

Kongenitální toxoplazmóza: možnosti laboratorní diagnostiky

Čermáková Z.¹, Prášil P.², Ryšková O.¹

¹Ústav klinické mikrobiologie Univerzita Karlova v Praze

²Klinika infekčních nemocí Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Souhrn

Ve sdělení je uveden popis případu a postup při stanovení diagnózy kongenitální toxoplazmózy u dítěte, jehož matka prodělala v těhotenství asymptomatickou infekci prvokem *Toxoplasma gondii*. Ve 35. týdnu gravidity byla provedena amniocentéza pro sonografický nález parciálního hydroropsu plodu, ascitu, hepatosplenomegalii a dilataci postranní komory mozkové vlevo. Laboratorním vyšetřením těhotné ženy byly v séru prokázány vysoké titry protilátek IgM, IgE a IgA („markerů akutní infekce“) proti *Toxoplasma gondii*. Kongenitální toxoplazmóza novorozence (spontánní porod ve 41. týdnu) byla potvrzena detekcí DNA *T. gondii* v krvi, průkazem sérologických markerů akutní infekce, i ultrazvukovým vyšetřením mozku (hydrocefalus, kalcifikace). Žena byla intenzivně léčena pro toxoplazmózu v průběhu III. trimestru gravidity a novorozence ihned po narození. Správně stanovená diagnóza a okamžité zahájení léčby těhotné ženy i narozeného dítěte vedlo k postupné normalizaci laboratorních hodnot (pokles titru protilátek a vymizení DNA *T. gondii*) i k významné regresi poškození mozku dítěte.

Klíčová slova: *Toxoplasma gondii* – kongenitální toxoplazmóza.

Summary

Čermáková Z., Prášil P., Ryšková O.: Congenital Toxoplasmosis: Possibilities for Laboratory Diagnosis

A case history and the steps taken in diagnosing congenital toxoplasmosis in a child whose mother experienced asymptomatic infection with the protozoan *Toxoplasma gondii* are presented. At pregnancy week 35, amniocentesis was performed because of fetal hydrops, ascites, hepatosplenomegaly and dilated left lateral brain ventricle on sonography. Laboratory tests showed high titers of IgM, IgE and IgA antibodies (acute infection markers) against *Toxoplasma gondii* in serum of the pregnant woman. Congenital toxoplasmosis in the new-born spontaneously delivered at week 41 was confirmed by detection of *Toxoplasma gondii* DNA in blood, acute infection markers in serum and hydrocephalus and calcifications on brain sonography. The woman received intensive treatment for toxoplasmosis during the last pregnancy trimester and her new-born child's treatment started immediately after delivery. The accurate diagnosis and early institution of therapy in both the pregnant woman and her child led to progressive normalization of laboratory tests (decreased titers of antibodies and *Toxoplasma gondii* DNA negativity) and significant regression of the brain lesions in the child.

Key words: *Toxoplasma gondii* – congenital toxoplasmosis.

Úvod do problematiky

Infekce parazitickým prvokem *Toxoplasma gondii* je ve světě i v České republice jednou z nejčastěji se vyskytujících parazitických nákaz. Toxoplazmóza je nebezpečná zejména v těhotenství, neboť probíhá zpravidla nepoznána, pod obrazem „chřipkového onemocnění“, ale *T. gondii* může proniknout transplacentárně do plodu [7].

V Evropě [5] postihuje kongenitální toxoplazmóza 1–10 plodů na 10 000 novorozenců a projeví se nejčastěji postižením centrálního nervového systému (hydrocefalus, intracerebrální kalcifikace, chorioretinitida). Ve 4–27 % případů dochází k rozvoji retinochoriodálních lézí vedoucích ke zhoršení vidění [9]. Vrozená toxoplazmóza se v některých případech manifestuje též méně typickými vrozenými psychosomatickými poruchami. K potvrzení nebo vyloučení infekce prvo-

kem *T. gondii* využívá laboratorní diagnostika nejčastěji metody průkazu sérových protilátek [6]: reakce vazby komplementu (KFR) a enzymoimunoanalýzu (ELISA) pro průkaz markerů akutní infekce ve třídách IgM, IgA, IgE a stanovení IgG (včetně avidity). Sérologické vyšetření však nemůže dostatečně přesně časově ohraničit infekční proces (akutní parazitémii) a proto je používán přímý průkaz DNA *T. gondii* [8] metodou polymerázové řetězové reakce (PCR). Zvýšení citlivosti metody PCR „home made“ [1] je na našem pracovišti dosaženo průkazem dvou oblastí genomu *Toxoplasma gondii* paralelně (B1 gen, TGR1E gen). Přímá detekce DNA *T. gondii* je doporučována především u pacientů u kterých může mít infekce závažné důsledky (imunosuprese) a u všech gravidních žen [2, 3, 4] při podezření na toxoplazmózu.

