

PŮVODCI
OPORTUNNÍCH PROTOZOÁRNÍCH NÁKAZ

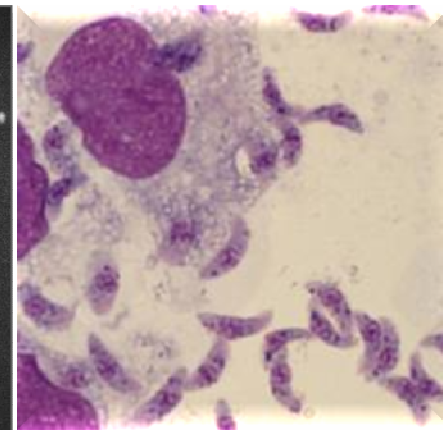
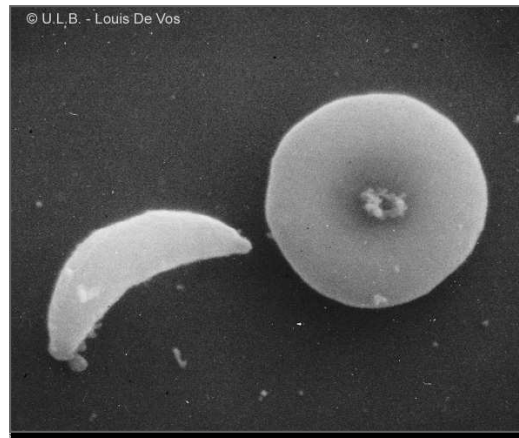
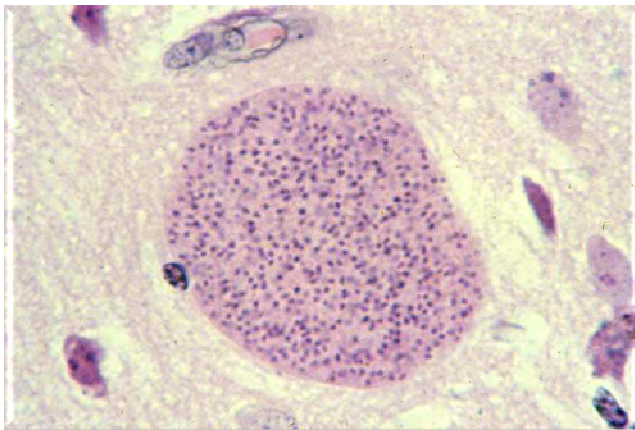
Toxoplasma gondii

Pneumocystis jirovecii

mikrosporidie

Toxoplasma gondii

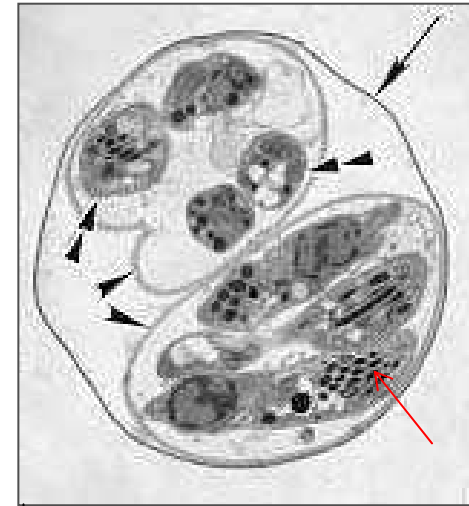
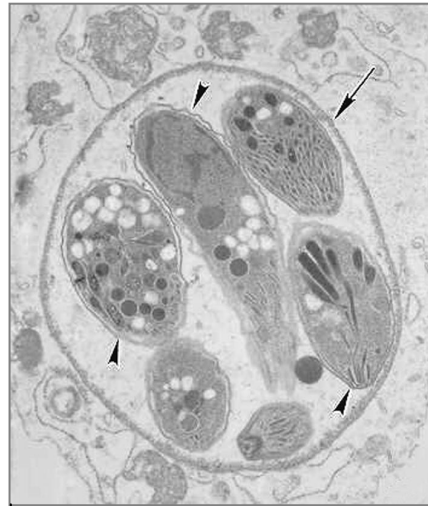
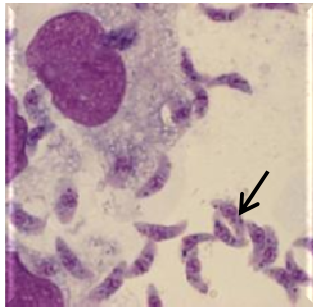
- apicomplexa (příbuznost s malarickými plasmodii)
- intracelulární
- přenos: alimentární
transplacentární, transplantací orgánů
- původce toxoplasmózy (= oportunní nákaza)



PŮVODCE

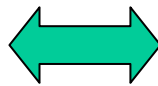
APICOMPLEXA

apikální komplex: průnik do buněk



tachyzoit

- vniká do buněk
 - rychle se množí
 - destruuje buňky
- = **patogenní stádium**



bradyzoit

- pomalu se množí
 - dlouhodobě přežívá uvnitř buněk
 - tvoří **tkáňové cysty**
- = **infekční stádium**

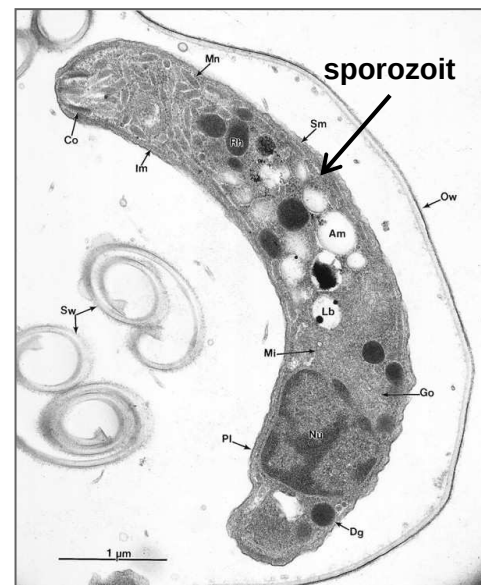
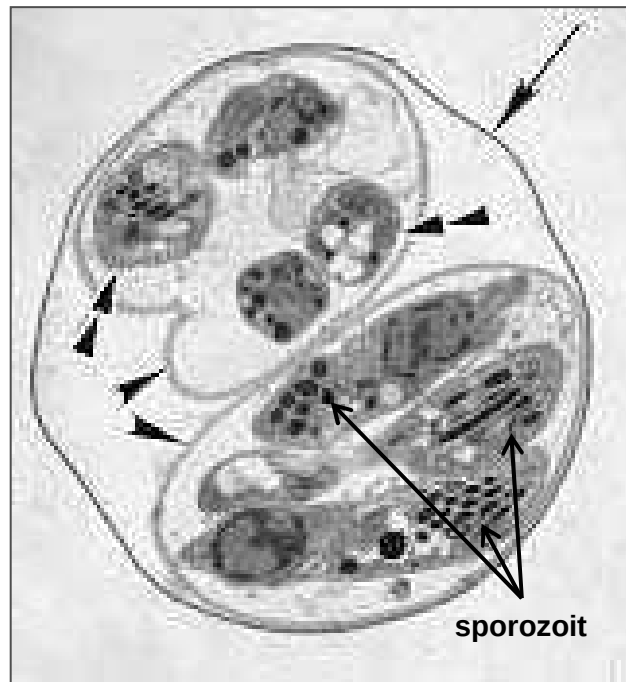
oocysta

- klidové stádium
 - obsahuje **sporozoity**
- = **infekční stádium**

PŮVODCE

OOCYSTA = **infekční stádium**

vylučované s výkaly **kočky** do prostředí



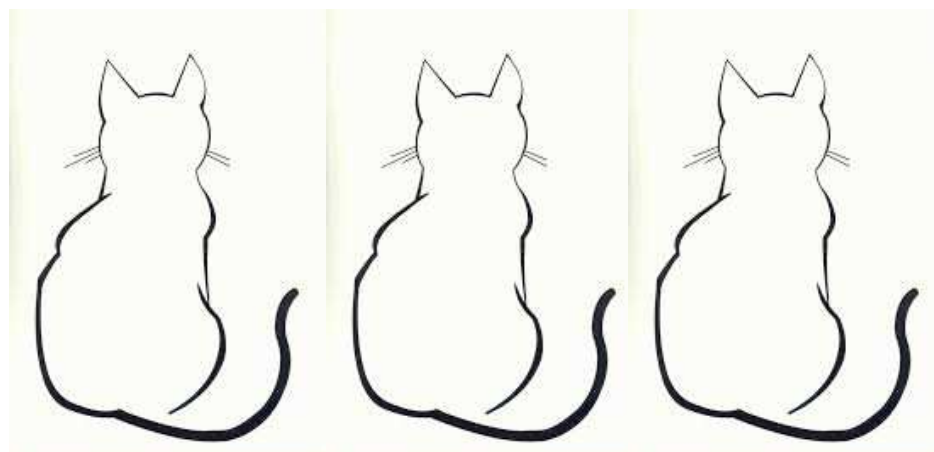
Dubey J P et al. Clin. Microbiol. Rev. 1998

