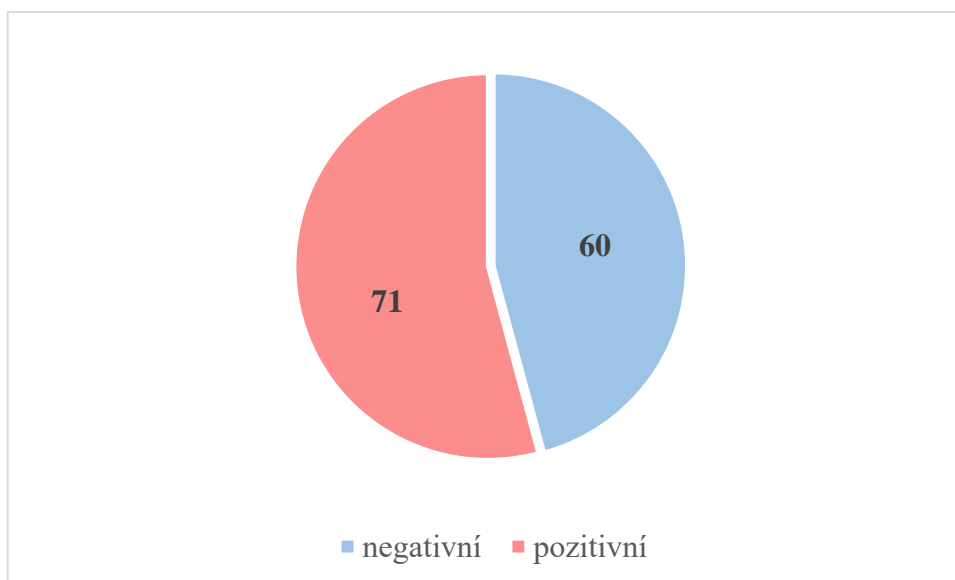
Graf 14: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 61-75 let.



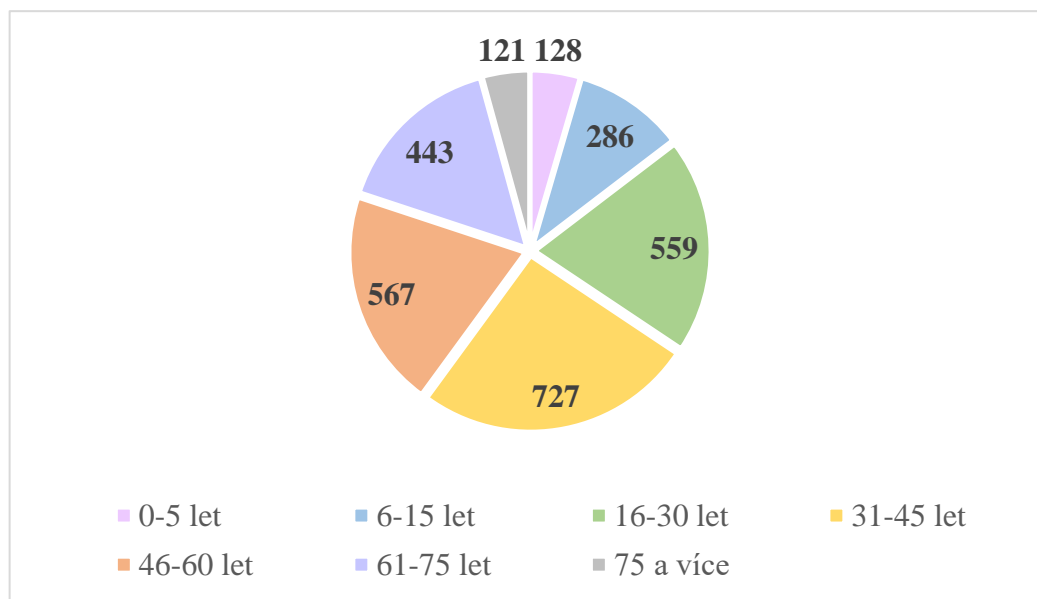
Graf 15: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 75 a více.



