

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Toxoplasma gondii

(bakalářská práce)

Prohlašuji, že předložená bakalářská práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně pod vedením PharmDr. Barbory Voxové. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové dne.....

(podpis)

Poděkování

Děkuji PharmDr. Barboře Voxové za cenné rady, pomoc při zpracování mé bakalářské práce, poskytnutí studijních materiálů a v neposlední řadě za její ochotu a čas, který se mnou při konzultacích k mé bakalářské práci strávila. Dále bych chtěla poděkovat MVDr. Václavu Fejtovi a Ing. Aleně Pospíšilové, kteří mi poskytli nezbytné a užitečné informace z pohledu praktických laboratorních pracovníků v oborech imunologie a mikrobiologie.

Též chci poděkovat svému ošetřujícímu lékaři z Fakultní nemocnice Hradec Králové MUDr. Petru Prášilovi za poskytnutí informací a materiálů. Poděkování patří i mé rodině za psychickou podporu během sepisování této práce.

Abstrakt

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Kandidát : Andrea Peřinová

Vedoucí : PharmDr. Barbora Voxová

Název bakalářské práce : *Toxoplasma gondii*

Toxoplazmóza patří mezi celosvětově rozšířenou parazitární infekci, kterou způsobuje parazitický prvok *Toxoplasma.gondii* a je jednou z nejčastěji se vyskytujících zoonóz v ČR. Prevalence se u nás pohybuje mezi 25-35 %. Většinou probíhá bezpříznakově, u imunokompetentních osob není rizikem. Problémem je u gravidních žen, pokud dojde k primoinfekci po otěhotnění nebo bezprostředně před ním. Závažnou formou toxoplazmózy jsou také ohrožení imunokompromitovaní pacienti a novorozenci. Rutinní diagnostika je založena na sérologických vyšetřeních. Využívá se komplement fixační reakce a imunoenzymatických metod, především ELISA (Enzyme Linked Imunosorbent Assay) test. K přímému průkazu používáme pokus na zvířeti a molekulární metody PCR (polymerázová řetězová reakce). Z dosud mnohdy obtížné interpretace laboratorních výsledků představuje toxoplazmóza stále významný zdravotnický problém. V graviditě patří vyšetření toxoplazmózy do doporučených vyšetření v rámci všeobecného jednorázového screeningu, který by měl identifikovat séronegativní ženy na začátku gravidity. Základem prevence je dodržování osobní a potravní hygieny. Kazuistika ukazuje zajímavý somatický vývoj onemocnění, zakončený úspěšnou graviditou, psychologické dopady boje s onemocněním a též vývoj diagnostických a terapeutických postupů v dotčeném období.

Klíčová slova: toxoplazmóza, prevalence, imunokompromitovaní pacienti, sérologie, gravidita, prevence.

Abstract

Toxoplasmosis belongs to worldwide expanded parasitic infection caused by a protozoan *Toxoplasma gondii* and is one of the most founded disease transmissible to humans from animals in the Czech Republic. Prevalence is between 25-35%. In most cases the course of disease is asymptomatic, there is no risk for immunocompetent individuals. There is a problem in the case of pregnancy if the primary infection is immediately after getting pregnant. Severe form of toxoplasmosis are also at risk immunocompromised patients and newborns. Routine diagnosis are based on serological screening. It is used the complementfixative reaction and immunoenzymatic methods, mainly ELISA test. For a immediate prove is used a experiment on animal and molecular methods PCR. For still difficult to interpret laborator results toxoplasmosis poses an important health problem. The examination of toxoplasmosis is part of the recommended pregnancy general screening which should identify seronegative women in early pregnancy. The basis of prevention is respect for personal and food hygiene. Case report shows an interesting development somatic illness, ending a successful pregnancy, psychological struggle with the disease and also the development of diagnostic and therapeutic procedures in the relevant period.

Key words: toxoplasmosis, prevalence, immunocompromised patients, serologie, pregnancy, prevention.

Obsah

Abstrakt	4
1 Úvod	8
2 Teoretická část	9
2.1 Historie.....	9
2.2 Morfologie a systematické zařazení.....	10
2.2.1 Životní formy	11
2.2.2 Životní cyklus	14
2.2.3 Prevalence a epidemiologie.....	15
2.3 Patogeneze.....	16
2.4 Infekční stádia a cesty nákazy	16
2.5 Klinický obraz toxoplazmózy	18
2.6 Získané formy toxoplazmózy	18
2.7 Reaktivace onemocnění	20
2.8 Kongenitální toxoplazmóza.....	21
2.9 Terapie.....	22
2.10 Diagnostika	23
2.10.1 Přímý průkaz	23
2.10.2 Nepřímý průkaz	24
2.11 Imunitní odpověď	24
2.12 Diagnostické postupy u gravidních žen.....	25
2.13 Prevence.....	26
2.13.1 Primární prevence	26
2.13.2 Sekundární prevence.....	27
3 Zadání bakalářské práce - cíl práce	28
4 Metodika	29

4.1 CEM - Centrum epidemiologie a mikrobiologie	29
4.2 EPIDAT	29
4.3 Nepřímé laboratorní metody	31
4.3.1 Imunofluorescence (IMF)	31
4.3.2 Enzymoimunoanalýza (EIA)	32
4.3.3 Western blot (imunoblot).....	33
4.3.4 Komplement fixační reakce	34
4.4 Přímé laboratorní metody	35
4.4.1 Polymerázová řetězová reakce (PCR).....	35
5 Výsledky - epidemiologická data	38
6 Kazuistika - žena	41
6.1 Klinická data	41
6.2 Laboratorní data – pacientka	43
6.3 Laboratorní data - syn.....	48
7 Diskuze ke kazuistice	51
8 Závěr	53
Seznam použitých zkratk.....	54
Seznam použité literatury.....	56

1 Úvod

Toxoplazmóza je infekční onemocnění, jehož původcem je parazitický prvok *Toxoplasma gondii*. V jeho životním cyklu se střídají tři vývojová stádia – tachyzoiti, bradyzoiti a sporozoiti. Parazit TG dokáže infikovat prakticky všechny teplokrevné obratlovce, včetně člověka. Definitivním hostitelem je kočka, v jejímž střevě dochází k sexuálnímu rozmnožování parazita a následnému vylučování infekčních oocyst v trusu.

Toxoplazmózou je infikována přibližně třetina světové populace. V České republice je jednou z nejčastěji se vyskytujících parazitárních nákaz. Většina infekcí proběhne jako asymptomatický proces, nebezpečné jsou nákazy gravidních žen nebo reaktivace onemocnění pacientů s imunodeficientem (AIDS - syndrom získané imunodeficiency).

Metody přímého průkazu původce jsou založené především na infekci vnímavého laboratorního zvířete (bílé myši). Z důvodu časové prodlevy se přistupuje k zavedení metody PCR k průkazu DNA (deoxyribonukleová kyselina).

K nepřímým diagnostickým postupům při průkazu protilátek TG jsou k dispozici reakce metody vazby komplementu, enzymoimunoanalýzy pro průkaz akutní infekce ve třídách IgM, IgA, IgE a nález protilátek ve třídě IgG (popřípadě stanovení jejich vaznosti – avidity).

2 Teoretická část

2.1 Historie

Prvok *Toxoplasma gondii* byl objevený v roce 1908 současně na dvou od sebe vzdálených kontinentech. Francouzi Charles Nicolle a Louis Hubert Manceraux pracující v Pasteurově institutu v Tunisu TG popsali v mozku a jiných orgánech hlodavce *Ctenodactylus gundi*. Téhož roku stejný organizmus popsal z tkání králíka s paralýzou zadních končetin a příznaky meningoencefalitidy i italský lékař Alfonzo Splendore, který pracoval v Brazílii.

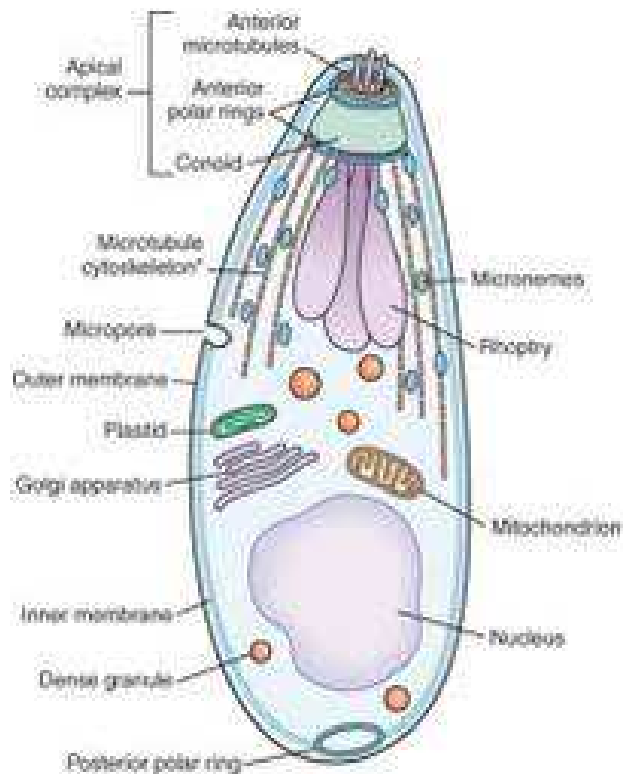
Tkáňové cysty parazita v oku 11 měsíčního chlapce postiženého hydrocefalem, levostranným mikroftalmem a degenerativními ložisky v oblasti žluté skvrny v oku identifikoval v roce 1923 český oftalmolog Josef Janků (1886 – 1963). Jméno českého lékaře vstoupilo do světového nozologického názvosloví pod jménem „nemoc Janků“. Parazit byl izolován jako původce kongenitální encefalitidy americkými autory A.Wolfem, D.Cowenem a B.H.Paigem (1937 – 1939). První rutinně použitý sérologický test na toxoplazmózu zavedli A.Sabin & A. Feldman v roce 1948 [1]. Z českých prací zasluhuje také zmínka o vynikající studii Rašína o toxoplazmóze zajíce. Laboratorní diagnostikou toxoplazmózy u nás se jako první systematicky zabýval od roku 1948 Havlík. O zavedení imunoepidemiologických a patogenetických studií toxoplazmózy na široké bázi má zásluhu akademik Jírovec. Jedním z mezníků výzkumu toxoplazmózy je objev „dye testu“ Sabinem a spol. [2].

Hutchison et al. v roce 1969 poukázali na epidemiologický význam kočky jako definitivního hostitele TG. Tím se jim podařilo zkompletovat životní cyklus TG [3] a teprve Dubey, Miller a Frankel (1970) popsali stádium oocysty [40].

2.2 Morfologie a systematické zařazení

Toxoplazmóza je endemická zoonóza vyvolaná parazitickým prvokem *Toxoplasma gondii*, což je intracelulární, dvouhostitelská kokcidie, která patří do kmene *Apikomplexa* (Výtrusovci), třídy *Coccidea* (Kokcidie), řádu *Eimeriida*, čeledi *Eimeriidae* [5]. Je geopolitním parazitem, rozšířeným bez geografických a klimatických hranic na celé planetě [1]. Tato kokcidie je příbuzná malarickým plazmodiím, její trofická stádia (sporozoiti, tachyzoiti) se pohybují klouzáním. Jsou invazivní, k průniku do buněk infikovaného organismu jim slouží tzv. apikální komplex na předním konci buňky toxoplazmy. Obr. č.1.

Obrázek č.1 *Toxoplasma gondii*



(Zdroj: [internet 1])

2.2.1 Životní formy

V životním cyklu *Toxoplasma gondii* se střídají tři vývojová stádia.

Tachyzoiti – (tachys – řecky rychlý) představuje vegetativní, rychle se množící formu, která slouží k rychlému zaplavení hostitelského organismu [6]. Mají půlměsíčkovitý tvar o velikosti 4–8 x 2–3 μm , v organismu se vyskytují během akutního stádia infekce. Klouzavý pohyb jim umožňuje migraci bariérovými membránami napadeného organismu. Tento pohyb má klíčový význam pro přežití a infekčnost parazita [1]. Rozmnožují se asexuálně, kolují v tělních tekutinách, způsobují aktivaci imunitního systému, čímž jsou postupně zatlačovány do různorodých tkání hostitele a transformují se na další formy – bradyzoity [7].

Bradyzoiti – (bradys - řecky pomalý), jsou klidová, intracelulární stádia, která jsou typická pro latentní (chronické) stádium infekce. Morfologicky jsou podobní tachyzoitům, ze kterých vznikají. Parazitoformní vakuola je vyplněná stovkami bradyzoitů, kterou označujeme jako „tkáňovou cystu“. Velikost těchto kulovitých cyst je 15 – 100 μm , které obsahují stovky až tisíce parazitů obalených blánou [5]. Bradyzoiti jsou adaptováni pro přenos na definitivního hostitele a mohou v něm přežívat po dlouhou dobu, pravděpodobně po celý život [6]. Tkáňové cysty jsou velmi odolné, spolehlivě je však likvidují vysoké teploty nebo hluboké zmrazení [8], jak dokládá tabulka č.1 a 2.

Tabulka č.1

Odolnost tkáňových cyst s bradyzoity - přežívání tkáňových cyst v mase - nízké teploty

TEPLOTA (°C)	DOBA PŘEŽÍVÁNÍ TKÁŇOVÝCH CYST
1 – 4	3 týdny
-1 až - 8	1 týden
- 12	hynou okamžitě

(Konference „Problémy toxoplazmózy“, SZÚ Praha, 2008, Koudela)

Tabulka č.2

Odolnost tkáňových cyst s bradyzoity - přežívání tkáňových cyst v mase - vysoké teploty

TEPLOTA (°C)	DOBA PŘEŽÍVÁNÍ TKÁŇOVÝCH CYST
50	hynou za 10 minut
60	hynou za 4 minuty
67	hynou okamžitě

(Konference „Problémy toxoplazmózy“, SZÚ Praha, 2008, Koudela)

Sporozoiti – je infekční stádium, které vylučují pouze kočky, jsou konečným stádiem pohlavního cyklu TG (2 x 8 µm). Vznikají sexuálně a vylučovány jsou v podobě oocyst (11-14 x 9-11 µm) v trusu definitivního hostitele. Oocysta dozrává na vzduchu a teprve za 2 až 3 dny je plně infekční pro další kočku nebo pro jiného živočicha včetně člověka [5].