Vlastní pozorování

Žena (32 let) ve 35. týdnu gravidity byla odeslána lékařkou ze spádové gynekologické ambulance na Klinikou infekčních nemocí v Hradci Králové pro patologický nález při ultrazvukovém vyšetření plodu (parciální hydrops plodu, ascites, hepatosplenomegalie, dilatace postranní komory mozkové vlevo). Onemocnění těhotné ženy proběhlo zcela bez klinických projevů (nebyl přítomen „uzlinový syndrom“ ani jiné příznaky), objektivní nález i základní laboratorní hodnoty v mezích normy. Pro podezření na toxoplazmózu s asymptomatickým průběhem byla ženě odebrána krev na sérologické vyšetření k průkazu antitoxoplazmových protilátek a provedena amniocentéza. Výsledek sérologického vyšetření (výrobce ELISA testů: Test – Line, Clinical diagnostics, Brno): KFR 1:512, IgM 4,517 (pozit.), IgE 2,567 (pozit.), IgA 5,851 (pozit.), IgG 1,224 (pozit.), avidita IgG 21,6 (nízká), PCR („home made“) z amniové tekutiny a z krve negativní. Sérologické vyšetření prokázalo akutní infekci toxoplazmózou, lze předpokládat, že k infekci matky došlo pravděpodobně na přelomu II. a III. trimestru gravidity. Ihned po stanovení diagnózy toxoplazmózy těhotné ženy, byla zahájena léčba kombinací pyrimethaminu, sulfadiazinu a acidum folinicum. V léčbě bylo pokračováno až do spontánního porodu novorozence mužského pohlaví ve 41. týdnu (porodní hmotnost 3790 g). Klinické vyšetření novorozence po porodu nevykázalo patologický nález. Ultrazvuk mozku: přetrvávající dilatace postranní komory vlevo a četné kalcifikace v mozku. Sérologické vyšetření na toxoplazmózu: KFR (1:1024), IgM 0,917 (hraniční), IgE 1,175 (pozit.), IgA 3,224 (pozit.), IgG 2,383 (pozit.), avidita IgG 43,1 (vysoká), průkaz DNA *T. gondii* metodou PCR v krvi pozitivní. Současným vyšetřením séra matky i novorozence

metodou srovnávacího westernblotu byla prokázána tvorba IgM protilátek novorozeným dítětem. Laboratorní nálezy potvrdily kongenitální toxoplazmózu. Až do konce prvního roku života dítěte byla střídána v 6–8týdenních intervalech terapie spiramycinem s podáváním pyrimethaminu, sulfadiazinu a acidum folinicum. V dalších měsících po narození vymizely protilátkové markery akutní infekce i DNA *T. gondii*. Ultrazvuk mozku prokázal regresi dilatované postranní komory a významnou redukci kalcifikací. Klinické vyšetření dětským neurologem po léčbě: bez ložiskového nálezu, psychomotorický vývoj dítěte je v normě. Oftalmologické vyšetření neprokázalo známky chorioretinitidy, další vyšetření budou prováděna v průběhu života dítěte.

Diskuse

Toxoplazmóza v graviditě je závažné onemocnění, neboť *T. gondii* může proniknout transplacentárně, infikovat plod a způsobit jeho poškození [2]. V naší laboratoři jsme zaznamenali případ ženy, kdy při sonografickém vyšetření plodu ve 35. týdnu gravidity byl zjištěn parciální hydrops plodu, ascites, hepatosplenomegalie a dilatace postranní komory mozkové vlevo. Pro podezření na kongenitální toxoplazmózu byla provedena amniocentéza a sérologické vyšetření těhotné ženy [5, 6, 7], které prokázalo akutní toxoplazmózu s nálezem vysokých titrů markerů akutní infekce ve třídách imunoglobulinů IgM, IgA, IgE a počátečním nízkým titrem IgG. Akutní infekci *T. gondii* podle našich posledních pozorování nejlépe charakterizuje vyšší titr protilátek ve třídě IgE, nízká avidita IgG imunoglobulinů a přímý průkaz DNA parazita [1, 3]. Při hodnocení sérologických nálezů je důležité posuzovat skutečnost, že antitoxoplazmové protilátky ve třídě IgE bývají většinou degradovány přibližně po 6 měsících po infekci. Avidita protilátek ve třídě IgG se v průběhu infekce zvyšuje (nízká 0–30; hraniční 30,1–35; vysoká více než 35,1). Nízká avidita (vaznost) IgG protilátek při toxoplazmóze svědčí pro akutní proces trvající méně než 4 měsíce. V našem případě jsme u ženy ve 35. týdnu gravidity našli v krevním séru vysoký titr protilátek ve třídě IgE společně s nízkou aviditou třídy IgG. Na základě výše uvedených výsledků (akutní infekce) jsme předpokládali pozitivní průkaz DNA *T. gondii* v plodové vodě odebrané při amniocentéze, ale náš předpoklad se nepotvrdil. Případný negativní výsledek průkazu DNA metodou PCR v amniové tekutině je možné vysvětlit například nedosta-