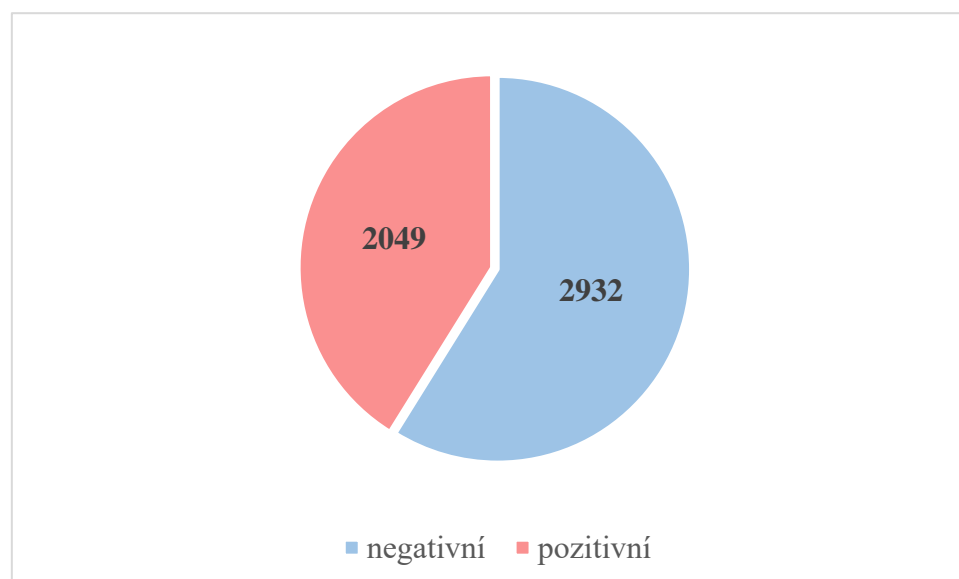
Graf 16: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 75 a více.



Graf 17 : Počet pozitivních nálezů podle věkových skupin.



Graf 18: Počet pozitivních a negativních nálezů z gastrologické ambulance z celkového počtu 4981 vzorků



Stanovení hypotézy

Hypotéza: Výskyt pozitivního nálezu u pacientů z gastrologické ambulance je menší než 10%

Tabulka 2: Procentuální zastoupení pozitivních nálezů u pacientů z gastrologické ambulance.

	Pozitivní výsledek (%)
Gastrologická ambulance	41 %

Výsledek statistické analýzy hypotézu vyvrátil. Ze všech možných pozitivních nálezů je celkově 41% pacientů z gastrologické ambulance.

Hypotéza: Výskyt procentuálního pozitivního nálezu u pacientů nad 60 let bude vyšší než u ostatních věkových skupin.

Tabulka 3: Procentuální zastoupení pozitivních nálezů podle věkových skupin.

Věkové rozmezí	Pozitivní výsledek (%)
0-60 let	32 %
61 a více	55 %

Výsledek statistické analýzy hypotézu potvrdil. V rámci množství stanovovaných vzorků bylo více ve skupině do 60 let, zastoupení pozitivních jednoznačně převyšuje věková skupina nad 60 let.

Hypotéza: Výskyt vyššího pozitivního nálezu u žen, oproti mužů.

Tabulka 4: Procentuální zastoupení pozitivních výsledků vzhledem na pohlaví.

Pohlaví	Pozitivní výsledek (%)
Žena	19,33 %
Muž	16,16 %

Výsledek statistické analýzy hypotézu potvrdil. Procentuální zastoupení pozitivního nálezu u žen je větší než u mužů.

7. DISKUZE

Cílem našeho výzkumu bylo osvojení si základní identifikační metody calprotectinu v rámci laboratorní praxe. Dalším cílem bylo osvojení si základní interpretaci výsledků použité metody.

Ke stanovení hodnot calprotectinu jsem používala metodu LIAISON[®] Calprotectin Assey od firmy DiaSorin.

Na začátku zpracování jsem si stanovila hypotézu, výskyt pozitivního nálezu u pacientů z gastrologické ambulance je menší než 10 %. Stanovenou hypotézu jsem však vyvrátila. Potvrdilo se, že pozitivních nálezů pacientů z gastrologické ambulance je více, celkem 2049 což je 73 % veškerých pozitivních vzorků za dané období. Můžeme tedy konstatovat, že většina pacientů spadá pod gastrologickou ambulanci či oddělení, jelikož z celkového počtu 7855 vzorků, bylo 4981 z oddělení gastrologie. Tím můžeme potvrdit, že pacienti s IDB častěji navštěvují a jsou poté v následné péči odborníků namísto v péči praktického lékaře.

