

## The diagnostic procedures in toxoplasmosis

Ondriska F, Jalili NA, Catar G

### Postupy v laboratórnej diagnostike toxoplazmózy

#### Abstract

Ondriska F, Jalili NA, Catar G:  
The diagnostic procedures in toxoplasmosis  
Bratisl Lek Listy 2000; 101 (5): 294–301

Toxoplasmosis is a world-wide spread parasitosis. The disease potentially highly affects two groups of patients: foetus and immunosuppressed patients. The determination of diagnosis and therapy on the basis of a single serum examination is very important; possible on the basis of a single serum sample. In most cases, it is possible to differentiate between recent and latent infections using a combination of suitable methods, which permit us to confirm particular antibody classes. In the presented paper the authors suggest diagnostic procedures for 4 groups of patients: pregnant, neonates with suspected congenital toxoplasmosis, immunodeficient patients and immunocompetent patients. The diagnostic methods consist of a combination of basic and supplemented diagnostic methods. Each patient's serum should be tested by basic tests which include the detection of total antibodies with CFT or IFT and specific classes of IgM and IgG antibodies by ELISA. The potential activity of toxoplasma infection can be determined by supplementary methods of e.g. IgG avidity antibodies, establishment of IgA antibodies, western blotting method and monitoring of antibodies production.

For each situation the authors present interpretations of suspected cases including proposals for clinicians. These procedures are suggested for practical use in laboratories of various diagnostic levels in order to help to the diagnostic procedures in a particular situation as well as for clinical evaluation of established results. (Fig. 4, Ref. 65).

**Key words:** avidity IgG, diagnosis, ELISA, IFA, CFT, *Toxoplasma gondii*, diagnostic methods.

Toxoplazmóza je jedno z najrozšírenejších parazitárnych ochorení ľudí, ktorých pôvodcom je protozoárny parazit *Toxoplasma gondii*. Vyskytuje sa prakticky na celom svete a pretože nie je

HPL, GmbH, Bratislava. [bl@fmed.uniba.sk](mailto:bl@fmed.uniba.sk)

Institute of Parasitology, and Institute of Medical Biology, School of Medicine, Comenius University, Bratislava

**Address for correspondence:** F. Ondriska, RND, HPL, GmbH, Istrijska 20, SK-841 07 Bratislava, Slovakia.  
Phone: +421.7.6477 4004

#### Abstrakt

Ondriska F., Jalili N.A., Čatár G.:  
Postupy v laboratórnej diagnostike toxoplazmózy  
Bratisl. lek. Listy, 101, 2000, č. 5, s. 294–301

Toxoplazmóza je parazitóza rozšírená na celom svete a potenciálne vysoko ohrozuje predovšetkým dve skupiny osôb: plod a imunosuprimovaných pacientov. Z diagnostického a terapeutického hľadiska je veľmi dôležité určenie štádia toxoplazmovej infekcie pokiaľ možno z vyšetrenia jednej vzorky séra. Vo väčšine prípadov kombináciou vhodných testov umožňujúcich dokázať jednotlivé triedy protilátok možno odlišiť čerstvú infekciu od neaktívnej (latentnej). V predkladanej práci autori navrhujú postupy vyšetrovania pre 4 skupiny pacientov: tehotné ženy, novorodencov s podozrením na kongenitálnu toxoplazmózu, pacientov s poruchami imunity a imunokompetentných pacientov. Vyšetrovacie postupy spočívajú v kombinácii základných a doplnujúcich (nadstavbových) vyšetrovacích metód. Každý pacient musí byť vyšetrený základnými testmi, ktoré pozostávajú v dôkazke celkových protilátok metódou RVK, alebo IFT a špecifických tried protilátok IgM a IgG testom ELISA. Potencionálnu aktivitu toxoplazmového infektu determinovanú dôkazom protilátok v základnom vyšetrení identifikujeme doplnujúcimi metódami dôkazu avidity IgG protilátok, stanovením triedy IgA protilátok, metódami Western-blotu a sledovaním dynamiky protilátkovej tvorby. Pre jednotlivé situácie autori uvádzajú interpretáciu nálezu s odporúčaním pre klinického pracovníka. Vypracované postupy sú určené pre rutinné pracoviská s rôznou úrovňou diagnostiky ako pomôcka pri voľbe diagnostického postupu v konkrétnej situácii, ako aj pre orientáciu klinických pracovníkov vo výsledkoch laboratórnych vyšetrení. (Obr. 4, lit. 65.)

**Kľúčové slová:** avidita IgG, diagnostika, ELISA, IFT, RVK, *Toxoplasma gondii*, toxoplazmóza, vyšetrovacie metódy.

druhuvo špecifický, postihuje okrem človeka široké spektrum domácich i divožijúcich zvierat. V našich podmienkach prišlo do kontaktu s toxoplazmózou približne 40 % dospelých osôb (Čatár

HPL, spol. s r.o., Bratislava, Parazitologický ústav Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave a Ústav lekárskej biológie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave

**Adresa:** RNDr. F. Ondriska, HPL, s.r.o., Istrijská 20, 841 07 Bratislava.

a spol., 1998; Jalili a spol., 1998). Výskyt akútnej toxoplazmózy v SR je 250—350 prípadov ročne. Roku 1991 bolo na Slovensku hlásených 317 ochorení. Je to najvyšší hlásený počet ochorení v období od roku 1982, v ktorom bol výskyt od 158 roku 1982 do 307 roku 1986 (Surveillance, 1987).

Pri väčšine postnatálnych infekcií u zdravých imunokompetentných osôb prebieha toxoplazmová infekcia asymptomaticky, a to napriek tomu, že parazit prežíva v hostiteľskom organizme po celý jeho život. Ako patogén má pre človeka význam pri transplantárnom prenose, ku ktorému dochádza pri primoinfekcii v gravidite zvyčajne zdravej ženy. Pokiaľ je plod infikovaný v prvom trimestri, dochádza k jeho vážnemu poškodeniu, ktoré sa môže skončiť abortom, alebo sa ochorenie môže u narodených detí manifestovať najčastejšie vo forme poškodenia CNS (hydrocefalus, encefalomyelitída, mikrocefália, cerebrálne kalcifikácie) a oka (mikroftalmia, chorioretinitída a iné poškodenia) (Bednář a spol., 1996; Nusselblat a Belfort, 1994; Casenave a spol., 1992; Cvetkovič a spol., 1998; Dannemann a spol., 1991; Dubey, 1994; Feldner, 1991; Kouba a spol., 1974; Schneider, 1995). Ďalšou ohrozenou skupinou sú imunosuprimovaní pacienti (onkologickí pacienti, pacienti HIV-positívni, pacienti s transplantáciami a pod.), ktorých potenciálne ohrozuje reaktivácia latentnej alebo chronickej toxoplazmózy (Feldner, 1991; Fachado a spol., 1997; Luft a spol., 1983).