Sporozoiti v oocystách kontaminujících vnější prostředí i potravu, jsou zdrojem nákazy býložravců či všežravců fekálně – orální cestou, zejména ovcí, prasat, králíků, zajíců i člověka. Jsou známy též epidemie z pitné vody [1]. Séroprevalenci u hospodářských zvířat dokládá tabulka č. 3 a prevalenci u volně žijících zvířat tabulka č. 4.

Tabulka č.3

Tkáňové cysty s bradyzoity - séroprevalence u hospodářských zvířat v ČR

DRUH	KFR (komplementfixační reakce)	SFDT (Sabin Feldrman Dye Test)	
prase	10	31	%
ovce	40	55	
koza	21	61	
králík	ND	53	
hrabavá drůbež	ND	1 - 5	
koně	ND	8	
skot	1 - 4	22	

(Konference „Problémy toxoplazmózy“, SZÚ Praha, 2008, Koudela)

Tabulka č. 4

Tkáňové cysty s bradyzoity - séroprevalence u volně žijících zvířat v ČR

DRUH	METODA SFDT	
divoké prase	15	%
srnčí zvěř	14 - 100	
zajíc	5 – letální infekce	

(Konference „Problémy toxoplazmózy“ SZÚ Praha, 2008, Koudela)

2.2.2 Životní cyklus

Biologický cyklus zahrnuje spektrum několika forem vývojové řady a je charakterizován střídáním hostitele konečného (definitivního), jímž je kočkovitá šelma, zejména kočka domácí a meziphostitelé, které mohou představovat různé druhy teplokrevných obratlovců, ptáků a savců, včetně člověka [1]. Člověk, stejně jako většina teplokrevných obratlovců, představuje v cyklu slepý článek, od něhož nedochází k dalšímu šíření nákazy [7].

Izospórová (pohlavní fáze) probíhá v enterocytech definitivního hostitele kočky domácí [9]. V tenkém střevě se z obou typů cyst uvolňují rohlíčkovití sporozoiti, kteří pronikají epitelovými buňkami a mění se v tachyzoity. V době, kdy dochází k množení tachyzoitů, se hostitel nachází v akutní fázi onemocnění. U kočky proběhne sexuální vývoj parazita a vzniklá oocysta odchází z kočičího těla jejím trusem do prostředí a může infikovat nového hostitele.

Patentní doba (vyučování) oocyst je 7 – 18 dnů. Počet vyloučených oocyst se pohybuje mezi hodnotami 0,94 – 47 milionů [10]. K infekci kočky může dojít během jejího života pouze jednou, kočky obvykle trpí v této době průjmy. Sporulace trvá 1-5 dnů, je exogenní, nastává mimo střevo kočky [1]. Na vzduchu oocysty dozrávají, stávají se infekčními, měří 14 x 11 μm , obsahují 2 vejčité sporocysty a v každé sporocystě se nacházejí 4 sporozoiti.

Člověk, ale i jiný meziphostitel se může nakazit pozřením zralé oocysty nebo tkáňové cysty. V jeho střevě se z ní uvolňují rohlíčkovité sporozoity, které pronikají do nejrůznějších tkání nakaženého jedince (oko, mozek, svalstvo), kde se paraziti množí. Po odeznění imunitní odpovědi vznikají tkáňové cysty, ve kterých parazité dlouhodobě přežívají, pravděpodobně po celou dobu života nakaženého jedince.

Podmínkou dokončení vývoje parazita je pozření infekčních stádií ze tkání meziphostitele kočkou. Kočka se také může nakazit pozřením vyloučených oocyst jinou kočkou a pak v ní proběhne celý vývojový cyklus parazita. Člověk je tedy pouze jedním z mnoha možných a asi 200 známých meziphostitelů [9].

2.2.3 Prevalence a epidemiologie

Toxoplazmózou je infikována přibližně třetina celosvětové populace a člověk je vnímavý na primoinfekci v každém věku [11]. Nejvyšší incidence je prokazována ve věku 16 – 25 let [12]. Toto onemocnění je v České republice jednou z nejčastěji se vyskytujících parazitárních nákaz.

Česká republika patří spolu s Rakouskem, Belgií a Itálií mezi země se střední hodnotou výskytu séropozitivity (30 – 60 %), Francie, Německo, Holandsko, Španělsko a Portugalsko k zemím s výskytem séropozitivity nad 60 % [13]. Ve Velké Británii se udává promořenost 20 – 40 % , ve Francii 80 – 90 % [14]. Vyšší výskyt je zaznamenáván především v zemích, kde se konzumuje nedostatečně tepelně opracované maso, například ve Francii [15].

Sérologické přehledy nás informují až o 60,4 % promořenosti populace s vyšší prevalencí u žen [16]. V České republice se přítomnost protilátek v krvi vyskytuje u 34,1 % žen a 26,3 % mužů. U HIV pozitivních osob je výskyt toxoplazmózy v České republice vyšší, než u ostatní populace. U žen je prevalence 42,7 % a u mužů 42,8 % [15].

Obyvatelé venkova mají ve srovnání s městskou populací prevalenci vyšší, což nejspíše souvisí s odlišným životním stylem [16].

Podle Koudely proběhla na Moravě v roce 1994 epidemie toxoplazmózy. Začala současně v několika okresech Moravy na počátku roku a trvala do dubna 1994. Měla výrazně lokální charakter (okolí Brna, Olomouce, Karviné). Celkový počet infikovaných nebyl stanoven. Zjištěno bylo 722 případů klinické toxoplazmózy s lymfadenitidou. Typický profil pacienta při této epidemii byl obyvatel města Brna, Olomouce a okolí, žena (68,6 %), žena mladší 32 roků (75 %). Rodinný výskyt byl evidován v 60 % případů. Zdroj infekce nebyl prokázán. Pravděpodobným zdrojem infekce byly ořechy a rozinky kontaminované kočičím trusem s oocystami. Byla to druhá největší prokázaná epidemie v posledních letech. V Kanadě proběhla ještě větší epidemie v roce 1995 s až 7700 případů [8]. Existují 3 hlavní genotypy (typ I, typ II a typ III) TG. Tyto genotypy se liší v jejich patogenitě a prevalenci u lidí. V Evropě a ve Spojených státech amerických je genotyp II zodpovědný za většinu případů vrozené toxoplazmózy [17].

2.3 Patogeneze

Většina infekcí člověka (80-90 %) proběhne jako asymptomatický proces nebo pod obrazem nespecifických klinických příznaků [14]. Nebezpečné jsou nákazy gravidních žen, které se s nákazou nesetkaly (možnost různě vážného poškození plodu) a nákazy či reaktivace onemocnění u osob s imunodeficitem (AIDS).

Tyto infekce s inaparentním průběhem jsou proto vysoce rizikové u gravidních žen, kdy akutní infekce zůstane nepoznána a může dojít k postižení plodu. U gravidních žen jde vždy o závažné onemocnění. Jde o důsledek akutní infekce matky a rozsah postižení plodu je přímo závislý na pokročilosti těhotenství. Akutní infekce v I. trimestru může znamenat těžké plodové anomálie a největší riziko spontánního abortu. Ve II. a III. trimestru se rozsah defektů progresivně snižuje [16].

2.4 Infekční stadia a cesty nákazy

Infekční stadia :

Zralá oocysta v trusu nakažených koček

Tkáňová cysta, která se vytvořila ve tkáni náhodného hostitele

Cesty nákazy :

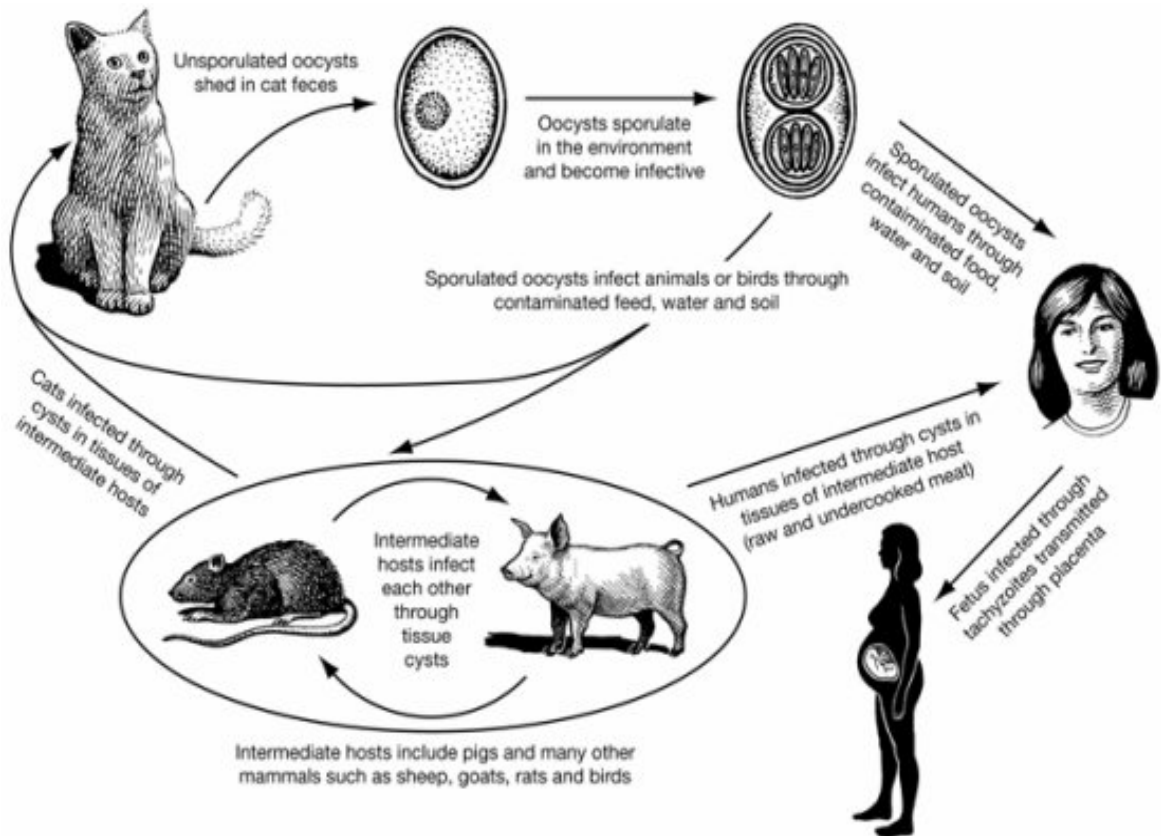
Člověk se může nakazit pozřením potravy nebo vody přímo vysporulovanými oocystami od nemocných koček, při čištění kočičích záchodů, při hraní dětí na pískovištích kontaminované kočičími exkrementy, při práci na zahradě bez ochranných pomůcek (oděrky na ruku), konzumací kontaminované zeleniny a pitné vody [7].

Druhý způsob nákazy se děje prostřednictvím tkáňových cyst, které mohou být obsaženy v syrových nebo nedostatečně tepelně opracovaných potravinách živočišného původu. Nejrizikovější je maso skopové a králíčí, méně pak maso vepřové a hovězí, jak dokládá tabulka č.1.

Další možný přenos je transplacentární při primoinfekci z matky na plod během gravidity, často s vážným poškozením dítěte. Raritně byl zaznamenán i přenos pitím nepasterovaného mléka. Dále pak při transplantaci orgánů (srdce, jater) séropozitivního dárce séronegativnímu příjemci nebo transfuzí [18].

Velice vzácný je přenos kapénkovou infekcí dýchacími cestami, urogenitálním traktem, spojivkovým vakem nebo po kousnutí infikovaným zvířetem [12].

Obrázek č.2 Cesty nákazy TG



(Zdroj:[internet 2])

2.5 Klinický obraz toxoplazmózy

Podle způsobu nákazy se rozlišují dvě základní klinické formy, které se liší průběhem a klinickou symptomatologií. Je to prenatálně získaná (vrozená, kongenitální) a postnatálně získaná (akvirovaná) toxoplazmóza. Formy získané toxoplazmózy, kterými se člověk může nakazit v průběhu života se liší podle toho, který orgán je postižen. Nejčastěji se setkáváme s uzlinovou, oční nebo mozkovou toxoplazmózou [19].

Bývají zvětšeny krční lymfatické uzliny, které mohou být citlivé, vzácnější je generalizovaná lymfadenopatie. Akutní infekci může doprovázet celková únava, malátnost, bolest svalů, bolest hlavy, horečka či subfebrilie [18].

Tyto příznaky ve většině případů během několika týdnů spontánně vymizí. Akutní, primární infekce u imunokompetentních dětí i dospělých (včetně těhotných žen je obvykle asymptomatická. V 10 – 20 % postižených může probíhat pod obrazem syndromu infekční mononukleózy [18].

Komplikovaný průběh tohoto onemocnění může nastat u pacientů s imunodeficientem, kdy dochází k postižení vnitřních orgánů, jako jsou srdce, plíce, játra a CNS [15]. Akutní, primární infekce u imunokompetentních dětí i dospělých (včetně těhotných žen) je obvykle asymptomatická.

2.6 Získané formy toxoplazmózy

Uzlinová forma

Jedná se o nejčastější symptomatickou formu onemocnění. Zduření mizních uzlin se objevuje v oblasti krční, podčelistní, ale i v podpaží a ve slabinách [19]. Uzliny dosahují velikost až několika centimetrů, jsou palpačně citlivé a nemají tendenci ke kolikvacii. Přítomná lymfadenopatie často perzistuje týdny až měsíce [20].

Oční forma

Získaná oční toxoplazmóza se manifestuje jako nitrooční zánětlivé onemocnění, nejčastěji je to zadní ložisková uveitida ve spojení se zhoršením vidění, fotofobií a případně s bolestivostí. Příznačný obraz představuje ložisková chorioretinida s malým počtem ložisek uložených v zadní části oka [1]. Zánětlivé změny mohou postihnout i ostatní struktury oka, např. sklivec a omezit jeho průzračnost [21]. Recidivy očního onemocnění při postnatálně získané toxoplazmóze se považují za časté [22]. Oční forma u novorozence a kojence patří do obrazu kongenitální infekce, avšak s případy jejich projevů se setkáváme i v pozdějším věku a nezdědka i v dospělosti. Zvláště její časté recidivy nás utvrzují v tom, že ve starším věku se může jednat o imunologicky zprostředkovaný zánět, který potom obtížně ovlivňujeme antiprotozoální terapií. Rozlišení, zda se jedná o akvirovou toxoplazmózu či recidivu imunitní nitrooční patologie, je však obtížné [12].