Další hypotézou bylo, výskyt procentuálního pozitivního nálezu u pacientů nad 60 let bude vyšší než u ostatních věkových skupin. Tuto hypotézu jsme potvrdili. Takže můžeme konstatovat, že IDB opravdu postihuje vyšší věkovou skupinu obyvatel. Z naší statistiky vyplývá, že více jak 55 % pacientů testovaných ve věkové skupině více jak 60 let má pozitivní výsledek. U nižších věkových skupin jsme pozorovali nižší zastoupení konkrétně 32 % pozitivních pacientů vůči počtu celkově testovaných.

Poslední hypotézou je že, výskyt vyššího pozitivního nálezu u žen, oproti mužů. Stanovenou hypotézu jsme potvrdili. Rozdíl sice není markantní, u žen je celkový pozitivní nález u 19,33 % a u mužů 16,16 %. Dle našeho zjištění, je patrné že pohlaví na výskyt tohoto onemocnění nemá tak velký vliv jak některé zdroje uvádí.

Ze statistických dat jsme zjistili, že u všech vyšetřovaných pacientů, kteří měli podezření na IDB, se tento výsledek potvrdil u 35,5 % z nich.

V první věkové skupině 0-5 let jsme vyšetřili celkem 418 vzorků, kdy 79 pozitivních výsledků u mužů převládalo nad 49 pozitivními výsledky žen. Vzhledem k tomu, že to je nejnižší věková kategorie, kde se výskyt IDB v zásadě nepředpokládá, je výskyt

pozitivních pacientů nezanedbatelný. Z tohoto důvodu by pediatři měli myslet i na toto onemocnění.

Do druhé věkové kategorií 6-15 let spadalo 1428 vzorků, kdy opět převládli pozitivní vzorky u mužů 171, oproti ženám, které měli pozitivních výsledků 115. V této věkové kategorii se podezření na IBD potvrdilo nejméně případů ze všech zkoumaných věkových skupin. Dá se tedy předpokládat, že střevní onemocnění v tomto věku souvisí spíše s bakteriální nebo virovou infekcí.

Třetí věková skupina od 16-30 let měla celkově 1912 vzorků, kdy v této věkové kategorii poprvé převládly ženy s celkovým počtem 341 pozitivních výsledků oproti 218 pozitivních výsledků u mužů. Toto byla druhá nejvíce zastoupená skupina pacientů. Od této věkové kategorie jsme zaznamenali převahu pozitivních výsledků žen nad muži.

U nejpočetnější čtvrté věkové skupiny od 31-45 let máme 1968 vzorků, kdy v této věkové kategorii opět převládli pozitivní výsledky žen a to ve 413 případech, oproti u mužů to bylo 314 pozitivních výsledků. Znamená to tedy, že výskyt nemoci bylo potvrzeno u zhruba u jedné třetiny vyšetřovaných vzorků.

Pátá věková skupina 46-60 let měla celkově 1251 vzorků, kdy ženy měly 302 pozitivních výsledků a muži 265 pozitivních výsledků. V této věkové skupině si můžeme všimnout, že záchyt pozitivních vzorků dosahuje skoro 50 % celkově vyšetřovaných. Podle získaných dat můžeme usoudit, že incidence tohoto onemocnění stoupá.

Další věková kategorie 61-75 let měla celkově 804 vzorků, kdy ženy měly 240 pozitivních výsledků a muži 203 pozitivních výsledků. Poměr pozitivních výsledků je více než 50 %. Lze u soudit, že screening IBD v této věkové kategorii je lépe cílený, a proto dosahuje tak vysokého poměru pozitivních výsledků než u předešlých věkových kategorií.

Poslední věková kategorie 75 a více let měla 216 vzorků. Kdy ženy měly 71 pozitivních a muži 50 pozitivních výsledků. Tato kategorie byla nejméně zastoupená, z toho lze usoudit, že pacienti s IBD nedosahují tak vysokého věku.

Získané statistické výsledky nám bohužel nedokáží rozdělit pacienty podle typu onemocnění, z důvodu chybějících informací od lékařů zasílající tyto pacienty na vyšetření. Pokud by tyto informace byli dostupné, mohli by data odrážet danou skutečnost o jednotlivých onemocnění.

