

Fakulta zdravotnických studií
Západočeské univerzity v Plzni
Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Bezděk Martin

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

TOXOPLASMÓZA

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

PLZEŇ 2018

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
Fakulta zdravotnických studií
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Martin BEZDĚK**
Osobní číslo: **Z15B0128P**
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Toxoplasmóza**
Zadávající katedra: **Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

- Zpracovat seznam odborné literatury na vybrané téma
- Stanovit cíl kvalifikační práce
- Zpracovat teoretickou a praktickou část práce dle požadavků FZS
- Popsat metodiku praktické části
- Vypracovat diskuzi a závěr kvalifikační práce
- Dodržet formální úpravu kvalifikační práce dle požadavků FZS
- Dodržet citační normu

Rozsah grafických prací:

Rozsah kvalifikační práce:

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

- VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.
- VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie obecná. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.
- VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody. Brno: Neptun, c2010. ISBN 978-80-86850-04-7.
- KOUBA, K., J. JÍRA a J. HUEBNER. Toxoplazmoza. 1974. Praha: Avicenum, zdravotnické nakladatelství, 1974.
- JÍRA, Jindřich a Bohumír ROSICKÝ. Imunodiagnostika a epidemiologie toxoplazmosy. Praha: Academia, 1983.
- GLADWIN, Mark, Bill TRATTLER a c MAHAN. Clinical microbiology made ridiculously simple. Edition 6. Miami: MedMaster, c2014. ISBN 978-1-935660-15-6.

Vedoucí bakalářské práce:

RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Datum zadání bakalářské práce: 31. ledna 2017

Termín odevzdání bakalářské práce: 31. března 2018

Doc. PaedDr. Irena Mauritzová, Ph.D.
děkanka



PhDr. Alena Piňuková
vedoucí katedry



V Plzni dne 1. února 2018

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 27. 3. 2018

.....

vlastnoruční podpis

Poděkování:

Rád bych tímto poděkoval svému vedoucímu bakalářské práce, panu RNDr. Karlu Fajfrlíkovi, PhD., za cenné rady, připomínky a odborné vedení této práce.

Anotace

Příjmení a jméno: Bezděk Martin

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Toxoplasmóza

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, PhD.

Počet stran – číslované: 41

Počet stran – nečíslované: 17

Počet příloh: 3

Počet titulů použité literatury: 21

Klíčová slova: toxoplasmóza, *Toxoplasma gondii*, laboratorní diagnostika, KFR, EIA

Souhrn:

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou toxoplasmózy. Toxoplasmóza je onemocnění, které je způsobeno prvokem *Toxoplasma gondii*. Práce je rozdělena na dvě části – teoretickou a praktickou. Na začátku teoretické části jsou popsány obecné informace o toxoplasmóze. Další úsek je věnován historii, etiologii a epidemiologii. Na konci druhé kapitoly je popsána léčba a prevence onemocnění. Konec teoretické části se zabývá laboratorní diagnostikou. Je zde popsán přímý a nepřímý průkaz. Praktická část práce detailně popisuje dvě základní laboratorní metody vyšetření – KFR a EIA. Pro tuto část byly použity výsledky vyšetřených pacientů z let 2016 a 2017 ve Fakultní nemocnici Plzeň, oddělení mikrobiologie. Výsledky jsou graficky zobrazeny.

Annotation

Surname and name: Bezděk Martin

Department: Department of Rescue Services, Diagnostics Fields and Public Health

Title of thesis: Toxoplasmosis

Consultant: RNDr. Karel Fajfrlík, PhD.

Number of pages – numbered: 41

Number of pages – unnumbered: 17

Number of appendices: 3

Number of literature items used: 21

Key words: toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, laboratory diagnostics, KFR, EIA

Summary:

This bachelor's thesis is focused on problematic of the toxoplasmosis. Toxoplasmosis is disease which is caused by protozoan *Toxoplasma gondii*. This work is divided in two parts - theoretical and practical. In the first section of the theoretical part is described general information about toxoplasmosis. Next section is devoted to history, etiology and epidemiology. At the end of the second chapter are described treatment and prevention of this disease. The end of the theoretical part is focused on laboratory diagnostic. There are described direct and indirect proof. The practical part of this thesis include detailed description of two basic laboratory methods. These methods are KFR and EIA. For this part of thesis were used results of examined patients in 2016 and 2017 in Pilsen University Hospital, department of microbiology. Results are represented by graphs.

OBSAH

ÚVOD.....	10
TEORETICKÁ ČÁST	11
1 TOXOPLASMÓZA.....	12
2 TOXOPLASMA GONDII	13
2.1 Historie	13
2.2 Etiologie a epidemiologie	14
2.3 Klinický obraz	16
2.3.1 Získaná (akvirovaná) toxoplasmóza.....	16
2.3.1.1 Uzlinová (lymfoglandulární) forma	17
2.3.1.2 Neurotoxoplasmóza.....	17
2.3.1.3 Forma septikemická nebo exantematická	18
2.3.1.4 Postižení vnitřních orgánů.....	18
2.3.1.5 Oční toxoplasmóza.....	18
2.3.2 Vrozená (kongenitální) toxoplasmóza	19
2.3.2.1 Cerebrální (mozková) forma	19
2.3.2.2 Forma vrozených poruch.....	19
2.3.2.3 Viscerální forma.....	20
2.4 Imunobiologie	20
2.5 Vliv krevních skupin AB0 a Rh faktoru na projevy toxoplasmózy.....	21
2.6 Manipulace <i>Toxoplasma gondii</i> s hostitelem.....	21
2.7 Léčba	21
2.8 Prevence	23
3 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA	24
3.1 Přímý průkaz.....	24
3.1.1 Mikroskopický průkaz	24
3.1.2 Izolační pokus.....	24
3.1.3 PCR	25
3.2 Nepřímý průkaz	26
3.2.1 Komplement fixační reakce	26
3.2.2 ELISA	26
3.2.3 Sabinova-Feldmanova reakce.....	27
3.2.4 Imunofluorescenční reakce.....	27
3.2.5 Hemaglutinační reakce.....	27
3.2.6 Precipitační reakce.....	27
3.2.7 Aglutinační reakce	27
3.2.8 Flokulační reakce	28
3.2.9 Neutralizační reakce.....	28
3.2.10 Intradermální test s toxoplasminem	28
PRAKTICKÁ ČÁST	29
4 CÍLE PRÁCE.....	30
5 METODIKA	31
5.1 Komplement fixační reakce.....	31
5.1.1 Úvod	31
5.1.2 Princip testu	31
5.1.3 Potřebné vybavení	31
5.1.4 Pracovní postup	32
5.1.5 Hodnocení výsledků	33
5.2 Detekce protilátek metodou EIA	34
5.2.1 Úvod	34
5.2.2 Princip testu	34

5.2.3	Potřebné vybavení	35
5.2.4	Pracovní postup	36
5.2.5	Hodnocení výsledků	38
6	VLASTNÍ VÝSLEDKY	40
6.1	Pozitivní a negativní výsledky dle KFR pro muže a ženy za rok 2016.....	40
6.2	Pozitivní výsledky dle KFR a současně metodou EIA, třída IgG pro muže a ženy za rok 2016	41
6.3	Pozitivní výsledky metodou EIA, třída IgM nebo IgA pro muže a ženy za rok 2016.....	42
6.4	Pozitivní a negativní výsledky dle KFR pro muže a ženy za rok 2017.....	43
6.5	Pozitivní výsledky dle KFR a současně metodou EIA, třída IgG pro muže a ženy za rok 2017	44
6.6	Pozitivní výsledky metodou EIA, třída IgM nebo IgA pro muže a ženy za rok 2017.....	45
7	DISKUZE	47
8	ZÁVĚR	50
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	51
	SEZNAM ZKRATEK	53
	SEZNAM GRAFŮ	54
	SEZNAM PŘÍLOH.....	55
	PŘÍLOHY	56

ÚVOD

Toxoplasmóza patří mezi onemocnění, kterým se věnuje zvýšená pozornost. Je vyvolávána parazitem *Toxoplasma gondii*. V populaci je toto onemocnění spojováno především s kontaktem s kočkou domácí. V souvislosti s mnoha výzkumy a experimentálními pracemi o klinických příznacích toxoplasmózy se dala do spojitosti s dalšími zvířaty, jako jsou prasata, drůbež, ovce a další (je popsáno téměř 300 druhů). Tito živočichové hrají v životním cyklu parazita roli mezihostitelů. Během let bylo dokázáno, že může vyvolat vážné onemocnění i u člověka, zejména pak u gravidních žen. Člověk je také na úrovni mezihostitele.

Toto téma jsem si vybral pro jeho význam v oblasti mikrobiologie a pro jeho dopad na zdraví člověka.

V mé bakalářské práci se budu věnovat obecně toxoplasmóze, zejména pak biologii parazita *Toxoplasma gondii*, laboratorní diagnostice onemocnění a v praktické části výskytu toxoplasmózy v Plzeňském kraji.

TEORETICKÁ ČÁST

1 TOXOPLASMÓZA

Toxoplasmóza je časté parazitární onemocnění. Konkrétně se jedná o jednu z nejčastějších zoonóz v ČR. Toxoplasmóza primárně postihuje zvířata. Když dojde k nákaze člověka, nemoc probíhá prakticky bez příznaků. U imunokompetentních osob dochází k celoživotní latentní infekci. Problém může nastat u osob s narušenou imunitou např. po ozařování nebo osob, které jsou HIV pozitivní. Závažné onemocnění je také způsobeno, pokud dojde k přenosu z matky na plod během gravidity.

([HTTP://WWW.INTERNIMEDICINA.CZ](http://www.internimedicina.cz), 2005)

V latentní formě postihuje toxoplasmóza přibližně jednu třetinu světové populace. V České republice se počet lidí, u nichž se onemocnění vyskytuje, pohybuje mezi 25 až 40 procenty. Jakmile člověk touto nemocí jednou onemocní, stává se tak navždy imunní a doživotním hostitelem. ([HTTPS://CS.MEDLICKER.COM](https://cs.medlicker.com), 2013, on-line)

Správná diagnostika tohoto onemocnění je velice důležitá. Bez ní nelze správně pacienta léčit a to může vést až k fatálním následkům. Přestože v současné době jsou již rozsáhlé znalosti o původci této nemoci, někdy je správná interpretace laboratorního výsledku složitou záležitostí a vyžaduje mnoho zkušeností. I této problematice je věnována pozornost v této práci. ([HTTP://WWW.ROCHE-DIAGNOSTICS.CZ](http://www.rocche-diagnostics.cz), 2013, on-line)

2 TOXOPLASMA GONDII

2.1 Historie

V prvopočátku historického objevu toxoplazmózy hrají důležitou roli dvě země, a to Tunisko a Československo. V průběhu studií piroplazmózy v Pasteurově ústavu v Tunisu v roce 1908 objevili tehdejší ředitel profesor Charles Nicolle a jeho spolupracovník dr. Louis Herbert Manceaux u hlodavce gundiho saharského (*Ctenodactylus gundi*)i parazitické prvoky, které připomínali leishmanie. O rok později tohoto prvoka pojmenovali novým rodovým názvem *Toxoplasma*. Učinili tak na základě podrobnějších studií jeho morfologie. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974; JÍRA, 2009)

Významným mezníkem pro českou i světovou medicínu v souvislosti s historií toxoplazmózy je práce pražského oftalmologa profesora Josefa Janků, který jako první popsal v roce 1923 toxoplazmózu jako lidské onemocnění. Publikoval patogenezi a patologickou anatomii vrozeného rozštěpu tkáně žluté skvrny. Zabýval se případem 11ti měsíčního chlapce s hydrocefalem, levostranným mikroftalmem a s degenerativními ložisky v oblasti žluté skvrny. Na základě histologického vyšetření popsal tkáňové cysty parazita. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

Z českých vědců, vedle profesora Janků, zasluhují také zmínku studie Rašína o toxoplazmóze zajíce. Laboratorní diagnostikou toxoplazmózy se od roku 1948 u nás zabýval Havlík. Zásahu na zavedení imunoepidemiologických a patogenetických studií toxoplazmózy má akademik Jírovec. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

Roku 1948 zavedli první běžně použitelný sérologický test na toxoplazmózu pánové A. B. Sabin a Harry A. Feldman. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