Mozková forma

Další formou toxoplazmózy je forma mozková, která představuje nejčastější oportunní parazitární infekci postihující CNS u imunokompromitovaných osob a zároveň je u těchto pacientů nejčastější příčinou ložiskového postižení mozku [23].

Z analýzy 110 publikovaných prací o toxoplazmóze u pacientů po transplantaci kostní dřeně vyplynulo, že 80 % případů mozkové toxoplazmózy je diagnostikováno během života pacienta a tito pacienti jsou léčeni. Prognóza je ale u těchto pacientů vážná a na toxoplazmovou infekci umírá až 66 % z nich [13].

Gynekologická forma

Může se projevit sterilitou, opakovanými potraty, patologickým těhotenstvím, porodem postižených nebo mrtvých dětí.

Septikemická a exantemická

Tato forma je vzácná a má nepříznivou prognózu. Současně může být postiženo více vnitřních orgánů. Manifestuje se jako polymyozitida,

myokarditida, pneumonie, uropatie nebo postižení trávicího ústrojí a jater. Systémové (multiorgánové) onemocnění s horečkou, septickým šokem, s dezorientací a apatií, kardiopulmonální dekompenzací se může objevit u nemocných s AIDS, popřípadě v kombinaci s pneumocystózou [1].

Exantém připomíná skvrnivku, nenachází se ve kštici, na dlaních a chodidlech.

2.7 Reaktivace onemocnění

K reaktivaci latentní infekce může dojít u pacientů s oslabenou obranyschopností organismu v důsledku imunosupresivní či cytostatické terapie nebo u pacientů s HIV/AIDS [7]. U těchto rizikových skupin reaktivace infekce postihuje hlavně CNS, což vede k toxoplazmové encefalitidě, při níž dochází k ložiskovému postižení mozku [15]. Reaktivace toxoplazmózy bývá u nemocných AIDS poměrně velice častou příčinou úmrtí. V Evropě umírá až 30 % imunodeficitních pacientů na tuto infekci [24].

Reaktivace infekce u imunokompromitovaných pacientů, jako jsou pacienti s AIDS, nebo těch, jež dostávají imunosupresiva po transplantaci, se obvykle vyvíjí několik let po primární infekci. Mezi charakteristické rysy reaktivace u těchto infekcí patří zánět mozkových blan, pneumonitis a myokarditidy [25].

Počátek onemocnění je obvykle subakutní, ale asi v 90 % případů se rozvíjejí postupně fokální neurologické příznaky [15]. Mezi další projevy patří změna mentálního stavu, bolesti hlavy, dezorientace, ospalost, hemiparéza až kóma. Dále také abnormality hlavového nervu nebo neuropsychiatrické příznaky.

Při reaktivaci onemocnění se bradyzoity mění zpět na tachyzoity a ty se rychle množí, přičemž u TE dochází k ložiskovému postižení mozku [15].

2.8 Kongenitální toxoplazmóza

Vrozená toxoplazmóza má zvláštní význam, protože může způsobit těžké poškození plodu následkem transplacentární infekce [7]. Kongenitální toxoplazmóza může vzniknout jen tehdy, jestliže u ženy probíhá akutní infekce v těhotenství nebo bezprostředně před početím a tachyzoity jsou diseminovány krevním oběhem do řady orgánů, včetně placenty [18].

Pokud žena prodělala primoinfekci 4-6 měsíců před početím nebo dříve, její tělo si již vytvořilo protilátky, infekce probíhá latentní formou a nedochází k vertikálnímu přenosu na plod [26]. Rozsah postižení plodu je tedy závislý na době gravidity [27]. Imunokompetentní ženy, které onemocnění prodělaly v minulosti, jsou chráněny proti znovunakažení přítomnými paměťovými buňkami, což je provázeno protilátkovou odpovědí ve třídě IgG. Reinfekce antigenně odlišným kmenem je sice možná, ale v klinické praxi je považována za raritní [36].

Pravděpodobnost infekce plodu při primoinfekci v graviditě je v průměru nižší, než 50 %, velmi výrazně však stoupá s pokročilostí těhotenství. Zatímco v čase otěhotnění je riziko pod 5 % a ve 13. týdnu 15 %, při infekci ve 26. týdnu těhotenství hrozí kongenitální toxoplazmóza u 44 % případů a ve 36. týdnu je riziko až 71 % [4].

Ze zahraničních statistik vyplývá, že k primoinfekci v graviditě dochází u 2,4-16/1000 séronegativních gravidních pacientek v Evropě, ve Spojených státech amerických pak u 2-6/1000 [28].

V mnohých evropských i zámořských centrech dnes fungují preventivní screeningové programy. Prvenství má v tomto ohledu Francie, kde jsou séronegativní ženy testovány každý měsíc, v Rakousku u séronegativních žen jsou prováděny ještě další tři testy [15].

V **prvním trimestru** těhotenství je riziko přenosu infekce malé, ale pokud k němu dojde, je postižení plodu nejtěžší a často těhotenství končí abortem [15], obraz je popisován jako Sabinova triáda. Soubor nejčastějších projevů je hydrocefalus, intracerebrální kalcifikace a chorioretinitida [16]. Dalším příznakem mohou být křeče a potom hovoříme o Sabinově tetradě.

Ve 2. a 3. trimestru se rozsah defektů plodu progresivně snižuje, klesá riziko abortu, ale plod je k infekci vnímavější [16]. Při infekci ve 26. týdnu těhotenství hrozí kongenitální toxoplazmóza u 44 % případů a ve 36. týdnu je riziko až 71 % [29].

Pokud se žena nakazí ve **druhém trimestru**, plod je již chráněn placentou, obaly a plodovou vodou. Pokud ke vzniku fetální infekce dojde, následky bývají rozmanité. Může dojít k hypotrofii plodu či předčasnému porodu a u novorozence může vzniknout široká škála symptomů, jako je např. mentální a psychomotorická retardace, hydrocefalus, kalcifikace, epilepsie, encefalitida, chorioretinitida, strabismus, anémie, trombocytopenie, myokarditis, ikterus a mnoho dalších [4].

Při primoinfekci ve **třetím trimestru** je riziko fetální infekce velmi vysoké, ale následky bývají nejmírnější. Nejčastěji dochází k narození novorozence s asymptomatickou formou kongenitální toxoplazmózy. Až u 85 % těchto pacientů, kteří nebyli včas diagnostikováni a léčeni se však s latencí několika let od narození může rozvinout chorioretinitida či známky psychomotorické retardace, která je v tomto pozdním období již terapeuticky neovlivnitelná [39].

Popsané příznaky u novorozenců s vrozenou infekcí nejsou patognomické pro toxoplazmózu, a proto je můžeme zaměnit s kongenitální infekcí jiného původu, např. cytomegaloviru, herpes simplex viru, zarděnek nebo syfilis [30].

2.9 Terapie

Toxoplazmóza se léčí v těžších formách onemocnění spiramycinem, kombinací pyrimetaminu a sulfadiazinu, klindamycinem, to vše může být kombinováno s kyselinou listovou a prednizonem. K léčbě kongenitální toxoplazmózy v současné době neexistuje univerzální schéma, které by bylo všeobecně používáno. Jednotlivá schémata a kombinace se liší stát od státu, často i v rámci jednotlivých regionů jedné země (např. Francie). Shoda je pouze v užívaných preparátech: pyrimethamin, sulfadiazin, spiramicin a fansidar [39]. Asymptomatické a lehké akutní formy se neléčí. Hlubší pohled na léčbu není předmětem této bakalářské práce.

2.10 Diagnostika

K průkazu parazita *Toxoplasma gondii* lze použít několika metod. Cílem přímých metod je nález mikroba v biologickém materiálu. Infekce je ve většině případů diagnostikována nepřímo na základě průkazu specifických protilátek. Klasická Sabinova – Feldmanova reakce, založená na změně barvitelnosti tachyzoitů po kontaktu s pozitivním sérem se již používá jen zřídka jako referenční metoda [18].

2.10.1 Přímý průkaz

Přímý mikroskopický průkaz parazita při bioptickém vyšetření excitovaných uzlin, tkáňových fragmentů, krve či biologických tekutin je možný jen v omezené míře. Histologickou vizualizací parazitů umožňuje barvení podle Giemsy nebo hematoxylin - eosinem či imunoperoxidázové barvení [1].

Živé tachyzoity lze prokázat intraperitoneální inokulací suspektního materiálu laboratorním myším [18]. Pokus o izolaci TG z biologického materiálu na laboratorní myši je velmi citlivou, v současné době je dostupná v NRL pro toxoplazmózu SZÚ Praha [23].

Metody přímého průkazu původce založené na infekci vnímavého zvířete (bílé laboratorní myši) nebo tkáňové kultury jsou časově náročné, z tohoto důvodu se používá metoda PCR k průkazu DNA *Toxoplasma gondii* z klinického materiálu [14].

Při oční, kongenitální a mozkové toxoplazmóze u osob s těžkým imunodeficitem, kdy mají sérologické testy omezený význam, se využívají molekulární metody – PCR [18].

Určitým problémem obou těchto přímých metod – PCR a izolace na myši je zřejmě pokles senzitivity po zahájení terapie [23].

Přímý průkaz na přítomnost toxoplazmové DNA pomocí PCR má klíčový význam při vyšetřování plodové vody, mozkomíšního moku, oční tekutiny, méně často i novorozenecké či pupečnickové krve [4].

2.10.2 Nepřímý průkaz

Toxoplazmóza je obvykle diagnostikována na základě stanovení protilátek. Existují různé sérologické testy na průkaz jednotlivých tříd protilátek, které jsou schopny zachytit jejich vzestup nebo pokles [31].

Ke stanovení celkových protilátek se v České republice nejvíce používá komplement fixační reakce. K určení hladin specifických antitoxoplazmických protilátek tříd IgG, IgM, IgA, IgE nebo avidita IgG v séru nebo plodové vodě (u těhotných žen) se nejčastěji používají imunoenzymatické testy. Nejfrekventovanější je ELISA nebo Western Blot (imunoblot).

Komparativní Western Blot je metoda, která slouží k porovnání profilu protilátek ze séra matky s profilem z plodové vody, pupečnickové krve či krve novorozenecké [4].

Neocenitelnou výhodou metod ELISA je jejich automatizace a univerzálnost. Umožňují prokazovat jednotlivou protilátkovou aktivitu v jednotlivých třídách imunoglobulinů a odhadovat, kdy k vyšetřované infekci došlo [32].

2.11 Imunitní odpověď

Primární infekce *Toxoplasma gondii* je v akutní fázi charakterizována strmým vzestupem protilátek tříd IgA a IgM, pozvolna stoupá hladina imunoglobulinů IgG. Po odeznění akutní fáze titry IgA a IgM klesají, titry IgG obvykle zůstávají zvýšené. Hovoříme o tzv. odeznívající toxoplazmóze (chronické fázi infekce). Pro latentní toxoplazmózu (kompletní encystace parazita ve tkáních) je charakteristická nepřítomnost IgA a IgM [34]. Pozitivita IgG perzistuje doživotně, jedná se o paměťové protilátky. Latentní fáze onemocnění je charakteristická pozitivitou pouze IgG, středním až nízkým titrem celkových protilátek a vysokou aviditou [20]. Protilátková odpověď však bývá velmi variabilní a je potřeba provést několik kontrolních odběrů, abychom mohli dobře posoudit dynamiku poklesu či vzestupu jednotlivých protilátek. Příklady interpretace výsledků sérologických nálezů jsou uvedeny v tabulce č.5

Tabulka č.5 Sérologické nálezy - interpretace

Interpretace výsledků sérologických testů na průkaz toxoplazmózy

Sérologický nálezy			Interpretace	Alternativní interpretace
IgA	IgG	IgM		
-	+	-	anamnestické protilátky, latentní infekce	-
+	+	+	akutní infekce ¹	subakutní infekce ¹
-	+	+	chronická infekce ^{2,3}	akutní-subakutní infekce ^{2,3,4}
+	+	-	subakutní infekce ⁵	chronická infekce ⁵
+/-	-	+	samotný počátek akutní infekce ^{5,6}	-
+	-	+/-	samotný počátek akutní infekce ^{5,6}	-

1 dle výšky hladin jednotlivých imunoglobulinu

2 nízké titry IgM a vysoké IgG svědčí spíše pro chronickou infekci a naopak

3 často nelze určit z jediného vzorku séra

4 u osob s poruchami tvorby IgA (asi 10% nemocných)

5 vzácný, spíše raritní nálezy

6 pro vyloučení nespecifické IgA/IgM pozitivitu je nutno prokázat sérokonverzi ve třídě IgG

(Hejnar P., *Pediatric pro praxi*. 2001, *Specifika nepřímé diagnostiky toxoplazmózy a lymfské boreliózy u dětí*)

2.12 Diagnostické postupy u gravidních žen

Dle metodik u těhotných žen je základním vyšetřením stanovení celkových protilátek anti - *Toxoplasma gondii* pomocí KFR nebo NIFR (nepřímá imunofluorescence). U těhotných žen bývá screeningový test doprovázen reakcí na stanovení antitoxoplazmických IgG a IgM. V případě vyšších hladin těchto protilátek, musí následovat druhý stupeň vyšetření (nadstavbové). Je třeba určit hladiny IgM, případně i IgA a IgE [4]. Výhodné je i stanovení avidity IgG, přičemž tento test slouží k určení fáze (stáří) infekce. Je založen na poznatku, že avidita (tj. souhrnná pevnost vazby protilátek na jejich příslušné antigenní determinanty) antitoxoplazmických IgG je zpočátku nízká a v průběhu

prvních 4 měsících toxoplazmózy stoupá. Rozhodující je, zda-li je avidita vyšší nebo nižší než stanovená mez.

Další možností diagnostiky toxoplazmózy v graviditě a s ní související možnosti fetální infekce je využití komparativního Western blotu IgG, (IgM), PCR DNA *Toxoplasma gondii* z krve či plodové vody, biologický pokus na zvířeti a vyšetření plodu prenatalně ultrazvukem či magnetickou rezonancí.

