

**VĚDECKÁ RADA LÉKAŘSKÉ FAKULTY
UNIVERZITA KARLOVA V PLZNI**

LOGO UK

LOGO LF

RNDr. KAREL FAJFRLÍK

**TOXOPLAZMÓZA - vybrané epidemiologické
charakteristiky a plzeňské laboratorní zkušenosti**

Autoreferát dizertační práce

Vědní obor: lékařská mikrobiologie

Plzeň, 2006

Dizertace byla vypracována v rámci kombinované formy doktorského studijního programu v oboru lékařská mikrobiologie na Ústavu mikrobiologie LF UK a FN v Plzni.

Školitel: doc.MUDr.Petr Pazdiora,CSc., vedoucí Ústavu epidemiologie LF UK v Plzni

Uchazeč: RNDr.Karel Fajfrlík, vedoucí Ústavu mikrobiologie LF UK a FN v Plzni

Oponenti:

RNDr.Petr Kodym,CSc., vedoucí Národní referenční laboratoře pro toxoplasmózu SZÚ v Praze

Doc.MUDr.Marie Staňková,CSc., vedoucí AIDS centra Infekční kliniky FN Na Bulovce

Stanovisko k disertaci bylo vypracováno na Ústavu epidemiologie LF UK v Plzni, vedoucí doc.MUDr.Petr Pazdiora,CSc.

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba dizertační práce se koná dne:

před komisí pro obhajoby dizertačních prací doktorského studijního programu v oboru lékařská mikrobiologie v Plzni

S dizertací je možno se seznámit na děkanátu LF UK v Plzni, Husova 3, 306 05 Plzeň

Předseda komise pro obhajoby v oboru lékařská mikrobiologie:

Doc.Ing.Zdeněk Zloch,CSc., vedoucí Ústavu hygieny LF UK v Plzni

OBSAH

- 1. Úvod a současný stav poznatků o toxoplazmóze**
- 2. Cíle práce**
- 3. Soubor vyšetřených**
- 4. Statistické zpracování**
- 5. Laboratorní metody použité naší laboratoří**
- 6. Výsledky**
 - 6.1 Charakteristika studovaného souboru**
 - 6.2 Rozložení titrů u studovaného souboru**
 - 6.3 Celkový počet hlášených onemocnění do informačních systémů hygienické služby (EPIDAT)**
 - 6.3.1. Počet hlášených případů ve vztahu k bydlišti**
 - 6.3.2. Počet případů dle nejpravděpodobnějšího zdroje infekce**
 - 6.3.3 Rozdělení dle formy onemocnění**
 - 6.3.4 Sezónnost záchytů**
 - 6.3.5 Srovnání počtů vyšetření a pozitivních osob v období 1996-2000 a 2001-2004**
- 7. Nemocnost a počet vyšetřených v jednotlivých věkových skupinách**
- 8. Přítomnost protilátek u zdravé ženské populace**
- 9. Závěry**
- 10. Summary**
- 11. Literatura autora**
- 12. Výběr použité literatury ve vztahu k řešené problematice**

1 Úvod a současný stav poznatků o toxoplazmóze

Historii výzkumu parazita *Toxoplasma gondii* lze rozdělit do několika etap. Po jeho objevení a popsání v roce 1908 se v dalších letech badatelé soustředili převážně na odhalování biologických vlastností prvoka a vztahů s mezipříteli. Až po roce 1923 se pozornost upřela na jím vyvolané onemocnění - toxoplazmózu a její zdravotnický význam pro člověka.. Postupně byly popisovány její rozmanité formy a jejich vliv na zdraví člověka. V současnosti lze u toxoplazmózy vyčlenit dvě jasně vyhraněné skupiny lidí s největším možným zdravotním rizikem. Jsou to imunosuprimovaní pacienti a těhotné ženy. Právě role toxoplazmózy jako jedné z oportunních infekcí u HIV pozitivních pacientů a problematika možného přenosu infekce z matky na plod otevřely novou etapu výzkumu. V současnosti se stále častěji hovoří o možné manipulaci lidské osobnosti při trvalé perzistenci parazita v těle a o možné souvislosti s výskytem schizofrenie u člověka.

Že je nutné se tímto parazitem intenzivně zabývat, dokládá i jeho celosvětové rozšíření a prokázaný výskyt v populaci. V některých oblastech světa je prokázaná přítomnost protilátek až u 80 % lidí. V České republice je to v různých krajích od 25 do 50 %.

Výzkum problematiky toxoplazmózy má velkou tradici i v naší zemi. Český oftalmolog dr. Janků se zapsal nesmazatelně k odborným veličinám při řešení kongenitální toxoplazmózy.

Českoslovenští odborníci významně přispěli i k rozvoji laboratorní diagnostiky tohoto onemocnění. Na zavádění nových metod i inovaci používaných se podílela celá řada předních parazitologů na akademické půdě i ve zdravotnických zařízeních. Hlavní cíle těchto inovací zůstávají po léta stejné: co nejpřesněji určit fázi onemocnění. To má největší význam zejména při interpretaci sérologických vyšetření těhotných žen.

Prvok *Toxoplasma gondii* byl objeven a popsán v roce 1908 v Tunisu u severoafrické pamyši hřebenoprsté - *Ctenodactylus gondi*.

Zprávy o možnosti infikovat člověka se objevují od roku 1914. Až v roce 1923 byla toxoplazmóza prokazatelně označena jako lidské onemocnění českým oftalmologem dr. Josefem Janků, který u dítěte zemřelého na kongenitální hydrocephalus popsal tkáňové cysty v chorioretinických lézích.

První zmínky o významu koček v biologii *T. gondii* s návazností na člověka se objevují koncem 60. let minulého století. Bylo prokázáno, že pro tohoto prvoka je

definitivním hostitelem kočka a některé další kočkovité šelmy. Člověk v životním cyklu plní pouze roli mezihostitele.

Laboratorní pracovníci věnovali více pozornosti objevování a zavádění nových diagnostických metod. Jejich cíl byl jediný: co možná nejpřesněji určit fázi infekce s důrazem na akutní období. To měla specifikovat detekce imunoglobulinů produkovaných organismem v časně fázi onemocnění - imunoglobuliny IgM a IgA.

Úroveň poznání o toxoplazmóze a nejdůležitější oblasti současného bádání lze tedy shrnout následovně:

1. Je to patrně nejrozšířenější parazitární onemocnění na světě.
2. I v mírném podnebném pásmu patří mezi nejzávažnější parazitózy díky možným negativním důsledkům pro imunosuprimované lidi a v případě primoinfekce ženy v graviditě i pro plod.
3. Člověk není pro původce onemocnění finálním hostitelem, ale pouze mezihostitelem. Vedle člověka může být těmito mezihostiteli celá řada dalších obratlovců.
4. Definitivním hostitelem je kočka a některé kočkovité šelmy jako jeden z možných zdrojů infekce pro člověka, a proto je onemocnění řazeno mezi zoonózy.