***Toxoplasma gondii* = střevní parazit kočkovitých šelem**

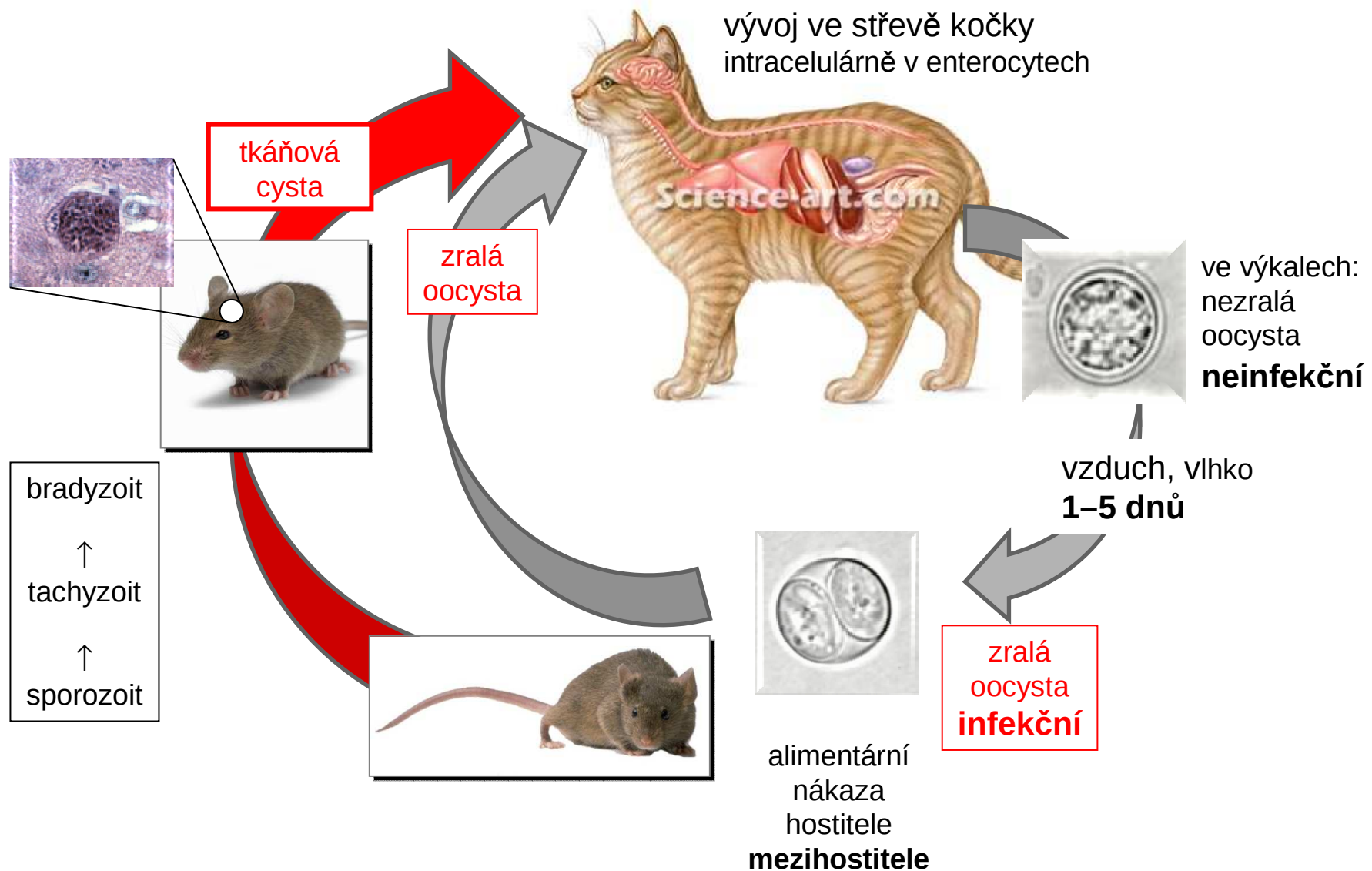


VÝVOJOVÝ CYKLUS *T. gondii*

ve střevě kočky: celý vývoj → končí vylučováním **oocyst**



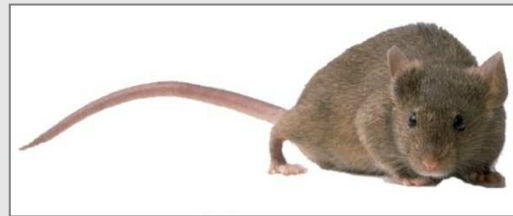
VÝVOJOVÝ CYKLUS *T. gondii*



VÝVOJOVÝ CYKLUS *T. gondii*



MEZIHOSTITELÉ



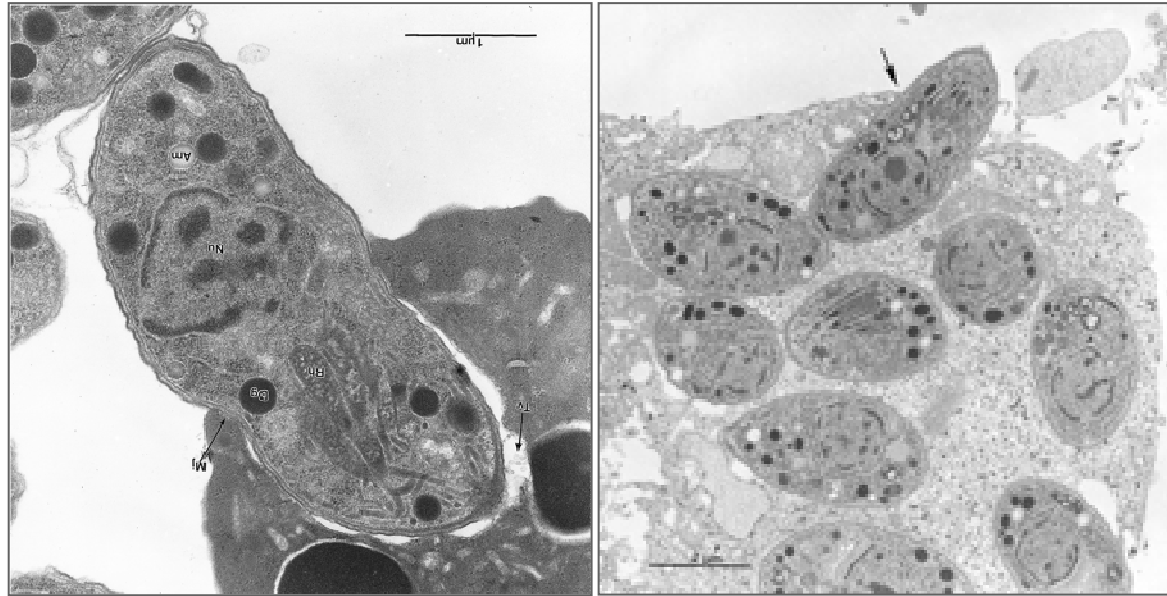
MEZIHOSTITELSKÁ SPECIFITA:

- velmi malá
- všichni teplokrevní živočichové vč. člověka se mohou nakazit: **člověk je mezihostitel**

vývoj v mezihostiteli končí tvorbou tkáňových cyst

PŮVODCE

TACHYZOIT = **patogenní stádium**

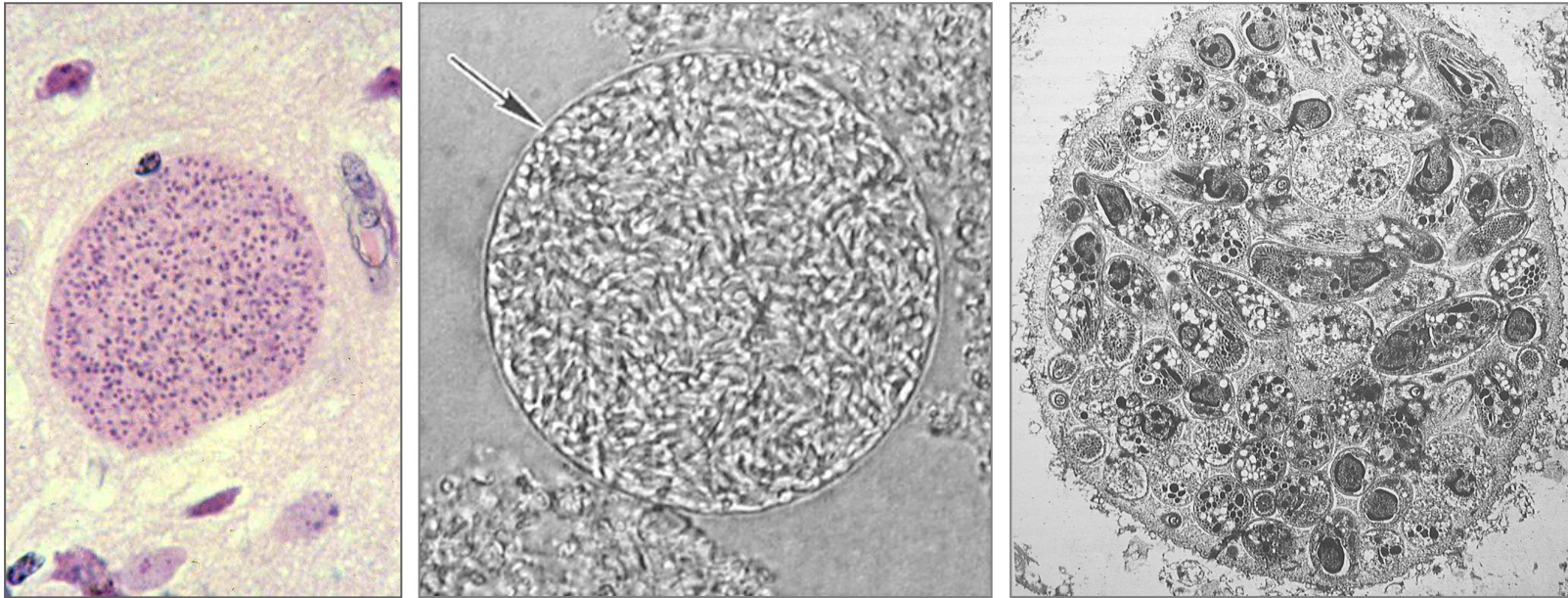


- **vniká do nefagocytujících jaderných buněk**
- uvnitř buňky se rychle množí
- destruuje buňky

OPAKOVÁNÍ

Pod vlivem imunitní odpovědi se transformuje v **bradyzoity**

TKÁŇOVÁ CYSTA = infekční tkáňové stádium



- **zvětšená tkáňová buňka vyplněná bradyzoity** (stovky)
- bradyzoity se v buňce množí pomalu
- nedochází k destrukci infikované buňky
- infikovaná buňka dlouhodobě přežívá