J. Ch. Siim z Kodaně a Alexandra Piringerová-Kuchinková a Otto Thalhammer z Vídně se v 60. letech 20. století zasloužili o rozpoznání uzlinové formy. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974; JÍRA, 2009)

V roce 1970 W. M. Hutchison, skotský badatel, objasnil na základě objevu fekálních forem biologický cyklus parazita. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974; JÍRA, 2009)

Vzhledem k častému výskytu a mnohdy závažným následkům onemocnění je toxoplazmóza trvalým předmětem zájmu laboratorních a klinických pracovníků. (JÍRA, 2009)

2.2 Etiologie a epidemiologie

Původcem onemocnění toxoplazmóza je parazitický prvok *Toxoplasma gondii*. Tento parazit patří do kmene Apicomplexa. Ve svém rozmnožovacím cyklu využívá meziphostitele, kterým může být celá řada živočišných druhů včetně člověka. Příkladem meziphostitelů jsou ovce, kozy, krávy, kuřata atd. V současnosti je popsáno až 300 druhů. Typickým definitivním hostitelem je pak kočka domácí a některé další kočkovité šelmy. *Toxoplasma gondii* je intracelulární parazit, který se vyskytuje v několika životních formách. Tyto formy se nazývají tachyzoiti, bradyzoiti a oocysty. (HTTP://WWW.ROCHE-DIAGNOSTICS.CZ, 2013, on-line; HAVLÍK, 2002)

Tachyzoiti jsou asi 5 μm velcí, mají pŕlměsícovitý tvar. Jedná se o vegetativní formu, která je zodpovědná za akutní fázi onemocnění. Během akutního stádia infekce kolují tachyzoiti v tělních tekutinách, kde se rychle množí v buňkách hostitele. Po aktivaci imunitního systému se mimo jiné roznášejí krví do CNS, oka, svalů a placenty. Množí se procesem, který se nazývá endodygonie. Je to proces, při kterém se jádro buňky dělí a vznikají tak organely dvou dceřiných jedinců. Takto vzniklí jedinci se uvolní a mateřská buňka se rozpadne. Tachyzoiti jsou v parazitiformní vakuole, kterou obklopují mitochondrie a endoplazmatické retikulum hostitelské buňky. Membrána této vakuoly je spojena s pelikulou zoitu. Skupinová forma v hostitelské buňce je tzv. pseudocysta, která obsahuje parazity ve fázi dělení a tvoří se nejčastěji v akutním stádiu infekčního procesu. Když se pseudocysta rozpadne, začnou se tachyzoiti uvolňovat do hostitelské tkáňe, která je v jejím okolí. Při běžné teplotě přežívají tachyzoiti ve tkáni uhynulého hostitele 2-3 dny. (HTTP://WWW.INTERNIMEDICINA.CZ, 2005, on-line; KOŘISTEK, 2015)

Bradyzoiti jsou podobní tachyzoitům. Jedná se o pomalu se množící, klidová intracelulární stádia toxoplasem. Bradyzoiti vytvářejí tkáňové cysty, v jejichž podobě přetrvávají v organismu meziphostitele po celý život. V tkáňové cystě jsou tyto zoiti v počtu několika set až tisíc. Velikost tkáňových cyst je až 300 μm a nejčastěji se vytvářejí ve svalových a mozkových buňkách. Na povrchu tkáňové cysty je elastická

membrána, která zaručuje odolnost vůči mechanickému tlaku a působení trávicích kyselin. Také chrání parazity před působením stresových faktorů. Tkáňová cysta je hladká a na rozdíl od tachyzoitů neváže mitochondrie ani endoplazmatické retikulum hostitelské buňky. Pokud dojde k výraznému oslabení obranyschopnosti organismu, může dojít k reaktivaci v tachyzoity a tím i k novému vzplanutí infekce. (HTTP://WWW.INTERNIMEDICINA.CZ, 2005, on-line; KOŘISTEK, 2015)

Pokud mezihostitele infikovaného tkáňovými cystami pozře masožravec, zejména kočkovitá šelma, dojde v buňkách jejího střeva k pohlavnímu rozmnožování parazita a jeho výsledkem budou oocysty, které se budou uvolňovat trusem kočky. (VOTAVA, 2003; VOTAVA, 2010)

Oocysty jsou tedy konečným stádiem pohlavního cyklu toxoplasem. Oocysta dozrává na vzduchu a plně infekční pro dalšího živočicha včetně člověka, který musí oocystu spolknout, je za dva až tři dny. Uvnitř každé vysporulované neboli vyzrálé oocysty se nachází 2 vejčité sporocysty a každá obsazuje 4 sporozoity. Ve sporozoitech se nachází organela, která se nazývá multimembránová vakuola nebo Golgiho adjunkt, dnes označovaná jako apikoplast. Takto infekční oocysta může kontaminovat i zevní prostředí například půdu, rostliny, vodu a může tak dojít k infekci ostatních živočichů, pokud je pozrou. V přírodních podmínkách přežívají oocysty až 18 měsíců, ve vodě i déle než rok. Jsou tedy velmi odolné. (VOTAVA, 2003; VOTAVA, 2010)

Za normálních okolností u většiny těchto mezihostitelů proběhne infekce bez příznaků tedy v latentní formě. Latentní infekce je charakterizována přítomností tkáňových cyst, které obsahují infekční bradyzoity, kteří se vyskytují ve svalovině a různých vnitřních orgánech jako například mozek, játra, srdce. (JÍRA, 2009)

K infekci může dojít dvěma způsoby nákazy. Přímo vysporulovanými oocystami od nemocných koček. Druhý způsob nákazy je prostřednictvím tkáňových cyst, které se vytvořily ve tkáni náhodného hostitele. (JÍRA, 2009)

Přímo může dojít k nákaze například při čištění kočičích záchodů, při práci s půdou, při hraní na pískovišti. Člověk se může nakazit také pozřením kontaminované syrové zeleniny či pitné vody. (HTTP://WWW.ROCHE-DIAGNOSTICS.CZ, 2013, on-line)

Infekční tkáňové cysty toxoplasem jsou obsaženy v nedostatečně tepelně upravených potravinách živočišného původu. Jedná se zejména o králíčí a skopové maso. K přenosu

infekce nemusí dojít výslovně konzumací syrového masa a při ochutnávání připravovaných potravin, ale také prostřednictvím neumytých rukou po pouhé manipulaci s nakaženým masem. ([HTTP://WWW.ROCHE-DIAGNOSTICS.CZ](http://www.rocche-diagnostics.cz), 2013, on-line)

Přenos mezi lidmi je také možný, ale jen přímou krevní transfuzí anebo transplantovaným orgánem, což je raritní způsob nákazy. Další možnost přenosu mezi lidmi je při proniknutí toxoplasmy přes placentu na plod při primoinfekci v těhotenství. Při transplacentárním přenosu během gravidity často dochází k vážnému poškození plodu. (VOTAVA, 2003; HAVLÍK, 2002)

K jinému způsobu přenosu infekce dochází velmi vzácně. Závažný průběh onemocnění bývá například při laboratorním přenosu. Za rizikový faktor pro nákazu toxoplasmou mohou být i cesty do tropických a subtropických zemí. ([HTTP://WWW.INTERNIMEDICINA.CZ](http://www.internimedicina.cz), 2005, on-line)

V posledních letech je v České republice hlášeno ročně 600 až 800 případů akutní toxoplasmózy. Toxoplasmové protilátky má 25 až 40 % populace. K vrozené toxoplasmóze dochází kolem 0,1 % všech novorozenců. To v České republice představuje asi 90 infikovaných dětí ročně. ([HTTP://WWW.ROCHE-DIAGNOSTICS.CZ](http://www.rocche-diagnostics.cz), 2013, on-line)

2.3 Klinický obraz

Toxoplasmózu rozlišujeme podle způsobu a doby získávání infekce na dvě základní klinické formy. Jsou to toxoplasmóza prenatálně získaná (vrozená, kongenitální) a postnatálně získaná (akvirovaná). I když může toxoplasmová infekce postihnout kterýkoliv orgán, tak nejdůležitějším faktorem je imunitní stav organismu, který je rozhodující pro vlastní průběh infekce. U osob, které jsou imunokompetentní, je při postnatální infekci průběh převážně skrytý. Vážné následky může mít, pokud dojde při imunodeficitních stavech k reaktivaci latentní infekce a při infekci vrozené. ([HTTP://WWW.INTERNIMEDICINA.CZ](http://www.internimedicina.cz), 2005, on-line; JÍRA, 2009)

2.3.1 Získaná (akvirovaná) toxoplasmóza

U získané toxoplasmózy se jedná o postnatální nákazu, což znamená, že se jedná o nákazu po narození. Inkubační doba bývá kolem 1 – 3 týdnů. U imunokompetentních

jedinců je ve více než 95 % případů průběh primoinfekce skrytý, proběhne asymptomaticky a vzniká latentní infekce, která trvá po dobu celého života. Pro proběhnutou infekci je jediným příznakem sérokonverze, což je vývoj specifických protilátek. Možný je však i průběh symptomatický, kdy nejčastější formou je tzv. akutní uzlinová forma. Podle převažujících klinických příznaků rozeznáváme i další formy onemocnění. (HAVLÍK, 2002; JÍRA, 2009)

Diagnostika získané toxoplasmózy spočívá v sérologickém vyšetření protilátek, které se objevují od druhého týdne po nákaze. Nejvyšších hodnot dosahují po třech měsících. V nízkých hladinách přetrvávají po celý život. Provádí se zejména komplement fixační reakce. Stanovují se specifické protilátky IgM, IgG, IgA a případně IgE pomocí různých metod například ELISA či ISAGA. Hlavním úkolem diagnostiky je odlišení akutního infekčního onemocnění od ostatních onemocnění. Metody diagnostiky jsou popsány v samostatné kapitole. ([HTTP://WWW.INTERNIMEDICINA.CZ](http://www.internimedicina.cz), 2005, on-line)

2.3.1.1 Uzlinová (lymfoglandulární) forma

Tato forma se projevuje teplotami, malátností, bolestmi hlavy a svalů. Dochází k otoku krčních, šjiových či podčelistních uzlin. Uzliny jsou volně pohyblivé, dohromady nesplývají a mohou být lehce citlivé na pohmat. Zduření uzlin může přetrvávat řadu týdnů i několik měsíců. Onemocnění má v zásadě dobrou prognózu, většinou dochází k ústupu klinických příznaků a k přechodu do latentní fáze infekce během několika týdnů. Ale při diferenciální diagnostice se musí vzít v potaz, že se může jednat o vážnější onemocnění jako je mononukleóza, horečka z kočičího škrábnutí, tularémie, sarkoidóza, listerióza nebo hematologická onemocnění. Tato forma bývá spojována se syndromem chronické únavy. Syndrom chronické únavy navazuje na lymfadenopatii. (HAVLÍK, 2002; JÍRA, 2009)

2.3.1.2 Neurotoxoplasmóza

Klinickým příznakem je toxoplasmová encefalitida. Ta se vyskytuje hlavně u imunitně dysfunkčních pacientů, zejména u nakažených virem HIV, u nichž nejčastěji způsobuje postižení centrální nervové soustavy. Toxoplasmová encefalitida se vyvine u 10 až 47 % pacientů s AIDS. Často se jedná o reaktivaci latentní formy toxoplasmózy a u více než 30 % nemocných s AIDS je zvýšen titer toxoplasmových protilátek. Neurotoxoplasmóza se rozvíjí pomalu a projevuje se horečkou, bolestí hlavy, pocity na zvracení, křečemi. Vyskytují se také poruchy hybnosti končetin, dále mentální poruchy,

kteře se vyskytují až u 60 % nemocných a ložiskové neurologické příznaky. Tento typ akvirované toxoplasmózy se stanoví na základě klinického obrazu a typického nálezů na CT nebo magnetické rezonanci. (JÍRA, 2009)

2.3.1.3 Forma septikemická nebo exantematická

Jedná se o vzácnou formu toxoplasmózy. Má nepříznivou prognózu, kdy může být postiženo více vnitřních orgánů. Projevy nemoci jsou horečka, třesavka, únava, nauzea, bolesti svalů a kloubů. Objevuje se i vyrážka, která připomíná skvrnivku, dále se vyskytuje adenopatie a splenomegalie. (JÍRA, 2009)

2.3.1.4 Postižení vnitřních orgánů

Také se jedná o vzácnou formu, která se projevuje jako myozitida, myokarditida, pneumonie, postižení močového měchýře nebo postižení trávicího ústrojí či jater. U nemocných s AIDS se může vyskytnout multiorgánové postižení, která se projevuje horečkou, septickým šokem, dezorientací, apatií, diseminovanou intravaskulární koagulací a kardiopulmonální dekompenzací. (JÍRA, 2009)

2.3.1.5 Oční toxoplazmóza

Infekce je běžná u dospělých i dětí. Jedná se o vyhraněnou závažnou formu onemocnění, projevující se poškozením zraku. Může se jednat jak o vrozené postižení oka, tak o infekci postnatálně získanou. Projevit se může i několik let po primární infekci prodělané kongenitálně nebo postnatálně. Závažnější je u starší populace. Základním projevem této formy toxoplasmózy je zánětlivé postižení sítnice (chorioretinitida), vyznačující se přítomností oválných žlutavých lézí na očním pozadí. K závažnému postižení zraku dochází, pokud se léze vyskytují v oblasti makuly. Mohou být postiženy i ostatní struktury oka, např. sklivec.