Ve zdravotnictví se zájem soustřeďuje na výzkum následujících problémů:

- toxoplazmóza a těhotenství
- toxoplazmóza a imunosuprimovaní lidé
- toxoplazmóza a psychika člověka
- oční forma onemocnění
- laboratorní či klinické určení fáze infekce, odlišení primoinfekce od reinfekce nebo reaktivace

Při popisu klinických příznaků onemocnění narážíme u člověka na výskyt odlišných stádií tohoto prvoka v určité fázi infekce. Jednotlivá stádia mají rozdílný vliv na epidemiologii, respektive způsob nákazy jedince.

Klinické projevy toxoplazmózy nejsou vždy typické. U většiny imunokompetentních osob probíhá infekce asymptomaticky. V současnosti je prezentován poměr 10 % onemocnění s klinickými příznaky a 90 % případů s asymptomatickým průběhem.

Podle převažujících a nebo výrazných klinických příznaků dělíme onemocnění na tzv. klinické formy onemocnění.

Základní dělení se užívá dodnes: vrozená toxoplazmóza (kongenitální)
získaná toxoplazmóza

Hlavní zdroje infekce pro člověka jsou dva:

- zvířata, jejichž maso, orgány a produkty slouží člověku jako potrava
- zvířata, v jejichž exkrementech se vyskytují oocysty. Ty mohou druhotně kontaminovat vodu, potraviny a vnější prostředí.

2. Cíle práce

Protože se naše pracoviště zabývá problematikou toxoplazmózy od svého vzniku a systematictěji od roku 1982, shromažďování publikovaných údajů pro tuto práci probíhalo po dlouhá léta. Všechny samozřejmě zahrnutý nebudou. V této práci jsou hodnoceny pouze epidemiologické aspekty tohoto závažného onemocnění v období říjen 1996 – prosinec 2004 (celkem zpracováno 37 515 vyšetření u 28 757 lidí). Důvodem je možnost analýzy dat pomocí statistických metod laboratorního informačního systému v tomto období.

Přes mnoho různých objevů ve světě publikovaných i nepublikovaných i studií prováděných v ČR, existuje ještě stále mnoho otazníků a krajových či oblastních odlišností. Tato práce si klade za cíl odpovědět na některé otázky a vznikala v několika časových úrovních. Hlavní body, kterými se zabývá jsou následující:

- shromažďování dat
- výběr epidemiologických kritérií
- statistické zpracování dat
- zhodnocení výsledků
- používané laboratorní metody, jejich výhody a nedostatky
- jejich zhodnocení z hlediska výpovědní hodnoty
- kvalita interpretace
- změny používaných metod v souvislosti s přesnější interpretací výsledku

Některé z těchto otázek byly v minulosti studovány na základě vyšetření různě početných souborů z jednotlivých územních celků, s použitím různých laboratorních metod. Výsledky těchto studií jsou ovlivněny faktory metodologickými (použitá metodika, diagnostická kritéria, velikost sledovaného souboru), faktory epidemiologickými (způsob

života, hygienická úroveň obyvatelstva, stravovací návyky, promořenost domácích i divokých zvířat, hygienická úroveň zpracovatelských potravinářských závodů atd.)

Epidemiologické faktory jsou specifické pro každou oblast, a proto vyšetření určitého reprezentativního vzorku populace jedinečné výsledky.

3. Soubor vyšetřených

Zpracovaným vyšetřeným materiálem byly vzorky zaslané na naše pracoviště ze „spádové oblasti“ Plzeň-město (PM), Plzeň-jih (PJ), Plzeň-sever (PS), Rokycany (RO), Domažlice (DO) s žádankou o vyšetření na toxoplasmózu při podezření na toto onemocnění. Ke confirmaci byly zasílány vzorky z Klatov (KT) a dnešního Karlovarského kraje.

Druhou složku vyšetřovaného materiálu tvořilo vyšetřování těhotných žen na přítomnost protilátek proti toxoplazmóze.

4. Statistické zpracování

Výsledky byly statisticky zpracovány programem EPI-INFO verze 6,04. Podklady byly čerpány z Listů epidemiologického vyšetření onemocnění Odboru epidemiologie Krajské hygienické stanice v Plzni.

5. Laboratorní metody použité naší laboratoří

Výběr diagnostických metod má zásadní význam pro vyslovení kvalitní interpretace a co nejpřesnějšího závěru.

V naší laboratoří byly a jsou používány následující laboratorní metody k diagnostice toxoplazmózy, resp. k detekci protilátek proti toxoplazmovým antigenům v lidském séru:

1. Komplementfixační reakce
2. Detekce specifických imunoglobulinů ELISA reakcemi
 - a) Imunoglobuliny IgG
 - b) Imunoglobuliny IgM
 - c) Imunoglobuliny IgA

6. Výsledky

6.1 Charakteristika studovaného souboru

Během vybraného období říjen 1996 – prosinec 2004 bylo vyšetřeno:

Tab. 1: Počet provedených vyšetření a vyšetřených osob

	Počet vyšetření	Počet osob
Muži	4 920	4 080
Ženy	32 595	24 742
Celkem	37 515	28 822

Z tohoto počtu: bylo 1 508 dětí mužského pohlaví

1 765 dětí ženského pohlaví

(0–18 let)

Tento jasný nepoměr ve prospěch počtu vyšetřených žen je způsoben zavedeným systémem vyšetřování gravidních žen v naší oblasti.

Při vyšetřování mužů a dětí se zpravidla jedná o vyšetření při podezření na toxoplazmózu, u žen je vyšetření preventivní - spojené s těhotenstvím. Tento vzorek pacientů slouží jako kontrolní soubor ke zjištění výskytu protilátek u zdravé ženské populace.

Jako kritérium k povinnosti hlásit onemocnění do informačních systémů hygienické služby byl brán zřetel na pozitivitu specifických imunoglobulinů IgM.

6.2 Rozložení titrů u studovaného souboru

Nejvyšší počet pozitivních titrů se pohybuje v oblasti nízkých hodnot (1:8 až 1:32) u 12 693 vyšetřených lidí (91,9 %). Střední hodnoty (1:64 a 1:128) vykazovalo 769 lidí (5,6 %) a vysoké titry (1:256 až 1: 4 096) 357 lidí (2,5 %).