2.13 Prevence

2.13.1 Primární prevence

- nedoporučuje se požívání syrového a nedostatečně tepelně upraveného masa a konzumace nepasterizovaného mléka
- kočky domácí nekrmit syrovým masem, jejich výkaly dezinfikovat 10% čpavkem
- dětská hřiště a zahrady chránit před kontaminací výkaly koček
- dodržovat příslušnou osobní hygienu při styku se zvířaty (jatka, velkochovy prasat, dobytka a drůbeže)
- při manipulaci se syrovým masem je třeba si mýt ruce a použité nástroje, dodržovat zásady bezpečnosti práce
- dostatečná informovanost naší populace a osvěta, vyšetřování gravidních žen

2.13.2 Sekundární prevence

- provádění sérologických vyšetření u pracovníků, kteří profesionálně ošetřují zvířata, laboratorních a veterinárních pracovníků, kuchařů a zaměstnanců masokombinátů při vstupní prohlídce do zaměstnání
- zavádět preventivní sérologická vyšetření na toxoplazmózu u všech gravidních žen při jejich první návštěvě v prenatální poradně a sledovat hlavně séronegativní ženy
- provádět profylaktickou léčbu k zabránění reaktivace TG a rozvoji manifestního onemocnění u imunosuprimovaných osob [19].

3 Zadání bakalářské práce - cíl práce

Cílem této bakalářské práce bylo v teoretické části zmapovat ucelený obraz o toxoplazmóze. Charakterizovat prvoka *Toxoplasma gondii*, nástin jeho objevu, systematické zařazení, popis jeho životních forem a cyklu rozmnožování. Prevalence a epidemiologie je taktéž důležitým článkem této práce, neboť z těchto informací budu prokazovat prevalenci TG z EPIDATu v ČR. Rozbor jednotlivých forem s důrazem na kongenitální toxoplazmózu budou také v této práci popisovány. Jednotlivé diagnostické možnosti a postupy jsou součástí metodiky. Prevence je velmi citlivé a aktuální téma, které bych zde ráda prezentovala a upozornila na nutnost dodržování zásad osobní a potravní hygieny.

Práce je doplněna kazuistikou, která čerpá z mé vlastní zkušenosti, když jsem koncem devadesátých let onemocněla toxoplazmózou. Průběh onemocnění u mne chci deklarovat na aktivitě jednotlivých protilátek proti TG. Doplněním výsledků z kazuistiky bude hodnocení titru protilátek u mého syna.

4 Metodika

4.1 CEM - Centrum epidemiologie a mikrobiologie

Centrum epidemiologie a mikrobiologie (CEM), který je jedním z článků SZÚ v Praze se zabývá problematikou příčin vzniku a šíření nálezů bakteriálního, virového a parazitárního původu. Studium patogeneze jimi vyvolaných onemocnění zkoumá původce těchto nálezů a šíření infekcí v lidské a zvířecí populaci. Řeší odborné úkoly epidemiologického a mikrobiologického charakteru a dále zabezpečuje hlášení epidemiologických a mikrobiologických dat do národních a mezinárodních databází, včetně údajů o charakterizaci etiologických agens klasickými i molekulárními metodami.

4.2 EPIDAT

Program EPIDAT je určen k zajištění povinného hlášení, evidence a analýzy výskytu infekčních nemocí v České republice, který je celostátně používán Hygienickou službou ČR od 1.1.1993. Tento program navazuje na ISPO (Informační systém přenosných onemocnění) z let 1982 – 1992 a je součástí NZIS. Hlášení infekčních nemocí je základem pro místní, regionální, národní a nadnárodní kontrolu šíření infekčních nemocí. Jeho zákonným podkladem jsou tyto závazné předpisy:

- Zákon č.258/2001 Sb., O ochraně veřejného zdraví a jeho upravující předpisy.
- Vyhláška č.195/2005 Sb., kterou se upravují podmínky předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a hygienické požadavky na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče.
- Vyhláška č. 473/2008 Sb., O systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce a její novelizace č. 275/2010 Sb.
- V nadnárodní úrovni je EPIDAT jedním z podkladů pro plnění rozhodnutí Evropského Parlamentu a Rady 2119/98/ES, 2002/253/ES, 2008/246/426/ES, podle kterých musí být prováděna celoevropská surveillance vybraných infekčních onemocnění a data hlášena do TESSy

(The European Surveillance System) a dalších EU sítí řízených Evropským střediskem pro prevenci a kontrolu nemocí ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control).

Úložiště dat slouží k bezpečné výměně aktuálních datových souborů o výskytu infekcí mezi jednotlivými pracovišti Hygienické služby ČR, Ministerstvem zdravotnictví ČR a je vyvíjen ve spolupráci CDC (Center for Disease Kontrol and Prevention, Atlanta, USA) a WHO (Světové zdravotnické organizace, Ženeva , Švýcarsko).

Vstup dat do EPIDATu je kontinuální, export dat je v týdenních intervalech. Vstupní a výstupní soubory jsou zasílány cestou Úložiště dat pro EPIDAT Koordinačního střediska pro resortní zdravotnické systémy (KSRZIS). Data jsou průběžně sledována na Krajských hygienických stanicích, celostátně v Národním referenčním centru pro analýzu epidemiologických dat Oddělení biostatistiky a informatiky SZÚ Praha a na Oddělení epidemiologie infekčních nemocí Centra epidemiologie a mikrobiologie SZÚ Praha.

Hlášení se provádí předepsaným povinným hlášením „Hlášení infekční nemoci“, jehož prostřednictvím se hlásí: potvrzené onemocnění, podezření z onemocnění, nosičství a úmrtí. Hlášení o infekčním onemocnění je prezentována na obrázku č. 3.

Aktuální informace o infekčních onemocněních slouží k posouzení vývoje epidemiologické situace na území ČR, ke sledování zdravotního stavu obyvatelstva a k řízení poskytované zdravotní péče [internet 5]. Toxoplazmóza v České republice podléhá povinnému hlášení.

Obrázek č. 3 Hlášenka infekční nemoci

HLÁŠENÍ INFEKČNÍ NEMOCI

1. Příjmení:	
Jméno:	
Rodné číslo:	<input type="text"/>
Pohlaví: 1 - muž, 2 - žena	<input type="checkbox"/>
2. Trvalé bydliště (obec, ulice, číslo): <input type="text"/>	
3. Pracoviště:	Povolání:
4. Název a adresa kolektivního zařízení:	
5. Diagnóza: 1 - potvrzená, 2 - podezření, 3 - nosičství, 4 - úmrtí <input type="checkbox"/>	
dg slovně:	dg <input type="text"/>
6. Datum prvních příznaků (den, měsíc, rok): <input type="text"/>	
7. Obec onemocnění:	Okres: <input type="text"/>
8. Místo izolace: 1 - doma, 2 - inf. odd., 3 - jinde, 4 - neznámo <input type="checkbox"/>	
Datum izolace (den, měsíc, rok): <input type="text"/>	
9. Název zařízení a oddělení, ve kterém došlo k nákaze:	

NZIS 023 0

SEVT 14 790 1

(Zdroj : [internet 3])

4.3 Nepřímé laboratorní metody

4.3.1 Imunofluorescence (IMF)

Imunofluorescence je sérologická reakce, v níž je jedna složka označena fluorescenčním barvivem a výsledek se odečítá pomocí fluorescenčního mikroskopu. Nepřímá IMF je nejběžnější modifikací této reakce a je univerzální. Slouží k průkazu protilátek proti všem agens, ze kterých jsme schopni připravit preparát. Lze jí prokázat protilátkovou aktivitu různých tříd imunoglobulinů. Imunofluorescence je poměrně pracná, nedá se automatizovat a nehodí se tedy k vyšetřování většího počtu vzorků [32].

4.3.2 Enzymoimunoanalýza (EIA)

Enzymoimunoanalýza je skupina imunochemických metod, jejichž společným znakem je použití enzymu ke značení antigenu nebo protilátky a tím následně celého imunokomplexu. Navázání enzymu se pak znázorní reakcí se substrátem za vzniku barevného produktu. Výsledná detekce je podle druhu substrátu pro daný enzym fotometrická (ELISA), fluorometrická (FEIA) nebo luminometrická (LEIA).

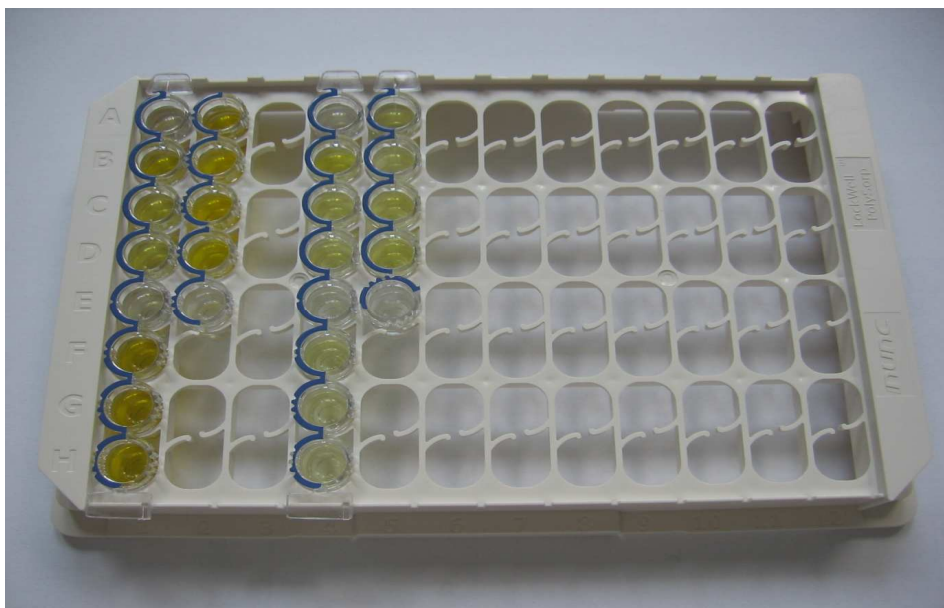
ELISA test - (Enzyme-linked immunosorbent assay)

Nekompetitivní ELISA je postup, který se nejvíce využívá k detekci protilátek toxoplazmózy.

Podstata metody spočívá v tom, že při průkazu protilátky je pevná fáze, (např. jamka mikrotitrační destičky) pokryta antigenem. Do jamky destičky je aplikován vyšetřovaný vzorek, obsahující specifické protilátky. Po promytí se přidává enzymem značený antiglobulin (antisérum - zvířecí protilátka proti lidskému imunoglobulinu), tzv. konjugát.

Po dalším promytí je aplikován substrát, tím dojde ke vzniku barevné reakce a intenzita výsledného barevného profilu produktu je přímo úměrná koncentraci hledané protilátky. Pomocí kalibrační křivky sestrojené ze standardních vzorků se odečítají příslušné hodnoty v neznámém vzorku, který právě prověřujeme. Hodnocení lze provést i pomocí tzv. indexu (poměr absorbance vzorku k absorbanci cut-off standardu). Cut-off je lidské sérum obsahující protilátky v hraničních koncentracích [33].

Obrázek č. 4 *ELISA test*



(Zdroj: foto vlastní)

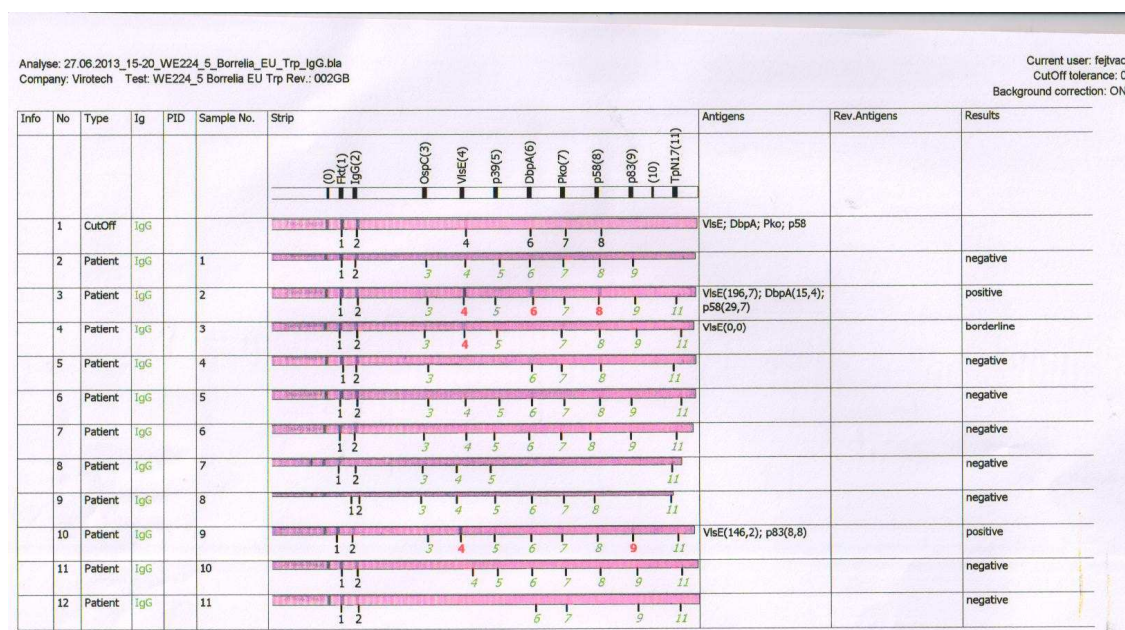
4.3.3 Western blot (imunoblot)

Blotové techniky jsou v podstatě kombinací elektroforézy a imunodetekce založené na sendvičovém principu: konjugát, protilátka proti lidským imunoglobulinům označené enzymem nebo radionuklidem.

Technika imunoblotu se skládá z následujících postupů. V prvním kroku je antigenní směs rozdělena elektroforeticky na polyakrylamidovém gelu. Z něj je přenesena pomocí elektrického proudu na nitrocelulózový proužek (blotování), kde je fixována. Takto připravené nitrocelulózové proužky (WB stripy) přicházejí v komerčních soupravách do laboratoře.

Vyšetřovaný vzorek se v laboratoři inkubuje s WB stripem. Specifické protilátky se navážou na příslušnou antigenní komponentu, pak pokračuje navázání konjugátu (antigamaglobulinového séra značeného enzymem) a jeho reakce se substrátem. Výsledkem je barevný proužek na WB stripu v místě polohy daného antigenu. Komerční soupravy využívají čištěné směsi antigenů důležitých pro stanovení diagnózy. Hodnocení se provádí většinou pouhým okem, je možné použít i denzitometr [33].