([HTTP://WWW.INTERNIMEDICINA.CZ](http://www.internimedicina.cz), 2005, on-line; GOERING, R. V., ET AL., 2016)

U oční formy toxoplasmózy bývá slabá protilátková odpověď, kdy titry protilátek dosahují středních hodnot. Pokud jsou titry protilátek vyšší, jedná se o získanou formu oční toxoplasmózy. Diagnóza oční toxoplasmózy je založená především na nálezů na očním pozadí, protože při vyšetření protilátek v nitroočních tekutinách hrozí riziko infekce. ([HTTP://WWW.INTERNIMEDICINA.CZ](http://www.internimedicina.cz), 2005, on-line)

2.3.2 Vrozená (kongenitální) toxoplasmóza

Tato forma toxoplasmózy může postihnout plod ženy při primoinfekci v graviditě. U postižených dětí se jako klinické příznaky projevují křeče a záškuby, mikrocefalus, chorioretinitida, hepatosplenomegalie, žloutenka. Pozdějšími příznaky jsou pak hydrocefalus, mentální retardace či poruchy vidění. K nákaze matky může dojít v různých časových intervalech. Při nákaze před otěhotněním je přenos nákazy na plod ztížen. K nejtěžšímu poškození plodu dojde při nákaze během prvního trimestru. Nejčastější pak bývá nákaza během druhého a třetího trimestru. Při primoinfekci je matka zcela bez klinických příznaků nebo má příznaky lehce chřipkovitého onemocnění. K přenosu infekce z matky na plod dochází asi ve 40 až 50 %.
([HTTP://WWW.INTERNIMEDICINA.CZ](http://www.internimedicina.cz), 2005, on-line)

Závažnost poškození plodu závisí na zralosti plodu v době nákazy. V prvním trimestru dochází k odumření nebo těžkému poškození plodu. Ve třetím trimestru bývá průběh infekce často asymptomatický nebo s mírnými poškozeními. (GOERING, R. V., ET AL., 2016; VOTAVA, 2014)

2.3.2.1 Cerebrální (mozková) forma

Při této formě toxoplasmózy jsou paraziti omezeni hlavně na mozek a zrakový orgán. K hlavním klinickým příznakům se řadí encefalitida s hydrocefalem. Ta se vyznačuje zvětšením lebky a to již před porodem nebo několik málo dnů po něm. Dochází k uzávěru postranních komor nebo Sylviova kanálku, jedná se tedy o okluzivní hydrocefalus. Charakteristickým znakem pro tuto formu je příznak zacházejícího slunce. K němu dochází stlačením očního bulbu dolů a dopředu, čímž dochází k mizení okraje duhovky pod dolní víčko. Dalšími klinickými příznaky jsou opisthotonus, křeče a obrny. Také dochází v 50 až 90 % případů k prokazatelné intrakraniální kalcifikaci. Rozvinutá mozková forma je charakterizována Sabinovou tetradou, ta zahrnuje chorioretinitidu, hydrocefalus, křeče a intrakraniální kalcifikaci. I přes komplexní léčebnou péči má rozvinutá mozková forma maligní průběh a během několika dnů až měsíců dochází k úmrtí. (JÍRA, 2009)

2.3.2.2 Forma vrozených poruch

Forma vrozených poruch odpovídá mozkové formě se sníženou aktivitou infekčního procesu. U postižených dětí jsou patrné celkové nebo neurologické abnormality, které

se vyznačují kognitivním a motorickým deficitem, s poruchou sluchu, se sklonem k záchvatům a křečím. Pacienti s očním postižením, kterými jsou zejména děti, se vyznačují hlavně psychickými a neurologickými změnami a změnami v chování. Léčba této formy má příznivý účinek. (JÍRA, 2009)

2.3.2.3 Viscerální forma

Je to vzácná forma, která se vyznačuje rozsevem parazitů ve vnitřních orgánech po proběhnuté intrauterinní parazitémii. Postižené děti se rodí předčasně a trpí cyanózou, poruchami dýchání, žloutenkou, otoky a krvácením. (JÍRA, 2009)

2.4 Imunobiologie

Během ontogeneze se u živočichů, včetně člověka vytváří obranné mechanismy, které je chrání před infekcí nebo invazí, nebo umožňují zneškodňovat či odstraňovat parazity, kteří vnikli do tkání nebo do krve. Obranné mechanismy jsou dvojího typu. Jednak vrozené neboli neadaptivní a získané neboli adaptivní. (JÍRA, 2009)

Vrozenou (neadaptivní) imunitu zajišťují neutrofilní segmenty a trombocyty. Nejčasnější reakci během vrozené imunity představuje přechod neutrofilů z periferní krve do infikovaných tkání. Neporušené toxoplasmy pronikají do neutrofilů, které tím infikují a zároveň se vyhnou fagocytóze. Takto infikované neutrofilny neusmrcují parazity, pouze zpomalují jejich růst. Tachyzoiti *Toxoplasma gondii* způsobují aktivaci trombocytů člověka. Množení parazitů inhibuje destičkový aktivační faktor. (JÍRA, 2009)

Získaná (adaptivní) imunita je zajišťovaná prostřednictvím protilátek. Po proniknutí *Toxoplasma gondii* do těla dojde ke stimulaci B buněk. Tyto buňky pak začnou secernovat různé třídy imunoglobulinů – IgG, IgM a IgE. IgA, což jsou sekreční imunoglobuliny, tlumí proniknutí parazitů sliznicemi. Extracelulární tachyzoiti, kteří jsou pokryti protilátkami a komplementem, jsou lyzováni po aktivaci komplementu klasickou cestou a následně jsou eliminováni fagocyty. Protilátková imunitní reakce je aktivní jen v akutní fázi infekce tím, že tlumí šíření extracelulárních tachyzoitů krví a nepůsobí na parazity uvnitř hostitelských buněk. Získanou buněčnou imunitu lze detekovat pomocí průtokové cytometrie aktivovaných T lymfocytů u všech nakažených pacientů. V obranných reakcích proti *Toxoplasma gondii* mají hlavní roli T buňky. (JÍRA, 2009)

2.5 Vliv krevních skupin AB0 a Rh faktoru na projevy toxoplasmózy

U nositelů krevní skupiny 0 je nejmenší riziko nákazy toxoplasmou. Největší riziko je pak u skupiny AB. Lidé, kteří jsou Rh negativní a zároveň jsou toxoplasma pozitivní, mají nižší reakční doby než lidé s Rh pozitivním faktorem. U Rh pozitivních osob je stejná výkonnost jak u toxoplasma pozitivních, tak u toxoplasma negativních jedinců. Zatímco u Rh negativních osob rozhoduje o výkonnosti, zda je člověk toxoplasma pozitivní či negativní. Výrazně vyšší výkonnost má Rh negativní a zároveň toxoplasma negativní osoba. Výkonnost se výrazně zhorší u osob s Rh negativním faktorem po nákaze toxoplasmou. (KOŘISTEK, 2015)

2.6 Manipulace *Toxoplasma gondii* s hostitelem

„Bylo prokázáno, že toxoplasma pozitivní myš je snadnější kořist pro kočku než nenakažená myš. Tím si parazit zajišťuje snadnější přenos do definitivního hostitele. Dochází k tomu produkcí neurotransmiterů v mozku myši. Tyto neurotransmitery jsou shodné s přenašeči přirozeně se vyskytujícími (např. serotonin). Lidé toxoplasma pozitivní mají delší reakční doby a způsobují prokazatelně více dopravních nehod. Muži jsou méně ochotní přijímat morální standardy společnosti, méně se obávají trestu za porušení společenských pravidel a bývají nedůvěřivější k okolí. Ženy jsou společenštější a vřelejší. Oba tyto typy změn snižují strach z nebezpečí. Některá antipsychotika (kyselina valproová, haloperidol), která jsou silnými inhibitory množení toxoplasem, navíc obnovují u hlodavců strach z pachu kočičí moči, o který po nákaze toxoplasmou přišli. Nebo i zabraňují tomu, aby ke ztrátě strachu po nákaze došlo. Bylo pozorováno zvýšené riziko sebevražd u nakažených toxoplasmou, zřejmě vlivem nízké hladiny serotoninu, který je u nakažených v mozku rychleji odbouráván spolu s tryptofanem. Uvažuje se také o možném vlivu toxoplasmy na vznik migrény.“ (KOŘISTEK, 2015, s. 34)

2.7 Léčba

Léčba toxoplasmózy závisí na povaze infekčního procesu a na imunokompetenci hostitele. Bezpříznakové a lehčí formy toxoplasmózy se u osob se zdravou imunitou zpravidla neléčí, pouze se mohou podávat prostředky na posílení imunitního systému. (HTTP://WWW.SYMPTOMY.CZ, 2012, on-line)

Léčba se indikuje u osob s nedostatečnou imunitou, u těhotných žen, u dětí s vrozenou i získanou toxoplasmózou a v případech oční toxoplasmózy. Nemocní pacienti se léčí ve specializovaných ambulancích infekčních oddělení nemocnic. V terapii se využívá kombinace látek pyrimethaminu se sulfadiazinem a kyselinou listovou po dobu 4 až 6 týdnů. Tato kombinace léků je velmi účinná, což dokazuje, že až o 90 % je nižší riziko přenosu infekce na plod během těhotenství. Kyselina listová se používá jako ochranný faktor, jelikož kombinace pyrimethaminu a sulfadiazinu mohou mít negativní vliv na proces krvetvorby. U HIV pozitivních a u očních forem toxoplasmózy se přidává klindamycin. Klindamycin v kombinaci s pyrimethaminem je studijně potvrzen jako nejlepší alternativa. (MURRAY, PATRICK R., ET AL., 2002; [HTTP://WWW.SYMPTOMY.CZ](http://www.symptomy.cz), 2012, on-line)

U těhotných žen je terapie problematická. Jako prevence transplacentárního přenosu se používá spiramycin. V prvním trimestru těhotenství je obtížné infekci zvládnout kvůli teratogenitě pyrimethaminu u laboratorních zvířat. Jestliže jsou u plodu prokazatelné známky fetální infekce, doporučuje se od druhého trimestru u gravidních žen používat kombinace pyrimethaminu se sulfadiazinem. ([HTTP://WWW.SYMPTOMY.CZ](http://www.symptomy.cz), 2012, on-line)

U novorozenců závisí léčba na tom, zda jsou bez příznaků nebo s příznaky. U novorozenců bez příznaků u matek, které jsou primárně infikované nebo HIV pozitivní se podává kombinace pyrimethaminu se sulfadiazinem po dobu 4 až 6 týdnů. Následně se podává spiramycin po dobu 6 týdnů nebo po dobu prvního roku života alternativně perorálně spiramycin. Novorozenci s příznaky onemocnění dostávají kombinaci léků pyrimethaminu se sulfadiazinem po dobu 6 měsíců. Během terapie se doporučuje podávat přípravek kyseliny listové pro snížení hematotoxického účinku pyrimethaminu. ([HTTP://NEMOCI.VITALION.CZ](http://nemoci.vitalion.cz), on-line)

Při léčbě toxoplasmózy je klíčová včasná léčba. Při neléčené nebo nesprávně léčené např. mozkové toxoplasmóze může dojít až ke smrti pacienta. Při zjištění latentní formy toxoplasmózy je důležité nepanikařit. Imunitní systém nemocného si s infekcí poradí sám a infikovaný si toho většinou ani nevšimne. Při oslabení imunity je třeba jíst hodně ovoce a zeleniny, aby se posílil imunitní systém jedince. Mohou se užívat vitamínové doplňky stravy. Podstatné je také dodržovat zdravou životosprávu, dostatečně odpočívat, nepřepínat se, věnovat se fyzické aktivitě a vyhýbat se stresovým situacím.