Zjevný je trend ubývání vysokých titrů (Tab. 15). Zatímco v letech 1996–2000 byl detekován u 263 lidí ze 7 010 pozitivních, v letech 2001–2004 to bylo pouze u 94 lidí z 6 809 pozitivních. Úbytek četnosti vysokých titrů je statisticky významný ($\chi^2=157,6$, $P=0,000$).

6.3 Celkový počet hlášených onemocnění do informačních systémů hygienické služby (EPIDAT)

Počet hlášených onemocnění z naší laboratoře ukazuje následující tabulka. Všichni měli titr $\geq 1:64$ a byly u nich detekovány imunoglobuliny IgM, u některých i IgA. Opět je třeba si povšimnout zhruba stálých hodnot v prvních pěti letech studie a sestupného trendu v její druhé polovině. Odpovídá to situaci v celé ČR.

Následující data jsou výsledky vyšetření 22 977 žen, 2 572 mužů a 3 273 dětí do 18 let. Z tohoto počtu podléhalo dle platných kritérií hlášení do EPIDATu 177 žen, 49 mužů a 60 dětí do 18 let.

Tab. 2: Počet hlášených případů do informačních systémů hygienické služby

Rok	Celkem	Muži	Ženy	Děti	z toho Muži	Ženy
1996	43	6	25	12	7	5
1997	30	1	20	9	4	5
1998	45	11	25	9	7	2
1999	45	8	28	9	6	3
2000	41	9	21	11	6	5
Celkem	204	35	119	50	30	20
2001	27	6	18	3	1	2
2002	25	3	20	2	0	2
2003	16	4	8	4	4	0
2004	14	1	12	1	0	1
Celkem	82	14	58	10	5	5
Celkem	286	49	177	60	35	25

6.3.1. Počet hlášených případů ve vztahu k bydlišti

Tab. 3: Počet hlášených případů ve vztahu k bydlišti

	Celkem	Muži	Ženy	Děti	z toho	Muži	Ženy
Město	148	33	89	26		16	10
Venkov	138	16	89	33		19	14

Jak ukazuje počet pozitivních případů ve vztahu k bydlišti (dříve uváděn jako rozhodující faktor odlišný způsob života ve městě a na vesnici), není v absolutních hodnotách ve vztahu k toxoplasmóze žádný statisticky významný rozdíl ($\chi^2 = 2,07, P = 0,15$). Dříve bylo uváděno, že těsnější vztah k přírodě má zásadní epidemiologický význam. Přepočteme-li ale nemocnost na 100 000 obyvatel, dostaneme se na výrazný rozdíl v nemocnosti městské populace oproti venkovské.

Tab. 4: Nemocnost populace přepočtená na 100 000 obyvatel.

	Město	Venkov
Muži	61,4	10,3
Ženy	114,9	29,4

Počet hlášených žen převažuje. Počet pozitivních dětí asi 3x, počet pozitivních mužů asi 4x. Venkovská populace byla z okresů Plzeň-jih (PJ), Plzeň-sever (PS) a Rokycany (RO). Jako městští pacienti jsou v naší studii vykazováni pouze obyvatelé města Plzně. Stejně rozdělení platilo i při realizaci tzv. sérologických přehledů prováděných SZÚ v Praze. V tomto souboru jsou tedy ženy většinou klinicky bezpříznakové a vysoké titry (podléhající hlášení) jsou odhaleny při těhotenském skríninku.

6.3.2. Počet případů dle nejpravděpodobnějšího zdroje infekce

Tab. 5: Počet případů dle nejpravděpodobnějšího mechanismu přenosu

	Celkem	Muži	Ženy	Děti	z toho	Muži	Ženy
Strava	40	5	34	1		1	0
Kontakt se zvířaty	133	16	67	50		28	22
Neuvedeno	113	28	76	9		4	5

Jak se ukazuje, vliv požívání nedostatečně tepelně upraveného masa ustupuje do pozadí za uváděný kontakt se zvířaty. Z „Listů epidemiologického šetření“ lze velmi těžko rozlišovat „kontakt se zvířetem“ a „práci na zahrádce“. Většina lidí toto uváděla vždy současně. Tento možný způsob nákazy uvádí zhruba 3x vyšší počet pacientů.

To je poněkud v rozporu s trendem vyššího počtu onemocnění ve městě. Možná začíná ustupovat kontakt se zvířaty hospodářskými a převažuje městský chov koček.

Přibližně stejný počet lidí si neuvědomuje žádnou z výše uvedených možností. To je problém asi u většiny epidemiologických šetření. Srovnáme-li navzájem období 1996-2000 s obdobím 2001-2004 nezjistíme žádný statisticky významný rozdíl ($\chi^2=0,21$, $P=0,64$). Stejný výsledek dostaneme při srovnání obou pohlaví ($\chi^2=0,18$, $P=0,66$).

6.3.3 Rozdělení dle formy onemocnění

Tab. 6: Rozdělení dle forem onemocnění

	Celkem	Muži	Ženy	Děti	z toho	Muži	Ženy
Uzlinová	194	47	91	56		26	30
Latentní	63	0	63	0		0	0
Gynekol.	13	0	13	0		0	0
Oční	3	0	2	1		0	1
Ostatní	13	1	9	3		2	1

Velkých chyb se klinici nedopouštějí při zaslání materiálu na vyšetření protilátek proti toxoplasmóze při konkrétním podezření na toto onemocnění. Do této oblasti spadají všechny formy uzlinové a oční u mužů a dětí.

Zpočátku byl problém se zařazením formy u těhotných žen. Gynekologové se dopouštěli chyb a přiřazovali některým ženám vyšetřeným v graviditě formu gynekologickou nebo dokonce „primoinfekce“ v graviditě. Obě dvě zařazení jsou nesprávná. Je-li v graviditě u ženy toxoplasmóza diagnostikována a nemá-li klinické příznaky, má být hlášena jako forma latentní nebo latentní v graviditě.

6.3.4 Sezónnost záchytů

U všech sledovaných skupin je nejvyšší záchyt v prvních měsících roku. U žen a dětí dochází ještě k mírnému vzestupu v září.

Rozdělíme-li roky na zimní období (říjen–březen) a letní období (duben–září), dostaneme následující výsledky i v závislosti na způsobu nákazy:

Tab. 7: Počet hlášených případů v období zima/léto v závislosti na možném způsobu nákazy

	Zima (říjen–březen)	Léto (duben–září)
Strava	31	9
Kontakt se zvířaty	65	61
Neuvedeno	72	48
Celkem	168	118

Podíváme-li se na počet případů dle pravděpodobného mechanismu nákazy je rizikový faktor tepelně neupravené maso 3 x častější v zimních měsících. Rozdíl je statisticky významný ($\chi^2=8,36$, $P=0,0038$).

Žádné rozdíly během roku nebyly zjištěny u závislosti na kontaktu se zvířaty.