Během zpracování vzorků, které nepatří tak k běžným metodám stanovených v laboratoři, jsme narazili na některá úskalí. Prvním úskalím může být zápach z vyšetřované stolice. Na našem oddělení jsme tento problém vyřešili tím, že příprava vzorků probíhá v laminárním boxu, který má odsávání vzduchu přes hepafiltry, a tím eliminuje zápach. Dalším úskalím je konzistence odebraných vzorků, kdy některé vzorky lze velmi těžce odebrat z důvodu vysoké pevnosti, a záleží pouze na zkušenostech laboranta, jak se s problémem vypořádá a dokáže tento ne úplně vhodný materiál na analýzu zpracovat. V některých případech je problém i množství stolice, někdy jsou pacienti poučeni, že velikost odebraného vzorku má být velikosti lískového ořechu, zasílají množství tak malé, že nelze použít pro analýzu, a proto byli tyto vzorky vyřazeny s analýzy a statistického hodnocení.

8. ZÁVĚR

Tato bakalářská práce na téma „Stanovení calprotectinu ve stolici metodou chemiluminiscence“ je zaměřena na nespecifické střevní záněty, jejich diagnostiku, léčbu a komplikace.

V teoretické části jsem se zabývala idiopatickými střevními záněty a jejich rozdělením na Crohnovu chorobu, ulcerózní kolitidu a nespecifické střevní záněty. Dále jsem se zaměřila na calprotectin, jeho úlohu v autoimunitních zánětech a možnosti jeho stanovení.

V praktické části jsem stanovovala calprotectin ve stolici u pacientů s podezřením na IBD metodou chemiluminiscence na analyzátoru *LIAISON[®] XL*.

Výsledky jsem statisticky zpracovala dle věkových skupin a pohlaví, které mi dali odpověď na stanovené hypotézy.

Zjistili jsme, že převaha pozitivních vzorků u žen nedosahuje tak vysokých statistických rozdílů (19,3 % vs. 16,2 %) jak uvádí některé literární zdroje. (Betteridge J.D., 2013) Dále jsme zjistili, že 73 % všech pozitivně testovaných vzorků pochází z gastroenterologických ambulancí a největší poměr mezi pozitivními a negativními vzorky jsme zjistili ve věkové skupině nad 61 let. (55 % pozitivních výsledků)

Problematika IBD, která je celosvětově na vzestupu si určitě zaslouží naši pozornost, kdy pomocí správné a včasné diagnostiky můžeme výrazně zlepšit kvalitu života pacientů.

Sběrem dalších dat můžeme vyzorovat trendy, které by mohli být nápomocné při screeningu potenciálních pacientů s těmito chorobami. Navrhovala bych větší spolupráci mezi laboratořemi a gastroenterologickými ambulancemi, které by poskytli přesné diagnózy a výsledky léčby u vyšetřovaných pacientů, což by vedlo k ucelení informací a možnosti korelace hodnot calprotectinu s typem IBD onemocnění.

9. Literatura

1. ACTIS G.C., et al., 2019, History of Inflammatory Bowel Diseases. *J Clin Med*, 4;8(11)
2. BAUMGART D.C., et al, 2012, Crohn's disease, *Lancet*, 380(9853):1590-605
3. BETTERIDGE J.D. et al, 2013, Inflammatory bowel disease prevalence by age, gender, race, and geographic location in the U.S. military health care population. *Inflamm Bowel Dis*, Jun;19(7):1421-7
4. CAMPBELL J. P., et al., 2021, Clinical Performance of a Novel LIAISON Fecal Calprotectin Assay for Differentiation of Inflammatory Bowel Disease From Irritable Bowel Syndrome, *J Clin Gastroenterol*, 1;55(3):239-243
5. CAVIGLIA G.P., et al., 2018, Fecal calprotectin: beyond intestinal organic diseases, *Panminerva Med*, Mar;60(1):29-34
6. COHEN R.D., 2002, The quality of life in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.*, Sep;16(9):1603-9
7. DE SLOOVERE M.M.W., et al., 2017, Analytical and diagnostic performance of two automated fecal calprotectin immunoassays for detection of inflammatory bowel disease, *Clin Chem Lab Med.*, Aug 28;55(9):1435-1446
8. DI CARO S., et al., 2019, Enteral Nutrition in Adult Crohn's Disease: Toward a Paradigm Shift. *Nutrients*. 2019;11(9):2222
9. DIGNASS A., et al., 2012, Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 1: definitions and diagnosis., *Journal of Crohn's and Colitis*, 965-990
10. DOUDA T., 2017, Pokroky v terapii idiopatických střevních zánětů, *Interní medicína pro praxi*, 19(3): 110–115
11. DOUGLAS N. et al., 2020, Imaging of bowel in patients requiring surgery for Crohn's disease, *Seminars in Colon and Rectal Surgery*, Volume 31, Issue 2
12. EHRMANN J. KONEČNÝ M., 2011, Diagnostika a léčba idiopatických střevních zánětů, *Medicína pro praxi*, 8(10)