1.případ infekce člověka

1923 oftalmolog dr. Josef Janků

(1886 – 1963)

konziliární lékař očního oddělení Nemocnice na Královských Vinohradech

1. přednosta oční kliniky FNKV

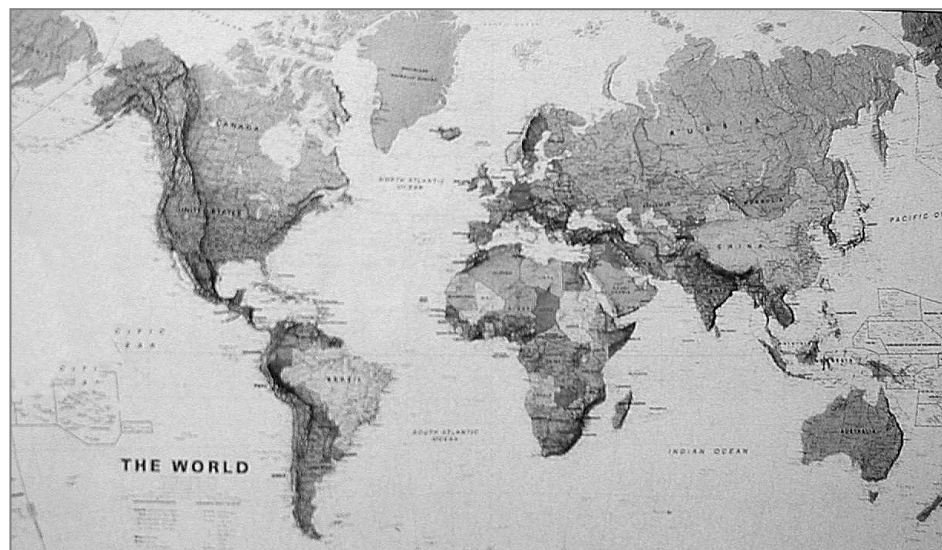
ROZŠÍŘENÍ *Toxoplasma gondii*

kosmopolitní: 1/3 – 1/2 lidské populace nakažena (odhad)

Evropa: jedna z nejběžnějších nákaz

ČR $\cong$ 25% osob nakaženo

300 – 400 případů/rok



EPIDEMIOLOGIE TOXOPLASMÓZY

PŘENOS

- alimentární cestou

- **oocystami**

- zdroj: kontaminace kočičími výkaly (zelenina, hlína na zahrádce, písek pískovišť ...)

- **tkáňovými cystami**

- zdroj:

- tepelně málo upravené/syrové maso/vnitřnosti mezipřehostitele (konzumace/příprava)

- nepasterované mléko mezipřehostitele (kozí, ovčí) a mléčné výrobky



toxoplasmóza = zoonóza

- kongenitálně

- transplantací orgánů

EPIDEMIOLOGIE TOXOPLASMÓZY

alimentární nákaza **oocystami**

zdroj: kočičí výkaly

pro přenos: **rizikovější kot'ata a mladé kočky**

při primoinfekci: kočka vylučuje oocysty

při reinfekci: vylučování oocyst je vzácné

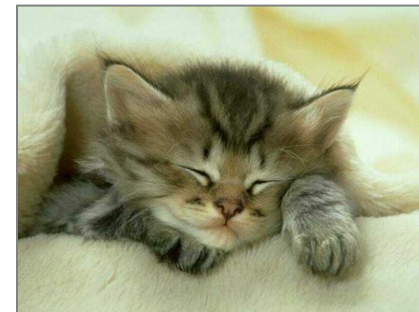
nakazí-li se kočka

- **oocystami**

- vývoj ve střevě = pomalý
 - oocysty vylučovány za 20-25 dnů
 - vylučování je krátké (2-5 dnů)

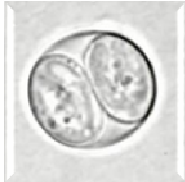
- **tkáňovými cystami**

- vývoj ve střevě = rychlejší
 - oocysty vylučovány za 2-10 dnů
 - vylučování až 20 dnů



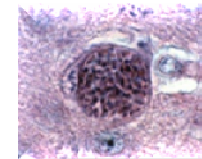


**zralá
oocysta**



ALIMENTÁRNÍ NÁKAZA

**tkáňová
cysta**



sporozoity či **bradyzoity**
pronikají střevním epitelem
mění se v tachyzoity

vnik do leukocytů/dendritických buněk
hematogenní rozsev tachyzoitů

invaze tkáňových buněk

invaze dalších
tkáňových buněk

akutní

vznik tkáňové cysty
tachyzoit

bradyzoit

latentní

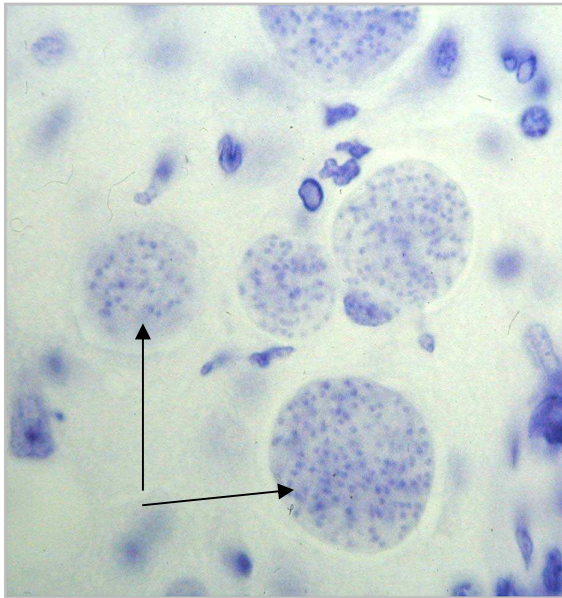
TOXOPLASMÓZA

**průnik placentou
invaze buněk
plodu**

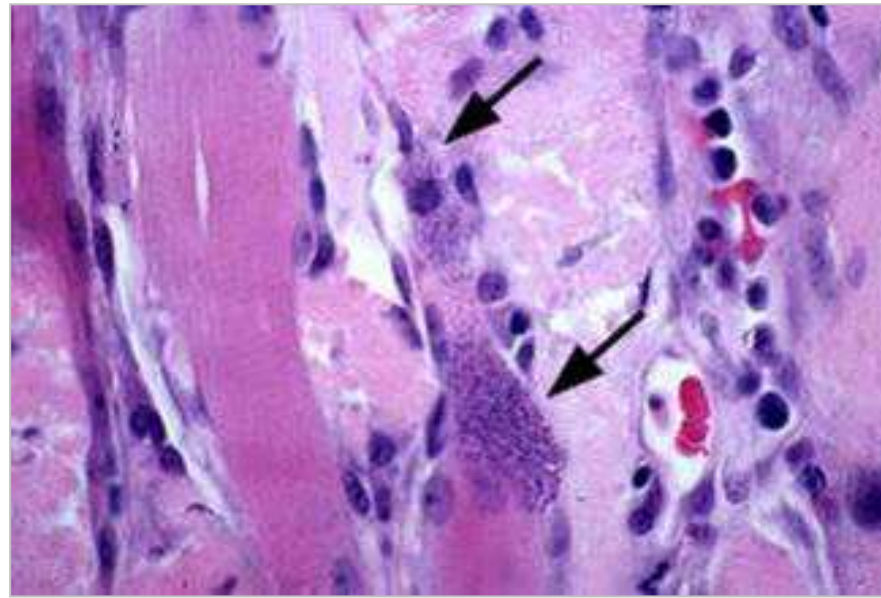
kongenitální

TKÁŇOVÉ CYSTY

preferenční lokalizace: **svalstvo, oko, mozek** = imunitně privilegované orgány



mozek, oko
(nervová tkáň)
tkáňové cysty: kulaté



kosterní, srdeční svalovina
tkáňové cysty: protáhlé

KLINICKÝ OBRAZ

POSTNATÁLNÍ NÁKAZA (pozření infekčních stádií toxoplasem)

1. imunokompetentní osoby

2 fáze nákazy

- **akutní fáze:** ~ 3 týdny
- **latentní fáze:** celoživotní

průběh akutní fáze: 90% asymptomatický – mírný (obdoba mírné chřipky)
10% symptomatický

průběh latentní fáze: asymptomatický

>>> vysoké procento seropozitivních osob v populaci

KLINICKÝ OBRAZ

POSTNATÁLNÍ NÁKAZA

akutní symptomatická fáze

- **uzlinová toxoplasmóza**

zduření uzlin (především na krku)
odezní bez léčby

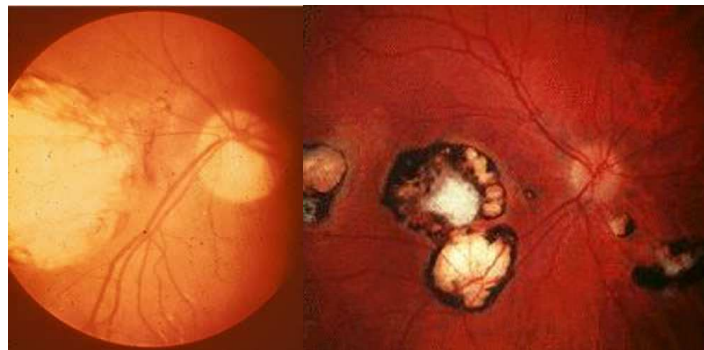
nejčastější manifestace toxoplasmózy
imunokompetentních dospělých