6.3.5 Srovnání počtů vyšetření a pozitivních osob v období 1996-2000 a 2001-2004

Tab. 8: Počet vyšetřených a pozitivních osob v obdobích 1996-1999 a 2000-2004

Období	1996 - 2000			2001-2004		
Počet vyš.	19 656			17 859		
Poč. osob	15 216			13 606		
	Muži	Ženy	Celkem	Muži	Ženy	Celkem
Počet vyš.	2 749	16 907	19 656	2 171	15 688	17 859
Poč. osob	2 283	12 933	15 216	1 797	11 809	13 606
Negativní	1 433	6 773	8 206 (53,9 %)	1 061	5 736	6 797 (49,9 %)
Pozitivní	850	6 160	7 010 (46,1 %)	736	6 073	6 809 (50,1 %)
1:						
8	269	2 256	2 525	337	2 847	3 184
16	261	2 196	2 457	225	2 129	2 354
32	139	1 116	1 255	99	819	918
Nízké t.	6 237 (88,9 %)			6 456 (94,8 %)		
64	59	308	367	34	154	188
128	24	119	143	13	58	71
Střední t.	510 (7,3 %)			259 (3,8 %)		
256	18	59	77	6	27	33
512	23	37	60	6	20	26
1024	16	28	44	6	16	22
2048	23	26	49	8	3	11
4096	18	15	33	2	0	2
Vysoké t.	263 (3,8 %)			94 (1,4 %)		

7. Nemocnost a počet vyšetřených v jednotlivých věkových skupinách

Následující tabulky ukazují počet vyšetřených lidí (mužů a žen) v jednotlivých věkových skupinách.

U mužů je v jednotlivých skupinách počet velmi stálý bez výrazných výkyvů.

Naopak u žen dochází k markantnímu nárůstu počtu vyšetření v souvislosti s těhotenstvím. (Věkové skupiny 15–19, 20–24, 25–29, 30–39.)

Od tohoto faktu se samozřejmě odvíjí počet zachycených latentních forem onemocnění, kdy ve věkovou skupinou 15–19 dochází ke zlomovému nárůstu v souvislosti s prenatálním skríninkem.

Zajímavostí je posun nejvyšších počtů vyšetření z věkové skupiny 20–24 do skupiny 25–29. Tento zlom nastává kolem roku 2000 a je to následkem prokázaného faktu v naší společnosti - posunu gravidity do pozdějšího věku.

Tab. 9: Počet vyšetřených v jednotlivých věkových skupinách

Muži

VĚKOVÉ SKUPINY											
Rok	0-4	5-9	10-14	15-19	20-24	25-29	30-39	40-49	50-59	60 <	Celkem
1996	27	17	20	20	15	8	14	16	13	9	60
1997	123	77	49	53	43	24	48	46	30	29	522
1998	112	88	58	58	58	29	41	40	33	19	536
1999	113	78	59	64	50	44	50	42	30	22	552
2000	95	48	40	64	46	58	57	42	34	29	513
2001	87	51	44	46	43	43	84	38	15	10	461
2002	84	43	49	40	44	49	48	29	49	31	466
2003	89	40	29	28	39	36	68	48	47	26	449
2004	97	25	25	32	35	52	53	38	36	28	421
Cel.	827	467	373	405	373	343	463	339	287	203	4 080
Poz.	200	225	161	154	162	154	180	135	129	86	1 586
%	24,2	48,2	43,2	38,0	43,4	44,9	38,9	40,0	44,9	42,4	38,9

Ženy

VĚKOVÉ SKUPINY											
Rok	0-4	5-9	10-14	15-19	20-24	25-29	30-39	40-49	50-59	60 <	Celkem
1996	31	15	31	90	408	264	158	31	10	10	1 048
1997	92	49	64	226	991	812	455	80	36	34	2 893
1998	80	64	48	208	973	854	526	78	36	30	2 897
1999	84	45	55	215	958	1 083	572	90	32	25	3 159
2000	69	39	61	153	824	1 102	600	75	37	30	2 990
2001	76	32	42	137	662	1 183	657	86	37	23	2 935
2002	80	32	36	102	509	1 178	939	87	47	27	3 037
2003	69	24	28	75	430	1 132	1 009	94	49	27	2 937
2004	52	19	29	95	438	1 201	936	79	28	23	2 900
Cel.	633	319	394	1301	6 193	8 809	5 852	700	312	229	24 742
Poz.	172	169	239	778	3 179	4 500	2 597	347	157	95	12 233
%	27,2	53,0	60,7	60,0	51,3	51,1	44,4	50,1	50,1	41,5	49,4

8. Přítomnost protilátek u zdravé ženské populace

Vzhledem k tomu, že naše laboratoř nikdy neorganizovala sérologické přehledy, jako vzorek zdravé populace k zjištění přítomnosti protilátek nám posloužil nemalý soubor žen, zaslaných k vyšetření v rámci prenatálního skríninku. Do tohoto souboru byly vybrány všechny ženy s tzv. neinfekční diagnózou:

Tab. 10: Počet vyšetření a pozitivita u těhotných žen

	Počet vyšetření	Počet těhotných žen (%)	Počet „nemocných“ žen (%)
Celkem	25 145	17 850	6 892
Negativní	11 899	9 356 (52,4 %)	3 153 (45,7 %)
Pozitivní	13 246	8 494 (47,6 %)	3 739 (54,3 %)
1:			
8	5 577	3 600	1 503
16	5 192	3 222	1 103
32	1 884	1 300 (95,6 %)	635 (86,6 %)
64	387	258	204
128	131	70 (3,9 %)	107 (8,4 %)
256	43	20	66
512	17	12	45
1024	9	6	38
2048	3	3	26
4096	3	3 (0,5 %)	12 (5,0 %)

Srovnáme-li výskyt protilátek u ženské populace v našem souboru s výsledky celostátních sérologických přehledů v letech 1977, 1983, 1985, 1987 a 1990, zjistíme, že prevalence v jednotlivých okresech je velmi variabilní. V těchto přehledech byly zahrnuty okresy s městským charakterem (Brno, Praha) i venkovským. Prevalence ve venkovských oblastech se pohybovala v rozmezí od 11,3 % (v souboru 17 žen z Chebu) do 68,7 % (90 žen ze Strakonice). Celkem tehdy bylo vyšetřeno 667 žen a 39,9 % bylo pozitivních. Možný vliv používání různých metod je diskutován v kapitole 14 v bodě 4: Rozložení titrů v populaci.

V našem souboru 17 850 žen je pozitivních 8 494, což je 47,6 %. 95,6 % žen vykazovalo nízké titry, 3,9 % titry středních hodnot a jen 0,5 % dosahovalo hodnot vysokých.