Diagnostika toxoplazmózy je na základe klinických príznakov problematická, pretože nie je typický žiaden klinický príznak, ktorý by jednoznačne umožnil určiť diagnózu. Preto je často limitujúcim faktorom overenia klinickej diagnózy iba laboratórne vyšetrenie. Z hľadiska terapie je významná predovšetkým včasnosť diagnostiky a určenie štádia ochorenia. Možno ho dosiahnuť kombináciou rozličných testov umožňujúcich porovnať dynamiku tvorby protilátok jednotlivých tried.

Pretože metódy priameho dôkazu toxoplazmiem sú veľmi náročné a bežne u nás zatiaľ nie sú dostupné, laboratórna diagnostika toxoplazmózy sa opiera predovšetkým o nepriamy dôkaz, ktorý spočíva v sérodôkaze toxoplazmových protilátok v sére suspektných osôb.

V našich podmienkach sa rutinná diagnostika toxoplazmózy robí prevažne v mikrobiologických laboratóriách. Zásluhou metodologickej nekoordinovanosti (chýba funkčné referenčné pracovisko) sa robí na rôznej odbornej úrovni, rozličnou škálou diagnostických testov rôznej proveniencie. Navyše sa vplyvom stále rastúcej automatizácie laboratórnej diagnostiky a v nemalej miere aj „ekonomicky motivujúcim“ bodovým ohodnotením dostáva do vyšetrovacieho sortimentu napr. biochemických laboratórií. V každom prípade je nevyhnutné, aby sa laboratórna diagnostika toxoplazmózy, vrátane interpretácie výsledkov, bola zverila do rúk vysokoerudovaného odborníka, najlepšie parazitológa.

Keďže sérodiagnostika toxoplazmózy je komplikovaná problematika, vzhľadom na uvedené skutočnosti sme si v predkladanej práci dali za cieľ vypracovať algoritmy vyšetrovania toxoplazmózy v rôznych situáciách v rôznych skupinách pacientov s vberom diagnostických testov a interpretáciou nálezov.

## Metódy vyšetrovania

1. Základná skriningová metóda pre vyšetrovanie toxoplazmózy je *reakcia viazacia komplement (RVK)*, ktorou sa vyšetruje kaž-

dé sérum (Kodym a Tolarová, 1996; Kol. autorov, 1979; Standardní metodiky, 1979, 1987; Sýkora a spol., 1992). Protilátky sa začínajú objavovať o 1—3 týždne po nákuze s maximom asi o 5—6 mesiacov. Potom postupne klesajú a pretrvávajú v stredných, resp. nízkych titroch často celý život. Napriek nevýhode tejto reakcie, ktorá spočíva v nemožnosti odlišenia protilátok triedy IgG, IgM, IgA, sú výsledky získané RVK dobre reprodukovateľné, štandardné, reakcia má dlhoročnú tradíciu, opakované vyšetrenie umožňuje dobre sledovať dynamiku tvorby protilátok. V indikovaných prípadoch môže byť reakcia väzby komplementu doplnená alebo nahradená.

2. *Nepriama imunofluorescenčná reakcia (IFT)* sa používa jednak na určenie hladiny celkových protilátok (Ig) a na určenie špecifických IgM-protilátok (Tuma a spol., 1994). Obe metódy (RVK a IFT) dobre korelujú. Protilátky triedy IgG, IgA, IgM (IgE) sa určujú metódami:

3. *Sabin a Feldmanov test (Dye test)* (Sabin a Feldman, 1948), ktorý je založený na princípe farbitelnosti a zmeny morfológie živých virulentných trofozoitov alkalickým roztokom metylénovej modrej vplyvom protilátok za prítomnosti aktivátora. Je to metóda veľmi citlivá a špecifická. Deteguje protilátky 1—2 týždne po expozícii, vrchol dosahujú o 8 týždňov. Nízke hladiny môžu perzistovať po celý život (Barker a Holliman, 1992). U nás sa vzhľadom na metodickú náročnosť a predovšetkým prácu so živými kmeňmi v diagnostike toxoplazmózy nepoužíva.

4. *Imunoenzýmového stanovenia EIA testy — ELISA*. Jednotlivé triedy protilátok majú odlišnú kinetiku tvorby a sú markermi jednotlivých štádií ochorenia (Dannemann a spol., 1991; Feldner, 1991; Holková a spol., 1988; Naser a spol., 1995; Nemeč a spol., 1986; Tuma a spol., 1994). Protilátky triedy IgG dosahujú vrchol po pol roku od začiatku akútneho ochorenia, pretrvávajú vo vysokých hladinách niekoľko mesiacov, v nízkych počas celého života. Protilátky triedy IgM vymiznú do 9 mesiacov. Protilátky triedy IgA majú diagnostický význam pre detekciu kongenitálnej toxoplazmózy, reaktivácie infekcie, určenie recentnej infekcie u tehotných žien (Naser a spol., 1995). Vymiznú obyčajne do 3 mesiacov od začiatku akútnej fázy infekcie. Porovnaním hladín jednotlivých kategórií protilátok možno vo väčšine prípadov odlišiť akútne a chronické nákazy.

5. *Test avidity protilátok IgG*. Dôkaz protilátok tried IgA, IgM, resp. IgE nie je vždy absolútne spoľahlivým kritériom určenia štádia toxoplazmového ochorenia najmä pri primoinfekciách. Diagnostické rozpaky spôsobuje dlhodobé pretrvávanie protilátok IgM a IgA (približne u 10 % prípadov prekonanej toxoplazmózy počas viac ako 3 rokov) (Bobic a spol., 1991). Test avidity ponúka ďalšiu možnosť odlišenia štádia infekcie. Je založený na princípe merania pevnosti väzby protilátky k antigénu, ktorá je na začiatku infekcie slabšia (diagnostikujeme nízko — avidné protilátky), v priebehu tvorby imunitnej odpovede avidita protilátok narastá (Hedman a spol., 1989; Holliman a spol., 1994; Lappalainen a spol., 1993; Ondriska a spol., 1998; Vinhal a spol., 1998).

6. *PCR techniky* možno výhodne použiť pri vyšetrovaní kongenitálnych nákaz vo vzorkách krvi, likvoru, BAL, s diagnózou cerebrálna toxoplazmóza, akútna lymfadenopatia, diseminovaná toxoplazmóza u imunosuprimovaných pacientov (Angel a spol., 1997; Blanco a spol., 1992; Bottone, 1991; Bretagne a spol., 1995; Casenave a spol., 1992; Dupouy-Camet a spol., 1993; Robert a spol., 1996).