13. GANZETTI G., 2016, Biologic Therapy in Inflammatory and Immunomediated Skin Diseases: Safety Profile. *Curr Drug Saf.*, 11(1):12-21
14. GATTI S. et al., 2017, Effects of the Exclusive Enteral Nutrition on the Microbiota Profile of Patients with Crohn's Disease: A Systematic Review, *Nutrients* 9, 832
15. GOULART R.A., et al., 2016, Facing Terminal Ileitis: Going Beyond Crohn's Disease., *Gastroenterology Res*, Feb;9(1):1-9
16. GREUTER T. et al., 2020, Gender Differences in Inflammatory Bowel Disease, *Digestion*, 101 Suppl 1:98-104
17. HALLING M. L., et al., 2017, Patients with inflammatory bowel disease have increased risk of autoimmune and inflammatory diseases." *World journal of gastroenterology* vol. 23,33, 6137-6146
18. HOPKINSMEDICINE, (2013), Crohn's Disease [online]. Dostupné z https://www.hopkinsmedicine.org/gastroenterology_hepatology/_pdfs/small_large_intestine/crohns_disease.pdf
19. KAGUEYAMA F.M., et al., 2014, Importance of biopsies and histological evaluation in patients with chronic diarrhea and normal colonoscopies. *Arq Bras Cir Dig.*, 27(3):184-187
20. KEIL, Radan a kol. *Vybrané kapitoly z gastroenterologie*. 1.vyd. Praha Karolinum, 2012. 86s. ISBN 978-80-246-1970-5.
21. KHAKI-KHATIBI F., et al., 2020, Calprotectin in inflammatory bowel disease, *Clin Chim Acta.*, Nov;510:556-565
22. KOHOUT, P., PAVLÍČKOVÁ, J. *Crohnova choroba, ulcerózní kolitida*. 1. vyd. Praha: Forsapi, 2006. ISBN 9788090382008.
23. KREJSEK J., ANDRÝS C., KRČMOVÁ I., *Imunologie člověka*, Garamon: Hradec Králové, 2016. ISBN: 978-80-86472-74-4
24. LATA, Jan et al. 2010. *Gastroenterologie*. 1.vyd. Praha: Galén, 2010. 256s. ISBN 978-80-7262-692-2.

25. LOFTUS E. V. JR., 2004, Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences, *Gastroenterology*, May;126(6):1504-17
26. LUKÁŠ M., 2010, Postavení koloskopie u idiopatických střevních zánětů, *Endoskopie*, 19(3-4): 105-112
27. MCDOWELL C., et al., 2020, Inflammatory Bowel Disease, *StatPearls*, Jun 28
28. MUMOLO M.G., et al., 2018, Fecal calprotectin in inflammatory bowel diseases clinical setting. *World J Gastroenterol*, Sep 7;24(33):3681-3694
29. OLIVEIRA S.B., et al., 2017, Diagnosis and management of inflammatory bowel disease in children. *BMJ*, May 31;357:j2083
30. ORDÁS I., et al., 2012, Ulcerative colitis. *Lancet*, Nov 3;380(9853):1606-19
31. PARAMSOTHY S., et al., 2018, The current state of the art for biological therapies and new small molecules in inflammatory bowel disease. *Mucosal immunology*, 11(6), 1558–1570
32. PATHIRANA W.G.W., et al., 2018, Faecal Calprotectin. *Clin Biochem Rev*, Aug;39(3):77-90.
33. PÉREZ DE ARCE E., et al., 2020, Biomarkers in inflammatory bowel disease, *Rev Med Chil.*, Mar;148(3):362-370
34. PITHADIA A.B., et al., 2011, Treatment of inflammatory bowel disease (IBD). *Pharmacol Rep.*, 63(3):629-42
35. PRAVDA J., 2019, Can ulcerative colitis be cured? *Discov Med*, May;27(149):197-200
36. RANASINGHE I.R., et al., 2020, Crohn Disease, *StatPearls*, Jun 9
37. ROKKAS T., et al., 2018, Fecal calprotectin in assessing inflammatory bowel disease endoscopic activity: a diagnostic accuracy meta-analysis. *J Gastrointestin Liver Dis.*, Sep;27(3):299-306
38. SEYEDIAN S.S., et al., 2019, A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease, *J Med Life*, Apr-Jun;12(2):113-122