I v tomto souboru je patrný stejný trend pozorovaný u celého souboru pacientů. Zatímco v letech 1996–2000 vykazovalo velmi vysoké titry (1:512 – 1:4096) 20 žen, v letech 2001 až 2004 jen 4 ženy.

Srovnáme-li výsledky souboru gravidních žen (s neinfekční diagnózou) se souborem mužské populace (s podezřením na toxoplazmózu), dostaneme se k následujícím číslům:

Tab. 11: Pozitivita u jednotlivých vyšetřovaných skupin

	Muži	Ženy	Těhotné ženy
Negativní	60,5 %	45,7 %	52,4 %
Pozitivita celková	39,5 %	54,3 %	47,6 %
V nízkých titrech	83,9 %	86,7 %	95,6 %
Ve středních titrech	8,2 %	8,3 %	3,9 %
Ve vysokých titrech	7,9 %	5,0 %	0,5 %

Ve skupině vyšetřených mužů převažují (ve srovnání s ženskou populací) střední a vysoké titry. Jejich séra jsou zasílána s podezřením na toxoplazmózu a nebo k jejímu vyloučení.

Těhotné ženy s „neinfekční diagnózou“ odpovídají zdravé populaci, a tak je výskyt těchto hodnot výrazně nižší.

Zajímavá je celková pozitivita. Zatímco u žen ji můžeme brát jako procento promořenosti zdravé populace, u mužů nikoliv.

9. Závěry

1. Při zjišťování prevalence protilátek v populaci lze využít KFR nebo detekci imunoglobulinů IgG. K laboratornímu stanovení diagnózy je i v rutinních laboratořích nutno spektrum rozšířit o detekci specifických imunoglobulinů IgM a IgA. Diagnostické sety musí projít schvalovacím řízením a doporučením NRL.

2. Interpretaci sérologického nálezu musí provádět odborník v této problematice.

3. Toxoplazmová infekce je nejrozšířenějším protozoárním onemocněním v České republice. Výskyt protilátek v populaci je vyšší u žen.

4. Od roku 2000 dochází k postupnému snižování počtu případů onemocnění i snižování vysokých titrů protilátek

5. Musí být věnována větší pozornost při pojmenovávání jednotlivých forem onemocnění.
6. Nebyl prokázán významný rozdíl v přítomnosti protilátek u městské a venkovské populace
7. Onemocnění vykazuje určitou sezónnost s vyšším výskytem v prvních měsících roku. U žen dochází k druhému sezónnímu vrcholu také v podzimních měsících.
8. Nebyla potvrzena teorie, že v současnosti dochází častěji k nákaze z nedostatečně tepelně upraveného masa. Kontakt se zvířetem a hlínou převažuje. Bohužel velké množství pacientů neuvádí žádný z uvedených zdrojů.
9. Pro odhalení hlavních zdrojů infekce pro člověka a z toho plynoucí preventivní opatření jsou nutné cílené studie. Otázkou je, jsou-li v současném zdravotnictví realizovatelné.
10. Vzhledem k velkému počtu latentních forem onemocnění je nutno věnovat více pozornosti toxoplazmóze v těhotenství a předcházet tak poškození plodu.

Klíčová slova: toxoplazmóza a její důležitost, klinické formy, laboratorní diagnostika, prevalence protilátek u mužské a ženské populace, mechanismy přenosu onemocnění.

10. Summary

Toxoplasmosis is one of the most prevalent protozoan diseases in the world. Some regions declare up to 80% presence of antibodies in human population. The prevalence in Czech Republic varies depending on the region between 25%-50%.

The cause of this disease is protozoan *Toxoplasma gondii*. The final host is cat and other felines in which GIT the sexual cycle of this parasite takes place. Human together with other 350 animal species is the intermediate host. In those individuals parasite forms so called tissue cysts in which it could persist for its entire life.

The infection is acquired through undercooked meat or organs of the intermediate host, manipulation with meat or organs of infected individuals, eating of food contaminated with cat feces and/or through contact with contaminated outside environment.

Infection proceeds without any symptoms in 90% of immunocompetent patients. 10% patients display sometimes very various clinical symptoms. The disease is divided into different forms according to prevailing symptoms.

This disease presents a great danger to immunosuppressed patients and pregnant females. In the first group it can cause a serious damage of CNS (Central Nervous System) and in some parts of the world it is one of the most frequent death causes in HIV positive patients. In pregnant females it can cause fetal infection and further variously extensive damage of the fetus or abortion.

Vaccination does not exist and so the preventive measures consist of thorough thermal preparation of food and observance of personal hygiene.

In our study we paid attention to prevalence of toxoplasmosis in Pilsen region and some of its epidemiological aspects.

The serums of males, females and children with clinical diagnosis were tested. Most of the serum samples are from females examined as a part prenatal screening.

All of the serum samples were tested with methods of indirect diagnostics for antibodies in serum - complement fixation reaction (CFR), determination of specific immunoglobulins IgA, IgG and IgM with ELISA reaction.

Total number of 4080 males (1508 boys under 18 yo) and 24742 of females (1765 girls under 18 yo) were tested.

Conclusions:

1. CFR or detection of IgG immunoglobulins can be used for prevalence determination of antibodies in population. Spectrum of laboratory tests needs to be extended of specific immunoglobulins IgM and IgA detection even in routine laboratories. Diagnostic sets must be approved and recommended by National Reference Laboratory.
2. Interpretation of serological finding must be performed by a specialist.
3. Toxoplasmosis infection is the most prevalent protozoan disease in Czech Republic. The prevalence of antibodies is higher in female population.
4. Sequential decrease of disease cases and decrease of high antibodies titre occurs since the year 2000.
5. Greater attention must be paid to naming and division of particular forms of disease.
6. No significant difference was proved in antibodies presence in city and country population.
7. Disease embodies certain season prevalence with higher occurrence in first months of the year. There is a second season peak during the autumn months in female population.

8. Theory, that nowadays the most frequent way to acquire this infection is through uncooked meat, has not been confirmed. The contact with animal and soil prevails. Unfortunately large number of patients do not state any of those given infection sources.

9. Targeted trails are essential for revelation of the main infection sources and resulting preventive measures. The question remains if this task is possible to realize in current health service situation.

10. Due to high number of latent forms of disease, it is essential to pay more attention to toxoplasmosis in pregnancy and prevent the fetal damage.

Key words: Toxoplasmosis and its importance, clinical forms, laboratory diagnostics, antibodies prevalence in male and female population, mechanisms of disease transmission.