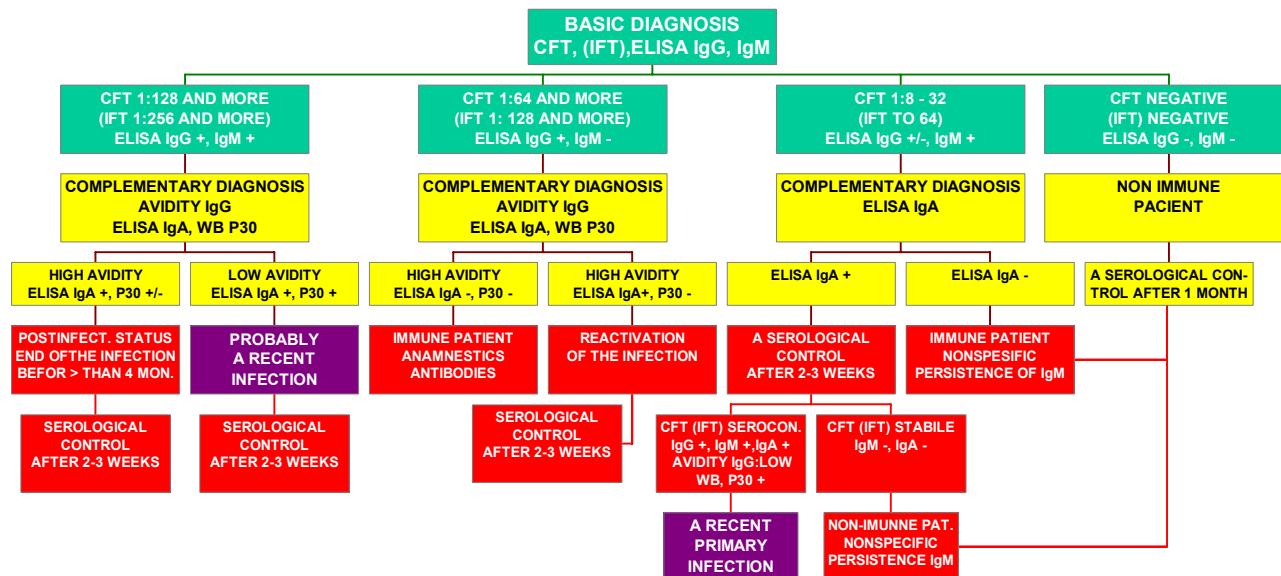


Fig. 1. Serological monitoring during pregnancy.  
Obr. 1. Sérologické monitorovanie v tehotnosti.

7. *Proteínová analýza IgG a IgM protilátok metódami imunoblotu.* Ukazuje sa výhodná pre rozlíšenie akútnej a chronickej fázy toxoplazmovej infekcie. Zakladá sa na poznatku, že tachyzoity exprimujú hlavný povrchový antigén značený P30, ktorý navodzuje imunoreaktivitu IgM-protilátok v skorých štádiách toxoplazmovej infekcie. Pre chronické štádium je charakteristická prítomnosť 12 kDa proteínu detegovateľného imunoglobulínmi triedy IgG (Galvan-Ramirez a spol., 1998; Gross a spol., 1992).

8. *Priamy dôkaz parazita vo vyšetrovanom biologickom materiáli* (krv, exstirpovaná uzlina, placenta, plodová voda, likvor, atď.). Vykonáva sa predovšetkým izoláčnym pokusom na bielych myšiach (Garcia a Bruckner, 1997).

#### Diagnostické postupy toxoplazmózy a interpretácia výsledkov

Pretože ochorenie toxoplazmózou môže prebiehať pod rôznym klinickým obrazom, je vo väčšine prípadov problematické určiť diagnózu iba na základe klinického obrazu. Preto je potrebné každý suspektný prípad overiť sérodiagnostickým testom (Kodym a Tolarová, 1996; Kouba a spol., 1974). Z diagnostického hľadiska možno pacientov rozdeliť do niekoľkých kategórií:

1. toxoplazmové primoinfekcie v tehotnosti — prenatálne infekcie,
2. infekcie novorodencov — neonatálne infekcie,
3. imunosuprimovaní pacienti (pacienti s HIV, pacienti s onkologickým ochorením, pacienti v transplantačnom programe a pod.),
4. toxoplazmóza (akvirovaná) u imunokompetentných pacientov.

#### Primoinfekcie v gravidite

Jednou z najrizikovejších skupín, ktoré toxoplazmová infekcia obzvlášť ohrozuje, sú tehotné ženy (obr. 1), predovšetkým pokiaľ sú bez imunity. Keď je žena v gravidite prvýkrát infikovaná,

môže v priebehu akútnej infekcie dôjsť k intrauterinnému prenosu tachyzoitov na plod. Kongenitálne prenesená toxoplazmózová infekcia môže spôsobiť závažné poškodenie plodu, často s celoživotnými dôsledkami. Riziko prenosu je nižšie skôr na začiatku tehotnosti a stúpa až do konca III. trimestra. Závažnosť klinickej manifestácie kongenitálnych nákaz je najväčšia na začiatku gravidity. V I. trimestri a na začiatku II. trimestra hrozí riziko abortu, alebo infekcia má ťažké následky (najznámejšia je triáda príznakov u novorodenca — hydrocefalus, chorioretinitída, kalcifikácia mozgu). Keď je plod infikovaný v III. trimestri, riziko abortu už nehrozí, infekcia plodu môže mať mierne príznaky, alebo vo väčšine prípadov prebehne bez klinických príznakov (Kouba a spol., 1974; Raymond a spol., 1990; Janitschke, 1998).

Sérovyšetrenie treba urobiť na začiatku gravidity, keď je riziko poškodenia plodu toxoplazmovou infekciou najväčšie, základnými testmi RVK, (IFT), ELISA IgG a IgM (Howe a Sibley, 1995). V prípade negatívneho nálezu, pretože nie je vylúčené, že v priebehu tehotnosti sa žena nenakazí toxoplazmózou, je potrebné vyšetrenie opakovať o 1 mesiac, resp. pri ďalšej návšteve v poradni (Palička, 1984). Pri podozrení na primoinfekciu v gravidite je potrebné okrem sérovyšetrenia preveriť základné anamnestické údaje, ako sú: kontakt s mačkou, konzumácia tepelne nedostatočne upraveného, alebo surového mäsa, kontakt s pôdnymi substrátmi a pod. (Janitschke, 1998).