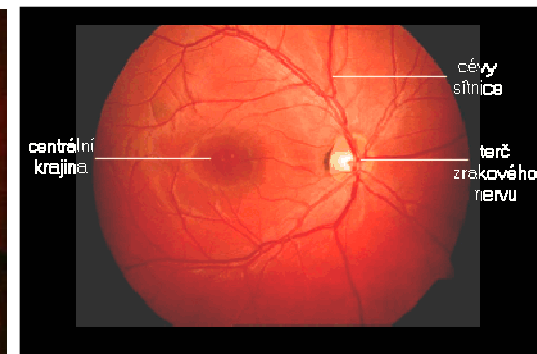
- **oční toxoplasmóza**

retinochorioiditida

vzácná manifestace
toxoplasmózy



léze nebo jizvy na očním pozadí



normální oční pozadí

KLINICKÝ OBRAZ

POSTNATÁLNÍ NÁKAZA

2. imunosuprimované osoby

akutní symptomatická infekce: závažné onemocnění, příčina smrti

- aktivace latentní nákazy (AIDS, nádorová onemocnění, příjemce orgánu)
- nákaza příjemce infikovaným orgánem dárce

nejčastěji: mozková toxoplasmóza

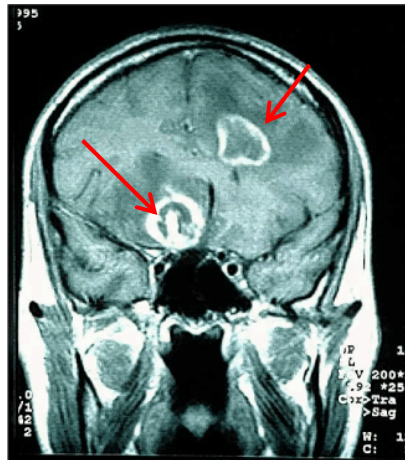
(až u 1/3 osob s neléčenou HIV infekcí)

příznaky:

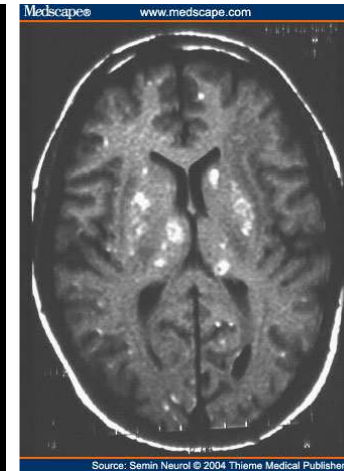
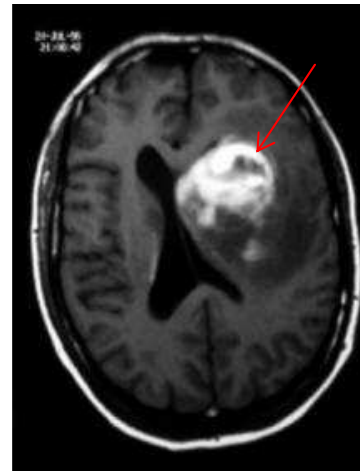
bolest hlavy
horečka
psychické poruchy
poruchy vidění
hemiparézy

zobrazovací metody:

léze v mozku
(jedna – několik)



Cerebral MRI showing two ring-enhancing lesions in an AIDS patient with a CNS toxoplasmosis.



MRI

KLINICKÝ OBRAZ

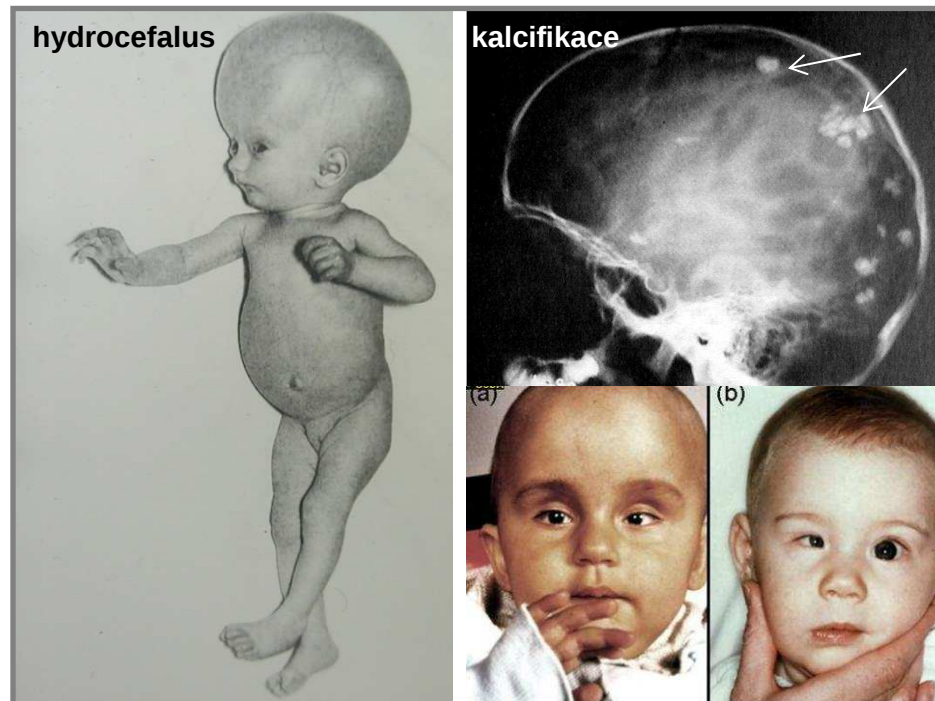
KONGENITÁLNÍ NÁKAZA

(nákaza plodu během akutní fáze nákazy matky)

- **vzácná (<< 1%)**
 - zpravidla asymptomatická
 - závažnost: souvisí s mírou poškození plodu (plod = imunodeficitní)
(nákaza matky x fáze těhotenství)

těžké poškození plodu:

- spontánní potrat
- narození mrtvého dítěte
- **hydrocefalus**
- mentální poruchy
- **mozkové kalcifikace**
- **retinochorioiditida**



KONGENITÁLNÍ TOXOPLASMÓZA

- k přenosu infekce z matky na plod může dojít pouze tehdy, nakazila-li se žena během těhotenství nebo těsně před otěhotněním
- ženy s latentní toxoplasmózou, které mají vytvořeny protilátky, jsou před nákazou v těhotenství chráněny
- závažnost poškození plodu závisí na období, v němž k nákaze dojde
 - **nejzávažnější poškození plodu je při nákaze v 1.trimestru**
 - riziko poškození plodu se během těhotenství **snižuje**
 - riziko nákazy plodu se během těhotenství **zvyšuje**

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

NEPŘÍMÝ PRŮKAZ specifických protilátek

Materiál

1. sérum: a. základní vyšetření (zda je pacient infikován)

stanovení celkových imunoglobulinů (Ig)

metoda: komplement fixační reakce

b. doplňkové vyšetření (fáze nákazy)

stanovení jednotlivých tříd Ig (IgM, IgA, IgG)

metoda: ELISA

stanovení avidity IgG

2. plodová voda, fetální krev, likvor, sklivec

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Fáze nákazy

Kinetika tvorby celkových imunoglobulinů a jednotlivých tříd: obecné schéma

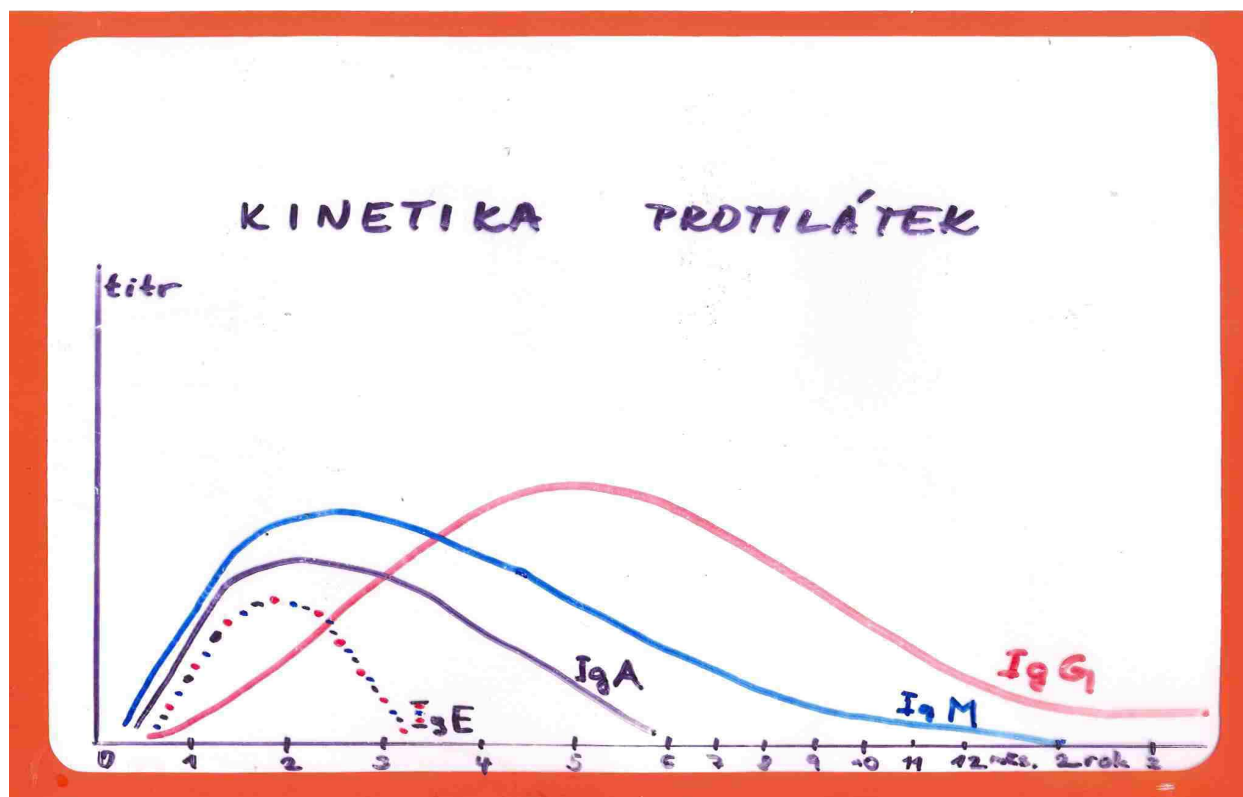
akutní toxoplasmóza: celkové imunoglobuliny (Ig) stoupají
IgM, IgA strmě stoupají (vysoká hladina)
IgG pomalu stoupají (nízká hladina)

odeznění akutní fáze: celkové Ig stabilní nebo pomalý pokles
IgM, IgA postupně klesají
IgG dlouhodobě vysoké, pomalý pokles

latentní toxoplasmóza: celkové Ig trvale nízké
IgM, IgA negativní
IgG trvale nízké, ale přítomny

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Jak poznat akutní toxoplasmózu ?