11. Literatura autora

Kolářová,L.,Horák,P., Fajfrlík,K. Cercariae of *Trichobilharzia szidati* Neuhaus,1952 (*Trematoda:Schistosomatidae*): the causative agent of cercarial dermatitis in Bohemia and Moravia. Folia Parasitologica, 1992, 39, 287-288. **(IF 0,837, ISI Web of Science citováno 13x).**

Korabečná, M., Liška, V., Fajfrlík, K. Primers ITS 1, ITS2 and ITS 4 Detect the Intraspecies Variability in the Internal Transcribed Spacers and 5,8 S rRNA Gene Region in Clinical Isoletes of Fungi. Folia Microbiologica, 2003, 48, 228-233. **(IF 1,034, ISI Web of Science citováno 2x).**

Kolářová,L.,Horák,P., Fajfrlík,K. Cercariae of *Trichobilharzia szidati* Neuhaus,1952 (*Trematoda:Schistosomatidae*): the causative agent of cercarial dermatitis in Bohemia and Moravia. Folia Parasitologica, 1992, 39, 287-288.

Zavázalová, E., Fajfrlík, K., Zavázal, V., Levinka, J. Vyšetřování klíšťat v západních Čechách na přítomnost spirochety *Borrelia burgorferi*. Srovnání mikroskopické detekce a polymerázové řetězové reakce. Česko-slovenská dermatologie, 1997, 1, 8-10.

Brejchová, H., Špidlenová, A., Táborská J., Fajfrlík, K. Těhotenství a toxoplasmóza. Praktický lékař, 1997, 8,376-378.

Virtová, S., Táborská, J., Šebor, J., Chudáček, Z., Fajfrlík, K., Nohýnková E. Jaterní absces. Praktický lékař, 1998, 3, 122-124.

Virtová, S., Táborská, J., Valchová, M., Fajfrlík, K. Salmonelózy a kampylobakterií u dospělých. Praktický lékař, 1998, 6, 295-298.

Fajfrlík, K., Brejchová, H. Zkušenosti s vyšetřováním těhotných žen na přítomnost protilátek proti *Toxoplasma gondii*. Klinická mikrobiologie, 1998, 7, 227-229.

Špidlenová, A., Táborská, J., Brejchová, H., Fajfrlík, K. Zkušenosti s malárií na Infekční klinice FN v Plzni. Praktický lékař, 1999, 3, 142-145.

Fajfrlík, K., Kolářová, L., Horák P. Zpráva o konferenci. Klinická mikrobiologie, 2000, 6-7, 205.

Korabečná, M., Liška, V., Fajfrlík, K. The intraspecies variability in the internal transcribed spacers and 5.8 rRNA gene region has been found in clinical isolates of fungi using primers IT S1, IT S2 and IT S4. Mycoses 44, 2001, 1, 38.

Špidlenová, A., Táborská, J., Fajfrlík, K. Opakovaná onemocnění malárií u cestovatele – význam profylaxe. Praktický lékař, 2002, 82/2, 87-89.

Brejchová, H., Špidlenová, A., Fajfrlík, K., Fidranská, H. Oční toxoplazmóza. Praktický lékař, 2002, 82/9, 538-540.

Korabečná, M., Liška, V., Fajfrlík, K. Možnosti aplikace molekulárně genetických metod v lékařské mykologii. Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie, 2003, 1, 25-33.

Abstrakta z kongresů

Fajfrlík, K. Spolupráce mikrobiologa a infektionisty. Sborník referátů z celostátní konference infektionistů, 1998, 4-5.

Špidlenová, A., Brejchová, H., Fajfrlík, K. Střevní helmintózy a jejich rizika. Sborník referátů z celostátní konference infektionistů, 1998, 51.

Šmírová, V., Fajfrlík, K. Snaha o komplexní laboratorní diagnostiku legionářské nemoci.

Sborník referátů, Tomáškovy dny, 1999, 7.

Špidlenová, A., Fidranská, H., Fajfrlík, K. Toxoplazmóza - oční forma. České a slovenské parazitologické dny. Sborník referátů, 2000, 58.

Fajfrlík, K., Ledvinka, J., Kropáčková, J. Výskyt borelií v klíšťatech v západních čechách. České a slovenské parazitologické dny. Sborník referátů, 2000, 64-65.

Fajfrlík, K., Ledvinka, J., Kropáčková, J. Vyšetřování klíšťat na borelie. Slezské dny preventivní medicíny. Sborník referátů, 2001, 22-23.

Jelínková, H., Pazdiora, P., Švecová, M., Fajfrlík, K., Čertíková, G., Bícová, R. Sledování etiologie pneumonií ve FN Plzeň. Sympozium „Chřipka a možnosti její prevence II“, Praha. Sborník přednášek, 2001, 15. Špidlenová, A., Virtová, S., Novák, I., Táborská, J., Fajfrlík, K. Cerebrální forma tropické malárie. VI. Česko-slovenský kongres o infekčních chorobách, Mikulov, Sborník přednášek, 2001, 8.

Fajfrlík, K., Špidlenová, A., Brejchová J.: Diagnostika malárie ve FN Plzeň. Slovenské a české parazitologické dny. Sborník referátů, 2002, 19.

Fajfrlík, K., Brůha, F., Pešek, M., Mukenšnabl, P., Klečka, J., Chudáček, Z. Importovaná echinokoková cysta. Sborník referátů ČS parazitologických dnů, 2004, 15.

Fajfrlík, K., Beneš, Č., Kodým, P. Kongenitální toxoplasmóza. Sborník referátů celostátního sjezdu mikrobiologů a epidemiologů. Olomouc, 2004.

Fajfrlík, K. Plicní helmintózy. Sborník referátů ze semináře „Atypické lidské helmintózy“, 2006, 15.

12. Výběr použité literatury ve vztahu k řešené problematice

1. Jíra, J., Rosický, B. Imunodiagnostika a epidemiologie toxoplasmózy. Praha: Academia, 1983. 262 s.
2. Janků, J. Patogeneza a patologická anatomie tak nazvaného vrozeného kolobomu žluté skvrny v oku normálně velikém, mikrophtalmickém s nálezem parazitů v sítnici. Čas. Lék. Čes., 1923, 16, 479.
3. Hutchison, W. M., Work, K. Observations on the fecal transmission of *Toxoplasma gondii*. Acta. path. microbiol. scand., 1969, 77, 2, 275-282.
4. Hutchinson, W. M., Dunachie, J. F., Siim, J. et. al. Coccidian-like nature of *Toxoplasma gondii*. Brit. med. J., 1970, 272, 1, 142-144.
5. Frenkel, J. K., Dubey, J. P., Miller, N. L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. Science, 1970, 167, 893-896.