([HTTP://WWW.SYMPATOMY.CZ](http://www.symptomycz.com), 2012, on-line; [HTTP://NEMOCI.VITALION.CZ](http://nemoci.vitalion.cz), on-line)

2.8 Prevence

Preventivní opatření by měli dodržovat všichni lidé. Zvláště těhotné ženy a imunodeficitní osoby by měly věnovat těmto opatřením zvýšenou pozornost. Je třeba vyhýbat se kontaktu s kočičími výkaly. Při manipulaci s materiály, které jsou těmito výkaly kontaminovány, je třeba používat ochranné rukavice. Doma chované kočky je nutné krmit jen sušenou, konzervovanou nebo vařenou potravou. Pravidelně by se měl dezinfikovat kočičí záchůdek a to vroucí vodou po dobu minimálně 5 minut. Další roli v prevenci hraje dostatečná tepelná úprava masa. Mělo by se připravovat při teplotě vyšší než 65°C. Při manipulaci se syrovým masem bychom se měli vyvarovat kontaktu neumytých rukou se sliznicí úst a očí. Je tedy důležité si vždy po manipulaci se syrovým masem ruce pečlivě umývat. Je třeba umývat kuchyňské povrchy či nástroje, které přišly do kontaktu s takovým masem. Také ovoce či zelenina se musí před konzumací dobře umýt. Konzumované jídlo chráníme před mouchami, šváby a dalším hmyzem. Je třeba si dát pozor na požívání vajec či mléka. Vejce je nutné dostatečně povařit a mléko požívat jen pasterizované nebo svařené. (JÍRA, 2009; [HTTP://NEMOCI.VITALION.CZ](http://nemoci.vitalion.cz), on-line)

Je třeba znovu zdůraznit důležitost prevence u gravidních žen. Kromě již uvedených opatření se doporučuje sérologické testování žen v riziku. Je prokázáno, že léčba akutních infekcí těhotných žen snižuje přenos *Toxoplasma gondii* z matky na plod až o 60 %. U plodu lze infekci prokázat ultrazvukovým vyšetřením, amniocentézou nebo sérologickým vyšetřením fetální krve. Závažnost onemocnění u plodu se snižuje včasnou léčbou. (JÍRA, 2009; [HTTP://NEMOCI.VITALION.CZ](http://nemoci.vitalion.cz), on-line)

3 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Ke stanovení vhodného terapeutického postupu je nutná včasná a správná diagnostika onemocnění. To je nejdůležitější zejména u rizikových pacientů. Základními metodami jsou metody nepřímého průkazu čili sérologické metody. Pro správnou diagnostiku je vhodné využívat kombinaci přímého a nepřímého průkazu. (HTTP://WWW.ROCHE-DIAGNOSTICS.CZ, 2013, on-line)

3.1 Přímý průkaz

K přímému průkazu onemocnění je možné použít mikroskopické vyšetření nebo izolační pokus nebo z novějších metod průkaz pomocí PCR. Pro přesnější určení nemoci je vhodná kombinace všech těchto metod. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.1.1 Mikroskopický průkaz

Pro přímé mikroskopické vyšetření se používají nátěry, které se zhotoví na podložní sklo. Nátěry se dělají ze sedimentu po odstředění likvoru, komorové vody a jiných tělních tekutin. Nejprve se prohlíží v nativním preparátu. Preparáty se poté fixují methylalkoholem a barví Giemsovým barvivem. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

Z tkání se mohou také běžnými metodami připravit barevné histologické preparáty řezové. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

Přímý mikroskopický průkaz je obtížný. Výjimkou je mikroskopický průkaz z likvoru. Často může docházet k diagnostickým chybám, kdy dojde k záměně s jinými mikroorganismy. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

Přínosem pro mikroskopickou diagnostiku je používání imunofluorescenční techniky. V tkáňových řezech, které jsou připravovány kryostatovou technikou nebo jsou zalévány do parafínu se pomocí přímé nebo nepřímé imunofluorescenční metody lépe odhalují prvoci jak volné, tak v pseudocystách nebo tkáňových cystách. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.1.2 Izolační pokus

Izolační pokus by měl být prováděn současně s mikroskopickým vyšetřením, ale jen v případech, že byl materiál odebrán a zpracován asepticky. *Toxoplasma gondii* je biotropní organismus, tzn., že je schopný se rozmnožovat pouze v hostitelské buňce.

Proto jej nelze pomnožovat na umělých půdách. Z důvodu malé citlivosti a absolutní sterility inokula se pro izolaci nepoužívají kuřecí embrya ani tkáňové kultury. Používají se tedy laboratorní zvířata, z nichž nejvhodnější jsou albinotické myši. Myši jsou před použitím testovány na nepřítomnost toxoplasmických protilátek. Materiál se upraví a podává se injekční formou. Zvířata se denně kontrolují. Pokud dochází k úhynu, připraví se mikroskopický preparát z plic, jater, sleziny a mozku myši, kde se hledají toxoplasmické trofozoity. Když je nález negativní, tak se z těchto orgánů připraví homogenát, který se naočkuje další skupině myši. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

Virulentní kmeny *Toxoplasma gondii* způsobují časný úhyn myši. Tyto kmeny se vyskytují vzácně. Častější jsou kmeny s nízkou virulencí, které hostitele nehubí a hostitel také nejeví známky onemocnění. Proto se za 4-6 týdnů po naočkování myši odebere krev pro sérologické vyšetření. Pokud je sérologické vyšetření pozitivní, ověří se izolace kmene mikroskopicky buď v nativním, nebo barevném preparátu. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

Další metody izolačního pokusu nemají tak dobré výsledky a zároveň jsou časově i materiálově náročnější. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

Pro izolační pokusy je třeba dodržovat určité zásady. Jak již bylo zmíněno, s materiálem se musí zacházet asepticky. Důležité je naočkovat pokusné zvíře co nejdříve po odběru a materiál do zpracování uchovat při chladničkové teplotě, jelikož zmrazený materiál není pro pokus vhodný. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.1.3 PCR

Polymerázová řetězová reakce je další možností přímého průkazu. Jde o nejnovější vyšetření, které má význam hlavně v prenatalní diagnostice. Pomocí PCR se prokazuje parazitární DNA v biologických tekutinách. Mezi tyto tekutiny patří plodová voda, fetální i venózní krev, likvor, komorová voda, bronchoalveolární laváž, kostní dřev či placenta. V plodové vodě, pupečnickové krvi nebo krvi novorozence lze prokázat infekci plodu. K vyšetření se zasílá 2 – 5 ml plodové vody. Krev je plná s použitím antikoagulačního prostředku buď citrátu, nebo EDTA. Nelze použít heparin. Materiál nesmí být zamražený. PCR prováděné z plodové vody je důležitá pro časnou diagnostiku kongenitální toxoplasmózy. Pro vyšetření oční toxoplasmózy se používá

tekutina sklivce nebo opět plná krev a při vyšetření mozkové toxoplasmózy se použije likvor. (JÍRA, 2009; [HTTPS://WWW.ZUOVA.CZ](https://www.zuova.cz), on-line)

3.2 Nepřímý průkaz

Při nepřímém průkazu se využívá hlavně průkaz protilátek, které se prokazují několika reakcemi. Mezi základní reakce patří komplement fixační reakce a reakce ELISA. Mezi další dostupné metody patří Sabinova-Feldmanova reakce, imunofluorescenční reakce, hemaglutinační reakce, precipitační reakce, aglutinační reakce, flokulační reakce a neutralizační reakce. K metodám průkazu protilátek lze také ještě zařadit intradermální test s toxoplazminem. (VOTAVA, 2010; KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.2.1 Komplement fixační reakce

Jedná se o jeden z prvních imunodiagnostických systémů, který byl popsán. Jako první byly používány antigeny ze sleziny či extrakt z mozku infikovaného králíka. Oba tyto antigeny byly nevhodné. Teprve až antigeny z chorioalantois kuřecího embrya či z peritoneálního exsudátu infikované myši či z toxoplasem pomnožených na tkáňových kulturách znamenaly, že se komplement fixační reakce začala využívat k diagnostice. Komplexy protilátek a antigenů jsou schopné vázat komplement. K průkazu vazby komplementu se používají většinou beraní krvinky, které jsou zcitlivěle amboceptorem. To je protilátka proti beraním krvinkám. Tímto průkazem lze dokázat přítomnost antigenu či protilátky. Pokud se komplement navázal na komplex antigen protilátka, nedojde k žádné změně. Pokud se komplement neváže, zůstává volný a lyzuje zcitlivěle beraní krvinky. Reakce je citlivá a dobře reprodukovatelná. V České republice patří mezi často využívané metody. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974; VOTAVA, 2005)

3.2.2 ELISA

Z anglického enzyme-linked immunosorbent assay funguje na bázi imunoenzymatické reakce. Má velmi univerzální využití. Lze stanovovat jak antigeny, tak protilátky. Používá se v konvenční nepřímé a dvojité sendvičové úpravě. K detekci protilátek typu IgA, IgM a IgG se využívá reverzní ELISA. Výhodou této metody je, že lze stanovovat protilátkovou aktivitu v jednotlivých třídách imunoglobulinů. (JÍRA, 2009; VOTAVA, 2010; VOTAVA, 2005)

3.2.3 Sabinova-Feldmanova reakce

Jde o neutralizační pokus in vitro. Při testu dochází ke změnám morfologie a barvitelnosti živých neporušených trofozoitů. K těmto změnám dochází působením alkalického roztoku methylenové modři. Dále je potřeba přítomnost imunního séra a aktivátor. K detekci protilátek dochází krátce po infekci. U pacientů, kteří jsou dlouhodobě sledováni, se poklesem titru protilátek zjišťuje dobrá odezva na léčbu. Tímto testem lze detekovat protilátky i mnoho let, proto je také vhodný pro epidemiologické studie. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.2.4 Imunofluorescenční reakce

Jedná se o metodu, kterou jako první využil v sérologii toxoplasmózy Goldman. Při tomto způsobu vyšetření se využívá specifický antitoxoplazmatický konjugát, který je značený fluoresceinizothiocyanátem. Nevýhodou této metody je malá citlivost, ale i přes to patří mezi často používané metody. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.2.5 Hemaglutinační reakce

Při této reakci dochází k předběžnému navázání solubilního antigenu na biologický nosič, kterým jsou erythrocyty. Senzibilizované erythrocyty jsou pak aglutinovány v přítomnosti protilátek. Aby se antigen dobře na povrch erythrocytů zafixoval, je nutné povrch erythrocytu předem pozměnit, čímž se zvýší adsorpční schopnost erythrocytu. Výhodou této reakce je její technická jednoduchost. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.2.6 Precipitační reakce

Reakce se využívá pro detekci toxoplasmických protilátek. Při vyšetření se používá sérum nebo komorová voda u pacientů s oční formou toxoplasmózy. Další využití má při pokusech na zvířatech či analýze toxoplasmického antigenu. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.2.7 Aglutinační reakce

Jde o reakci, která k přímé aglutinaci využívá toxoplasmické trofozoity. Za přítomnosti specifických protilátek dochází ke shlukování toxoplasem. Pokud je reakce pozitivní, dojde ke shlukování suspenze v aglutinát. Předností této reakce je rychlost, ale nevýhodou je malá citlivost. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.2.8 Flokulační reakce

Jedná se o nepřímou aglutinační reakci, kdy se jako antigeny používají solubilní extrakty toxoplasmických trofozoitů, které se přichycují na povrch imunologicky neaktivní partikule nosičů, které jsou v přítomnosti protilátek shlukovány. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.2.9 Neutralizační reakce

Tato reakce byla jako první séroreakce použita pro detekci toxoplasmických protilátek. Z důvodu nespolehlivosti a projevu nespecifických reakcí se již v diagnostice toxoplazmózy nepoužívá. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

3.2.10 Intradermální test s toxoplasminem

Tento test zavedl Frenkel. Později byl modifikován Jírovcem a spol. Technika tohoto testu spočívá v nitrokožní aplikaci antigenu a to buď na laterální straně paže, nebo na volární straně předloktí. Alergická reakce opožděného typu dosáhne maxima za 48 hodin. Pokud je reakce velmi silná, může v místě vpichu dojít k vytvoření edému až puchýře, zřídka i k nekróze. Silné reakce jsou doprovázeny zvýšením teploty, bolestmi hlavy a svalů. Tento test se využíval pro imunoepidemiologický přehled o promořenosti populace. Hodí se spíše jako doplňkové vyšetření. Dnes se od tohoto testu již upustilo a byl nahrazen jinými sérologickými testy. (KOUBA, JÍRA, HÜBNER, 1974)

PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

1. Popsat problematiku toxoplasmózy a zvládnout laboratorní diagnostiku.
2. Statisticky zpracovat laboratorní výsledky vyšetření toxoplasmózy za rok 2016 a rok 2017.
3. Porovnat výsledky mezi sebou.