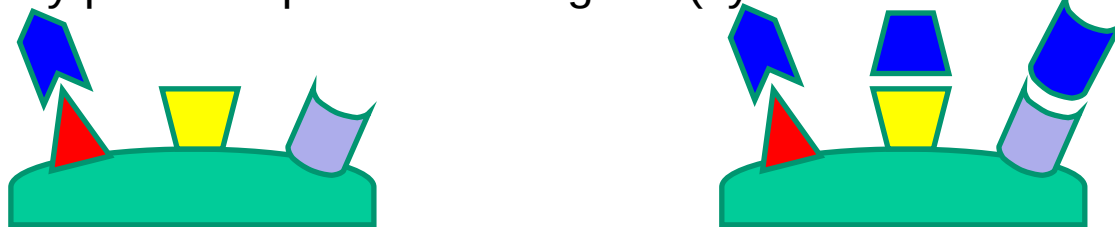
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

STANOVENÍ AVIDITY IgG

= pevnosti vazby mezi protilátkou a antigenem

PRINCIP

v průběhu nákazy dochází k selekci klonů B lymfocytů produkujících protilátky proti komplexnímu antigenu (vyzrávání imunitní odpovědi)



INTERPRETACE

- nízká avidita: akutní toxoplasmóza (primoinfekce)
- vysoká avidita: chronická toxoplasmóza

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Strategie vyšetřování protilátek se řídí:

- kategorií vyšetřovaných osob
- vyšetřovaným materiálem

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Kategorie vyšetřovaných osob

- imunokompetentní osoby s podezřením na nákazu
- těhotné ženy
- novorozenci
- osoby s podezřením na oční toxoplasmózu
- HIV, AIDS
- dárci a příjemci orgánů

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

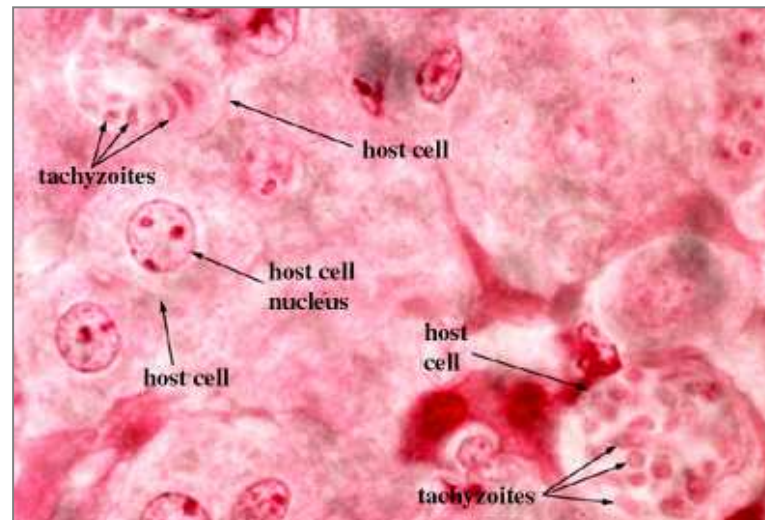
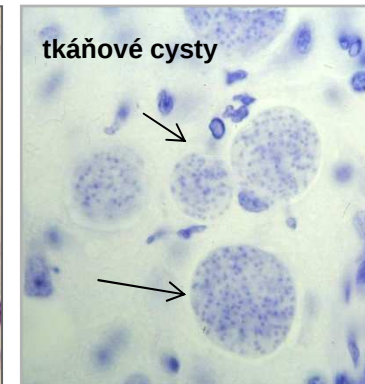
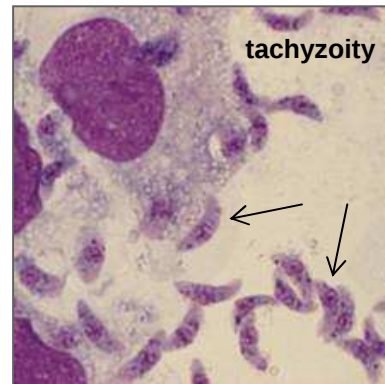
PŘÍMÝ PRŮKAZ: rutinně se neprovádí (pouze specifické případy)

MATERIÁL:

- plodová voda
- fetální krev
- likvor
- bioptický materiál
- sekční materiál

METODY:

- i.p. inokulace myší
- PCR
- histologie



TERAPIE

Není účinná proti tkáňovým cystám!

Kdo je léčen:

- klinicky aktivní infekce
- prokázaná kongenitální toxoplasmóza
- příznaková toxoplasmóza imunodeficitních pacientů

Čím:

Pyrimethamin + sulfadiazin (alt. trimetoprim + sulfamethoxazol)

- antifoláty (synergisty)
- cidní pro tachyzoity
- chemoprolaxe při HIV+

Spiramycin

- brání průniku toxoplasem přes placentu:
 - prevence kongenitální toxoplasmózy (neškodný pro matku i dítě): Francie

PREVENCE

TOXOPLASMÓZA - OPORTUNNÍ INFEKCE

Imunodeficitní pacienti

sérologicky pozitivní

při poklesu CD4+T lymfocytů $<100/\text{mm}^3$ ➡ **chemoprolaxe**

příjemci/dárci orgánů: testování protilátek

PREVENCE

KONGENITÁLNÍ TOXOPLASMÓZA

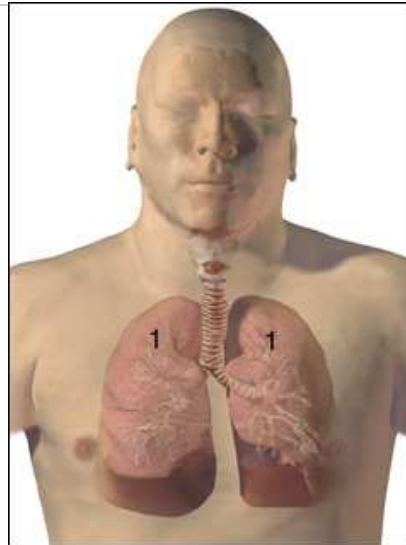
- konzumace dobře tepelně upraveného masa (teplota uvnitř $\geq 66^{\circ}\text{C}$)
- důkladné mytí syrové zeleniny
- důkladné mytí rukou
 - před každým jídlem
 - po manipulaci se syrovým masem
 - po práci s hlínou
- vyhýbat se kontaktu s kočičím trusem



Pneumocystis jirovecii

(Pneumocystis carinii)

- mikroorganismus příbuzný houbám rodu *Schizosaccharomyces*
- extracelulární
- vývoj v plicích
- původce pneumonie osob s imunodeficitem = pneumocystózy



HISTORIE

1909 popis *Pneumocystis carinii* u krysy

1952

objev souvislosti mezi *Pneumocystis*
a onemocněním člověka

dr. Vaněk a prof. Jírovec:

atypická dětská intersticiální plasmocytární pneumonie (1920-1960)

1960

souvislost s nedostatečností imunitní odpovědi

80.léta pneumocystová pneumonie (Pcp) a AIDS

2002

Pneumocystis jirovecii (Pcp: antroponóza)

současnost:

- nové infekce HIV (profylaxe)
- jiné příčiny těžkého imunodeficitu
(transplantace, nádorová onemocnění, autoimunitní onemocnění)

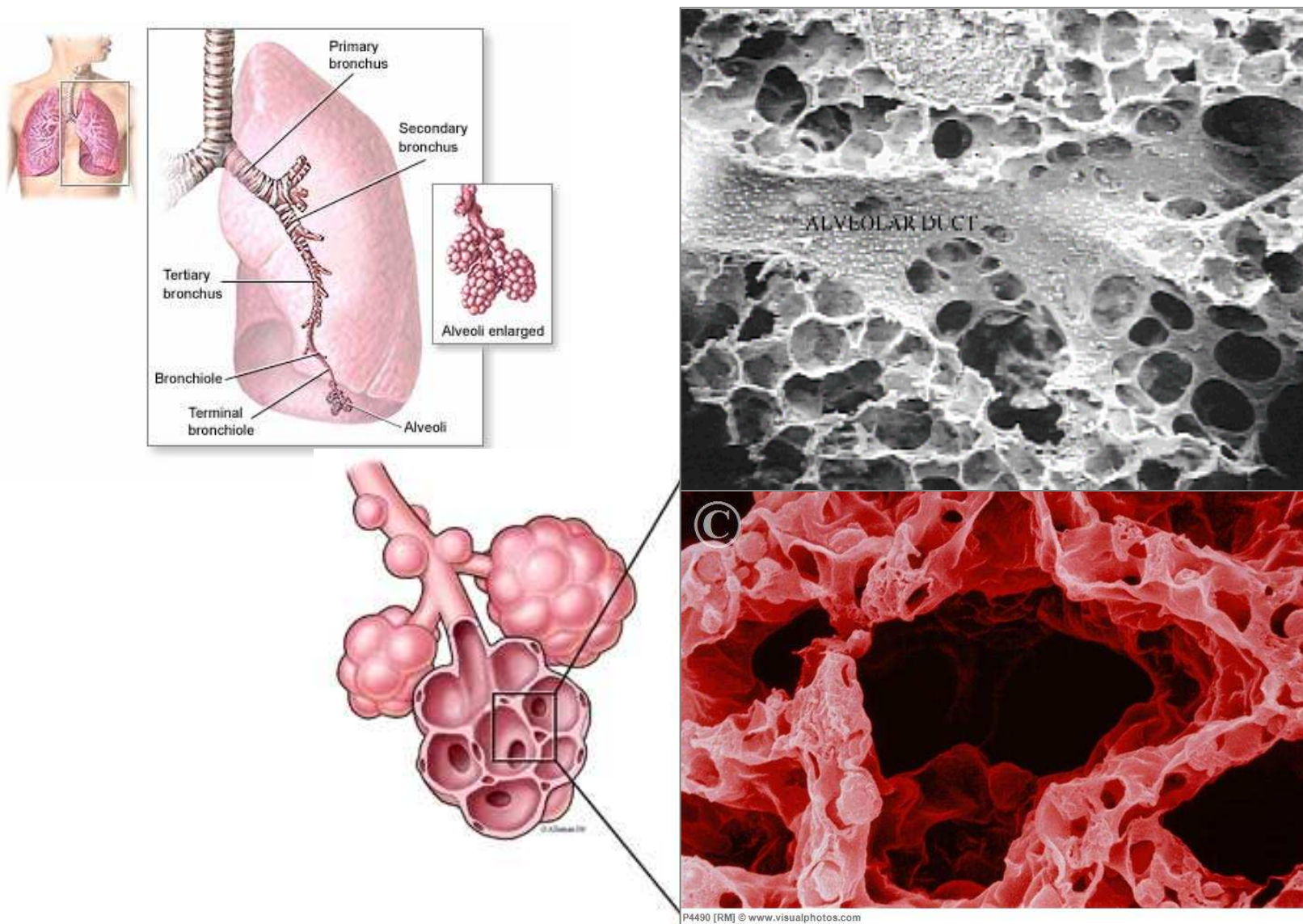


dr. J. Vaněk, prof. Borovanský (druhý zprava)