Pokiaľ vykazuje vyšetrenie gravidných žien v testoch RVK (IFT) pozitívitu a vyšetrenie špecifických protilátok IgM, IgA je negatívne, konfirmujeme nález doplnujúcim určením avidity IgG protilátok. Vysokoavidné IgG-protilátky potvrdzujú diagnostický predpoklad, že tieto ženy sú imunologicky chránené bez rizika infekcie (Kodym a Tolarová, 1996). Veľmi obzretné treba postupovať v prípade pozitívneho určenia IgA-protilátok. Takýto nález môže signalizovať nešpecifickú perzistenciu IgA-protilátok, ale aj

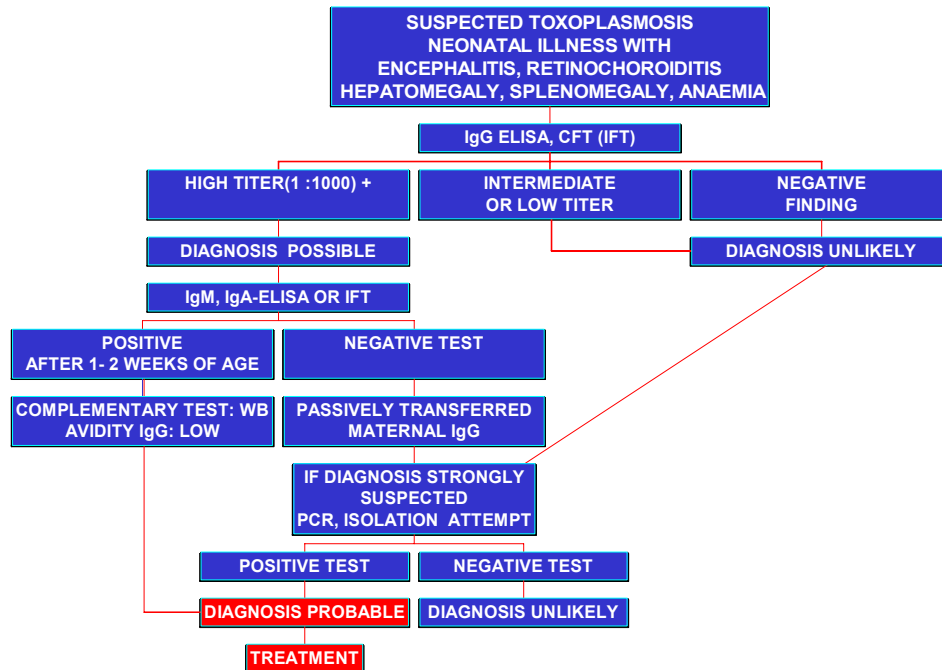


Fig. 2. Neonatal toxoplasmosis (a modified according to Garcia and Bruckner, 1997).  
Obr. 2. Neonatálna toxoplazmóza (modifikované podľa Garcíu a Brucknera, 1997).

reaktíváciu infekcie (Naser a spol., 1995). Pri tomto séroobrazu sa indikuje opakované vyšetrenie o 2—3 týždne.

Výskyt vrodenej toxoplazmózy v Európe sa uvádza od 0,1 do 7 prípadov na 10 000 pôrodov. Vo Francúzsku, Nemecku a Rakúsku a iných krajinách bol uvedený do praxe program, ktorý monitoruje tehotné ženy formou opakovaného sérovyšetrenia na toxoplazmózu. V Rakúsku tento systém veľmi úspešne funguje vyše 20 rokov. Pred rokom 1975 bol výskyt prenatalnej toxoplazmózy v Rakúsku asi 50 prípadov na 10 000 pôrodov, v súčasnosti je to asi 1 prípad na 10 000 pôrodov. Percento séropozitívnych žien v plodnom veku kleslo z takmer 50 % na konci 70. rokov na terajších asi 35 % (Aspöck a Pollak, 1992).

V prípade pozitívneho nálezu RVK (IFT), protilátok IgG a IgM vo vysokých hladinách (1:1024 a viac) je nevyhnutné séra vyšetriť nadstavbovým testom ELISA IgA, testom avidity IgG-protilátok, resp. metódou imunoblotu. Vysoké hladiny IgA-protilátok spolu s nízkymi hodnotami avidity IgG s najväčšou pravdepodobnosťou indikujú akútnu toxoplazmózu s rizikom poškodenia plodu. V tomto prípade, aj v prípade nálezu IgM a IgA-protilátok v nižších hladinách je potrebné vyšetrenia opakovať o 2—3 týždne. Okrem pozitivity vyšetovaných markerov v opakovanom vyšetrení o akútnej toxoplazmóze svedčí sérokonverzia IgG-protilátok, ako aj celkových protilátok v teste RVK (IFT).

Ak sú hladiny IgM, IgA nízke, blízke hraničným hodnotám a test avidity IgG preukazuje vysoké hodnoty, ide pravdepodobne o pretrvávajúce protilátky po infekcii pred otehotnením, ktoré zachytil vysokocitlivý diagnostický test. Tu sa treba opierať o výsledky predchádzajúcich vyšetrení (Nagy a spol., 1997).

### Neonatálna toxoplazmóza

Ak sa v prvom vyšetrení novorodenca zistia protilátky RVK (IFT), resp. IgG-protilátky v stredných a vysokých hladinách, je potrebné odlíšiť tieto transplacentárne prenesené protilátky matky od protilátok novorodenca, čo možno dôkazom špecifických protilátok triedy IgM a IgA (obr. 2). Protilátky IgM a IgA neprechádzajú placentou a ich prítomnosť môže indikovať toxoplazmovú infekciu. Aktuálna situácia však môže byť komplikovaná tým, že IgM-protilátky sa netvorí u každého infikovaného novorodenca, preto negatívny nález nevylučuje kongenitálnu infekciu (Cvetkovič a spol., 1998). Diagnostický význam má vyšetrenie IgA-protilátok, ktoré bývajú pozitívne u väčšiny infikovaných novorodencov, vyšetrenie avidity IgG-protilátok a Western-blotová analýza. Pozitívne nálezy tried IgA, IgM a nízko-avidných IgG-protilátok znamenajú, že novorodenec je pravdepodobne infikovaný. Vyšetrenie treba opakovať o 2—3 týždne vždy s vyšetrením matky.

Do reakcie na dôkaz IgM a IgA-protilátok sa sérum riedi 1:20. Diagnosticky významným testom je priamy dôkaz toxoplaziem z placenty, plodovej vody, alebo likvoru novorodenca. V týchto prípadoch sa vyšetrenie dopĺňa o metódu priameho dôkazu inokulačným pokusom na bielej myši a PCR metódou (Tuma a spol., 1994).