Obrázek č. 5 Western-blot



(Zdroj: foto vlastní)

4.3.4 Komplement fixační reakce

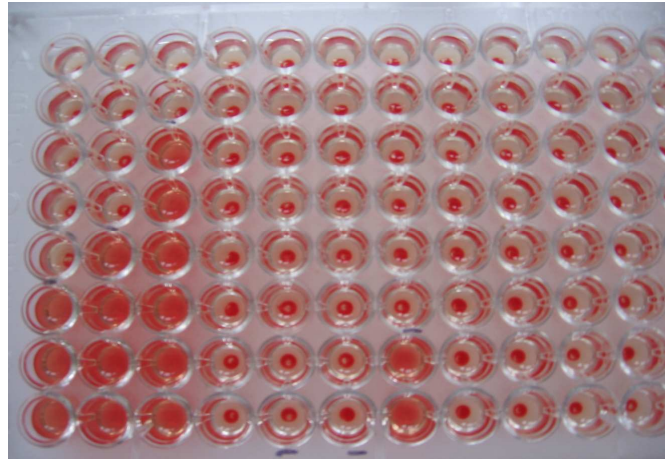
Komplement fixační reakce je sérologická metoda, která slouží nejčastěji k průkazu protilátek. Podstata KFR spočívá ve vazbě komplementu na komplex antigen – protilátka.

Sérum do této reakce nesmí být chylózní nebo hemolytické a je nutno jej vždy tepelně inaktivovat při 56°C, aby se odstranil lidský komplement [32].

V první fázi se váže protilátka z pacientova séra na příslušný antigen. Na vzniklý imunokomplex se navazuje komplement. Jako zdroje komplementu se v laboratoři užívá morčecí sérum. Pokud se komplement navázal v první fázi reakce, zůstanou přidané erythrocyty beze změny jako tzv. zábrana hemolýzy. Jestliže hledaná složka (protilátka) přítomna nebyla, komplex antigen – protilátka nevznikne. Komplement zůstane volný, naváže se na indikátorový systém, který se skládá z ovčích erythrocytů senzibilizovaných amboceptorem, což je obvykle králičí protilátka proti beraním krvinkám a výsledkem je hemolýza krvinek [33].

Výsledek se vyjadřuje pomocí titru, tj. v jakém nejvyšším ředění vyšetřovaného séra byly zjištěny protilátky. Hemolýzu považujeme za negativní výsledek. Zábřana hemolýzy (negativní hemolýza, ovčí krevinky sedimentují) znamená pozitivní výsledek, tj. byly přítomny hledané protilátky.

Obrázek č. 6 *KFR metoda*



(Zdroj: foto vlastní)

4.4 Přímé laboratorní metody

4.4.1 Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Polymerase chain reaction (polymerázová řetězová reakce) je enzymová metoda sloužící k syntéze definovaného úseku DNA. Vzhledem k vysoké citlivosti detekce je možné PCR použít pro zjištění přítomnosti velmi malého množství nukleové kyseliny ve vzorku (teoreticky by měla stačit jediná molekula DNA). Základem úspěšné reakce je použití neporušeného úseku této nukleové kyseliny, který má být amplifikován (pomnožen).

Správná aplikace molekulárních metod v diagnostice toxoplazmových infekcí je důležitá především v časném stadiu gravidity, u novorozenců s podezřením na kongenitální toxoplazmózu a u imunosuprimovaných osob [14].

Princip metody

Princip amplifikace DNA touto metodou *in vitro* je podobný replikaci DNA *in vivo*. Kopie úseku DNA jsou syntetizovány podle templátu (jednořetězová DNA) pomocí enzymu DNA - polymerázy na principu komplementarity bází. Vysokou teplotou dojde k denaturaci dvouřetězové DNA a získaná jednořetězová vlákna slouží jako templát. V další fázi je zapotřebí dvou primerů, chemicky syntetizovaných krátkých oligonukleotidů, které se připojují ke komplementárním úsekům řetězců DNA tak, že jejich 3' - OH-konce směřují proti sobě. Pomocí primerů je zároveň vymezen úsek DNA, který bude amplifikován [35].

Složení reakční směsi

- 1) templátová DNA, která byla izolovaná ze vzorku různých mikroorganismů (bioptických vzorků, stěrů, z buněk tkáňových kultur, tělních tekutin)
- 2) synteticky připravené primery (každý komplementární k jednomu řetězci DNA)
- 3) směs nukleotidů dNTP (deoxyribonukleosidtrifosfáty)
- 4) termostabilní enzym DNA polymeráza (např. *Taq* polymeráza získaná z termofilní bakterie *Thermus aquaticus* žijící v horkých pramenech)

Reakční směs pro PCR se napipetuje do malé PCR zkumavky, která se vloží do termocykleru, ve kterém probíhají teplotní cykly. Každý cyklus má 3 fáze s odlišnými teplotními podmínkami. Tento cyklus se opakuje 25 – 35 krát. Do reakce se navíc zařazuje počáteční denaturace a závěrečná polymerační reakce.

Výsledný produkt PCR (amplifikovaný úsek DNA) lze analyzovat např. stanovením velikosti produktu gelovou elektroforézou, štěpením restrikcími enzymy a posouzením vznikajících restrikcími fragmentů (RFLP), hybridizací se značenou sondou komplementární k části sekvence amplifikovaného úseku

nebo stanovením sekvence DNA (sekvenování). Touto metodou lze získat 2^n kopií DNA, kdy n je počet cyklů. Z jedné molekuly DNA můžeme například získat po proběhnutí 30 ti amplifikačních cyklů více, než 10^9 kopií [35].

Využití

Tato molekulární biologická metoda může být využita například při sekvenování DNA, při analýze genů, DNA fingerprintingu, při zjišťování genetických a infekčních nemocí, v prenatální diagnostice dědičných chorob, preimplantační diagnostice a typizaci, izolaci určitého genu ze vzorku tkáně, průkazu identity v kriminalistice a při určování paternity.

Obrázek č.7 Termocykler



(Zdroj: [internet 4])

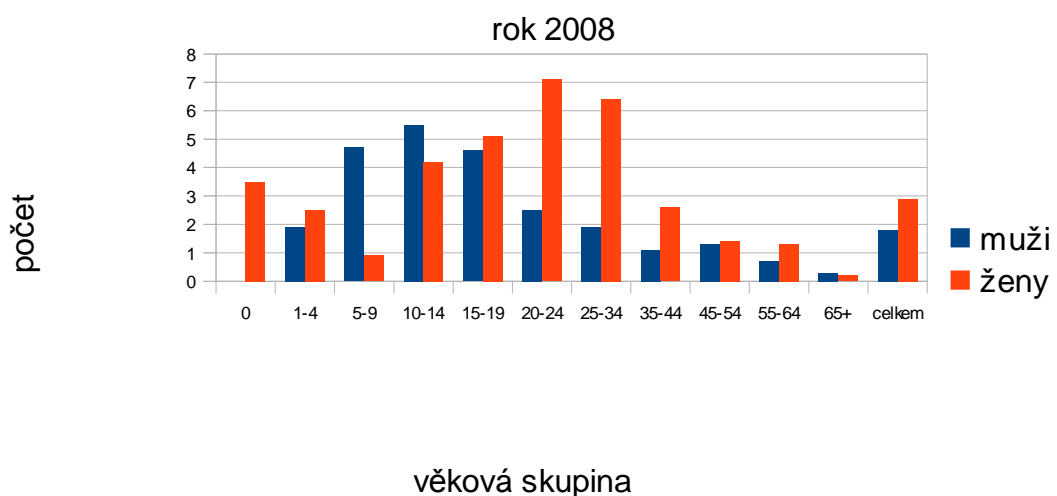
5 Výsledky - epidemiologická data

Z údajů databáze EPIDAT plyne vyšší zastoupení infikovaných žen (převažují mladší věkové kategorie). Vzhledem k vážnému riziku nakažení žen fertilního věku je toto velmi nepříznivý jev. Souvislost můžeme pravděpodobně hledat ve vyšší frekvenci vyšetřovaných gravidních žen. Ovšem absolutní počty onemocnění i incidence má zřetelně klesající tendenci. Příčinu možno nalézt v odlišném životním stylu (pokles samozásobování pěstováním kořenové zeleniny i chovu drobného domácího zvířectva, zvýšená hygienická úroveň komerčního zásobování, osvěta, vyšší úroveň veterinární péče aj.).

Graf č. 1

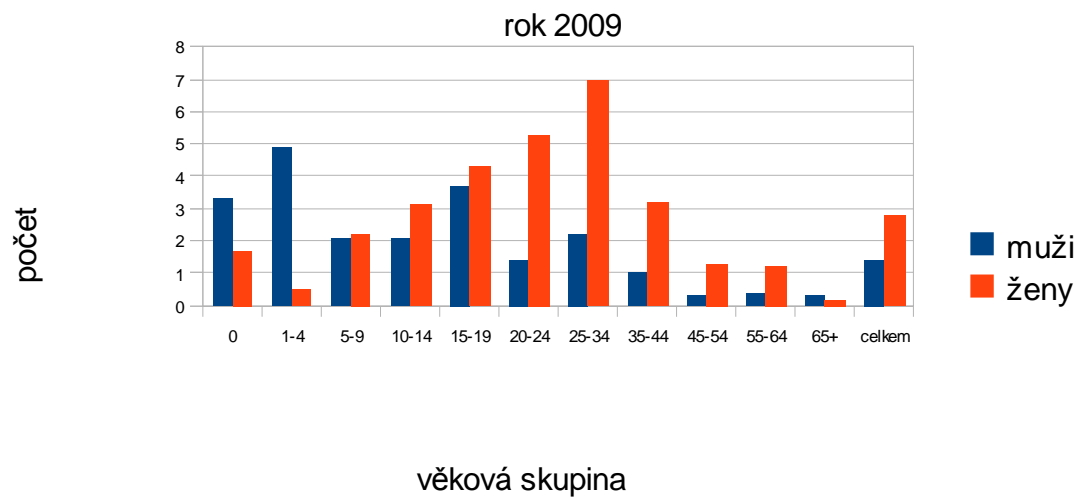
Toxoplazmóza podle pohlaví a věkových skupin – muži a ženy v ČR na 100 000 obyvatel

rok 2008 - 2011



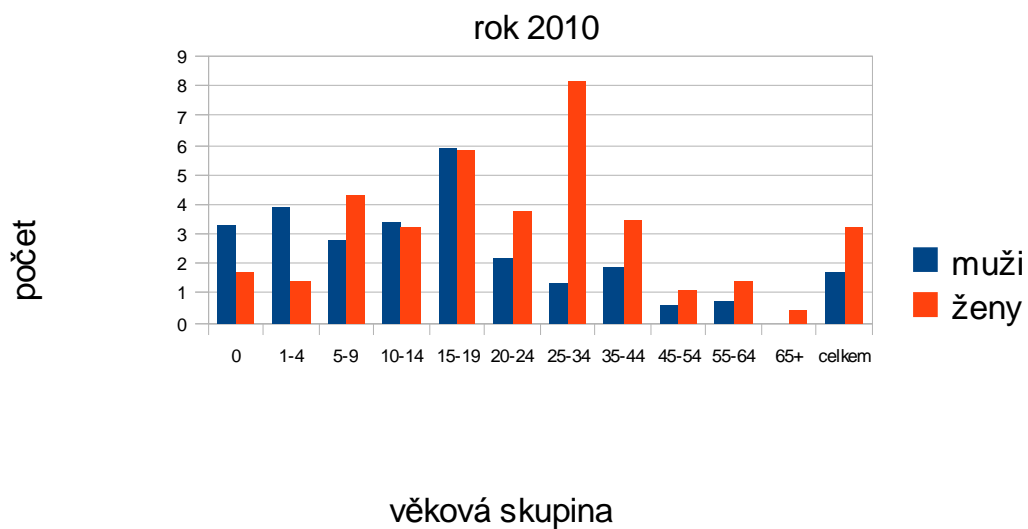
(Zdroj: [internet 6])

Graf č. 2



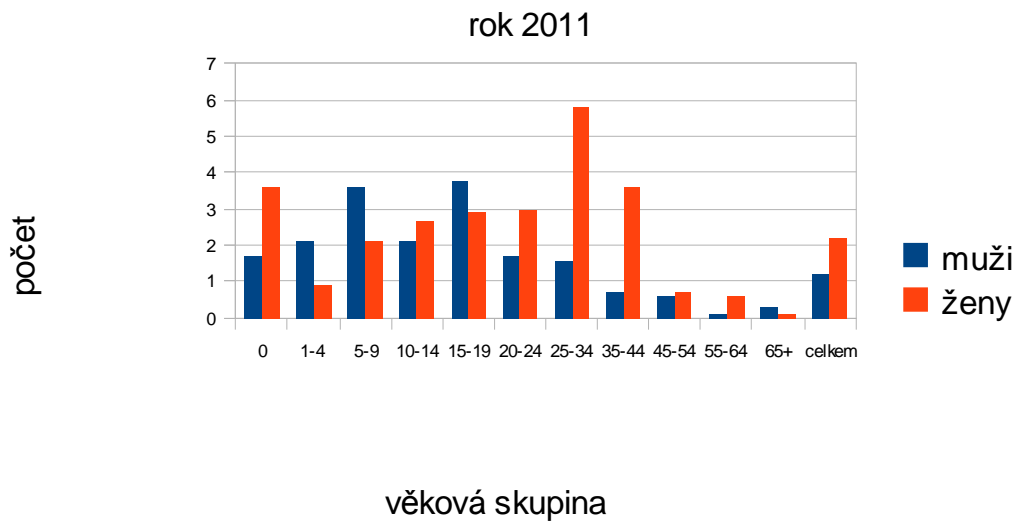
(Zdroj: [internet 6])