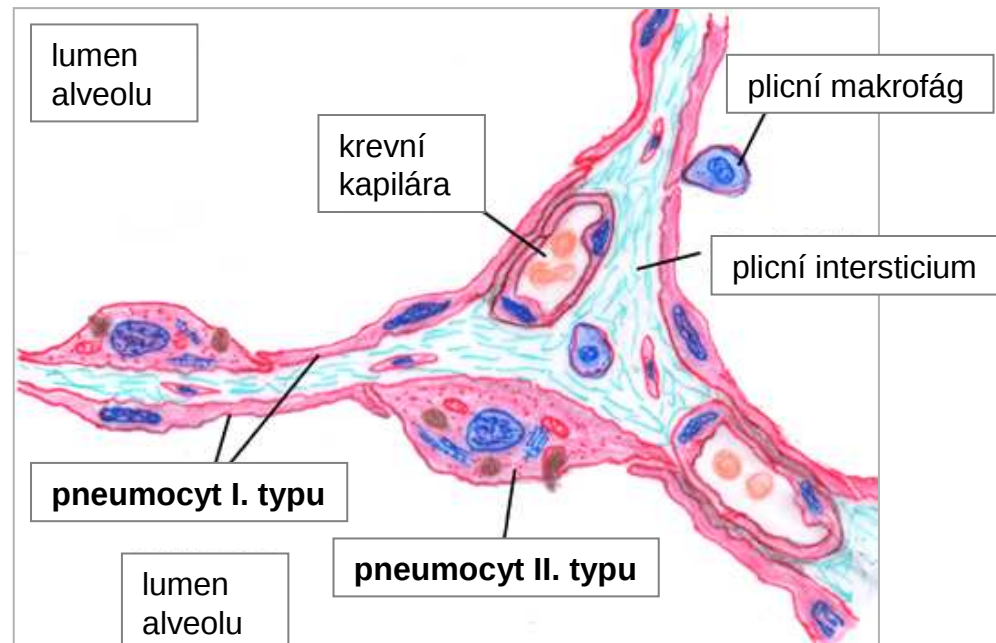
prof. O. Jírovec

Pneumocysty kolonizují plicní alveoly



Plicní alveoly

- tenkostěnné váčky
- výstelka ze dvou typů buněk



PŮVODCE

Pneumocysty nasedají a vyvíjejí se na povrchu výstelky alveolů

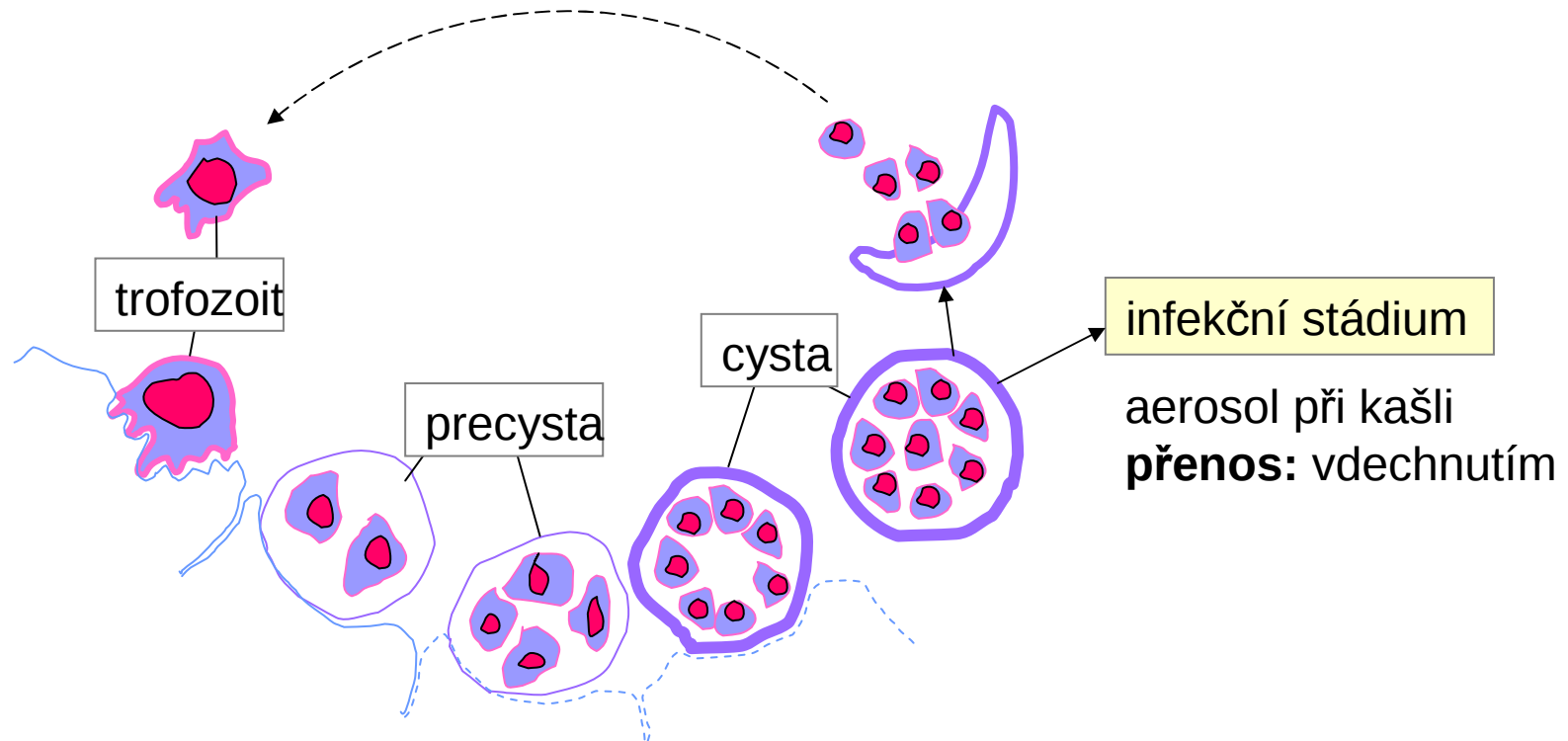
pneumocysty

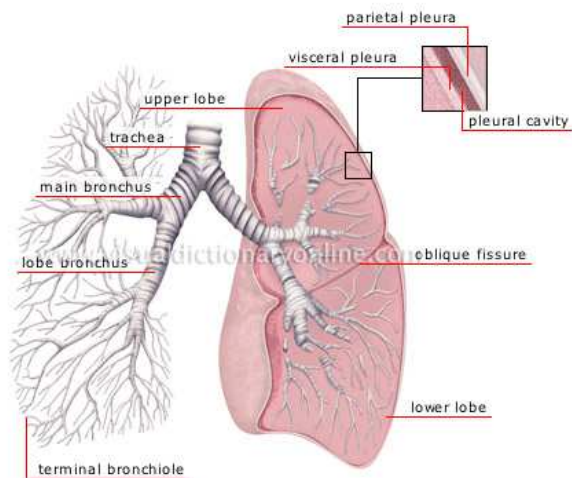


pneumocyt I

PŮVODCE

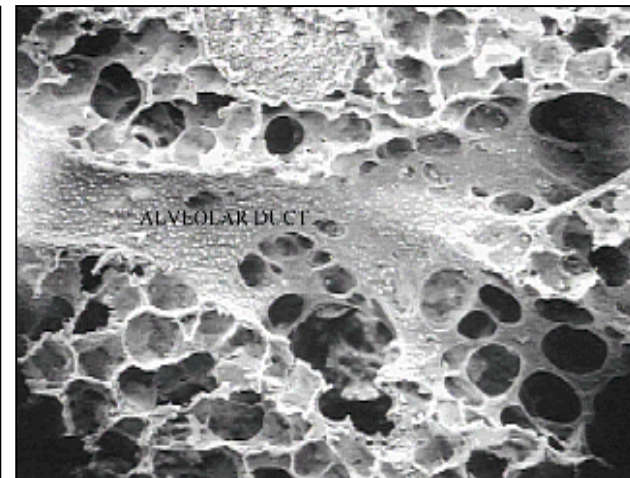
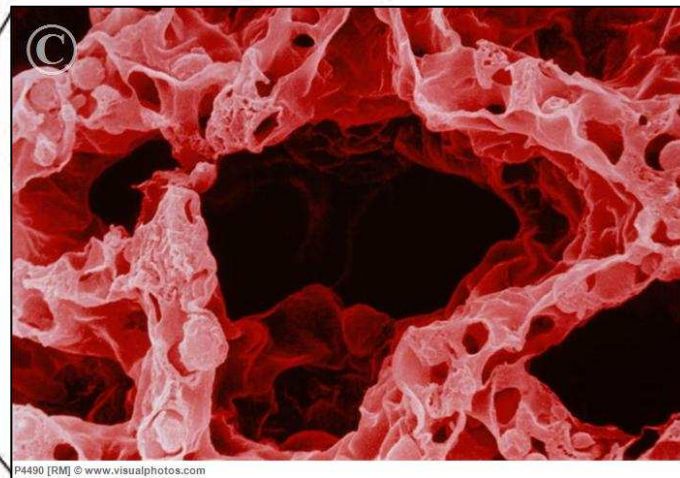
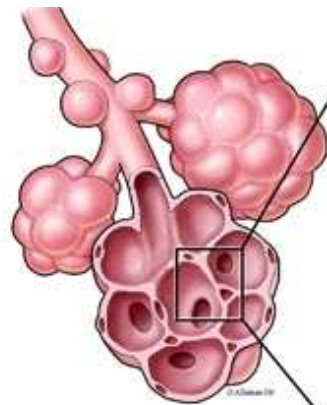
v alveolech extracelulárně 3 stádia: trofozoit, precysta, cysta