39. SRIDHAR M. et al., 2019, Fecal Calprotectin as a Screening Marker for Inflammatory Bowel Disease, *Indian Pediatr*, Mar 15;56(3):249-250
40. TAN P., et al., 2020, Fecal Microbiota Transplantation for the Treatment of Inflammatory Bowel Disease: An Update. *Front Pharmacol.*, Sep 18;11:574533
41. THURGATE L.E., et al., 2019, An Overview of Inflammatory Bowel Disease Unclassified in Children., *Inflamm Intest Dis*, Aug;4(3):97-103
42. VEAUTHIER B., et al., 2018, Crohn's Disease: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician*, Dec 1;98(11):661-669
43. VICENTE-STEIJN R. et al., 2020, Analytical and clinical performance of the fully-automated LIAISONXL calprotectin immunoassay from DiaSorin in IBD patients, *Laboratory Medicin*, Volume 21
44. WEINGARDEN A.R., et al., 2017, Intestinal microbiota, fecal microbiota transplantation, and inflammatory bowel disease. *Gut Microbes.*, May 4;8(3):238-252
45. WOLF J.H. et al., 2021, Frailty is a stronger predictor than age for postoperative morbidity in Crohn's disease, *Surgery*
46. ZBOŘIL V., 2005, Infliximab v klinické léčebné praxi, *Klin Farmakol Farm*, 19, 67-71

10. Seznam

10.1. Seznam obrázků

Obr. 1 a) Crohnova choroba, b) Ulcerózní kolitida

Obr. 2 Montrealská klasifikace

Obr. 3 Crohnova choroba, imunopatogenetické mechanismy

Obr. 4 Schéma patogeneze ulcerózní kolitidy

Obr. 5 Krystalová struktura calprotectinu

Obr. 6 Souprava LIAISON[®] Calprotectin Assey

Obr. 7 Komplexní činidlo

Obr. 8 Lyofilizované kalibrátory

Obr. 9 Polypropylenové zkumavky s inokulační kličkou

Obr. 10 Analyzátor LIAISON[®] XL

10.2. Seznam tabulek

Tabulka 1: Počet pozitivních a negativních nálezů ze souboru vzorků za rok 2019-2021

Tabulka 2: Procentuální zastoupení pozitivních nálezů u pacientů z gastrologické ambulance.

Tabulka 3: Procentuální zastoupení pozitivních nálezů podle věkových skupin.

Tabulka 4: Procentuální zastoupení pozitivních výsledků vzhledem na pohlaví.

10.3. Seznam grafů

Graf 1: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů z celkového počtu 3426 vzorků za rok 2019-2020

Graf 2: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen z celkového počtu 4428 vzorků za rok 2019-2021

Graf 3: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 0-5 let.

Graf 4: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 0-5 let.

Graf 5: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 6-15 let.

Graf 6: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 6-15 let.

Graf 7: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 16-30 let.

Graf 8: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 16-30 let.

Graf 9: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 31-45 let.

Graf 10: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 31-45 let.

Graf 11: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 46-60 let.

Graf 12: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 46-60 let.

Graf 13: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 61-75 let.

Graf 14: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 61-75 let.

Graf 15: Počet pozitivních a negativních nálezů u mužů věkové skupiny 75 a více.

Graf 16: Počet pozitivních a negativních nálezů u žen věkové skupiny 75 a více.

Graf 17: Počet pozitivních nálezů podle věkových skupin.

Graf 18: Počet pozitivních a negativních nálezů z gastrologické ambulance z celkového počtu 4981 vzorků.

11. Seznam zkratk

IBD - Inflammatory Bowel Disease

UC – Ulcerózní kolitida

IBDU - Neklasifikované zánětlivé střevní onemocnění

FTM - Fekální mikrobiální transplantace

POC - point-of-care