Pokiaľ sú diagnostické nejasnosti, predovšetkým pri susp. pozitívnom CNS, indikuje sa vyšetrenie likvoru RVK, (IFT), IgG, IgM, IgA. Dôkaz toxoplazmových protilátok v likvore a určenie ich pôvodu (určenie intratekálnej produkcie) je diagnosticky významné za predpokladu ich preukazne vyššej koncentrácie v porovnaní s

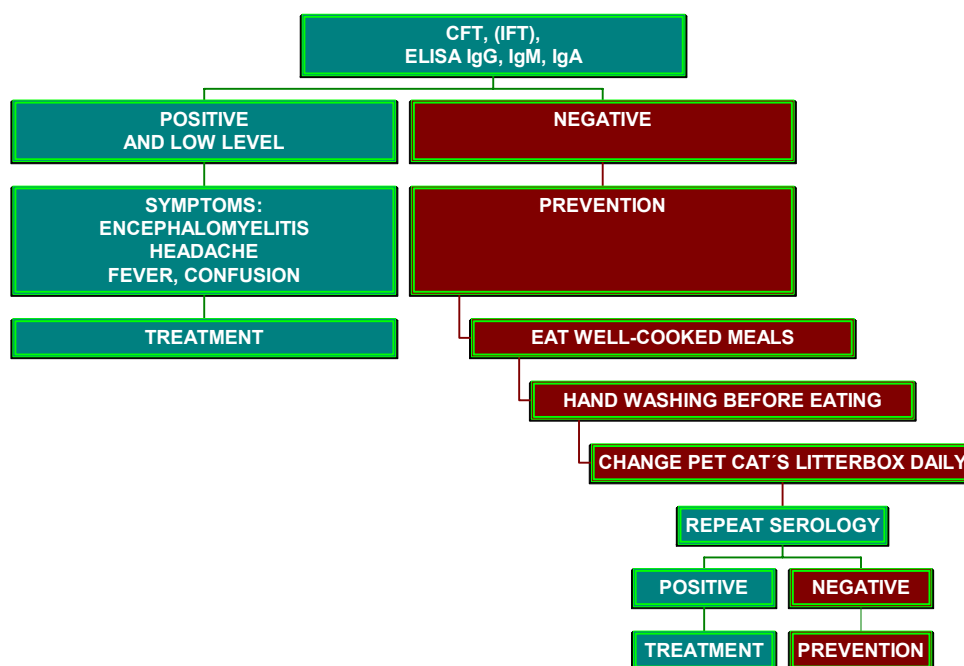


Fig. 3. Immunosuppressed patients (AIDS, oncological patients, posttransplantation patients).  
Obr. 3. Imunosuprimovaní pacienti (AIDS, onkologickí pacienti, pacienti po transplantáciách).

koncentráciou v periférnej krvi (Reiber, 1994; Reiber, 1995; Thomas, 1998). Paralelne sa zisťuje prítomnosť parazita opísanými metódami priameho dôkazu.

#### Imunosuprimovaní pacienti (pacienti s AIDS, pacienti s imunosupresívnou terapiou, pacienti v transplantačnom programe)

##### *Toxoplazmová infekcia u pacientov s AIDS, pacienti s imunosupresívnou terapiou*

Infekcia u imunosuprimovaných pacientov môže spôsobiť vážne komplikácie až ohrozenie ich života (Čatár, 1995; Garcia a Bruckner, 1997; Janitschke, 1994). V prevažnej miere sú vystavení riziku reaktívacie latentnej (chronickej) toxoplazmózy, ktorá sa u imunosuprimovaných pacientov (obr. 3) manifestuje predominantne v CNS, kde spôsobuje encefalopatiu, meningoencefalitídu a iné mozgové lézie (Wanke a spol., 1987). V týchto prípadoch toxoplazmózy nemá tvorba a dynamika protilátok typický priebeh. Približne 97–99 % pacientov s AIDS a toxoplazmovou encefalitídou má protilátky IgG proti *Toxoplasma gondii* v sére, IgM-protilátky nebývajú vždy prítomné. Základné sérovyšetrenie je v dôkaze celkových i špecifických protilátok v sére a likvore metódami RVK (IFT), ELISA IgG, IgM, IgA a určením intratekálnej produkcie protilátok (Reiber, 1994, 1995; Thomas, 1998). Za pozitívny výsledok treba považovať nález aj nízkych hladín protilátok. Ako doplnujúce vyšetrenie možno využiť detekciu antigénu v moči (Fachado a spol., 1997) a techniky PCR (Dupouy-Camet a spol., 1993; Eggers a spol., 1995; Franzen a spol., 1997; Johns a Gill, 1998; Robert a spol., 1996).

##### *Toxoplazmóza u pacientov s transplantáciami*

Pacienti sú pri transplantáciách ohrození podobne ako ostatní imunosuprimovaní pacienti, keď po operačnom výkone môže dôjsť k aktivácii toxoplazmózy prostredníctvom prenesených cyst transplantátom, resp. krvnou transfúziou. Najčastejšie sa zaznamenáva prenos toxoplazmózy po transplantáciách srdca, pečene a obličiek (Luft a spol., 1983; Mayes a spol., 1995; Sluiters a spol., 1989). Pri imunosupresívnej liečbe hrozí u príjemcu aj reaktívacia latentnej toxoplazmózy.

Pre zistenie imunitného stavu, alebo na začiatku terapie musia byť určené IgG-protilátky metódou ELISA alebo inými technikami (ISAGA — immunosorbent agglutination assay) (Wright a Balfour, 1990). Podľa možnosti v predtransplantačnom vyšetrení zisťujeme toxoplazmové protilátky u darcov i príjemcov dôkazom celkových protilátok metódou RVK (IFT), ako aj špecifických protilátok tried IgG, IgM. Pri pozitívnom základnom vyšetrení postupujeme ako pri diagnostike akútnej toxoplazmózy. Pacienta treba sérologicky vyšetriť o 1–2 týždne po transplantácii podobne ako iných imunosuprimovaných pacientov.

##### **Získaná toxoplazmóza u imunokompetentných pacientov**

Infekcia u týchto pacientov sa najčastejšie manifestuje pod obrazom lymfadenopatie (Garcia a Bruckner, 1997; Kouba a spol., 1974; Janitschke, 1998). Často sa pozorujú teploty, únava, syndróm bolesti svalstva. V 80–90 % prípadov však prebieha bez zjavných klinických príznakov ochorenia — latentne, asymptomaticky, keď o recentnej infekcii svedčí iba sérologický nález (obr. 4).