5 METODIKA

5.1 Komplement fixační reakce

5.1.1 Úvod

V diagnostice toxoplasmózy je KFR screeningovým testem pro stanovení celkových protilátek (detekční limit je 0,1 µg protilátky). KFR je navíc také spolehlivým semikvantitativním testem; ze zjištěného titru protilátek lze usuzovat fázi infekce. Ideální je sledovat dynamiku tvorby protilátek u párových vzorků. (TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. TOXO-CF-Ag-lyophil, ©2015)

5.1.2 Princip testu

KFR je reakce založená na vazbě komplementu v reakční směsi na specifické komplexy antigenu s protilátkou. Testem jsou prokazovány protilátky všech imunoglobulinových tříd (nelze samostatně prokázat např. IgM). Obecně se doporučuje tzv. chladová modifikace KFR, která je citlivější než alternativní teplá modifikace. (TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. TOXO-CF-Ag-lyophil, ©2015)

5.1.3 Potřebné vybavení

- Toxoplasma komplement fixační antigen
- Barbitalový pufr pro KFR
- Beraní erythrocyty, konzervované v Alseverově roztoku
- CF-AMBOCEPTORset
- CF-COMPLEMENT
- TOXO-CF-Positive Control lyophil. – lidské sérum obsahující protilátky proti *Toxoplasma gondii*
- TOXO-CF-Negative Control lyophil. – lidské sérum neobsahující protilátky proti *Toxoplasma gondii*
- Mikrotitrační destičky s U jamkami
- Chladnička (+2 °C až +8 °C) s vlhkou komůrkou

- Vlhčený termostat 37 °C na inkubaci destiček
- Mikropipety
- Třepačka pro mikrotitrační destičky
- Vodní lázeň 56 °C

(TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. TOXO-CF-Ag-lyophil, ©2015)

5.1.4 Pracovní postup

KFR se zpravidla provádí ve dvou po sobě následujících dnech.

1. den

1. Pracovní roztoky se naředí dle potřeby.
2. Vyšetřovaná séra se inaktivují při teplotě 56 °C po dobu 30 minut ve vodní lázni.
3. Rozvrhnout a vyznačit rozmístění kontrol a vzorků na destičce.
 - Do jamek vyznačených pro kontrolu antigenu, komplementu a hemolytického systému se pipetuje příslušné množství antigenu, komplementu a barbitalového pufru.
 - Do všech jamek destičky se pipetuje 25μl barbitalového pufru v pracovním ředění, kromě kontroly antigenu, komplementu a hemolytického systému.
 - Do vyznačených jamek se v titru 1:2 pipetuje 25μl kontrolních sér.
 - Do vyznačených jamek se pipetuje 25μl vyšetřovaných vzorků sér, tím se získá ředění 1:2.
4. Obsah každé jamky s vyšetřovaným sérem se důkladně promíchá (3 krát nasátím do pipety) a poté se přenese 25μl takto naředěného séra ze sloupce 1 do sloupce 2. Tím se dosáhne ředění 1:4, analogicky se pokračuje až do posledního sloupce. Z jamek v posledním sloupci se odstraní 25μl roztoku.
5. Do všech jamek destičky kromě prvního sloupce, kde jsou séra ředěná v titru 1:2, který slouží jako kontrola antikomplementarity, se pipetuje 25μl antigenu v pracovním ředění.

6. Do prvního sloupce, kde jsou séra ředěná 1:2, se doplní 25 μ l barbitolového pufru v pracovním ředění, čímž se celkový objem všech jamek destičky doplní na 50 μ l.
7. Do všech jamek destičky, kromě antigenu, komplementu a hemolytického systému, se pipetuje 50 μ l vychlazeného (+2 °C až +8 °C) komplementu v pracovním ředění.
8. Obsah jamek se důkladně promíchá pomocí třepačky 10 minut.
9. Inkubace 18 hodin při teplotě +2 °C až +8 °C ve vlhké komůrce.

2. den

1. Připraví se hemolytický systém smícháním 3% suspenze beraních erytrocytů se stejným objemem amboceptoru v pracovním ředění (vždy přidáváme hemolyzin do krvinek). Senzibilizuje se ve vodní lázni při 37 °C po dobu 30 minut, každých 10 minut se lehce promíchá.
2. Do všech jamek se dává 25 μ l hemolytického systému a důkladně se promíchá (10 minut) na třepačce.
3. Inkubace ve vlhčeném termostatu při 37 °C po dobu 30 minut.
4. Po inkubaci se obsah jamek důkladně promíchá pomocí třepačky 10 minut.
5. Inkubace ve vlhčeném termostatu při 37 °C po dobu 30 minut.
6. Inkubace 2 hodiny při teplotě +2 °C až +8 °C ve vlhké komůrce.
7. Po úplné sedimentaci krvinek se odečítá výsledek.
(TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. TOXO-CF-Ag-Iyophil, ©2015)

5.1.5 Hodnocení výsledků

Po proběhnutí reakce se hodnotí hemolýza či sedimentace beraních erytrocytů v jamkách s ředěnými vzorky.

Pozitivní reakce: u beraních erytrocytů nedošlo k hemolýze, ale k sedimentaci a jejich nahromadění na dně jamky, kde vytvořily knoflíkovitý útvar. Ve vzorku jsou v příslušném ředění přítomny protilátky proti *Toxoplasma gondii* v detekovatelné hladině.

Negativní reakce: celý obsah jamky má rovnoměrně červenavou barvu, na dně jamky není knoflíkovitý útvar. Ve vzorku nejsou v příslušném ředění přítomny protilátky proti *Toxoplasma gondii* v detekovatelné hladině.

Jako titr protilátek proti *Toxoplasma gondii* se uvádí nejvyšší ředění vzorku, při kterém je KFR pozitivní.

(TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. TOXO-CF-Ag-Iyophil, ©2015)

5.2 Detekce protilátek metodou EIA

5.2.1 Úvod

Diagnostika onemocnění je založena na epidemiologické anamnéze, klinickém obrazu a také na laboratorních testech. Pro rutinní diagnostiku není dostupná přímá detekce parazita, vhodnou možností je sérologický průkaz infekce. Za screeningovou metodu je považována KFR, která stanoví celkové protilátky. Stanovení jednotlivých protilátek tříd IgA, IgE, IgM a IgG se provádí metodou ELISA, případně konfirmační metodou imunoblot.

Pro stanovení akutní toxoplasmózy mají význam protilátky tříd IgA, IgE a IgM. Protilátky třídy IgM jsou vysoce senzitivním markerem. Tato třída protilátek může přetrvávat déle než rok. Protilátky třídy IgA mohou být prokázány 6 až 9 měsíců po prodělané akutní infekci. Protilátky třídy IgE jsou vysoce specifický marker. Tyto protilátky přetrvávají v séru méně než 6 měsíců.

Maximální hladina protilátek třídy IgG v séru je dosahována půl roku po začátku onemocnění. Tyto protilátky mohou být prokázány mnoho let po prodělané infekci.
(TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgA, ©2015;
TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgM, ©2015;
TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgG, ©2015)

5.2.2 Princip testu

IgM/IgA

Souprava umožňuje detekci specifických protilátek proti *Toxoplasma gondii* třídy IgM/IgA ve vzorku metodou EIA, typ capture (tj. pevná fáze s navázanou zvířecí protilátkou proti lidským imunoglobulinům třídy IgM/IgA – protilátka z vyšetřovaného

vzorku – tracer, tj. specifický antigen se značenou protilátkou). Značená protilátka je myší monoklonální protilátka proti povrchovému proteinu p30 *Toxoplasma gondii* konjugovaná křenovou peroxidázou. Peroxidázová aktivita se stanovuje pomocí substrátu s TMB, který zmodrá v případě positivity. Celá reakce je ukončena zastavovacím roztokem. Dojde ke změně modrého zabarvení na žluté. Intenzita žlutého zabarvení se měří na fotometru (při vlnové délce 450 nm) a je úměrná koncentraci specifických protilátek přítomných ve vzorku. (TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgA, ©2015; TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgM, ©2015)

IgG

Souprava umožňuje detekci specifických protilátek třídy IgG ve vzorku metodou EIA, typ sandwich (tj. pevná fáze s navázaným specifickým antigenem – protilátka z vyšetřovaného vzorku – značená protilátka). Značená protilátka (konjugát) je zvířecí imunoglobulinová frakce proti lidskému IgG konjugovaná křenovou peroxidázou. Peroxidázová aktivita se stanovuje pomocí substrátu s TMB, který zmodrá v případě positivity. Celá reakce je ukončena zastavovacím roztokem. Dojde ke změně modrého zabarvení na žluté. Intenzita žlutého zabarvení se měří na fotometru (při vlnové délce 450 nm) a je úměrná koncentraci specifických IgG protilátek přítomných ve vzorku. (TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgG, ©2015)

5.2.3 Potřebné vybavení

- Souprava s potřebnými reagensy
- Jedno a vícekanálové pipety
- Špičky pro jednorázové použití
- Promývací zařízení
- Stopky
- Termostat na 37 °C
- Fotometr pro mikrotitrační destičky

(TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgA, ©2015;
TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgM, ©2015;
TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgG, ©2015)

5.2.4 Pracovní postup

IgM/IgA

Všechny reagensie se nechají vytemperovat na laboratorní teplotu, pak se důkladně promíchají. Pokud není použita celá destička, je vrácena zpět do obalu se sušidlem, kde je hermeticky uzavřena a skladována při teplotě +2 °C až +8 °C. Destičku je třeba důsledně chránit před vlhkostí.

1. Pracovní roztoky se naředí dle potřeby.
2. Dávkování kontrol a ředěných vzorků dle pracovního schématu.
 - Jamka A1 zůstane prázdná (blank).
 - Do 1 jamky se napipetuje 100µl Negativní kontroly.
 - Do 2 jamek se napipetuje 100µl CUT-OFF.
 - Do 1 jamky se napipetuje 100µl Pozitivní kontroly.
 - Do zbývajících jamek se pipetuje 100µl vzorků v odpovídajícím ředění.
3. Destička se překryje víčkem a inkubuje se 60 minut při 37 °C. Rekonstituuje se Tracer.
4. Obsah jamek se odsaje a 5 krát se promyje pracovním promývacím roztokem. Jamky jsou plněny po horní okraj. Na závěr se důkladně vyklepne zbytek roztoku do svého materiálu.
5. Do všech jamek kromě A1 se dává 100µl rekonstituovaného Traceru.
6. Destička se překryje víčkem a je inkubována 60 minut při 37 °C.
7. Obsah jamek se odsaje a 5 krát se promyje pracovním promývacím roztokem. Jamky jsou plněny po horní okraj. Na závěr se důkladně vyklepne zbytek roztoku do svého materiálu.

8. Do všech jamek se dává 100µl jednosložkového substrátu TMB-Complete. Je třeba dát pozor na znečištění.

9. Destička se překryje víčkem a je inkubována 20 minut při 37 °C v temnu.

10. Reakce se zastaví přidáním 100µl Zastavovacího roztoku ve stejném pořadí a intervalech jako byl dávkován substrát.

11. Na fotometru je při vlnové délce 450nm měřena intenzita zbarvení roztoků v jamkách proti blanku (jamka A1), a to do 30 minut po zastavení reakce.

(TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgA, ©2015;

TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgM, ©2015)

IgG

Všechny reagenty se nechají vytemperovat na laboratorní teplotu, pak se důkladně promíchají. Pokud není použita celá destička, je vrácena zpět do obalu se sušidlem, kde je hermeticky uzavřena a skladována při teplotě +2 °C až +8 °C. Destičku je třeba důsledně chránit před vlhkostí.