PNEUMONIE

- akutní zánětlivé onemocnění
- postihuje
 - respirační bronchioly
 - alveoly
 - intersticiální plicní tkáň

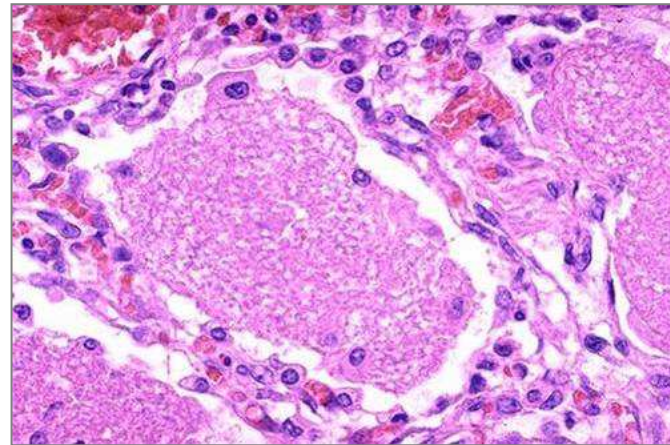


PNEUMOCYSTOVÁ PNEUMONIE

- intersticiální pneumonie: zánětlivý nehnisavý exsudát v plicním intersticiu
lymfoplasmocytární pneumonie
- v lumen alveolů: „pěnovitá“ hmota tvořená surfaktantem navázaným na pneumocysty
důsledek: **snížená kapacita alveolů pro výměnu plynů**



nenakažené alveoly



Zaplnění nakažených alveolů surfaktantem

KLINICKÝ OBRAZ PNEUMOCYSTOVÉ PNEUMONIE

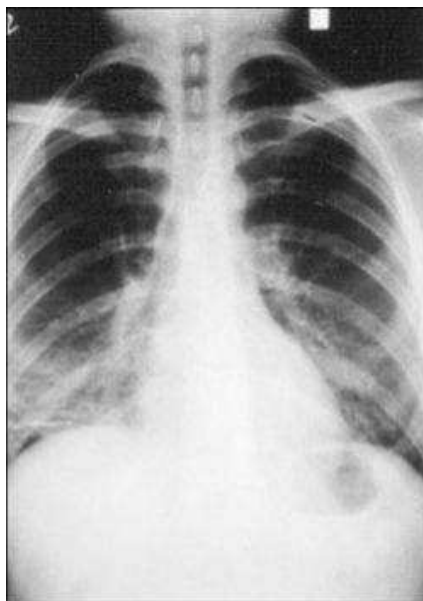
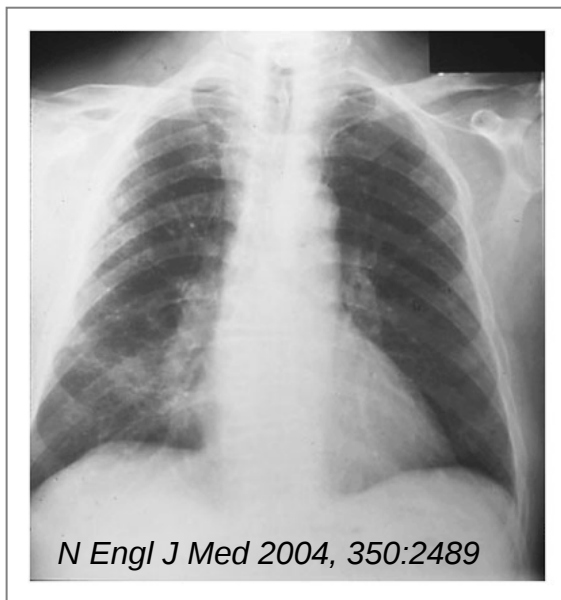
Imunokompetentní osoby: $\frac{3}{4}$ populace má sérové protilátky ???

Imunokompromitované osoby: pneumonie

- **AIDS** – klinicky manifestní onemocnění
při poklesu CD_4 T lymfocytů **pod $200/mm^3$** (profylaxe, HAART)
- onkologicky nemocní (generalizovaná lymfoproliferativní onemocnění)
- pacienti po transplantacích (příjemci solidních orgánů, kostní dřeně)
- předčasně narozené děti

Příznaky: neproduktivní kašel
narůstající dušnost
subfebrilie - horečka

Zobrazovací metody



Infiltráty v plicích

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

PŘÍMÝ PRŮKAZ trofozoitů a cyst v plicní tkáni nebo sekretech

MATERIÁL

1. bronchoalveolární tekutina
2. indukované sputum
3. aspirát bronchů
4. neindukované sputum
5. výplach dutiny ústní („oral wash“)
6. (plicní biopsie, sekce plic)

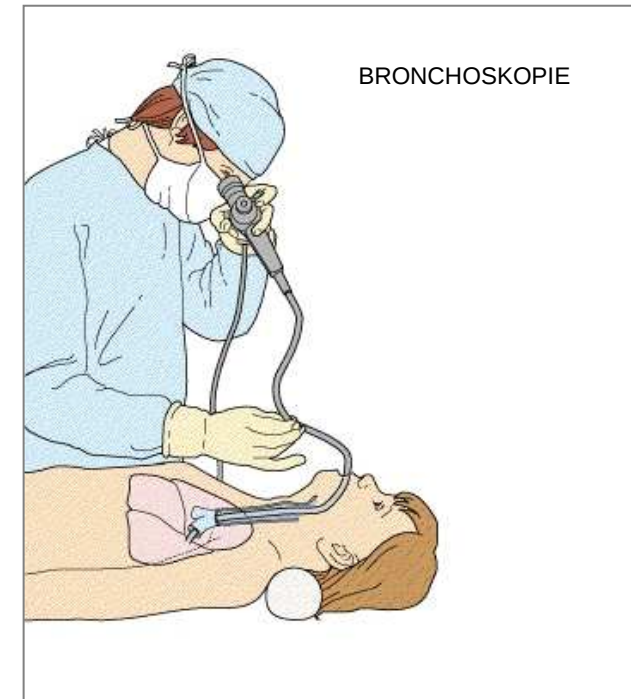
METODA

- mikroskopie
- PCR
- histologie

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

MATERIÁL

1. bronchoalveolární tekutina: získává se bronchoalveolární laváží (BAL)



LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

MATERIÁL

2. indukované sputum: získává se inhalací hypertonického roztoku NaCl

- inhaluje se aerosol 5% NaCl
 - k tvorbě aerosolu se používá ultrazvukový nebulizátor
 - délka inhalace: 15 minut



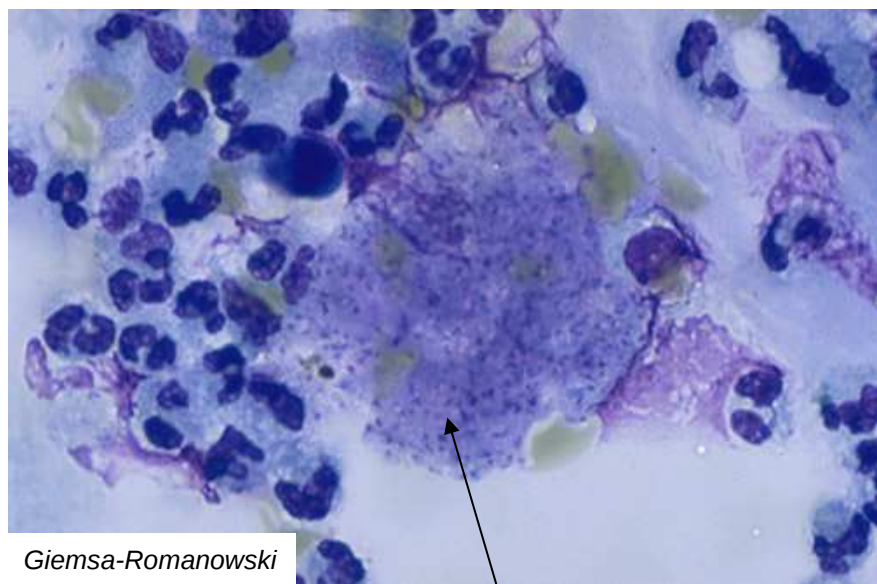
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Mikroskopie