Graf č.3



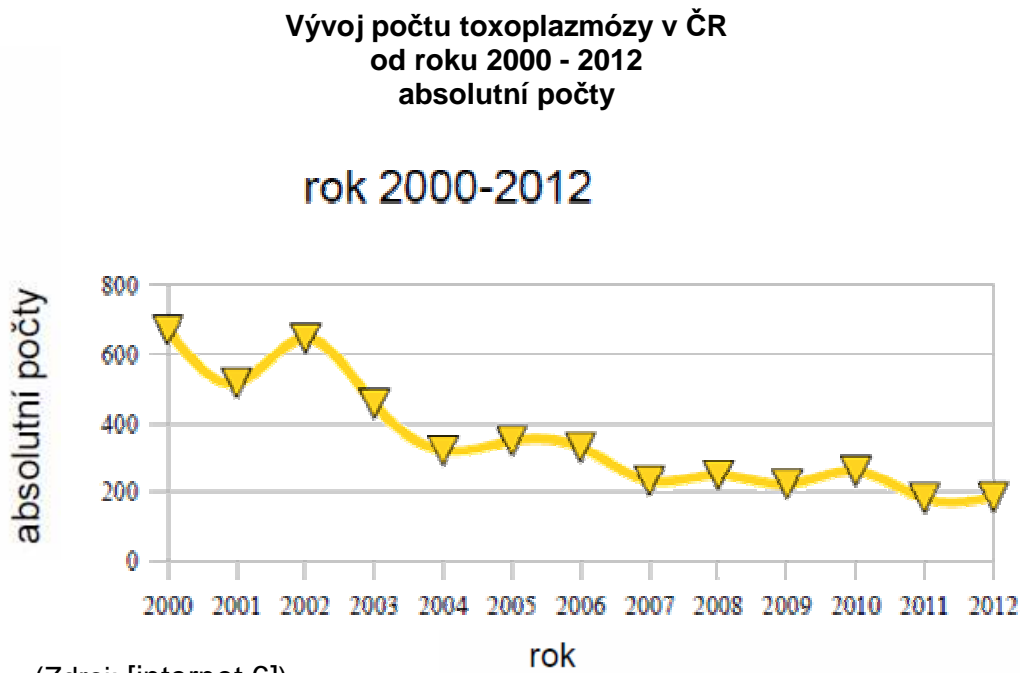
(Zdroj: [internet 6])

Graf č. 4



(Zdroj: [internet 6])

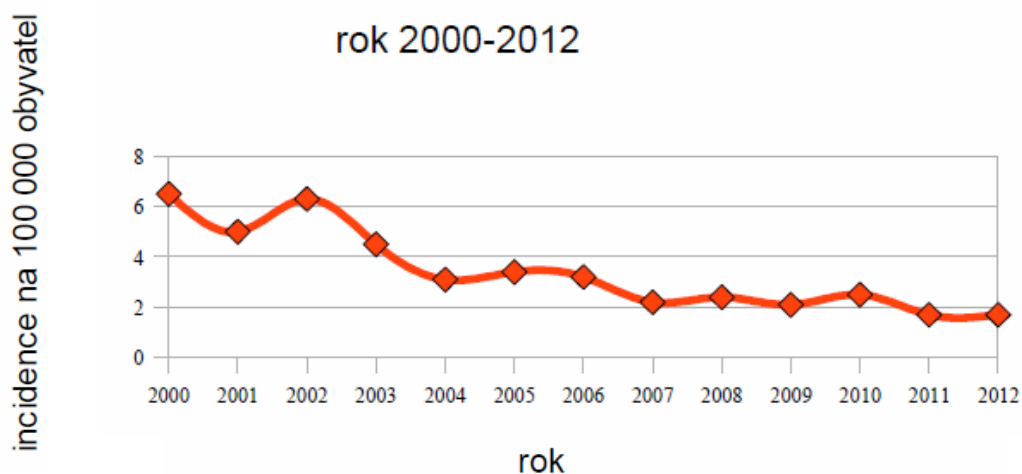
Graf č.5



(Zdroj: [internet 6])

Graf č. 6

**Vývoj incidence toxoplazmózy v ČR
na 100 000 obyvatel
od roku 2000 - 2012**



(Zdroj: [internet 6])

6 Kazuistika - žena

6.1 Klinická data

Prezentuji vlastní případ onemocnění toxoplazmózou, která mi byla diagnostikována v roce 1997 ve věku 20 let. Začal náhodnou kontrolou u lékaře, ale měl na můj další život velký vliv.

Lékařku specialistku ORL jsem navštívila po měsíci trvajících obtížích zvětšených uzlin na krku pod levým uchem. Nebylo doprovázeno teplotami, únavou. Cítila jsem se zdráva, hlavním důvodem, proč jsem k lékaři šla, byla absence ve škole. Neočekávala jsem zjištění žádného onemocnění. Při první návštěvě mi lékařka sdělila několik možných příčin zvětšení uzlin daného rozsahu např. tuberkulóza, maligní onemocnění, druh zoonózy, v případě nezjištění příčiny navržen chirurgický zákrok odstranění uzlin. Rodinná a osobní anamnéza byla nevýznamná, sledované nemoci se v rodině nevyskytovaly.

Po týdnu jsem se dostavila ke kontrole a pro výsledky vyšetření – sérologické vyšetření krve, RTG plic, ultrazvuk uzlin. Během mé návštěvy nebyly výsledky z mikrobiologie kompletní, byla mi vystavena žádanka k chirurgickému zákroku. Ještě před mým odchodem byly výsledky doplněny se zjištěním vysokých hodnot protilátek metodou KFR. Okamžitě jsem byla poslána na infekční oddělení Nemocnice Havlíčkův Brod s diagnózou toxoplazmózy, kde jsem byla hospitalizována po dobu 12 dní, léčena trojkombinací antibiotik Rovamycin, Daraprim, Sumetrolim. Pocházím z vesnice, mohla jsem se tedy nakazit konzumací nedostatečně umyté zeleniny, častým kontaktem s kočkami. Po propuštění do domácího ošetření jsem pokračovala s medikací po dobu 20 dní. Po roce, tj. v roce 1998, jsem nastoupila na stejné oddělení k druhému přeléčení. Při propuštění jsem byla upozorněna na nevhodnost gravidity do doby úpravy elevovaných titrů proti toxoplazmóze.

Od roku 1998 jsem v péči poradny pro zoonózy infekčního oddělení Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Na pravidelné kontroly jsem jezdila čtvrtletně, kde byla sledována dynamika protilátek se stálým doporučením nevhodnosti gravidity. V roce 2003 jsem se vdala, otázka možnosti otěhotnět se stala pro mě velmi aktuální. V roce 2004 došlo ke snížení protilátek a gravidita byla z hlediska lékaře možná. Další kontrola v roce 2004 byla již v 7. - 8. týdnu gravidity, stanovena medikace Rovamycin po 8 hodinách zatím po dobu prvního trimestru. Nakonec jsem užívala Rovamycin po 8 hodinách po celou dobu gravidity až do porodu v březnu 2005.

I přes plnou důvěru ošetřujícímu lékaři, otázka nevhodnosti gravidity, užívání léků po celou její dobu, strach o zdravý vývoj dítěte, tlak rodiny, abych léky nebrala a neohrožovala zdraví nenarozeného dítěte, byly pro mě silným stresujícím faktorem. Přestože porod proběhl bez komplikací, u syna nebyly zjištěny žádné zdravotní anomálie, byla jsem pět týdnů po porodu hospitalizována na Psychiatrické léčebně v Havlíčkově Brodě.

Jak jsem již uvedla v úvodu, toxoplazmóza mi byla zjištěna čistě náhodou. To, co jsem prožívala v průběhu gravidity kvůli svému onemocnění, vedlo k psychickým potížím, se kterými se potýkám dodnes, k rozhodnutí nemít další děti. O toxoplazmóze jsem se dozvěděla, až když mi byla diagnostikována,

v průběhu léčení jsem se neodvažovala zjišťovat podrobnosti. Proto tuto práci považuji za způsob, jak se o této nemoci dozvědět více a vyrovnat se s jejími následky v mém životě.

6.2 Laboratorní data – pacientka

Laboratorní data ukazují do jisté míry atypický průběh odpovědi demostrovaného případu. Počáteční typicky vysoký titr KFR rychle poklesl na anamnestické hodnoty 32 - 64, naopak IgM vykazovaly sklon k persistenci v pozitivních hladinách. V roce 2003 rostou některé akutní markery (IgA, IgE) a přechodně klesá avidita, tento jev diskutujeme.

V čase kolem porodu jsou všechny markery v podobě typické pro anamnestický nález.

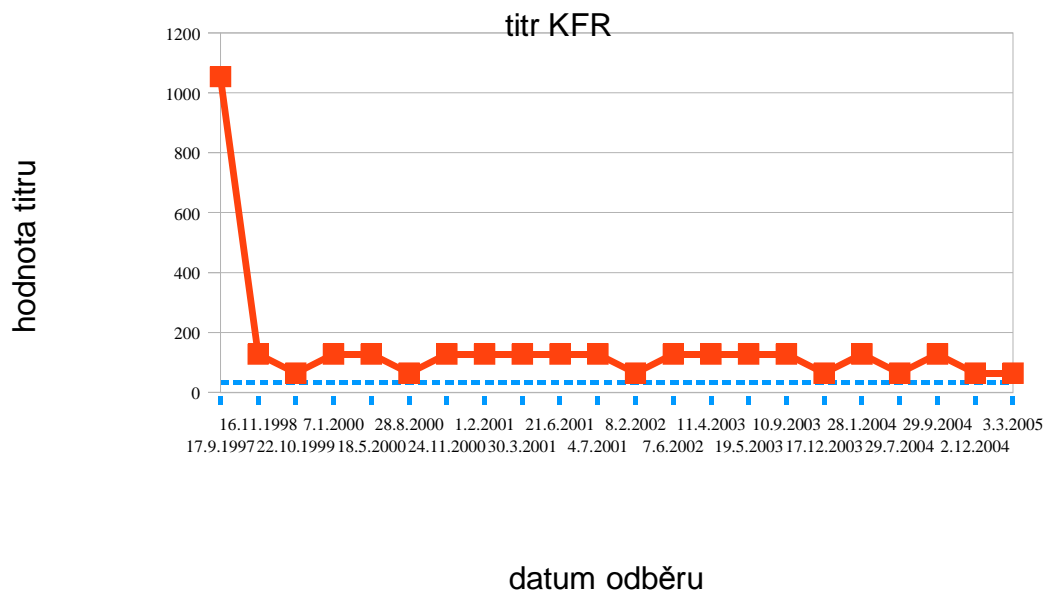
Tabulka č.6

Přehled výsledků sérologických markerů TG z kazuistiky

Datum odběru	KFR 1:	IgM	IgA	IgG	Avi IgG %	IgE
17.9.1997	1054	ND	ND	ND	ND	ND
16.11.1998	128	ND	ND	ND	ND	ND
22.10.1999	64	0,78	ND	ND	ND	ND
7.1.2000	128	2,35	0,9	ND	ND	ND
18.5.2000	128	1,81	0,7	ND	ND	ND
28.8.2000	64	1,54	0,47	ND	ND	ND
24.11.2000	128	1,35	0,52	ND	ND	ND
1.2.2001	128	1,9	0,48	ND	ND	ND
30.3.2001	128	2	1,1	4,8	63	ND
21.6.2001	128	1,69	0,56	2,65	81	ND
4.7.2001	128	1,01	0,51	ND	ND	ND
8.2.2002	64	1,39	0,45	ND	ND	ND
7.6.2002	128	0,87	0,37	ND	ND	ND
11.4.2003	128	1,31	0,57	4,57	ND	ND
19.5.2003	128	1,1	0,5	5,35	71	ND
10.9.2003	128	1,01	0,46	4,92	47,4	ND
17.12.2003	64	2,1	0,57	4,5	44,6	0,48
28.1.2004	128	1,04	0,54	4,68	83	0,42
29.7.2004	64	1,5	0,74	6,6	65	0,24
29.9.2004	128	1,5	0,56	7,1	68	ND
2.12.2004	64	1,44	0,48	6,63	74	0,46
3.3.2005	64	1,26	0,49	5,7	ND	0,58

(Zdroj: autorka)

Graf č. 7



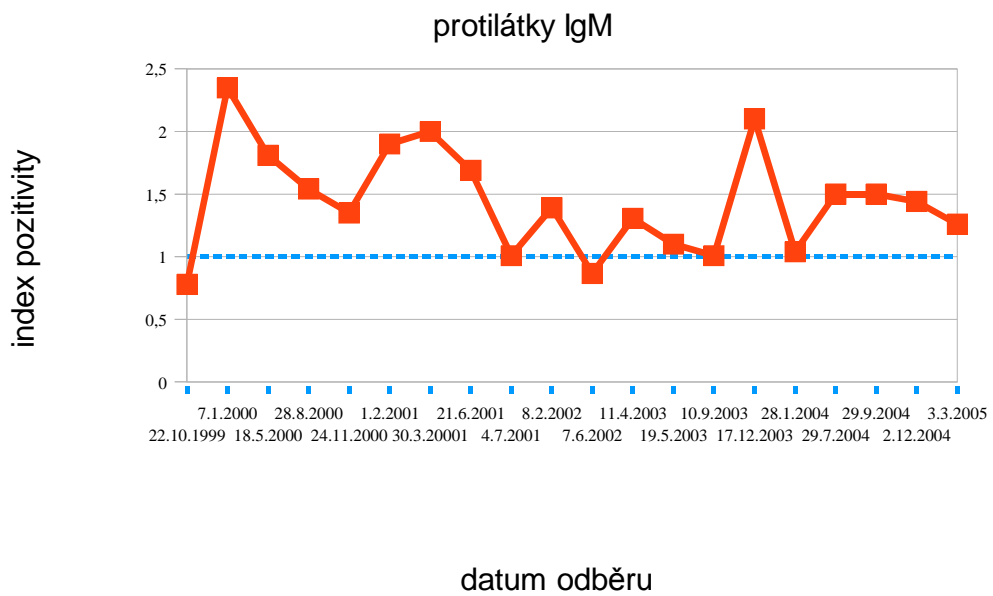
(Zdroj: autorka)

modrá linie protínající graf souběžně s osou „X“ je hraniční (šedá) zóna

(hodnota zóny : ELISA 0,9-1,1; KFR 1:32, Avidita 60 %)

Graf č. 8

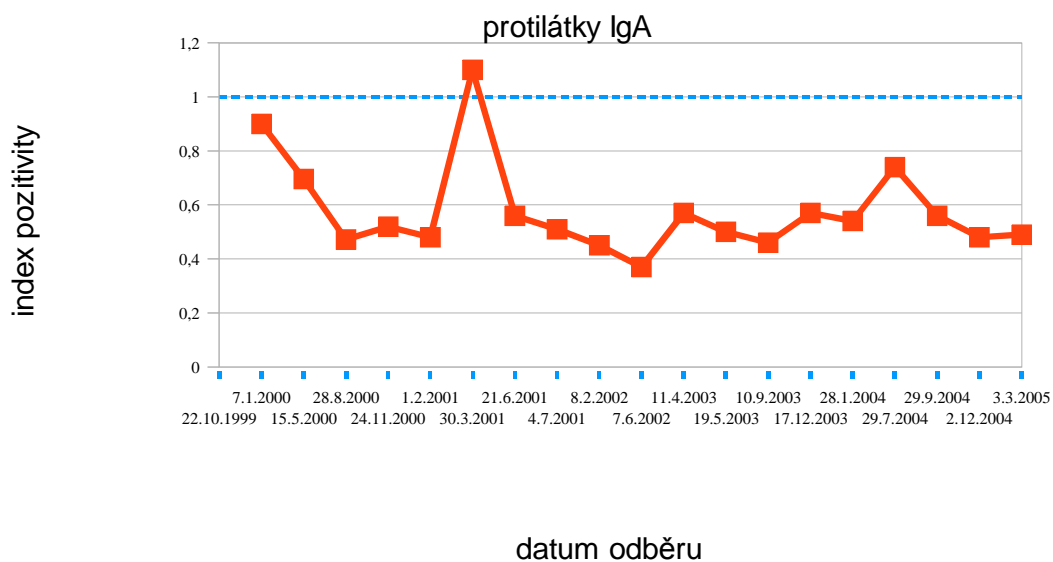
Protilátky IgM pacientky z kazuistiky



(Zdroj: autorka)