1. Pracovní roztoky se naředí dle potřeby.

2. Dávkování kontrol (kalibrátorů) a ředěných vzorků dle pracovního schématu.

Semikvantitativní vyhodnocení v indexu pozitivivity (IP)

- Jamka A1 zůstane prázdná (blank).
- Do 1 jamky se napipetuje 100µl Negativní kontroly (Kalibrátor 1).
- Do 2 jamek se napipetuje 100µl CUT-OFF (Kalibrátor 2).
- Do 1 jamky se napipetuje 100µl Pozitivní kontroly (Kalibrátor 3).
- Do zbývajících jamek se pipetuje 100µl vzorků v odpovídajícím ředění.

Kvantitativní vyhodnocení v jednotkách IU/ml

- Jamka A1 zůstane prázdná (blank).
- Do 1 jamky se napipetuje 100µl Negativní kontroly (Kalibrátor 1).

- Do 2 jamek se napipetuje 100µl CUT-OFF (Kalibrátor 2).
- Do 2 jamek se napipetuje 100µl Pozitivní kontroly (Kalibrátor 3).
- Do 2 jamek se napipetuje 100µl Kalibrátoru 4.
- Do zbývajících jamek se pipetuje 100µl vzorků v odpovídajícím ředění.

3. Destička se překryje víčkem a inkubuje se 60 minut při 37 °C.

4. Obsah jamek se odsaje a 5 krát se promyje pracovním promývacím roztokem. Jamky jsou plněny po horní okraj. Na závěr se důkladně vyklepne zbytek roztoku do savého materiálu.

5. Do všech jamek kromě A1 se dává 100µl Konjugátu.

6. Destička se překryje víčkem a je inkubována 60 minut při 37 °C.

7. Obsah jamek se odsaje a 5 krát se promyje pracovním promývacím roztokem. Jamky jsou plněny po horní okraj. Na závěr se důkladně vyklepne zbytek roztoku do savého materiálu.

8. Do všech jamek se dává 100µl jednosložkového substrátu TMB-Complete. Je třeba dát pozor na znečištění.

9. Destička se překryje víčkem a je inkubována 20 minut při 37 °C v temnu.

10. Reakce se zastaví přidáním 100µl Zastavovacího roztoku ve stejném pořadí a intervalech jako byl dávkován substrát.

11. Na fotometru je při vlnové délce 450nm měřena intenzita zbarvení roztoků v jamkách proti blanku (jamka A1), a to do 30 minut po zastavení reakce.

(TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgG, ©2015)

5.2.5 Hodnocení výsledků

IgM/IgA

Počítá se index positivity, kdy absorbance testovaného vzorku se dělí průměrnou absorbancí CUT-OFF naměřenou v téže sérii vyšetření. Pokud je index positivity menší než 0,9, je výsledek negativní. Pokud je index positivity v rozmezí mezi 0,9 až 1,1, je

výsledek hraniční. A pokud je index pozitivity vyšší než 1,1, je výsledek pozitivní. Vyšetření hraničních vzorků je třeba opakovat v novém odběru za 2 až 6 týdnů s ohledem na specifika daného onemocnění. (TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgA, ©2015; TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgM, ©2015)

IgG

Výpočet Indexu pozitivity (IP)

Počítá se index pozitivity, kdy absorbance testovaného vzorku se dělí průměrnou absorbancí CUT-OFF naměřenou v téže sérii vyšetření. Pokud je index pozitivity menší než 0,9, je výsledek negativní. Pokud je index pozitivity v rozmezí mezi 0,9 až 1,1, je výsledek hraniční. A pokud je index pozitivity vyšší než 1,1, je výsledek pozitivní. Vyšetření hraničních vzorků je třeba opakovat v novém odběru za 2 až 6 týdnů s ohledem na specifika daného onemocnění. (TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgG, ©2015)

Kvantitativní vyhodnocení v mezinárodních jednotkách (IU/ml)

Sestrojí se kalibrační křivka, kdy na ose X jsou koncentrace kalibrátorů v IU/ml a na ose Y jsou odpovídající absorbance. Propojením jednotlivých bodů se vytvoří kalibrační křivka. Hladina protilátek ve vzorcích se stanoví odečtením těchto hodnot z kalibrační křivky.

Pokud je hladina protilátek ve vzorku vyšší než 240 IU/ml, vzorek se ve dvou krocích naředí a test se zopakuje.

Pokud je hladina protilátek menší než 5,4 IU/ml, je výsledek negativní. Pokud je hladina protilátek v rozmezí mezi 5,4 IU/ml až 6,6 IU/ml, je výsledek hraniční. A pokud je hladina protilátek vyšší než 6,6 IU/ml, je výsledek pozitivní. Vyšetření hraničních vzorků je třeba opakovat v novém odběru za 2 až 6 týdnů s ohledem na specifika daného onemocnění.

(TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgG, ©2015)

6 VLASTNÍ VÝSLEDKY

Výsledky použité pro následující vyhodnocení jsou za roky 2016 a 2017. Tyto údaje byly zjištěny ve FN Plzeň na oddělení mikrobiologie.

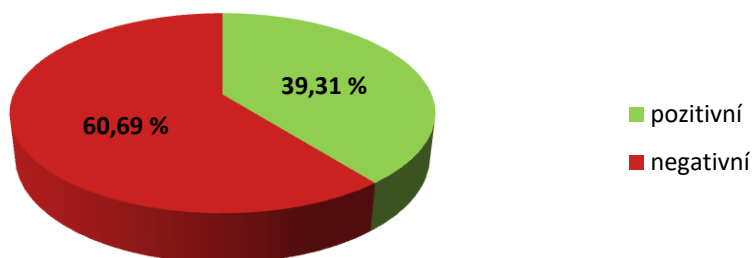
6.1 Pozitivní a negativní výsledky dle KFR pro muže a ženy za rok 2016

V roce 2016 bylo metodou KFR vyšetřeno celkem 794 pacientů. Z toho bylo 290 mužů a 504 žen.

Z 290 testovaných mužů bylo zjištěno 114 pozitivních výsledků (39,31 %). Zbylých 176 mělo negativní výsledky (60,69 %).

Graf 1: Výsledky mužů dle KFR za rok 2016

Výsledky mužů dle KFR za rok 2016

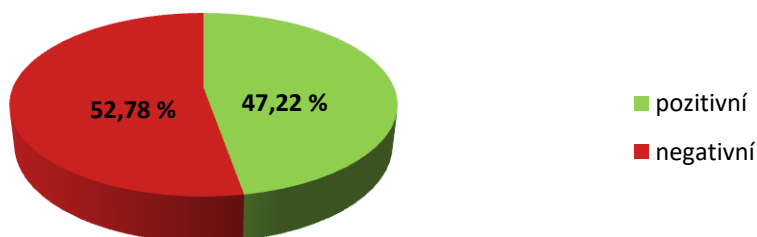


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Z 504 testovaných žen bylo zjištěno 238 pozitivních výsledků (47,22 %). Ostatních 266 výsledků bylo negativních (52,78 %).

Graf 2: Výsledky žen dle KFR za rok 2016

Výsledky žen dle KFR za rok 2016



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

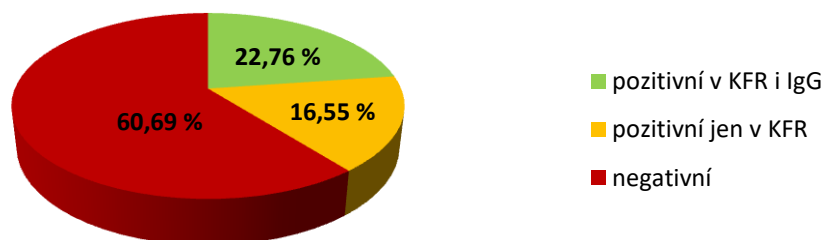
6.2 Pozitivní výsledky dle KFR a současně metodou EIA, třída IgG pro muže a ženy za rok 2016

Pozitivní výsledky dle metody KFR, které jsou zároveň pozitivní i ve třídě imunoglobulinů G jsou 100 % pozitivní výsledky.

Z celkového počtu 290 mužů bylo metodou KFR za rok 2016 prokázáno 114 pozitivních výsledků. Z toho bylo současně 66 výsledků pozitivních i metodou EIA, třída IgG (22,76 %). 48 mužů bylo pozitivních jen v KFR (16,55 %) a ostatní muži byli negativní, jak uvádím v grafu 1 (60,69 %).

Graf 3: Pozitivita v KFR i IgG za rok 2016 – muži

Pozitivita v KFR i IgG za rok 2016 – muži

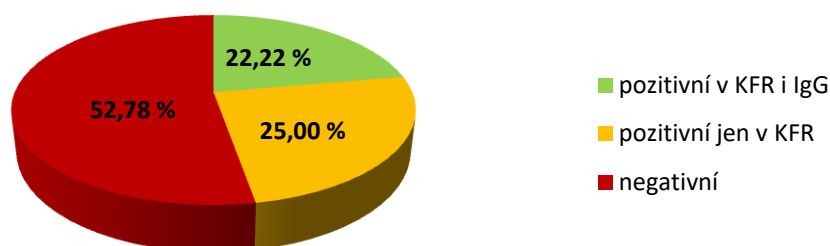


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Metodou KFR bylo za rok 2016 z celkového počtu 504 žen zjištěno 238 pozitivních výsledků. Z toho bylo současně 112 výsledků pozitivních i metodou EIA, třída IgG (22,22 %). 126 žen bylo pozitivních jen v KFR (25,00 %). Ostatních 266 výsledků, jak uvádím v grafu 2, bylo negativních (52,78 %).

Graf 4: Pozitivita v KFR i IgG za rok 2016 – ženy

Pozitivita v KFR i IgG za rok 2016 – ženy



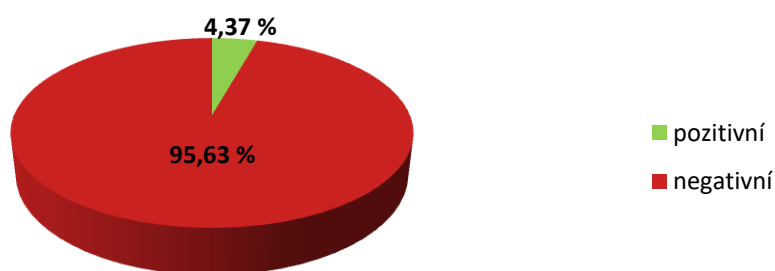
Zdroj: Výsledky FN Plzeň

6.3 Pozitivní výsledky metodou EIA, třída IgM nebo IgA pro muže a ženy za rok 2016

Za rok 2016 bylo na přítomnost protilátek třídy IgM i IgA vyšetřeno 183 mužů. Z toho pozitivních bylo 8 výsledků (4,37 %) a negativních výsledků bylo 175 (95,63 %).

Graf 5: Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2016 – muži

Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2016 – muži

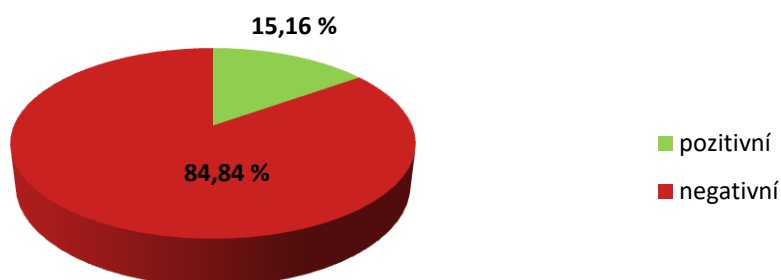


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Za rok 2016 bylo na přítomnost protilátek třídy IgM i IgA vyšetřeno 244 žen. Z toho pozitivních bylo 37 výsledků (15,16 %) a negativních výsledků bylo 207 (84,84 %).