6. Naot, Y., Remington, J. S. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: Use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. *J. Infect. Dis.*, 1980, 142, 5, 757-766.
7. Arcavi, M., Orfus, G., Griemberg, L. Diagnosis of toxoplasmosis by joint detection of immunoglobulin A and immunoglobulin G. *J. Clin. Microbiol.*, 1997, 35, 6, 1450-1453.
8. Levine, N. D., Corliss, J. O., Cox, F. E. G. et. al. A newly revised classification of the protozoa. *J. Protozool.*, 1980, 27, 37.
9. Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Speer, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1998, 11, 267-299.
10. Ngo, H. M., Hoppe, H. C., Kliner, K. A. Differential sorting and post-secretory targeting of proteins in parasitic invasion. *Trends Cell Biol.*, 2000, 10, 67-72.
11. Ajzenberg, D., Cogne, N., Paris, L., et. al. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. *J. Infect. Dis.*, 2002, 186, 684-689.
12. Hutchinson, W. M., Dunachie, J. F., Work, K. et. al. The life cycle of the coccidian parasite *Toxoplasma gondii* in the domestic cat. *Trop. Med. Hyg.*, 1971, 65, 3, 380-399.
13. Dubey, J. P., Frenkel, J. K. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J. Protozool.*, 1972, 19, 155-157.
14. Dubey, J. P., Frenkel, J. K. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of toxoplasma cysts. *J. Protozool.*, 1976, 23, 537-546.
15. Dubey, J. P. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. *J. Parasitol.*, 1996, 82, 957-960.
16. Dubey, J. P., Graham, D. H., Blackston, C. R. Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from Sao Paulo, Brazil: unexpected findings. *Int. J. Parasitol.*, 2002, 32, 99-105.
17. Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Speer, C. A. Structure of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites, and biology and development of tissue cysts. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1998, 11, 267-299.
18. Wong, S. Y., Remington, J. S. Biology of *Toxoplasma gondii*. *AIDS*, 1993, 7, 299-316.
19. Luft, B., Remington, J. S. AIDS commentary: toxoplasmic encephalitis in AIDS.

- Clin. Infect. Dis., 1992, 15, 211-222.
20. Thalhammer, O. Congenital toxoplasmosis. *Lancet*, 1962, 278, 23-24.
 21. Larsen, J. W. jr. Congenital toxoplasmosis. *Teratology.*, 1977, 15, 2, 213-217.
 22. McNicholl, B. Acquired toxoplasmosis in children. *Arch. Dis. Child.*, 1978, 53, 5, 414-416.
 23. Havlík, J. et al. *Infekční nemoci*. Praha: Galén, 1998, 221 s.
 24. Bowie, W. R., King, A. S., Werner, D. H., et al. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *Lancet*, 1997, 350, 173-177.
 25. Burnett, A. J., Shortt, S. G., Issac-Renton, J., et. al. Multiple cases of acquired toxoplasmosis retinitis presenting in an outbreak. *Ophthalmology*, 1998, 105, 1032-1037.
 26. Brooks, R. G., Remington, J. S. Transplant-related infection. In: Bennett, J.V., Brachman, P.S. *Hospital infections*, 2nd edition. Boston. Little, Brown and Co., 1986, 581-586.
 27. Israelski, D. M., Remington, J. S. Toxoplasmosis in the non-AIDS immunocompromised host. In: Remington, J., Swartz, M. *Current clinical topics in infectious diseases*. London. Blackwell Scientific publications, 1993, 322-356.
 28. Raisanen, S. A. The importance of trophozoites in transmission of toxoplasmosis: survival and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* trophozoites in liquid media. *Med. Hypothese*, 1978, 4, 367-375.
 29. Foulon, W., Naessens, A., Volkaert, M. L. Congenital Toxoplasmosis: a prospective study in Brussels. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1984, 91, 419-423
 30. Ruoss, C., F., Bourne, G., L. Toxoplasmosis in Pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1972, 79, 1115-1118.
 31. Broadbent, E., J., Ross, R., Hurley, R. Screening for Toxoplasmosis in pregnancy. *J. Clin. Pathol.*, 1981, 34, 659-664.
 32. Williams, K., A., B., Scott, J., M., MacFarlane, D., E. et. al. Congenital Toxoplasmosis a prospective in the West of Scotland. *J. Infect.*, 1981, 3, 219-229.
 33. Desmots, G., Couvreur, J. Toxoplasmosis in Pregnancy and its transmission to the fetus. *Bull. N.Y. Acad. Med.*, 1974, 50, 146-159.
 34. Jones, J. L., Lopez, A., Wilson, M. et. al. Congenital toxoplasmosis: a review. *Obstet. Gynaecol. Surv.*, 2001, 56, 296-305.
 35. Jírovec, O. *Parazitologie pro lékaře*. Praha. Avicenum, 1977, 798 s.
 36. Dubey, J. P. Feline toxoplasmosis and coccidiosis: a survey of domiciled and stray

- cats. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1973, 162, 873-877.
37. DeFeo, M. L., Dubey, J. P., Mather, T. et.al. Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. Am. J. Vet. Res., 2002, 63, 1714-1717.
 38. Claus, G. E., Christie, E., Dubey, J. P. Prevalence of Toxoplasma antibody in feline sera. J. Parasitol., 1977, 63, 266.
 39. Janitschke, K., Kühn, D. Toxoplasma-oozysten in Kot natürlich infizierter Katzen. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1972, 85, 46-47.
 40. Pampiglione, S., Poglajen, G., Arnone, B., et.al. *Toxoplasma gondii* oocysts in the faeces of naturally infected cat. Br. Med. J., 1973, 2, 306.
 41. Rifaat, M. A., Arafa, M. S., Sadek, M. S. M., et.al. Toxoplasma infection of stray cats in Egypt. J. Trop. Med. Hyg., 1976, 79, 67-70.
 42. Zástěra, M., Pokorný, J., Frühbauer, Z. et. al. Antigenní analýza *Toxoplasma gondii*. Závěrečná zpráva IHE. Praha, 1980, 35 s.
 43. Svobodová, V., Svoboda, M. Výskyt oocyst *Toxoplasma gondii* v trusu koček. Vet. Med., 1986, 10, 621-627.
 44. Beneš, Č. Hlášení infekčních onemocnění v České republice. EPIDAT.
 45. Dubey, J. P., Kotula, A. W., Sharah, A. et. al. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. J. Parasitol., 1990, 76, 201-204.
 45. Kotula, A. W., Dubey, J. P., Sharah, A. K. et.al. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. J. Food Protect., 1991, 54, 687-690.
 47. Sherma, S. P., Dubey, J. P. Quantitative Survival of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites and Bradyzoites in Pepsin and Trypsin Solutions. Am. J. Vet. Res., 1981, 42, 128-130.
 48. Smith, J. L. Documented Outbreaks of Toxoplasmosis: Transmissions of *Toxoplasma gondii* to Humans. J. Food Protection, 1993, 7, 630-639.
 49. Cutchins, E. C., Warren, J. Immunity patterns in the guinea pig following toxoplasma infection and vaccination with killed Toxoplasma. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1956, 5, 197.
 50. Krahenbuhl, J. L., Ruskin, J., Remington, J. S. The use of killed vaccines in immunization against an intracellular parasite: *Toxoplasma gondii*. J. Immunol., 1972, 108, 425.
 51. Kierszenbaum, F. Parasitic infections and the Immune system. London: Academic Press, 1994. 254 s. ISBN 0-12-406575-9.
 52. Eisenhauer, P., Mack, D. G., McLeod, R. Prevention of peroral and congenital

- acquisition of *Toxoplasma gondii* by antibody and activated macrophages. Infect. Immun., 1988, 56, 83-87.
53. Sayles, P. C., Gibbon, G. W., Johnson, L. L. B cells are Essentials for vaccination-induced resistance to virulent *Toxoplasma gondii*. Infect. Immun., 2000, 68, 1026-1033.
 54. Gazzinelli, R. T., Hieny, S., Winn, T. A. et.al. Interleukin 12 is required for the T-lymphocyte-independent induction of interferon gama by an intracellular parasite and induces resistance in T-cell deficient hosts. Proc. Natl. Acad. Sci.USA, 1993, 90, 6115-6119.
 55. Gazzinelli, R. T., Hakim, F. T., Hieny, S. et. al. Synergistic role of CD4+ and CD8+ lymphocytes in INF-gama production and protective imunity induced by an attenuated *Toxoplasma gondii* vaccine. J. Immunol., 1991, 146, 286-292.
 56. Gazzinelli, R. T., Amichay, D., Scharton-Kersten, T. et. al. Role of macrophage-derived cytokines in the induction and regulation of cell mediated imunity to *Toxoplasma gondii*. Curr. Top .Microbiol. Immunol., 1996, 219, 127-140.
 57. Konishi, E. Naturally occurring antibodies that react with protozoan parasites. Immunol. Today, 1993, 9, 361.
 58. Chardes, T. I., Bourguin, M. N., Mevelec, J. F. et.al. Antibody responses to *Toxoplasma gondii* in sera, intestina secretions and milk from orally infected mice and characterization of target antigens. Infect. Immun., 1990, 58, 1240-1246.
 59. Mineo, J. R., McLeod, R., Mack, D. et. al. Antibodies to *Toxoplasma gondii* major surface protein (SAG-1, P30) inhibit infection of host cells and are produced in murine intestine after peroral infection. J. Immunol., 1993, 150, 3951-3964.
 60. Montoya, J. G., Lowe, K. E., Clayberger, C. et.al. Human CD4+ and CD8+ T lymphocytes are both cytotoxic to *Toxoplasma gondii*-infected cells. Infect. Immun., 1996, 64, 176-181.
 61. Prigione, I., Facchetti, P., Ghiotto, F. et.al. *Toxoplasma gondii* – specific CD4+ T cells from healthy, infected humans display a Th0 profile of cytokine secretion. Eur. J. Immunol., 1995, 25, 1298-1305.
 62. Turner, M. B., Berens, R. L., Nash, P. B. et.al. CD4-mediated and CD8-mediated cytotoxic and proliferative immune response to *Toxoplasma gondii* in seropositive humans. Infect. Immun., 1996, 64, 4330-4338.
 63. Gratzl, R., Hayde, M., Kohlhauser, C. et.al. Follow-up of Infants with Congenital Toxoplasmosis Detected by Polymerase Chain Reaction Analysis of Amniotic

- Fluid. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1998, 17, 853-858.
64. Guy, C. E., Pelloux, H., Lappalainen, M. et.al. Interlaboratory Comparison of Polymerase Chain Reaction for the Detection of *Toxoplasma gondii* DNA Added to Samples of Amniotic Fluid. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1996, 15, 836-839.
 65. Pujol-Riqué, M., Derouin, F., García-Quintanilla, A. et.al. Design of a one-tube hemi-nested PCR for detection of *Toxoplasma gondii* and comparison of three DNA purification methods. J. Med. Microbiol., 1999, 48, 857-862.
 66. Sabin, A. B., Feldman, H. A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science, 1948, 108, 660-663.
 67. Naot, Y., Remington, J. S. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*. Use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. J. Infect. Dis., 1980, 142, 5, 757-766.
 68. Valkoun, A., Štefánik, M., Nádvorník, V. et.al. Diagnostika získané toxoplasmózy pomocí simultánního stanovení specifických imunoglobulinů třídy M,A a E. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 1995, 44, 107-110.
 69. Lappalainen, M., Koskela, P., Koskiniemi, M., et.al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: Improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Infect. Dis., 1993, 167, 691-697.
 70. Kodým, P., Tolarová, V. Triplet IgG-avidity test for diagnosis of toxoplasmosis. Abstract VIII. European Multicolloquium of parasitology. Acta Parasitologica, 2000, 45, 3, 136.
 71. Chumpitazi, F. F., Boussaid, A., Pelloux, H. et.al. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by immunoblotting and relationship with other methods. J. Clin. Microbiol., 1995, 33, 6, 1479-1485.
 73. Voller, A., Bidwell, D. E., Bartlett, A. et.al. Microplate Enzyme Immunoassay for *Toxoplasma* Antibody. J. Clin. Path. 1976, 29, 150-153.
 74. Kodým, P., Tolarová, V. Návrh standardních diagnostických metodik: schéma postupů vyšetřování na toxoplasmózu. Zprávy CEM, 1997, 6, 9, 27-28.
 75. Kodým, P., Tolarová, V. Vyšetřování na toxoplasmózu a interpretace výsledků: komentář k návrhu standardních metodik. Zprávy CEM, 1997, 6, 10, 26-29.
 76. Zástěra, M., Pokorný, J., Jíra, J., et.al. Standardní metodiky laboratorní diagnostiky toxoplasmózy. Act. Hyg. Microbiol., 1979, 25, 4577-5815.
 77. Pokorný, J., Frühbauer, Z., Tomášková, V., et.al. Stanovení antitoxoplazmických

protilátek IgM metodou ELISA. Čs. Epidem., 1990, 39, 57-62.

78. Zástěra, M., Pokorný, J., Švandová, E. Imunologický přehled toxoplasmózy ČSR – 1985. Act. Hyg. Microbiol. 1987, 7, 80-92.

13. Poděkování

Děkuji svému školiteli doc. MUDr. Petrovi Pazdiorovi, CSc. Za velmi cenné připomínky a poskytnuté informace z oblasti epidemiologické práce.