Graf č.9

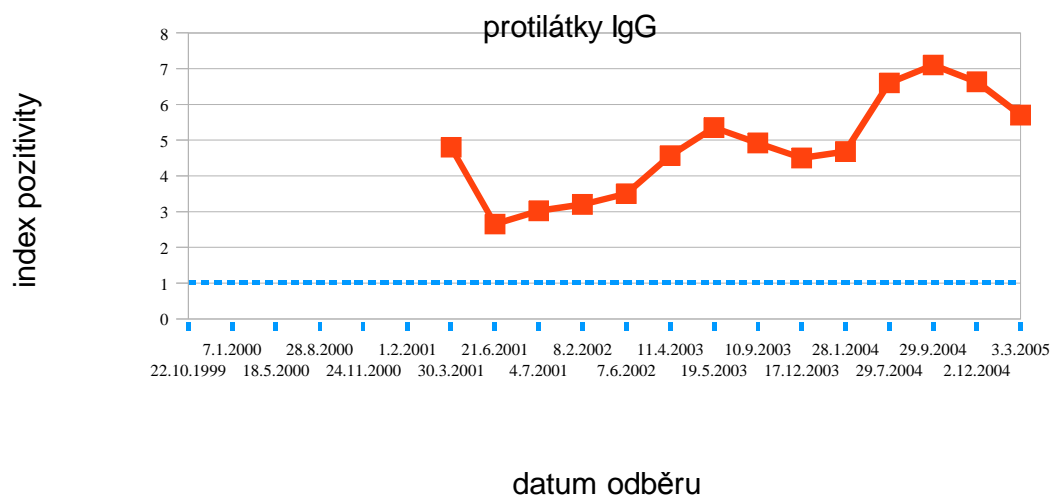
Protilátky IgA pacientky z kazuistiky



(Zdroj: autorka)

Graf č.10

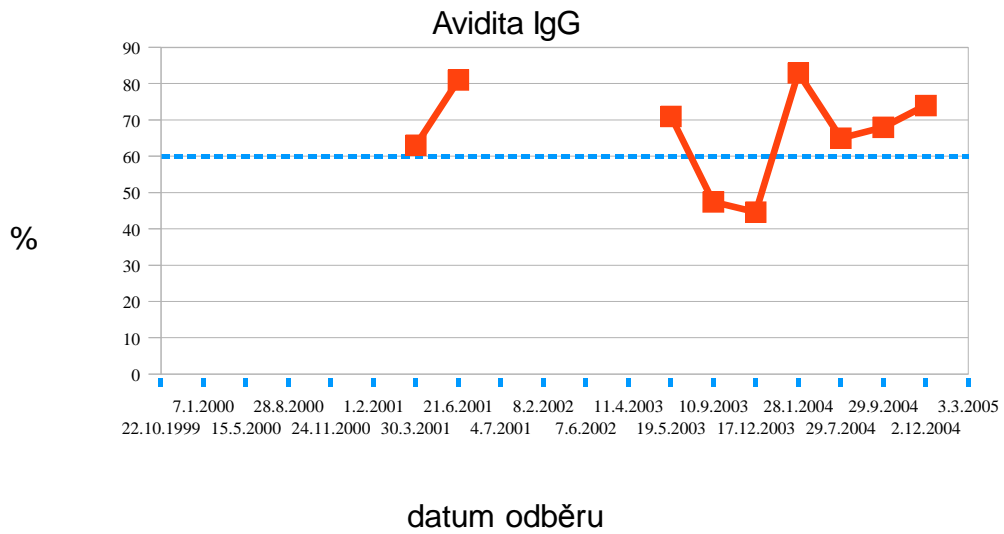
Protilátky IgG pacientky z kazuistiky



(Zdroj: autorka)

Graf č. 11

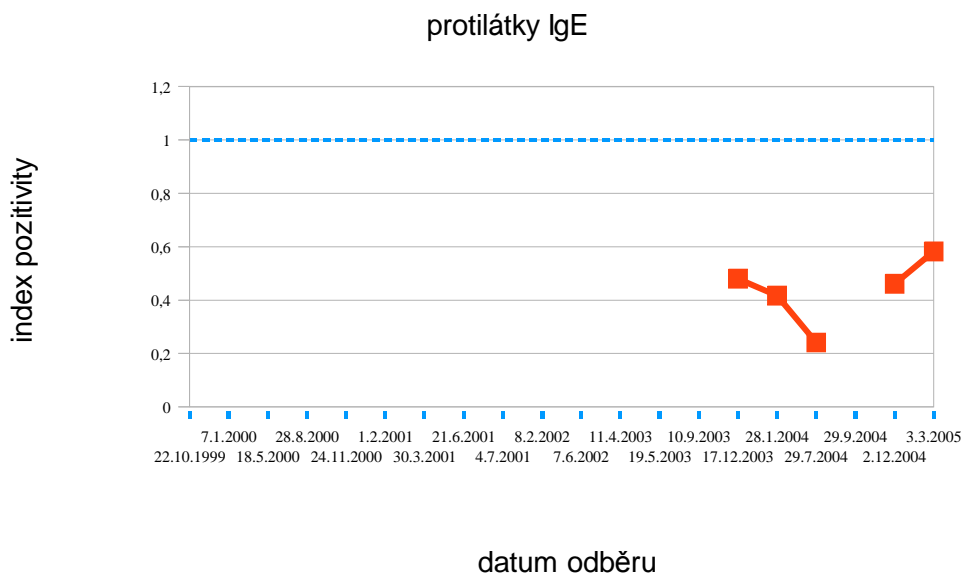
Avidita IgG pacientky z kazuistiky



(Zdroj: autorka)

Graf č. 12

Protilátky IgE pacientky z kazuistiky



(Zdroj: autorka)

6.3 Laboratorní data - syn

Diagnostika vrozených infekcí je založena na poznatku, že protilátky třídy IgG mohou procházet placentou a v krvi novorozence lze prokázat mateřské protilátky. Protilátky jiných tříd placentou procházet nemohou a pokud je u novorozence prokážeme, jedná se vždy o vlastní protilátky. Novorozenec se tedy rodí s hladinami IgG, které jsou rovny hladinám matky [37].

Laboratorní vyšetření syna sledované pacientky ukazuje typický nález mateřských protilátek s poklesem do půl roku věku a negativními markery akutními - IgM neměřitelné, IgA nedosahuje hraničních hodnot a i v nich zaznamenáváme pokles. V prvním roce života bylo dítě séronegativní, k nakažení nedošlo [36]. Děti matek s toxoplazmózou se sledují nejméně rok [33].

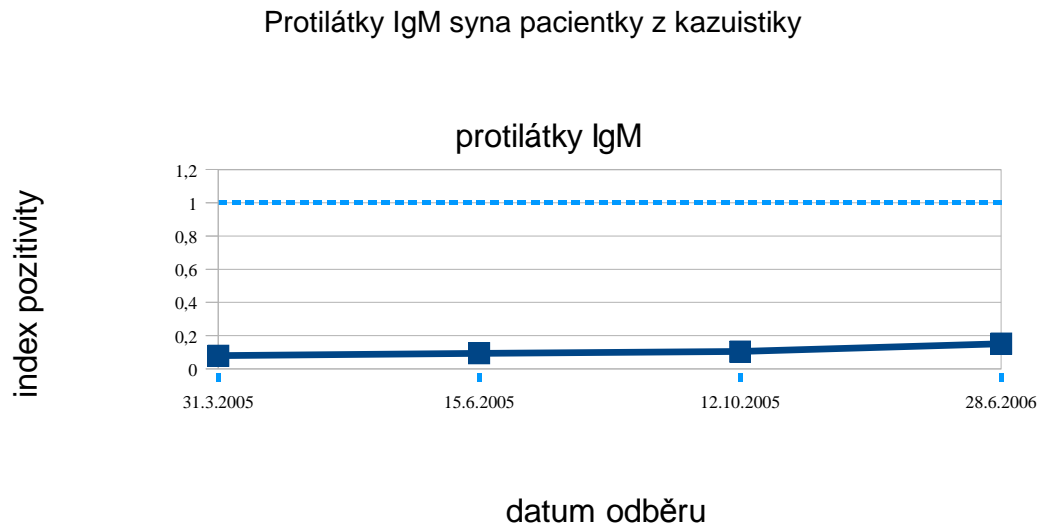
Tabulka č. 7

Přehled výsledků sérologických markerů TG syna pacientky z kazuistiky

Datum odběru	IgM	IgA	IgG	KFR 1:
31.3.2005	0,08	0,45	5,91	64
15.6.2005	0,09	0,39	3,24	8
12.10.2005	0,1	0	0,97	8
28.6.2006	0,15	0	0,87	8

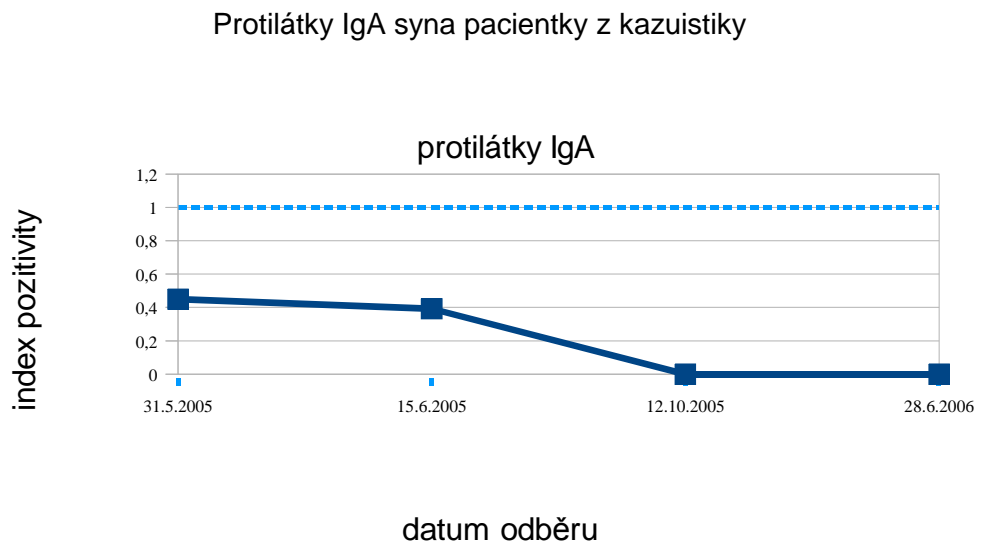
(Zdroj: autorka)

Graf č. 13



(Zdroj: autorka)

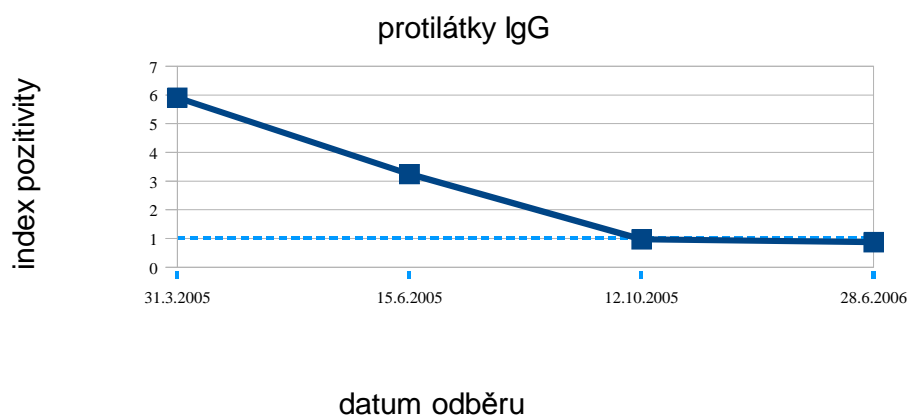
Graf č. 14



(Zdroj: autorka)

Graf č. 15

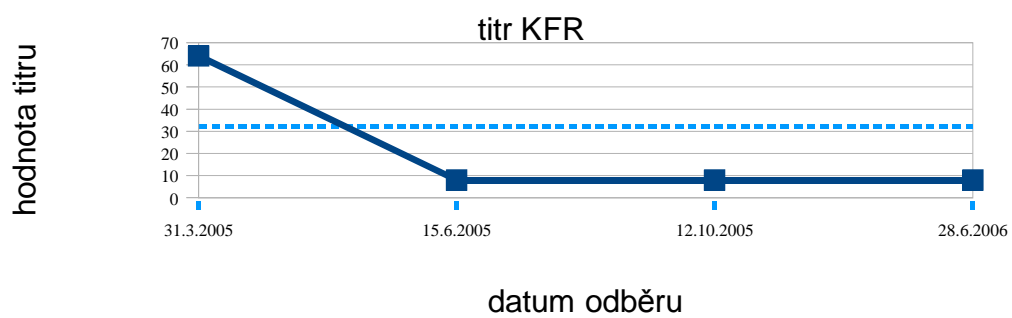
Protilátky IgG syna pacientky z kazuistiky



(Zdroj: autorka)

Graf č. 16

Titř KFR syna pacientky z kazuistiky



(Zdroj: autorka)

7 Diskuze ke kazuistice

Na kazuistice je zajímavé kromě pohledu na konkrétní medicínský pŕípad i to, že odráží vývoj poznání, diagnostiky a terapie onemocnění, ve shodě s historickým pŕehledem [40].

Prvotní onemocnění bylo zachyceno koncem devadesátých let pouze metodou KFR, která je dosud řadou autorů považována za základní [40], doplněnou pozitivitou v kvalitativním ELISA pŕukazu IgM. K návrhu chirurgického řešení lymfadenitidy by se již dnes stěží dospělo. Nicméně základní diagnóza byla stanovena správně i z dnešního pohledu s dobově omezeným metodickým vybavením [39].