Graf 6: Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2016 – ženy

Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2016 – ženy



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

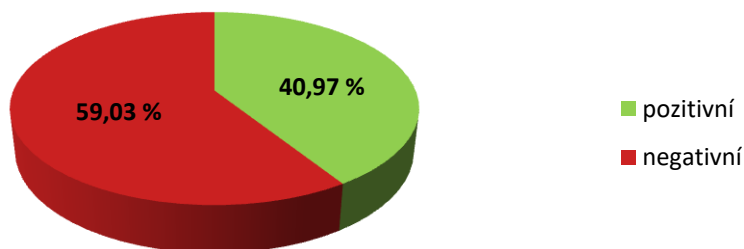
6.4 Pozitivní a negativní výsledky dle KFR pro muže a ženy za rok 2017

V roce 2017 bylo metodou KFR vyšetřeno celkem 982 pacientů. Z toho bylo 349 mužů a 633 žen.

Z 349 testovaných mužů bylo zjištěno 143 pozitivních výsledků (40,97 %). Zbýlých 206 mělo negativní výsledky (59,03 %).

Graf 7: Výsledky mužů dle KFR za rok 2017

Výsledky mužů dle KFR za rok 2017

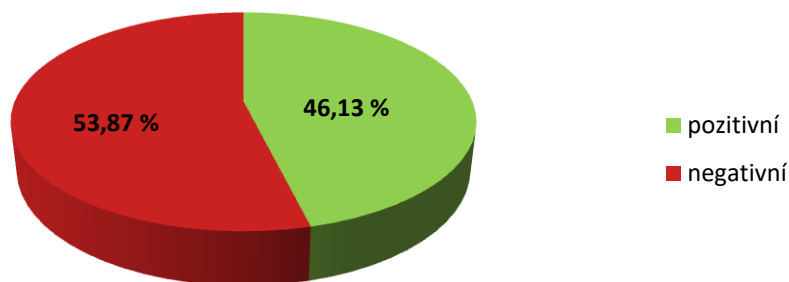


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Z 633 testovaných žen bylo zjištěno 292 pozitivních výsledků (46,13 %). Ostatních 341 výsledků bylo negativních (53,87 %).

Graf 8: Výsledky žen dle KFR za rok 2017

Výsledky žen dle KFR za rok 2017



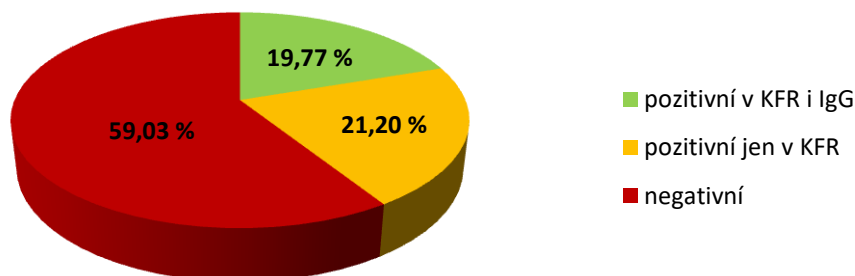
Zdroj: Výsledky FN Plzeň

6.5 Pozitivní výsledky dle KFR a současně metodou EIA, třída IgG pro muže a ženy za rok 2017

Z celkového počtu 349 mužů bylo metodou KFR za rok 2017 prokázáno 143 pozitivních výsledků. Z toho bylo současně 69 výsledků pozitivních i metodou EIA, třída IgG (19,77 %). 74 mužů bylo pozitivních jen v KFR (21,20 %). Zbýlých 206 mužů mělo negativní výsledky, což je uvedeno v grafu 7 (59,03 %).

Graf 9: Pozitivita v KFR i IgG za rok 2017 – muži

Pozitivita v KFR i IgG za rok 2017 – muži

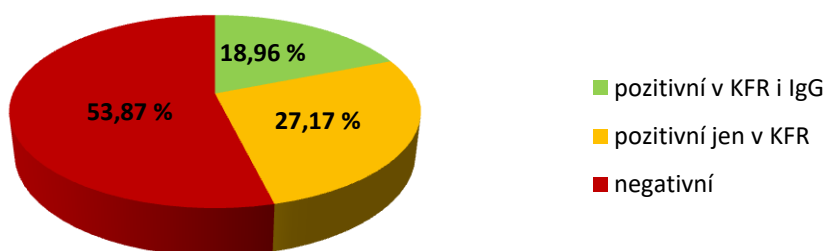


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Metodou KFR bylo za rok 2017 z celkového počtu 633 žen zjištěno 292 pozitivních výsledků. Z toho bylo současně 120 výsledků pozitivních i metodou EIA, třída IgG (18,96 %). 172 žen bylo pozitivních jen v KFR (27,17 %). Ostatních 341 výsledků bylo negativních, jak je uvedeno v grafu 8 (53,87 %).

Graf 10: Pozitivita v KFR i IgG za rok 2017 – ženy

Pozitivita v KFR i IgG za rok 2017 – ženy



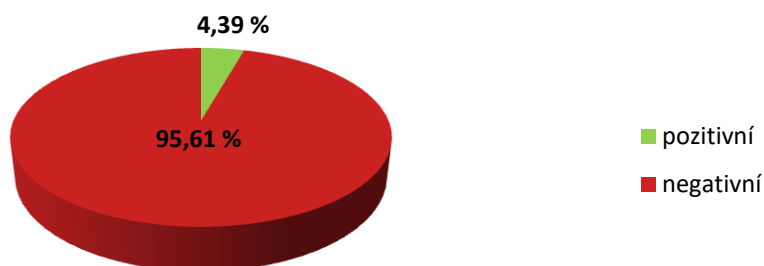
Zdroj: Výsledky FN Plzeň

6.6 Pozitivní výsledky metodou EIA, třída IgM nebo IgA pro muže a ženy za rok 2017

Za rok 2017 bylo na přítomnost protilátek třídy IgM i IgA vyšetřeno 205 mužů. Z toho pozitivních bylo 9 výsledků (4,39 %) a negativních výsledků bylo 196 (95,61 %).

Graf 11: Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2017 – muži

Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2017 – muži

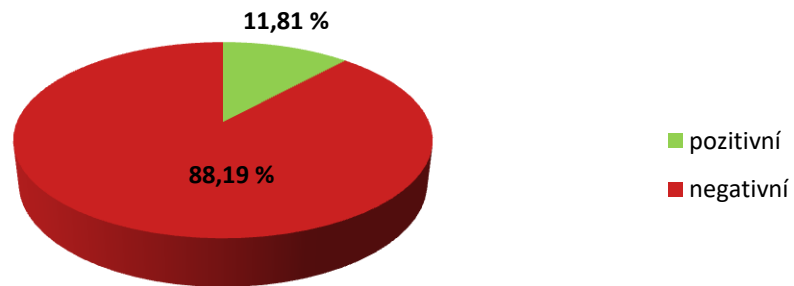


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Za rok 2017 bylo na přítomnost protilátek třídy IgM i IgA vyšetřeno 288 žen. Z toho pozitivních bylo 34 výsledků (11,81 %) a negativních výsledků bylo 254 (88,19 %).

Graf 12: Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2017 – ženy

**Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2017 –
ženy**



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

7 DISKUZE

Jedním z cílů mé bakalářské práce bylo popsat problematiku toxoplasmózy a popsat laboratorní diagnostiku. V teoretické části byla popsána historie, etiologie a epidemiologie, dále pak klinický obraz a různá stádia toxoplasmózy. Část textu je věnována léčbě a prevenci. Dále byla popsána laboratorní diagnostika s podrobným popisem metod, které se k diagnostice toxoplasmózy využívají. Základní metody, kterými jsou KFR a EIA, jsou podrobněji rozepsané v praktické části.

Dalším z cílů mé práce bylo zpracovat a porovnat výsledky pacientů za rok 2016 a 2017. Výsledky byly měřeny metodami KFR a EIA. Výsledky, které jsem v praktické části využil, jsou získány z FN Plzeň, oddělení mikrobiologie.

V roce 2016 bylo vyšetřeno celkem 794 pacientů. Z toho bylo 290 mužů a 504 žen. Z 290 mužů jich 114 mělo metodou KFR pozitivní výsledek, 66 jich bylo zároveň pozitivních i metodou EIA IgG. Z 504 vyšetřených žen nastala pozitivita metodou KFR ve 238 případech. Současně bylo 112 pozitivních výsledků i metodou EIA IgG.

Metodou EIA IgM nebo IgA bylo v roce 2016 vyšetřeno 183 mužů. Pouze 8 výsledků vyšlo pozitivně. Žen bylo vyšetřeno 244. Pozitivních výsledků bylo 37.

V roce 2016 bylo vyšetřeno o 214 žen více než mužů. U mužů bylo metodou KFR pozitivních zhruba 40 % výsledků, zatímco u žen téměř jedna polovina (47 %). Metodou KFR a zároveň EIA IgG vyšly procentuálně téměř shodné výsledky pro muže i ženy. Metodou EIA IgM nebo IgA vyšlo více pozitivních žen.

V roce 2017 bylo vyšetřeno 982 pacientů. Z toho bylo 349 mužů a 633 žen. Z 349 vyšetřovaných mužů jich 143 mělo metodou KFR pozitivní výsledek. Zároveň 69 jich mělo pozitivní výsledek i metodou EIA IgG. Z 633 žen jich pozitivní výsledek metodou KFR mělo 292. Současně jich 120 bylo pozitivních i metodou EIA IgG.

Metodou EIA IgM nebo IgA bylo v roce 2017 vyšetřeno 205 mužů, z nichž bylo 9 pozitivních. Žen bylo touto metodou vyšetřeno 288. Pozitivních výsledků bylo 34.

V roce 2017 bylo vyšetřeno více žen než mužů a to přesně o 284 žen. U mužů bylo metodou KFR pozitivních téměř 41 %, zatímco u žen 46 %. Metodou KFR a zároveň EIA IgG vyšlo o necelé jedno procento více pozitivních mužů než žen. Metodou EIA IgM nebo IgA vyšlo více pozitivních žen.

Když porovnám rok 2016 a 2017, tak v roce 2017 bylo o několik set více vyšetřených pacientů. Pozitivní výsledky se metodou KFR u mužů oproti roku 2016 zvýšily o 1,66 %, zatímco u žen se touto metodou pozitivní výsledky oproti roku 2016 o 1,09 % snížily. V roce 2016 bylo o 2,99 % více mužů pozitivních metodou KFR a zároveň EIA IgG. U žen bylo metodou KFR a zároveň EIA IgG v roce 2016 o 3,26 % více pozitivních výsledků. Metodou EIA IgM nebo IgA bylo u mužů v roce 2016 a 2017 téměř shodná pozitivita, zatímco u žen se výsledky získané touto metodou oproti roku 2016 snížily o 3,35 %.

Výsledky z roku 2016 a 2017 ukazují, že více vyšetřených pacientů je ženského pohlaví. Také je vidět, že více pozitivních výsledků je u žen. Ale při srovnání let 2016 a 2017 velké rozdíly mezi výsledky získanými různými metodami nejsou.

Vyšší počet vyšetřovaných žen na tomto pracovišti je historicky daný. Od roku 1980 se zde začal zavádět prenatální screening a vyšetření ženy v některých letech až 10x převyšovaly počet vyšetřených mužů. Vzhledem k nepovinnému vyšetřování těhotných žen v České republice tento zavedený systém upadá a počty vyšetřených vzorků u obou pohlaví se srovnávají.

Co se týká procenta pozitivních vzorků, oblast Plzeňska zapadá do celostátního průměru. Pro ČR se uvádí přítomnost protilátek u 25 – 40 % populace. Hodnoty se mohou v jednotlivých krajích a letech samozřejmě lišit. Abychom je mohli srovnávat, potřebovali bychom znát výsledky za delší časové období. Na tomto místě je třeba připomenout ještě jednu věc: jako pozitivní výsledky jsou v práci uvedeny všechny případy, u kterých byl zjištěn jakýkoliv titr protilátek v KFR. To ale nesouvisí s počtem akutních případů toxoplasmózy. Vzorky jsou sice pozitivní, ale ve většině případů nám výsledky říkají, že se pacient s onemocněním setkal v minulosti. Za akutní zjištěné onemocnění jsou považovány pouze ty případy, kdy sérum vykazuje vysoké titry protilátek v KFR a pozitivitu u specifických imunoglobulinů IgM a IgA. Konečné rozhodnutí, jedná-li se opravdu o onemocnění, uzavírá až ošetřující lékař.

Kdybychom chtěli srovnávat výsledky s daty z minulosti, bylo by to velmi obtížné. Když se zjišťovalo procento populace s protilátkami, provádělo se to v rámci tzv. sérologických přehledů, v jejichž rámci byla vyšetřena na přítomnost protilátek zdravá česká populace. Tyto přehledy se již neprovádějí a tak nemáme žádný reprezentativní vzorek. Naše data obsahují převážně lidi, u kterých je podezření na toxoplasmózu, to

znamená nemocné lidi. Zdravou populaci tvoří již pouze malý počet vyšetřených těhotných žen.