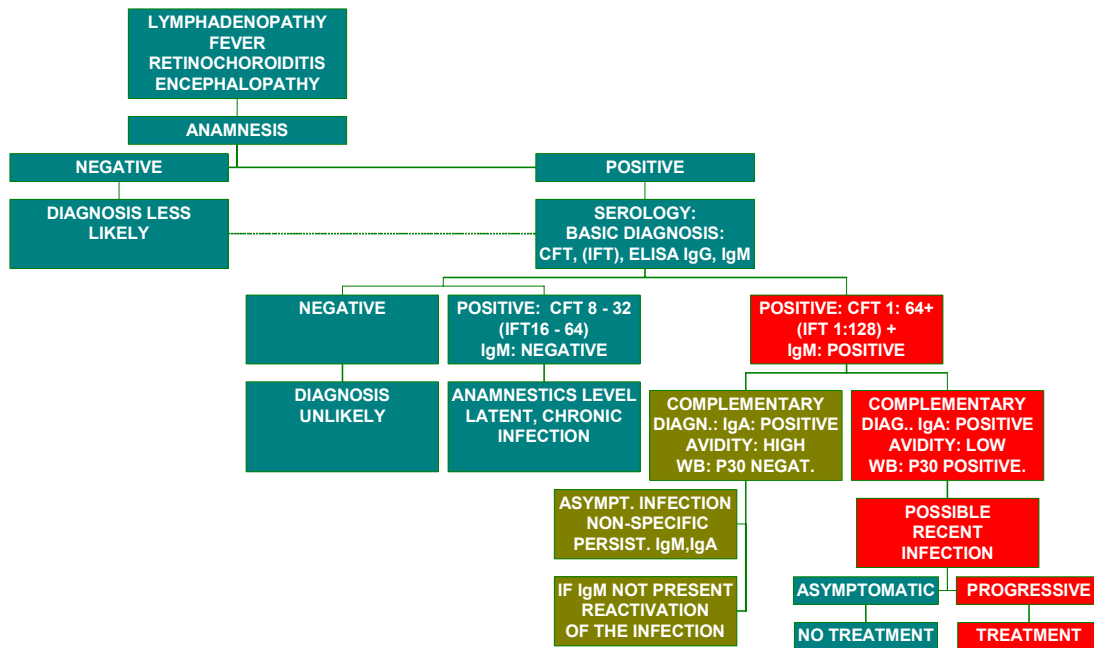


Fig. 4. Acquired toxoplasmosis — immunocompetent patients (a modified according to Garcia and Bruckner, 1997).  
Obr. 4. Získaná toxoplazmóza — imunokompetentní pacienti (modifikované podľa Garcíu a Brucknera, 1997).

Základné vyšetrenie sa robí testmi RVK, alebo IFT. Negatívny výsledok znamená, že pacient nie je infikovaný. Hladiny protilátok v titroch RVK 8—16, IFT 16—32 sú anamnestické — akútna infekcia odznela pravdepodobne pred niekoľkými rokmi.

Doplňujúce vyšetrenie: Ak dosahujú celkové protilátky v RVK hladiny vyššie ako 1:32 (v IFT 64 a viac) treba pacienta vyšetriť na prítomnosť protilátok triedy IgM a IgA. K sérologickému rozlíšeniu aktívnej a chronickej infekcie možno využiť test avidity IgG-protilátok a Western blot. Vyšetrenie je potrebné opakovať o 2—3 týždne.

Akútnu infekciu charakterizuje:

- sérokonverzia, t.j. prechod titrov v RVK, (IFT), ELISA IgG z negativity do výraznej séropozitivity, alebo významný vzostup titrov protilátok najmenej o 3 riedenia (napr. z 1:16 na 1:128),
- dôkaz špecifických IgM, IgA protilátok. Pri akútnej toxoplazmóze dosahujú hodnoty IgM, IgA vysoké hodnoty. V nízkych hladinách môžu pretrvávajúť niekoľko rokov,
- nízke hodnoty avidity IgG-protilátok (<15 %),
- dôkaz IgM-protilátok proti 30 kDa proteínu (Western blot).

O chronickej (latentnej) nákaze svedčí:

- pretrvávajúce titrov RVK, (IFT, ELISA IgG) v stredných a vysokých hodnotách bez ich výrazného pohybu, pri súčasnej negativite IgM, IgA-protilátok,
- vyššie hodnoty testu avidity IgG (>30 %),
- detekcia 12 kDa proteínu IgG-protilátkami (Western blot).

Pretrvávajúce titrov RVK v nízkych hodnotách je bežným javom u približne 40 % populácie a nie je dôvodom na začatie terapie.

#### Očná toxoplazmóza

Toxoplazmóza u imunokompetentných dospelých ľudí môže spôsobovať uveitídu a potenciálne poškodenie zraku. Očná forma toxoplazmózy sa všeobecne považuje za manifestáciu kongenitálne získanej infekcie (Nussenblatt a Belfort, 1994; Couvreur a Thuliez, 1996; Schnider, 1995; Wanke a spol., 1987). Diagnóza očnej formy toxoplazmózy je založená predovšetkým na klinickom náleze, i keď sérovyšetrenia protilátok môžu nález potvrdiť. Vzostup sérových protilátok, ale nemusí byť viazaný na progres očného postihnutia. Hladina protilátok môže byť nízka, sú opísané i histologicky dokázané prípady toxoplazmovej infekcie oka u séro-negatívnych pacientov (Couvreur a Thuliez, 1996).

Základné vyšetrenie: RVK, (IFT) a určenia IgG-citlivou metódou (ELISA). V prípade zvýšených titrov RVK je postup ako pri akútnej toxoplazmóze. Porovnanie pomeru titrov protilátok v komorovej tekutine k titru v sére: Ak je pomer titrov >1, je to významný nález svedčiaci o tom, že v oku sú produkované špecifickejšie protilátky, ako sú protilátky kolujúce v krvnom obeh a v oku dochádza k lokálnej stimulácii tvorby protilátok toxoplazmovou infekciou (Desmonts, 1996; Nussenblatt a Belfort, 1994).

Doplňujúce vyšetrenie: Western blot, PCR.

#### Záver

V našich podmienkach je laboratórna diagnostika toxoplazmózy založená na tradične používaných metódach: Reakcii viazacej komplement (RVK), resp. nepriamej imunofluorescencii (IFT) s vhodne voleným dôkazom tried špecifických protilátok prevaž-

ne metódou imunoenzýmového dôkazu (ELISA) potrebným pre určenie štádia toxoplazmovej infekcie. Každý laboratórny nález by mal interpretovať odborník s dostatočným rozhľadom v problematike. Vzhľadom na potrebu metodického vedenia, koordinácie a kontroly laboratórnej diagnostiky, vykonávania nadväzujúcej diagnostiky (metódy priameho dôkazu PCR, izolačných pokusov a pod.) treba zriadiť referenčné pracovisko pre problematiku toxoplazmózy.

## Literatúra

- Angel S.O.M., Matrajt J., Margarit M., Nigro E., Illescas V., Pszeny M.R.R., Emendoeira E., Guarnera Garberi J.C.: Screening for active Toxoplasmosis in patient by DNA hybridization with the ABGTg7 probe in blood samples. *J. Clin. Microbiol.*, 35, 1997, č. 3, s. 591–59.
- Asay T., Mizumo F., Kojima S., Takeuchi T., Kobayashi A., Suzuki Y.: High correlation in antibody titers between the Sabin-Feldman dye test and an enzyme-linked immunosorbent assay detecting immunoglobulin G antibodies to the nucleoside triphosphate hydrolase of *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 1992, s. 1291–1293.
- Aspöck H., Pollak A.: Prevention of Prenatal Toxoplasmosis by Serological Screening of Pregnant Women in Austria. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 84, 1992, s. 32–38.
- Barker K.F., Holliman R.E.: Laboratory techniques in the investigation of toxoplasmosis. *Genitourin Med.*, 68, 1992, s. 55–59.
- Bednář M., Fraňková V., Schindler J., Souček A., Vávra J.: Lékařská mikrobiologie. Marvil 1996, 558 s.
- Blanco J.C., Angel S.O., Maero E., Pszeny V., Serpente P., Garberi J.C.: Cloning of repetitive DNA sequences from *Toxoplasma gondii* and their usefulness for parasite detection. *J. trop. Med. Hyg.*, 46, 1992, s. 350–357.
- Bobic B., Sibalic D., Djurkovic-Djakovic O.: High levels of IgM antibodies specific for *Toxoplasma gondii* in pregnancy 12 years after primary Toxoplasma infection. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 31, 1991, s. 182–184.
- Bottone E.J.: Diagnosis of acute pulmonary toxoplasmosis by visualization of invasive and intracellular tachyzoites in Giemsa-stained smears of bronchoalveolar lavage fluid. *J. Clin. Microbiol.*, 29, 1991, s. 2626–2627.
- Bretagne S., Costa J.M., Fleury-Feith J., Poron F., Dubreuil-Lemaire M.L., Vidaud M.: Quantitative competitive PCR with bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of toxoplasmosis in AIDS patients. *J. Clin. Microbiol.*, 33, 1995, s. 1662–1664.
- Cazenave J., Forestier F., Bessieres M.H., Broussin B., Begueret J.: Contribution of a new PCR assay to the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Prenatal. Diagn.*, 1992, č. 12, s. 119–127.
- Couvreur J., Thuliez P.: Acquired toxoplasmosis of ocular or neurologic site: 49 cases. *Presse Med.*, 25, 1996, č. 9, s. 438–442.
- Cvetković H.I., Patiš J.V., Cvjetković D., Mrdja E., Milošević V.: Congenital toxoplasmosis. *Med. Pregl.*, 51, 1998, č. 3–4, s. 140–145.
- Čatár G.: Opportunistic parasitic diseases. *Helminthologia*, 32, 1995, č. 3, s. 101–105.
- Čatár G., Červeň D., Jalili N.: *Toxoplasma gondii*. *Brat. Lek. Listy*, 99, 1998, č. 11, s. 579–583.
- Dannemann, B.R., Israelski, D.M., Leoung, G.S., McGraw, T., Mills J., Remington J.S.: *Toxoplasma* serology, parasitaemia and antigenemia in patients at risk for toxoplasmic encephalitis. *AIDS*, 1991, č. 5, s. 1363–1365.
- Desmots G.: Definitive serological diagnosis of ocular toxoplasmosis. *Arch. Ophthalmol.*, 76, 1966, s. 839–851.
- Dubey J.P.: Toxoplasmosis. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 205, 1994, s. 1593–1598.
- Dupouy-Camet J., De Souza S.L., Maslo C., Paugam A., Samoít A.G., Benarous C., Tourte-Schaefer C., Derouin F.: Detection of *Toxoplasma gondii* in venous blood from AIDS patients by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 31, 1993, s. 1866–1869.
- Eggers C., Gross U., Klinker H., Schlake B., Stelbrink H.J., Kunze K.: Limited value of cerebrospinal fluid for direct detection of *Toxoplasma gondii* in toxoplasmic encephalitis associated with AIDS. *J. Neurol.*, 242, 1995, s. 644–649.
- Fachado A., Fonseca L., Fonte L., Alberti E., Cox R., Bandera F.: *Toxoplasma gondii*. Antigenuria in patients with Acquired immune deficiency Syndrome. *Mem. Inst. Osw. Cruz. On-line*, 92, 1997, č. 5, s. 589–593.
- Feldner J.: Toxoplasmose. Behringwerke AG., 1991, č. 3, 39 s.
- Franzen Z., Altfeld M., Heneger P., Hartman P., Arendt G., Jablonowski H., Rockstroh J., Diehl V., Salzberger B., Fätkenheuer G.: Limited value of PCR detection of *Toxoplasma gondii* in blood from human immunodeficiency virus-infected patients. *J. Clin. Microbiol.*, 35, 1997, č. 10, s. 2639–41.
- Frenkel J.K., Escajadilo A.: Cyst rupture as a pathogenic mechanism of toxoplasmic encephalitis. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 36, 1987, s. 517–522.
- Galvan-Ramírez M.L., Guilén-Vargas C., Saavedra-Duran R., Rodrigues A.I.: Analysis of *Toxoplasma gondii* antigens with sera from toxoplasmosis patients. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 31, 1998, č. 3, s. 271–277.
- Garcia L.S., Bruckner D.A.: Diagnostic medical Parasitology. III. Edition, 1997, ASM Press, Washington, D.C. s. 111–121.
- Gross U., Ros T., Appoldt D., Heeseman J.: Improved serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection by detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against P30 by using the immunoblot technique. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 1992, s. 1436–1441.
- Hedman K., Lappalainen M., Seppälä I., Mäkelä O.: Recent primary *Toxoplasma* infection indicated by a low avidity of specific IgG. *J. Infect. Dis.*, 159, 1989, č. 4, s. 736–740.
- Holková R., Nemeč R., Čatár G., Pavlína M., Porubonová A.: Porovnanie séroreakcií v diagnostike toxoplazmózy. *Bratisl. lek. Listy*, 89, 1998, č. 10, s. 770–774.
- Holliman H.E., Raymond R., Renton R., Johnson J.D.: The diagnosis of toxoplasmosis using IgG avidity. *Epidemiol. Infect.*, 112, 1994, s. 399–408.
- Howe D.K., Sibley D.: *Toxoplasma gondii* comprises clonal lineages: Correlation of parasite genotype with human disease. *J. Inf. Dis.*, 172, 1995, s. 1561–1566.
- Jalili N., Holková R., Kodym P., Danihelová E., Červeň D.: Séroprevencia toxoplazmových protilátok medzi darcami krvi. Slovenské a české parazitologické dni. Súhrn referátov. Tále, 9.—11. júna 1998.
- Janitschke K.: Parasitosen. Toxoplasmose. In Thomas, L.: Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die Medizinische Diagnostik. 5. Auflage. TH Books Verl.-Ges., 1998, 1568 s.