Pacientka byla nadále léčena podle schématu, které by bylo platné i dnes. Vysoká avidita, svědčící pro anamnestickou povahu protilátkové odpovědi s předpokládanou ochranou plodu byla prokázána v roce 2001, nicméně přetrvávající titry akutních markerů vedly v tehdejší stavu poznání ke klinické opatrnosti.

V pŕehledu sérologických nálezů je překvapivým nálezem v roce 2003, opakovaně zjištěný pokles avidity a vzrůst titru IgA a IgE, které mají povahu doplňujícího akutního markeru, což vedlo klinika k doporučení odkladu gravidity. Recentní literatura zde navrhuje k hypotéze reinfekce jiným kmenem [36].

Opatrnost přinesla úspěch v podobě porodu zdravého dítěte s normálním vývojem hladin protilátek (z grafů plyne pŕítomnost postupně mizejících mateřských protilátek). Z tohoto pohledu byla terapie úspěšná a zdravé dítě bylo jednoznačným úspěchem.

Poslední vyšetření z roku 2005 z doby kolem porodu již pŕedstavuje jasně vyjádřený anamnestický nález bez akutních markerů, s pŕůměrným titrem KFR a vysokou aviditou, tedy i pacientku samu můžeme považovat za vyléčenou.

Hodná pozornosti je i psychosomatická stránka celého pŕípadu, kdy není vhodné pacientce sdělovat negativní prognózu, pokud nemáme jasně stanovenou dobu primoinfekce a nemůžeme tedy riziko konkretizovat. Tato informace může být zavádějící. Strach o dítě bývá enormní a vzniklý stres může

být závažnější než případné riziko spojené s kongenitální toxoplazmózou [4]. Vidíme, že obavy o osud dítěte, tlak rodinného okolí a další negativní vlivy na psychiku pacientka dobře ustála co se týče fyzické stránky těhotenství, ovšem psychická zátěž byla příliš velká a skončila hospitalizací. Samotná informace o nemoci může napáchat škody srovnatelné se somatickým onemocněním.

Prevencí toxoplazmózy je dodržování opatření u ohrožených osob, především imunokompromitovaných a nastávajících matek s neimunním nebo neznámým imunitním statutem: dostatečná tepelná úprava masa a mléka, mytí zeleniny, mytí rukou po práci na zahradě, manipulaci se syrovým masem a po kontaktu s kočkami, zvláštní pozornost je třeba při likvidaci kočičích výkalů [23].

Absence rutinního screeningu gravidních žen v ČR nám celou situaci nijak neulehčuje. Je tedy nanejvýše důležité apelovat na spádové gynekology, aby tuto diagnostiku prováděli. Neměli bychom váhat s terapií gravidních žen a dlouhodobě sledovat rizikové děti-především pak jde o nutnost dlouhodobého sledování očního pozadí [16].

8 Závěr

Toxoplasma gondii je ubikvitní jednobuněčný parazit, způsobující toxoplazmózu. Napadá všechny teplokrevné živočichy, definitivním hostitelem jsou kočkovité šelmy.

Většina případů toxoplazmózy člověka je inaparentní, problémem je onemocnění u imunokompromitovaných pacientů a ohrožení plodu při nákaze během gravidity. V naší populaci je možným zdrojem nákazy jednak přenos oocyst z materiálu kontaminovaného kočičím trusem (kočičí záchody, kořenová zelenina ze záhonků, dětská pískoviště), jednak pozření tkáňových cyst z tepelně neupravených masných výrobků (například ochutnávání během kuchyňské úpravy).

Diagnostika je založena na sérologických testech. I když je jako základní test doporučována vazba komplementu (KFR), v praxi převažuje metoda ELISA (hlavně ve třídách IgG a IgM). Důvodem může být horší dostupnost diagnostik (komplementu), lepší možnost automatizace a reprodukovatelnost enzymových imunoanalýz.

Absolutní počty nových případů klesají. Jako nejvýraznější skupina nemocných zůstávají ženy ve fertilním věku.

Pro prevenci je navržena celá řada opatření, pro jejich účinnost je nutná osvěta.

Literatura se převážně zabývá somatickými stránkami toxoplazmózy, v ilustrační kazuistice ukazujeme tvrdé psychologické a sociální dopady zmíněného onemocnění. Na přehledech je vidět nejen postup boje pacientky s chorobou, ale i pokrok v diagnostických metodách a terapeutických názorech na problematiku.

Z této kazuistiky rovněž vyplývá důvod volby tématu a osobního zaujetí pro něj.

Seznam použitých zkratk

AIDS	Syndrom získané imunodeficiencie
CDC	Center for Disease Kontrol and Prevention
CNS	Centrální nervový systém
CEM	Centrum epidemiologie a mikrobiologie
dNTP	Deoxyribonukleosidtrifosfát
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EIA	Enzymoimunoanalýza
ELISA	Enzyme Linked Imunosorbent Assay
EPIDAT	Program pro sběr surveillance infekčních chorob v oboru epidemiologie v ČR
FEIA	Fluorimetrická enzymová imunoanalýza
HIV	Virus lidské imunodeficiencie
IMF	Imunofluorescence
ISPO	Informační systém přenosných onemocnění
KFR	Komplement fixační reakce
KSRZIS	Koordinační středisko pro resortní zdravotnické systémy
LEIA	Luminometrická enzymová imunoanalýza
NIFR	Nepřímá imunofluorescence
NRL	Národní referenční laboratoř
NZIS	Národní zdravotnický informační systém
ORL	Otorhinolaringologie
PCR	Polymerázová řetězová reakce
RTG	Vyšetření pomocí rentgenového záření

RFL	Restriction fragment length polymorphism-enzymatické štěpení molekul restrikční endonukleázou
SFDT	Sabin Feldrman Dye Test
SZÚ	Státní zdravotní ústav
TE	Toxoplazmová encefalitida
TESSy	The European Surveillance System
TG	<i>Toxoplasma gondii</i>
WHO	Světová zdravotnická organizace
WB	Western blot
ND	Not done-neděláno

Seznam použité literatury

- [1] JÍRA, J.: *Lékařská protozoologie*, Protozoální nemoci. 1. vydání. Praha: Galén, 2009. 283s .ISBN 978-807262-381-5.
- [2] KOUBA, K.et al.: *Toxoplazmóza*. 1. Vydání. Brno: Avicenum, 1974. 285s.
- [3] STRHÁRSKY, J. – MAŽAROVÁ, L. – KLEMENT, C.: Laboratorna diagnostika toxoplazmózy. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*, 2009 , roč. 58,č. 2, s. 51-62. ISSN: 1210-7913.
- [4] KODYM, P. - GELENEKY, M.: Prevence, diagnostika a léčba toxoplazmózy v graviditě. *Aktual.Gyn.* 2012, 4:31-38. ISSN 1803-9588.
- [5] VOTAVA, M. et.al.: *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003. 495 s. ISBN 80-902896-6-5.
- [6] VOLF, P. et al.: *Paraziti a jejich biologie*. Praha: Triton, 2007. s. 103 – 104. ISBN 978-80-7387-008-9.
- [7] MACHALA, L. – KODYM, P. – ČERNÝ, R.:Toxoplazmóza. *Interní medicína pro praxi*, 2005, roč 7, č. 3, s. 120 – 122. ISSN:1212-7299.
- [8] KOUDELA, B.: Jednodenní konference „ Problémy toxoplazmózy “, SZÚ Praha, 2008.
- [9] BEDNÁŘ, M. et.al.: *Lékařská mikrobiologie*. 1. vydání. Praha: Marvil, 1996. 558 s.
- [10] BÁRTOVÁ, E. – SEDLÁK, K. – LITERÁK, I.: Low virulence of oocystys of Czech *Toxoplasma gondii* isolates on the basis of biological a genetic characteristics. *J. Parasit.*, 89, 2003, p. 777-781.

- [11] DOSTÁL, V. et al.: *Infektologie*. 1. Vydání. Praha: Karolinum, 2004. 338 s. ISBN: 80-246-0749-2.
- [12] PRÁŠIL, P.: Současné možnosti diagnostiky a terapie toxoplazmózy u HIV negativních pacientů. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*, 2009, roč. 15, (3), s. 83-90. ISSN: 1211-264X.
- [13] VOXOVÁ, B.- ČERMÁKOVÁ, Z. - PRÁŠIL, P. - PLÍŠKOVÁ, L. - BOLEHOVSKÁ, R.FÖRSTL, M. - PLÍŠEK, S.: Úskalí laboratorní diagnostiky mozkové toxoplazmózy. *Klinická mikrobiologie, Infekční lékařství 2009*. roč. 15, č.3, s.91-94
- [14] ČERMÁKOVÁ, Z. – PLÍŠKOVÁ, L. – PRÁŠIL, P. – RYŠKOVÁ, O.: Metoda polymerázové řetězové reakce (PCR) v diagnostice toxoplazmózy. *Acta Medica, Hradec Králové SUPPL 2004, 47(2), 71-73* .
- [15] TOMKOVÁ, J. et. al.: Toxoplazmóza. *Klinická biochemie a metabolismus*, 2008, roč. 16/37, č. 4, s. 232-235. ISSN: 1210-7921.
- [16] PRÁŠIL, P. – ČERMÁKOVÁ, Z. – BOŠTÍK, P. – ŠMAHE, P. – PLÍŠEK, S.: Sérologické otazníky kongenitální toxoplazmózy – kazuistika. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. 2012, roč. 18 (3), s. 193-196.
- [17] LINDSAY, D. S. – DUBEY, J. P.: *Toxoplasma gondii*: the changing paradigm of congenital toxoplasmosis. *Parasitology*. 2011, 9. 1-3.(Medline).
- [18] BENEŠ, J.: *Infekční lékařství*. 1. vydání. Praha: Galén, 2009. 333-335s. ISBN 978-80-7262-644-1.

- [19] ZITEK, K.: Prevence toxoplazmózy u gravidních žen. 1.vydání. SZÚ Praha 2001.
- [20] GELENEKY, M.:Toxoplazmóza v klinické praxi – hrozba nebo mýtus? *Medicína pro praxi*, 2008, roč. 5, s. 203-204. ISBN: 1214-8687.
- [21] BREJCHOVÁ, H. – ŠPIDLEROVÁ, A. – FAJFRLÍK, K.:Oční toxoplazmóza. *Prakt. Léč.* 2002. 82.538-540.
- [22] BOSCH –DRIESSEN. E. H., ROTHOVA, A, J.: Recurent ocular disease in postnatally acquired toxoplasmosis. *Amer. J. Ophtal*, 128, 1999, p. 421-428.
- [23] MACHALA, L. – KODYM, P. – ROZSYPAL, H. – STAŇKOVÁ, M. – SEDLÁČEK, D.: Doporučený postup diagnostiky a terapie toxoplazmózy u osob s HIV infekcí. *Klinická mikrobiologie, Infekční lékařství*. 2007, 6-248-252s.
- [24] HILL, D. – DUBEY, J. P.: *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clinical Mikrobiology and Infection*, 2002, roč. 30č. 12-13, s. 1217-1258.
- [25] LANETTE, E. H.: *Manual of clinical microbiology*. Washington, D.C. 1985. ISBN -91-482665-4.
- [26] TENTER, A. M. – HECKEROTH, A. R. WEISS, L. M.: *Toxoplasma gondii*: from animals to humus. *International Journal for Parasitology*, 2000, roč. 30, č. 12 – 13, s. 1217-1258.

- [27] FUSKOVÁ, E. - BARTOŠOVÁ, D. – TRNKOVÁ, M.: Toxoplazmóza v dětském věku. *Pediatric pro praxi*, 2003, roč. 4, č. 6, s. 312 – 313. ISSN : 1213-0494.
- [28] KRAVETZ, J.: *Congenital toxoplasmosis.Clin Evid (Online) 2008 Published online 2008 March 27(cited 2008:0906.*
- [29] THIÉBAUT, R. – LEPROUST, S. – CHENE, G. – Gilbert, R.: Effectiveness of prenatal treatment for kongenital toxoplasmosis : a meta analysis of individual data. *Lancet*. 2007, 369- 9556: 115-22.
- [30] MONTOYA, J. G. – LIESENFELD, O.: Toxoplasmosis. *The Lancet*, 2004, roč. 363, 9425, s. 1965-76.
- [31] JONES, J. - POLEZ, A. – WILSON, M.: Congenital toxoplasmosis. *Am. Fam. Physician.*, 2003, 67,10 ,p. 2131-2138.
- [32] VOTAVA, M. et al.:*Lékařská mikrobiologie II. Přehled vyšetřovacích metod v lékařské mikrobiologii.* 1. vydání. Brno: MU LF, 2000. 309 s. ISBN: 80-210-2272-8.
- [33] VOTAVA, M. et al.: Lékařská mikrobiologie vyšetřovací metody. 1. vydání. Brno. Neptun, 2010. 495 s. ISBN 978-80-86850-04-8.
- [34] HEJNAR, P.:Specifika nepřímé diagnostiky toxoplazmózy a lymeské boreliózy u dětí. *Pediatric pro praxi*, 2001, č. 3, s. 112-113.
- [35] BÁRTOVÁ, E.: Výukové materiály VFÚ Brno, FVHE, Ústav biologie a volně žijících zvířat, 2011.
- [36] GELENEKY, M.: Toxoplazmóza v graviditě - otazníky z klinické praxe. *Klinická mikrobiologie infekční lékařství*. 2013, 19 (2) 48-51.

[37] KREJSEK, J., KOPECKÝ, O.: Klinická imunologie, 2004

Nucleus HK. 144-145.

[38] FEJT, V.: Stručný průvodce repertoárem imunologické laboratoře

mikrobiologického oddělení Nemocnice v Havlíčkově Brodě, 2004, 23 s.

[39] Prášil, P.: Osobní sdělení, 2013

[40] KODYM, P.: Toxoplasma od profesora Jírovce po současnost,
Seminář ku příležitosti 105. výročí narození a 40. výročí úmrtí prof. Otto Jírovce, 2012.

Internetové zdroje

[1] <http://rachelschoen22.files.wordpress.com>

[2] <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/swine/facts/04-055.htm>

[3] <http://www.uzis.cz/registry-nzis>

[4] <http://opvk2011.ptacisvet.cz>

[5] <http://www.szu.cz/tema/prevence/infekcni-nemoci>

[6] <http://www.uzis.cz/category/tematicke-rady/zdravotnicka-statistika/infekcni-nemoci>