U výše zmíněných sérologických přehledů byla reakcí první volby KFR. V posledních letech ale všechny laboratoře v ČR mají problém s její vysokou citlivostí a tím jsou dané možné falešně pozitivní výsledky. To vedlo k tomu, že výsledky positivity protilátek u lidí metodou KFR v práci uvádím, ale reálnější počet pozitivních vzorků (s jakýmikoliv protilátkami) je ten, kdy je u těchto pacientů současná pozitivita i u imunoglobulinů IgG.

8 ZÁVĚR

V bakalářské práci jsem se pokusil objasnit téma toxoplasmózy od historie až po současnost. Toxoplasmózu způsobuje celosvětově rozšířený střevní parazit *Toxoplasma gondii*. Její diagnostika a zejména pak správná interpretace výsledků je specifickou problematikou, která vyžaduje patřičnou zkušenost. V diagnostice toxoplasmózy existuje velké množství atypických laboratorních nálezů a klinických průběhů, které jsem ve své práci popsal.

Nezbytná pro léčbu je klinická a laboratorní spolupráce. Přesná laboratorní diagnostika tohoto onemocnění je pro správnou a adekvátní léčbu zásadní. Řadu let je laboratorní diagnostika tohoto onemocnění v České republice v podstatě stejná, kdy stěžejními testy jsou KFR a EIA.

Ze zpracovaných výsledků v praktické části je patrné, že více vyšetřených osob je ženského pohlaví, což je způsobeno i testováním těhotných žen, které spadají do rizikové skupiny onemocnění toxoplasmózou.

Problematika toxoplasmózy je dnes velmi dobře popsána. Také laboratorní vyšetření nabízí přesné a spolehlivé výsledky. Ale i přes to je ještě řada otázek ohledně této problematiky otevřených. Věřím, že v průběhu let budou poznatky stále doplňovány novými fakty.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. GELENEKY, Markéta. Toxoplazmóza: diagnostika a její specifika. Labor Aktuell [online]. ROCHE s.r.o., Diagnostics division, 2013, (03), 4. ISSN 1214-7672. Dostupné z: http://www.roche-diagnostics.cz/content/dam/diagnostics_czechrepublic/cs_CZ/documents/Labor_Aktuell/LA2013/LA0313/Toxoplazmoza_drGeleneky.pdf
2. GOERING, Richard V., Hazel M. DOCKRELL, Mark A. ZUCKERMAN a Peter L. CHIODINI, JULÁK, Jaroslav, ed. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. 5. vydání. Přeložil Jan BOBEK, přeložil Renáta ČERMÁKOVÁ, přeložil Karel HOLADA, přeložil Zora MĚLKOVÁ, přeložil Tibor MOŠKO, přeložil Jan NOVÁK, přeložil Ludmila PROKEŠOVÁ, přeložil Jiřina SUCHANOVÁ. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2016. ISBN 978-80-7387-928-0.
3. HAVLÍK, Jiří. *Infekční nemoci*. 2., rozš. vyd. Praha: Galén, 2002. ISBN 80-7262-173-4.
4. JÍRA, Jindřich. *Lékařská protozoologie: protozoální nemoci*. Praha: Galén, c2009. ISBN 978-80-7262-381-5.
5. KORIŠTEK, Kamil. *Parazitologie*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2015. ISBN 978-80-244-4540-3.
6. KOUBA, K., J. JÍRA a J. HÜBNER. *Toxoplazmoza*. 1974. Praha: Avicenum, zdravotnické nakladatelství, 1974.
7. KRAUS, Dušan. Toxoplazmóza: studijní zpráva. 1. vyd. Praha: Ústav vědeckotechnických informací MZLVH, 1965. 60 s. (Studijní informace. Veterinářství; 2/1965).
8. MICHALA, Ladislav, Petr KODYM a Rudolf ČERNÝ. Toxoplazmóza. Interní medicína pro praxi [online]. 2005, 7(3), 120 - 122 [cit. 2017-05-03]. Dostupné z: <https://internimedicina.cz/pdfs/int/2005/03/03.pdf>
9. MURRAY, Patrick R., ET AL., *Medical microbiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby, c2002. ISBN 0-323-01213-2.

10. PCR diagnostika – průkaz DNA *Toxoplasma gondii*. *Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě*[online]. Ostrava [cit. 2017-09-15]. Dostupné z: <https://www.zuova.cz/Home/Sluzba/PCR-diagnostika%E2%80%93prukaz-DNA-Toxoplasma-gondii>
11. TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgA, ©2015
12. TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgG, ©2015
13. TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. EIA TOXOPLASMA IgM, ©2015
14. TESTLINE CLINICAL DIAGNOSTIC s.r.o. TOXO-CF-Ag-lyophil, ©2015
15. Toxoplazmóza. *Vitalion* [online]. Praha: MAFRA [cit. 2017-07-19]. Dostupné z: <http://nemoci.vitalion.cz/toxoplasmoza/>
16. Toxoplazmóza: příčiny, příznaky, diagnostika a léčba. *Medlicker* [online]. London, 2013 [cit. 2017-05-02]. Dostupné z: <https://cs.medlicker.com/188-toxoplazmoza-priciny-priznaky-diagnostika-a-lecba>
17. Toxoplazmóza. *Symptomy* [online]. Brno, 2012 [cit. 2017-07-19]. Dostupné z: <http://www.symptomy.cz/nemoc/toxoplazmoza>
18. VOTAVA, Miroslav. *Klinická mikrobiologie*. Brno: Masarykova univerzita, 2014. ISBN 978-80-210-7503-0.
19. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.
20. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.
21. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, c2010. ISBN 978-80-86850-04-7.

SEZNAM ZKRATEK

HIV – Human Immunodeficiency Virus

AIDS – Acquired Immune Deficiency Syndrome

CNS – Centrální nervová soustava

Ig – Imunoglobulin

ELISA – Enzyme-linked Immunosorbent Assay

ISAGA – Immunosorbent Agglutination Assay

EIA – Enzyme Immunoassay

KFR – Komplement fixační reakce

CT – Computed tomography

PCR – Polymerase Chain Reaction

DNA – Deoxyribonucleic Acid

EDTA – Kyselina ethylendiamintetraoctová

ml – Mililitr

μm – Mikrometr

μg – Mikrogram

μl – Mikrolitr

nm – Nanometr

TMB – Tetramethylbenzidine

FN Plzeň – Fakultní nemocnice Plzeň

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Výsledky mužů dle KFR za rok 2016	40
Graf 2: Výsledky žen dle KFR za rok 2016	41
Graf 3: Pozitivita v KFR i IgG za rok 2016 – muži	41
Graf 4: Pozitivita v KFR i IgG za rok 2016 – ženy	42
Graf 5: Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2016 – muži	42
Graf 6: Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2016 – ženy	43
Graf 7: Výsledky mužů dle KFR za rok 2017	43
Graf 8: Výsledky žen dle KFR za rok 2017	44
Graf 9: Pozitivita v KFR i IgG za rok 2017 – muži	44
Graf 10: Pozitivita v KFR i IgG za rok 2017 – ženy	45
Graf 11: Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2017 – muži	45
Graf 12: Pozitivita IgM nebo IgA za rok 2017 – ženy	46

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: ELISA destička

Příloha 2: Komplement fixační reakce

Příloha 3: Povolení sběru informací ve FN Plzeň

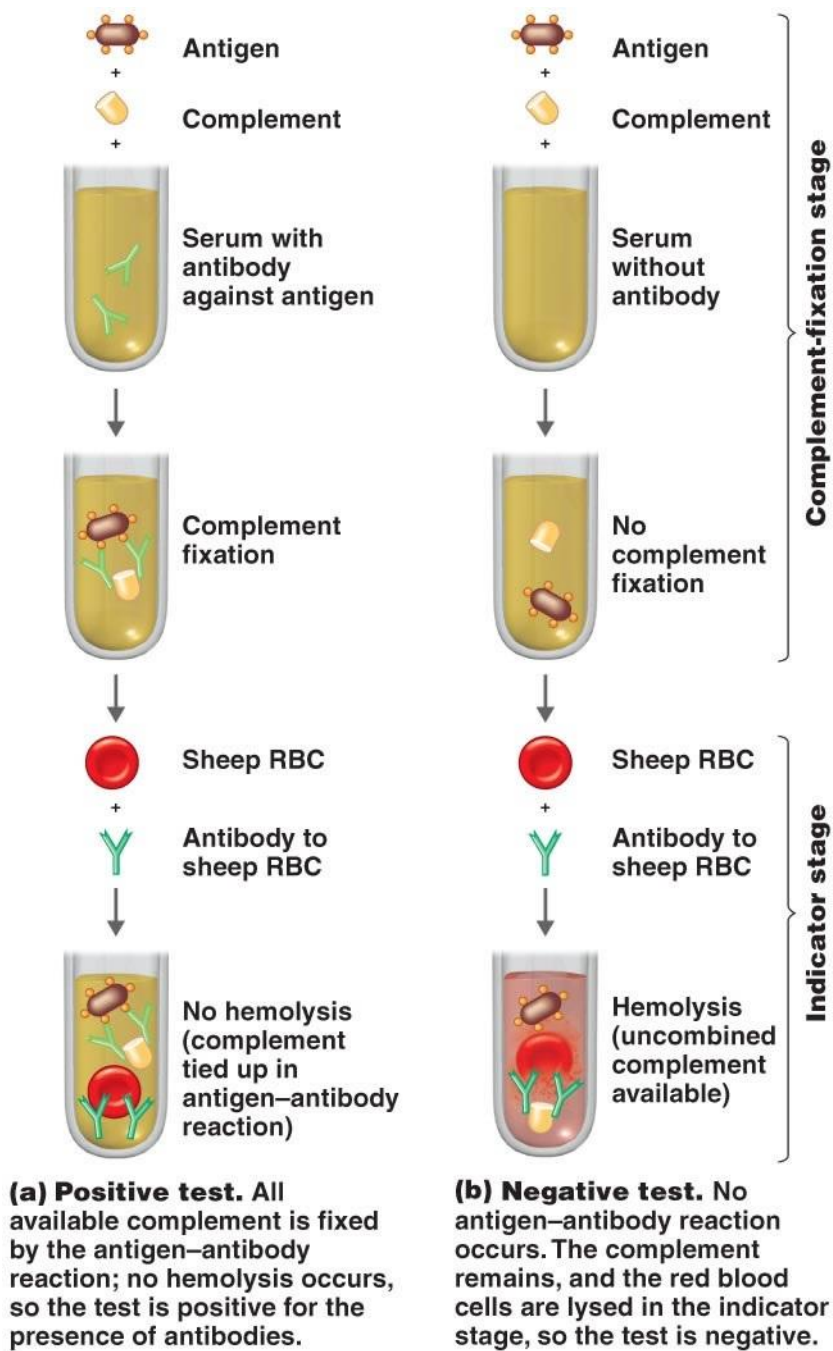
PŘÍLOHY

Příloha 1: ELISA destička



Zdroj: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a9/ELISA.jpg>

Příloha 2: Komplement fixační reakce



Zdroj: <https://laboratoryinfo.com/wp-content/uploads/2015/03/complement-fixation-test.jpg>

Příloha 3: Povolení sběru informací ve FN Plzeň



Vážený pan
Martin Bezděk
Student oboru Zdravotní laborant
Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví
Západočeská univerzita v Plzni

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro ošetrovatelskou péči FN Plzeň **uděluji souhlas** se sběrem a zpracováním anonymizovaných dat a výsledků laboratorních metod, používaných v *Ústavu mikrobiologie (MIKRO) FN Plzeň*. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „*Toxoplasmóza*“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborantka MIKRO souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.,** o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe a pod přímým vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je **RNDr. Karel Fajfrlík Ph. D., přednosta MIKRO FN Plzeň.**

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

Mgr. Bc. Světluše Chabrová
manažerka pro vzdělávání a výuku NELZP
zástupkyně náměstkyně pro oš. péči

Útvar náměstkyně pro oš. péči FN Plzeň
tel.: 377 103 204, 377 402 207
e-mail: chabrovass@fnplzen.cz

14. 11. 2017