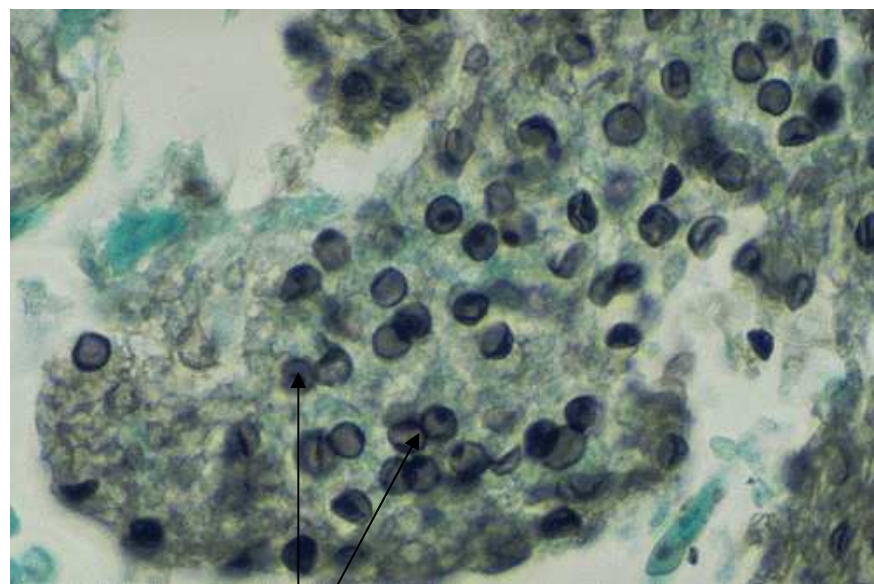
2 barvené preparáty

(a) barvení podle Giemsa-Romanowski: **průkaz trofozoitů**

(b) stříbření (Grocott): **průkaz cyst**



masa pneumocyst uvolněná při odběru BAL



cysty pneumocyst

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

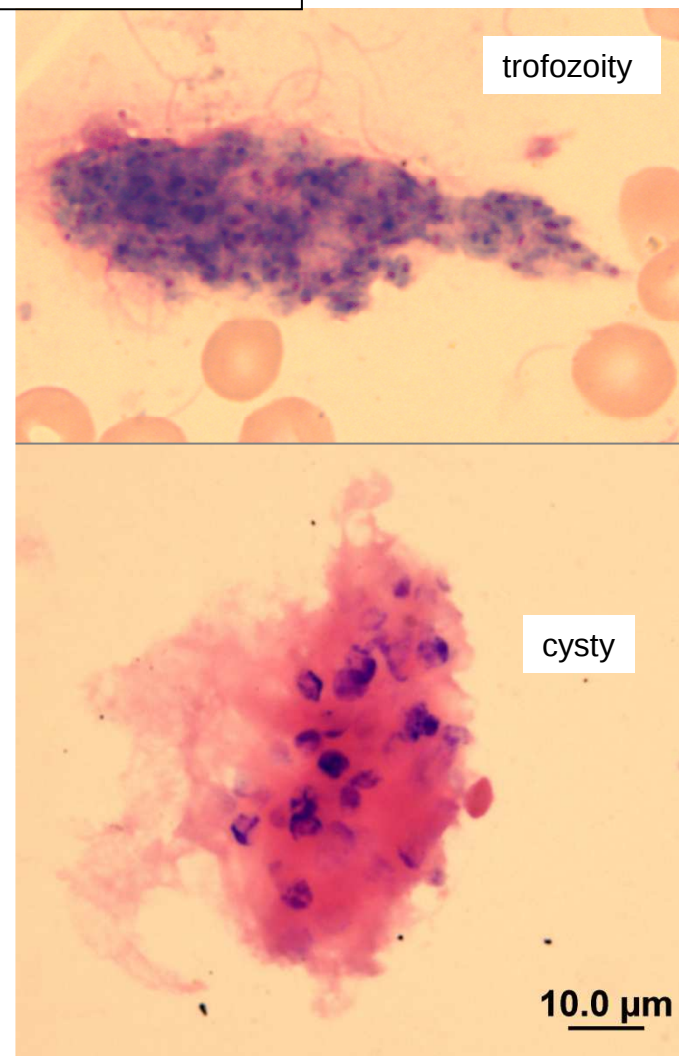
OMEZENÍ MIKROSKOPIE

VYŠETŘOVANÝ MATERIÁL

- bronchoalveolární tekutina
80 – 95% citlivost
- indukované sputum
50 – 90% citlivost
- neindukované sputum
~ 20 % citlivost

MOŽNOSTI ODBĚRU (stav pacienta)

KVALITA ODBĚRU



LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

PCR: průkaz DNA *Pneumocystis*

VHODNÝ MATERIÁL:

- bronchoalveolární tekutina
- indukované sputum
- neindukované sputum (DTT)
- aspirát nebo výplach dýchacích cest
- výplach dutiny ústní „oral wash“
- vzorky plicní biopsie, histologické řezy plic

NEVHODNÝ MATERIÁL:

- krev (nesrážlivá, srážlivá)

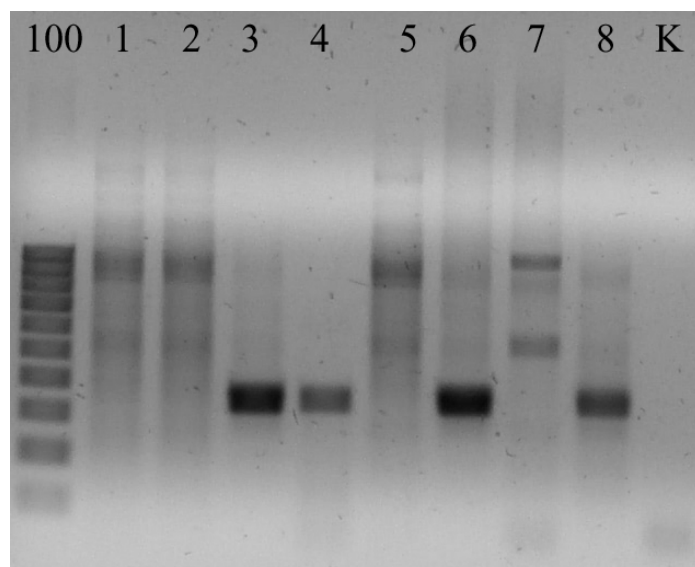
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA PNEUMOCYSTOVÉ PNEUMONIE

PCR PRŮKAZ *P. jirovecii*

primery (pAZ102-H, pAZ102-E) (*Wakefield et al. 1990*)

jednokroková PCR

detekce úseku genu pro mtLSU rRNA o velikosti 346 bp



1,2 – negativní pacienti

3 – aspirát

4 – histologický řez

5 – krev

6 – bronchoalveolární laváž

7 – buffy coat

8 – sputum

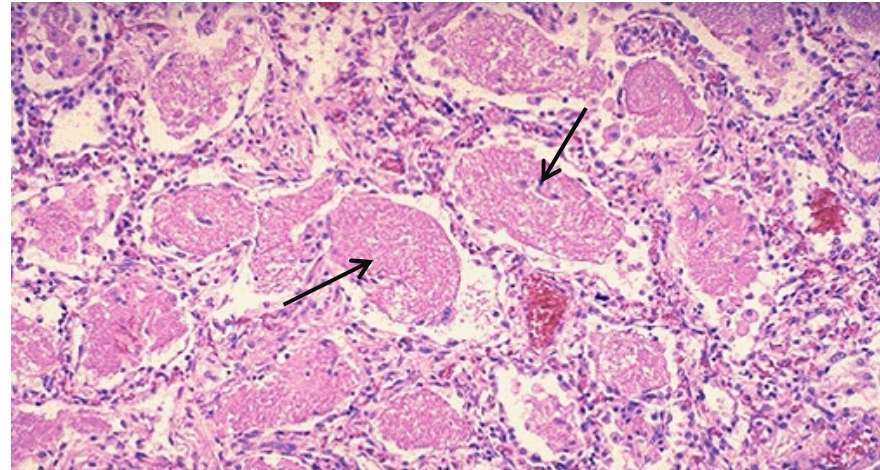
K – negativní kontrola

+ **+** **-** **+** **-** **+**

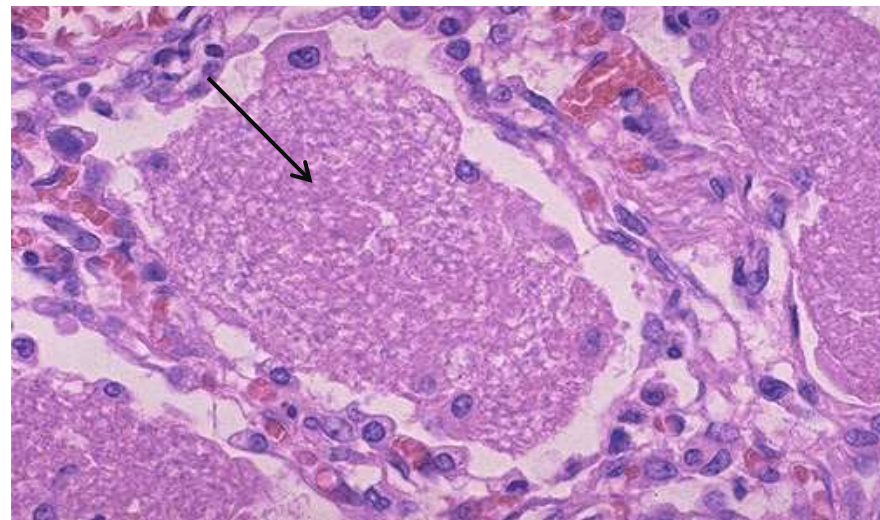
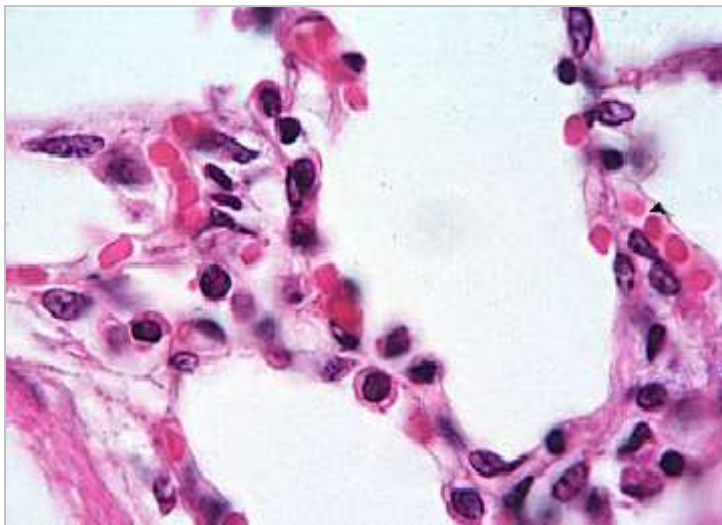
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Histologie

biopsie
sekční materiál



Pcp: alveoly vyplněné “pěnovitou” hmotou
= surfaktant + pneumocysty



TERAPIE

Kdo je léčen:

- klinicky aktivní infekce

Čím:

trimetoprim + sulfamethoxazol (co-trimoxazol = Biseptol)

- chemoprolaxe při HIV+

Pentamidin