- Janitschke K.:** Toxoplasmose: Diagnostik im Rahmen der Mutterschaftsvorsorge. *Diagnose und Labor.*, 39, 1989, č. 1, s. 22—25.
- Janitschke K.:** Aktuelle laboratoriumsdiagnostik bei *Toxoplasma* infekcien. *Klin. Lab.*, 40, 1994, s. 1059—1064.
- Johns D.G., Gill M.J.:** Seroprevalence of cytomegalovirus, *Toxoplasma gondii*, syphilis, and hepatitis B and C virus infections in a regional population seropositive for HIV infection. *Canad. J. Infect. Dis.*, 9, 1998, č. 4, s. 209—214.
- Kawaciuková J., Dvořáková K., Potužník V.:** Současné možnosti sérologického průkazu časně fáze onemocnění vyvolaného *Toxoplasma gondii*. *Čs. Epid.*, 40, 1991, č. 3, s. 170—176.
- Kodym P., Tolarová V.:** Návrh standardních vyšetřovacích postupů používaných v diagnostice toxoplazmózy. *Zprávy české parazitologické společnosti*, 1996, č. 2, s. 14—25.
- Standardní metodiky laboratorní diagnostiky toxoplazmózy.** Acta HEMI, IHE Praha, 1979, Příloha č. 25/78, 45 s.
- Standardní metodiky laboratorní diagnostiky toxoplazmózy.** AHEM, IHE Praha, 1987, Příloha č. 3, s. 3—14.
- Kouba K., Jíra J., Hübner J.:** Toxoplazmóza. Praha, Avicenum 1974, 306 s.
- Lappalainen M., Koskela P., Koskiniemi M., Ämmälä P., Hiihesmaa V., Teramo K., Raivio K.O., Remington J.S., Hedman K.:** Toxoplasmosis Acquired during pregnancy: Improved Serodiagnosis based on Avidity of IgG. *J. Infect. Dis.*, 167, 1993, s. 691—697.
- Luft B.J., Naof Y., Araujo F.G., Stinson E.B., Remington J.S.:** Primary and reactivated *Toxoplasma* infection with cardiac transplants. *Ann. Inf. Med.*, 99, 1983, č. 1, s. 27—31.
- Mayes J.T., O'Connor B.J., Avery R., Castalani W., Carey W.:** Transmission of *Toxoplasma gondii* infection by liver transplantation. *Clin. Infect. Dis.*, 21, 1995, s. 511—515.
- Nagy S., Hayde M., Panzenbock A., Adlassning P.K., Pollak A.:** Toxoplasmose-Diagnostik in der Schwangerschaft: Computerunterstützte Verlaufinterpretation vor serologischen Tests. *Wien. klin. Wschr.*, 109, 1997, č. 16, s. 641—646.
- Naser K., Hlobil H., Baier E.:** Diagnostische Bedeutung *Toxoplasma* – spezifischer IgA-Antikörper. *Klin. Lab.*, 41, 1995, č. 3, s. 151—157.
- Nemec R., Holková R., Čatár G., Porubenová A.:** Porovnanie výsledkov toxoplazmových protilátok IgG a IgM metódou ELISA a IFT. *Bratisl. lek. Listy.*, 85, 1986, č. 1, s. 83—89.
- Nussenblatt R.B., Belfort R. Jr.:** Ocular Toxoplasmosis. An old Disease Revisited. *J. Amer. med. Ass.*, 2, 1994, č. 5, s. 386—389.
- Ondriska F., Janošek J., Hottmarová A., Tašká A.:** Potenciálna úloha avidity v diagnostike uzlinovej formy toxoplazmózy. Súhrn referátov, Slovenské a České parazitologické dni, Tále 9.—11. jún 1998, s. 24.
- Palička P.:** Možnosti vyhledávání a prevence kongenitální toxoplazmózy (předběžné sdělení). *Zprávy Sevac*, 1984, č. 4, s. 126—137.
- Raymond J., Poissonier M.H., Thuliez P.H., Forestier F., Daffos F., Lebon P.:** Presence of gamma interferon in human acute and congenital toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.*, 28, 1990, s. 1434—1437.
- Reiber H.:** The hyperbolic function: a mathematical solution of the protein flux/CNS flow model for blood – CFS barrier function. *J. Neurol. Sci.*, 126, 1994, s. 243—245.
- Reiber H.:** Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. *J. Lab. Med.*, 19, 1995, s. 444—462.
- Robert F., Ouatas T., Blanche P., Tourte-Schaefer C., Sicard D., Dupouy-Camet J.:** Retrospective evaluation of the detection of *Toxoplasma gondii* by polymerase chain reaction in AIDS patients. *Press. Med.*, 25, 1996, č. 11, s. 541—545.
- Sabin A.B., Feldman H.A.:** Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). *Science*, 108, 1948, s. 660—663.
- Schnider C.C.:** Toxoplasmosis and ocular pathology. *Schweiz. Med. Wschr.*, 65, 1995, Suppl., s. 82—88.
- Sluiter J.F., Balk A.H.M.M., Essed C.E., Mochtar B., Weimar W., Simoons M.L., Ijzerman E.P.F.:** Indirect enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin G and four immunoassays for immunoglobulin M to *Toxoplasma gondii* in a series of heart transplant patients. *J. Clin. Microbiol.*, 27, 1989, s. 529—525.
- Surveillance zoonóz:** Toxoplazmóza, Slovensko 1986, Bratislava 1987, s. 155—168.
- Sýkora J., Pokorný J., Zástěra M.:** Význam komplement-fixační reakce pro diagnostiku akutní fáze uzlinové formy toxoplazmózy. *Čas. Lék. čes.*, 131, 1992, č. 6, s. 178—182.
- Thomas L., Moghadam A.F., Guder W.G., Hofman W., Reiber H., Lammers M.:** Proteindiagnostik, Diagnose, Therapienkontrolle. Frankfurt am Main, Behring—Werke AG 1991, 176 s.
- Thomas L.:** Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results. 1998, TH Books-Verl.-Ges., I. Edition, Frankfurt am Main, 1527 s.
- Tuma W., Weber E., Hassl A., Bungler G., Niebecker A., Maass G., Giesing M.:** Nukleinsäurenachweis von *Toxoplasma gondii* in der Schwangerschaftsvorsorge. *Lab. Med.*, 18, 1994, s. 512—516.
- Vinhal F.A., Pena J.D.O., Katina J.H., Brandao E.O., Silva D.A.O., Orefice F., Mineo J.R.:** Analysis of aqueous humor in ocular toxoplasmosis: Detection of low avidity IgG specific to *Toxoplasma gondii*. *Medicina on Line*, 1, 1998, č. 1, s. 1—9.
- Wanke C., Tuazon C.U., Kovacz A., Diba T., David D.O., Barton N., Katz D., Lunde M., Levy C., Conley F.K., Lane H.C., Fauci A.S., Masur H.:** *Toxoplasma* encephalitis in patient with acquired immune deficiency syndrome: diagnosis and response to therapy. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 36, 1987, s. 509—516.
- Wreghitt T.G., Balfour A.H.:** Evaluation of the immunosorbent agglutination assay (ISAGA) for detecting *Toxoplasma gondii*-specific IgM in heart transplant recipients-comparison with  $\mu$ -capture ELISA. *Serodiagn. Immunother. Infect. Dis.*, 1990, č. 4, s. 137—141.

Received October 18, 1999.

Accepted April 7, 2000.