tečným množstvím odebrané plodové vody s nízkým počtem tachyzoitů *T. gondii* a pravděpodobně i jinými faktory. V úvahu přichází možnost vyššího výskytu tachyzoitů *T. gondii* v buňkách orgánů vyvíjejícího se plodu, neboť poskytují vhodnější podmínky pro množení parazita než amniotická tekutina. Toxoplazmóza (pozitivní průkaz DNA *T. gondii* v krvi), byla i přes adekvátní léčbu matky v graviditě potvrzena ihned po porodu rovněž u novorozence (což by potvrzovalo předpoklad, že *T. gondii* přednostně infikovala buňky orgánů plodu). Dále je třeba vzít do úvahy, že v době provedení amniocentézy byly v séru matky detekovány vysoké titry protilátek, které v krvi matky a případně i v amniotické tekutině mohly neutralizovat *T. gondii*. Laboratorní průkaz DNA *T. gondii* v krvi novorozence byl důvodem k zavedení intenzivní léčby prenatálně infikovaného dítěte po dobu jednoho roku s velmi dobrým terapeutickým efektem (regrese dilatované postranní komory a redukce kalcifikací v mozku).

Závěr

Akutní toxoplazmóza v těhotenství je závažným medicínským problémem, neboť může vést ke vzniku kongenitální toxoplazmózy a poškození plodu, proto je třeba laboratorní výsledky hodnotit vždy komplexně, ve spolupráci klinického a laboratorního pracoviště. Včasné stanovená diagnóza (po provedení analýzy laboratorních výsledků), umožní zavedení intenzivní léčby těhotné ženy i novorozence a výrazně tak snižuje poškození dítěte infekcí *T. gondii*. Na základě vlastních zkušeností doporučujeme u každé těhotné ženy, při podezření na toxoplazmózu, provést kromě důkladného sérologického rozboru, také amniocentézu a vyšetření PCR na průkaz DNA *T. gondii* v krvi a v amniotické tekutině. Nezbytné je rovněž mikrobiologické vyšetření novorozence ihned po porodu, a to přímý průkaz DNA

T. gondii metodou PCR v krvi a detekce sérových imunoglobulinů IgM, IgA, IgE, IgG včetně zjištění vaznosti protilátek IgG.

Literatura

1. Čermáková, Z., Plíšková, L., Prášil, P., Ryšková, O. Metoda polymerázové řetězové reakce (PCR) v diagnostice toxoplazmózy. Acta Medica Supplementum (Hradec Králové), přijato k tisku, 2004.
2. Graco, P., Vimercati, A., Angelici, C. M., Carbonara, S. et al. Toxoplasmosis in pregnancy is still an open subject. J. Perinat. Med., 2003, 31, s. 36–40.
3. Gratzl, R., Hayde, M., Kohlhauser, C., Hermon, M. 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, s. 853–858.
4. Guy, C. E., Pelloux, H., Lappalainen, M., Aspöck, H. 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, s. 836–839.
5. Jenum, A. P., Pedersen, S. B., Melby, K. K., Kappe- runde, G. et al. Incidence of *Toxoplasma gondii* Infection in 35, 940 Pregnant Women in Norway and Pregnancy Outcome for Infected Women. J. Clin. Microbiol., 1998, 36, s. 2900–2906.
6. Kodým, P., Tolarová, V. Laboratorní diagnostika toxoplazmózy. Remedia Klin. Mikrobiol., 1998, 2, s. 224–226.
7. Palička, P., Slabá, H., Zitek, K. Aktivní ovlivňování výskytu kongenitální toxoplazmózy v populaci. Prakt. Gynekol., 1998, 5, s. 23–27.
8. Pujol-Riqué, M., Derouin, F., García-Quintanilla, A., Valls, E. M. 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, s. 857–862.
9. Zitek, K. Zdroj toxoplasmové infekce u gravidních žen. Evropská multicentrická studie. Zprávy CEM (SZÚ Praha), 2000, 9, s. 464.

Do redakce došlo 27. 10. 2004

Dr. Z. Čermáková
Ústav klin. mikrobiologie LF UK a FN
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové