

SŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Výskyt cyst *Toxoplasma gondii* ve volně přístupných pískovištích na území Liberce

Matyáš Krtička

Liberec 2014

Středoškolská odborná činnost

Obor SOČ: 08. ochrana a tvorba životního prostředí

Výskyt cyst *Toxoplasma gondii* ve volně přístupných
pískovištích na území Liberce

The occurrence of *Toxoplasma gondii* cysts in freely
accessible playpits of Liberec

Autor: Matyáš Krtička
Škola: Podještědské gymnázium, s.r.o.
Sokolovská 328, Liberec 14

Vedoucí práce: Mgr. Jiří Jansa

Konzultant: Doc. Mgr. Irena Lovětinská Šlamborová Ph.D

Liberec 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou práci vypracoval samostatně pod vedením Mgr. Jiřího Jansy a veškerou použitou literaturu či jiné zdroje jsem uvedl v seznamu literatury internetových odkazů. Postup při zpracování a dalším nakládání s prací je v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

V dne podpis:

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucímu práce Mgr. Jiřímu Jansovi za korekci práce. Dále bych rád vyjádřil vděčnost Technické univerzitě v Liberci za možnost provedení výzkumu a konkrétně bych rád poděkoval Doc. Mgr. Ireně Lovětinské Šlamborové Ph.D a Mgr. Veronice Zajícové Ph.D. za obětavý přístup a vedení práce v laboratoři. Dále bych rád poděkoval Krajské hygienické stanici v Liberci a konkrétně RNDr. Dušaně Kafkové a MUDr. Janě Pilnáčkové za přístup k informacím ohledně stavu toxoplazmózy v České republice a Liberci.

Anotace

Tato práce pojednává o parazitickém prvokovi *Toxoplasma gondii*. Jeho cílovým hostitelem je kočkovitá šelma, ale rozmnožovací cyklus zasahuje i savce a týká se tedy i člověka.

Cílem práce je podat informace o parazitovi, jeho životním cyklu a výskytu. Zároveň popsat nemoc, kterou způsobuje. Autor se věnuje i historii nemoci a objevu původce, způsobu nákazy, diagnostice a léčbě či zamezení poškození napadeného jedince. Hlavní část práce je věnována testování volně přístupných pískovišť v intravilánu Liberce na přítomnost cyst *Toxoplasma gondii*. Dále se autor věnuje návrhu na zamezení kontaminace a rovněž se zabývá současným stavem znečištění pískovišť.

Klíčová slova: *Toxoplasma gondii*, toxoplazmóza, pískoviště, oocysta, přenašeč.

Anotation

The project deals with the parasitic protozoa *Toxoplasma gondii*. The final hosts of the parasite are felines but the cycle of reproduction includes mammals and thus the human.

The aim of the project is to provide information about the parasite, its life cycle, appearance and as well describe the illness which is caused by the parasite. The author describes the history of the illness, the discovery of the causer, the way of the contagion, the diagnostics, the treatment and prevention of the harm of the infected person. The main part of the project focuses on testing of free-opened playpits for the presence of *Toxoplasma gondii* cysts in the area of Liberec. The author also describes how to prevent the contamination of playpits and is also interested in the severity of pollution of the playpits.

Key words: *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, playpits, oocysts, medium.

Obsah

Anotace.....	5
Anotation.....	6
Úvod	9
1. Objev původce a historie nemoci	10
2. <i>Toxoplasma gondii</i>	11
2.1 Morfologie.....	11
2.2 Životní cyklus.....	12
3. Toxoplazmóza	16
3.1 Získaná toxoplazmóza	16
3.1.1 Způsob nákazy.....	16
3.1.2 Průběh akutní toxoplazmózy a reaktivizace latentní fáze.....	17
3.1.3 Latentní toxoplazmóza a ovlivnění člověka	18
3.1.4 Toxoplazmóza u jedinců s imunodeficitem.....	19
3.2 Kongenitální toxoplazmóza.....	19
3.3 Diagnostika.....	21
3.3.1 Výsledky diagnostiky v Libereckém kraji v období 2001 – 11/2013.....	22
3.4 Léčba	25
4. Výskyt cyst <i>Toxoplasmy gondii</i> ve volně přístupných pískovištích na území Liberce	27
4.1 Venkovní hrací plochy.....	27
4.1.1 Lokality pískovišť.....	28
4.2 Metodika.....	28
4.2.1 Odběr vzorků písku.....	29
4.2.2 Analýza vzorků v laboratoři	30
4.3 Výsledky a vyhodnocení	31
4.3.1 Vzorek číslo 1	33

4.3.2 Vzorek číslo 2	35
4.3.3 Vzorek číslo 4	37
4.4 Návrh na zamezení kontaminace	38
Závěr	39
Bibliografie.....	40
Přílohy	43

Úvod

Toxoplazmóza je nemoc způsobená parazitickým prvokem *Toxoplasma gondii*. Onemocnění je často diskutované téma, jak mezi odborníky, tak mezi širokou veřejností, právě kvůli zajímavým dopadům na hostitele. Průběh onemocnění nemusí mít žádné následky, ale může vygradovat a problémy mohou nastat například u kongenitální toxoplazmózy. Zároveň je velice zajímavá i latentní fáze nemoci, která ovlivňuje člověka dlouhodobě a změny lze pouhým okem pozorovat jen těžko, avšak ze statistických údajů vyplývá, že vliv tkáňových cyst na člověka je větší, než by se na první pohled mohlo zdát.

Parazit je sám o sobě schopný přežít v nehostinných podmínkách po relativně dlouhou dobu a za příznivých podmínek ve stádiu vysporulované oocysty může být zdrojem potenciální infekce více než rok. *Toxoplasma gondii* je v českém jazyce známá spíše jako kokcidie kočičí a jejím definitivním hostitelem je například kočka domácí. Kočka je domestikované zvíře a nachází se v přímém kontaktu s lidmi a je tedy možnou hrozbou nákazy člověka, jelikož z jejího trávicího traktu vycházejí oocysty, které jsou infekční kromě jiných druhů i pro člověka.

Téma výzkumu výskytu oocyst *Toxoplasma gondii* vychází z jednoduchého předpokladu, že se toulavé kočky, jakožto možné přenašečky, volně pohybují ve městech. Tato zvířata mají přístup k nezakrytým veřejným pískovým plochám, kde následně kálí a je tedy možné, že se tímto způsobem oocysty dostávají do písku. V ohrožení získané toxoplazmózy jsou tedy následně děti, které si na pískovištích hrají.

Práce se bude zabývat sběrem vzorků písku z pískovišť s označením VHP (Venkovní Hrací Plocha). Tato pískoviště mají provozovatele a zákonem daný řád. Samotný výzkum se bude provádět flotační metodou, která se aplikuje na vzorky písku a dále se formou optické mikroskopie budou pozorovat a hledat ve vzorcích oocysty. Následně se vyhodnotí výsledky a navrhne se opatření na zamezení kontaminace.

1. Objev původce a historie nemoci

Rodové jméno *Toxoplasma* je odvozeno od slova *toxon* (oblouk nebo luk), protože vysporulované oocysty mají při zvětšení obloukovitý tvar. Druhové jméno *Gondii* parazit dostal po prvním známém hostiteli, gundim saharským (*Ctenodactylus gundi*).

K objevení samotného parazita došlo v Tunisu roku 1908 v Pasteurově ústavu a za objev byli zodpovědní prof. Ch. Nicolle a Dr. L. Manceaux. Další průlom nastal v roce 1926, kdy československý oftalmolog MUDr. J. Janků uveřejnil svou studii „Patogeneze a patologická anatomie vrozeného kolobomu žluté skvrny“. V této práci popsal případ jedenáctiměsíčního chlapce s hydrocefalem, levostranným mikroftalmem a degenerativními ložisky v oblasti žluté skvrny. Po smrti a následné pitvě onoho chlapce Janků našel v očních bulvách tkáňové cysty toxoplasmy. Vědecké práce popisovaly především toxoplazmózu u zvířat, až do chvíle, kdy autoři Wolf a Sabina zpracovali roku 1938 spis na téma „*Toxoplasma* jako původce vrozené encefalitidy“. Případ toxoplazmózy u dospělého člověka poprvé popsal v roce 1940 Pinkerton a o popsání klinické formy se zasloužil v roce 1950 Siim z Kodaně.¹

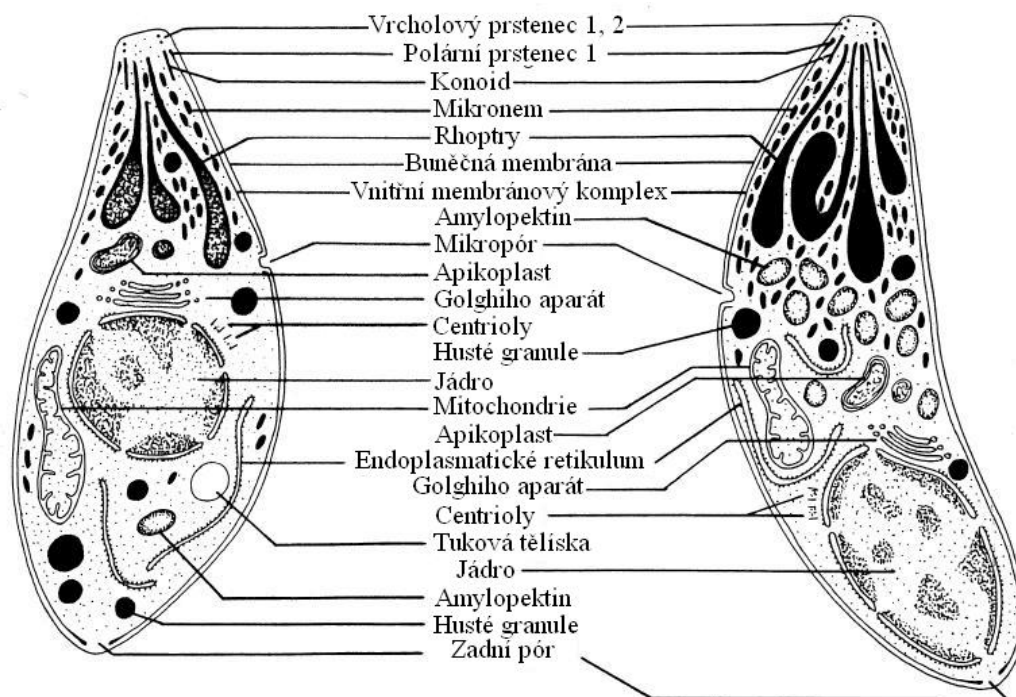
¹ KOUBA, Karel, JÍRA, Jindřich a HÜBNER, Jiří. *Toxoplazmóza*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1974. 312 s.

2. *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii je invazivní, parazitický, intracelulární prvok. Český název je kokcidie kočičí a parazit je heterogenní, to znamená, že má více než jednoho hostitele. Řadí se do třídy *Conoidasida*, podtřídy kokcidie (*Coccidiasina*), řádu *Eucoccidiorida*, čeledi *Sarcocystidae* a rodu *Toxoplasma*.

2.1 Morfologie

Vnitřní stavba *Toxoplasma gondii* je relativně jednoduchá a obsahuje všechny nezbytné a základní orgány, ale na druhou stranu má i několik morfologických zvláštností. V každé fázi má jiné uspořádání organel v těle. Obrázky jsou nakresleny na základě fotek z elektronového mikroskopu.

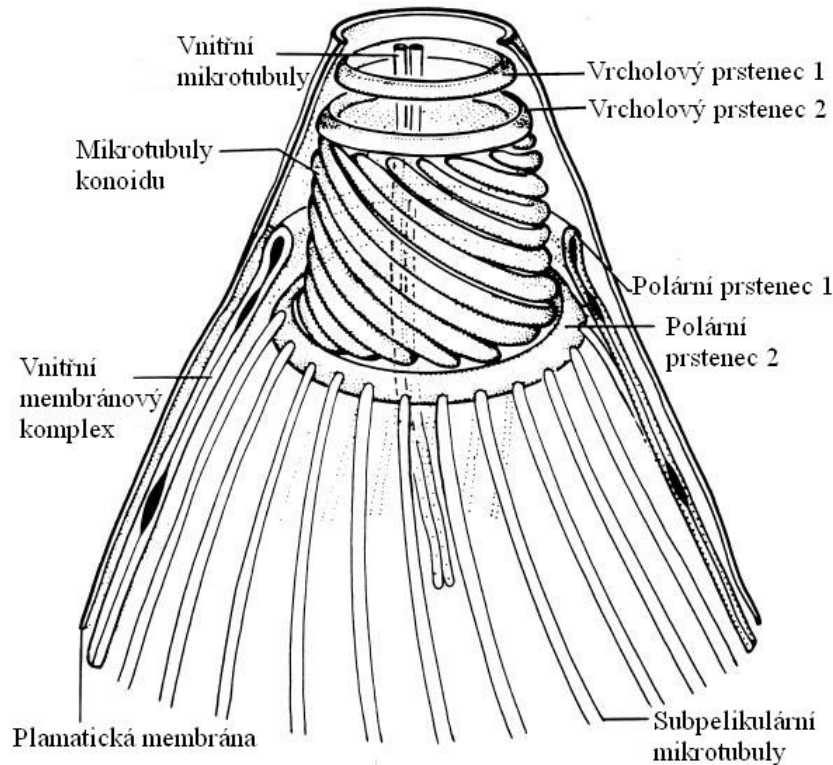


Na levém obrázku je tachyzoit a na pravém bradyzoit.²

Nejzajímavější organelou u parazita je konoid (viz Obr. č. 1). Tato organela pomáhá ve fázi tachyzoita při vstupu do hostitelské buňky. Tachyzoit nejprve musí být v těsném kontaktu s buňkou, a tedy musí překonat odporovou sílu a dosáhnout stabilního uchycení na membráně. Parazit se pohybuje klouzáním přes buňku. Následně vnikne do buňky, aniž by ji poškodil, a započne množení. Neobvyklé je, že *Toxoplasma gondii* může napadat téměř

² DUBEY, J. P., D. S. LINDSAY a C. A. SPEER. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. 1998.

všechny typy savčích buněk, kromě savčích erytrocytů. Dokonce je schopna napadnout i buňky hmyzu nebo ryb. Konoid vnikne do buňky a vzhledem k tomu, že je převážně tvořen mikrotubuly, jeho struktura je velice pevná a je schopna překonat buněčnou membránu (viz Obr. č. 2).



Obrázek morfologie konoidu.³

2.2 Životní cyklus

Hostitele můžeme rozdělit na tzv. mezihostitele a definitivní hostitele. Mezihostitel je takřka jakýkoliv teplokrevný obratlovec včetně člověka, vyjma definitivní hostitele, zatímco mezi definitivního hostitele patří: kočka domácí (*Felis silvestris f. catus*), rys červený (*Lynx rufus*), kočka zakrslá (*Prionailurus bengalensis*), ocelot grošovitý (*Pardalis pardalis*), jaguarundi (*Puma yagouaroundi*) a irbis horský (*Panthera uncia*). Životní cyklus můžeme rozdělit na sexuální a asexuální část. Sexuální fáze parazita se odehrává pouze v definitivním hostiteli, zatímco asexuální fáze primárně v mezihostiteli. V případě, že se definitivní hostitel nakazí oocystami, dochází u něj též k rozšíření parazita do celého těla a až následně se parazit množí ve střevním epitelu sexuální formou.

³ DUBEY, J. P., D. S. LINDSAY a C. A. SPEER. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. 1998.

Za objev sexuálního vývojového cyklu *Toxoplasma gondii* je zodpovědný Hutchinson, který experimentoval na kočkách domácích. „*Hutchinson a kolektiv nakrmili kočky prosté nákazy mozkiem nakažených myši obsahující cysty Bayerleyova kmene Toxoplasma gondii. Ve výmětech takto infikovaných koček se za 6 dní objevilo množství nevysporulovaných cyst, v histologických řezech tenkým střevem byla nalezena schizogonická a gametogonická stádia, připomínající endogenní cyklus kokcií.*“⁴

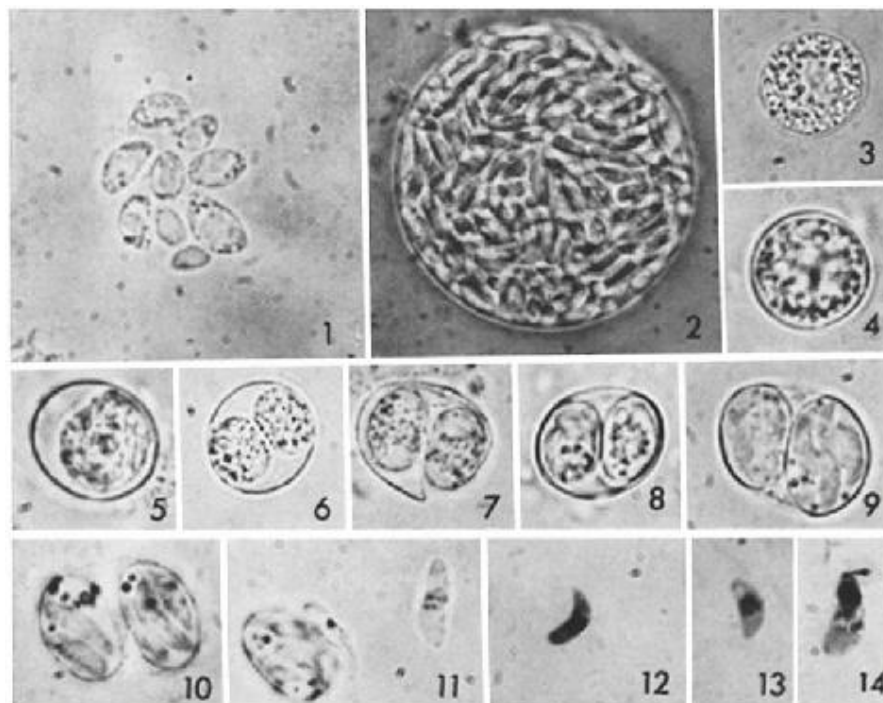
Definitivní hostitel se nakazí zpravidla alimentární cestou asexuálními formami prvoka, tedy tkáňovými cystami, a to sežráním nakaženého meziphostitele například myši nebo ptáka. Z tkáňových cyst se vyvinou merozoiti a při požití oocyst se z nich vyvinou sporozoiti. Po vniknutí parazita do těla definitivního hostitele, dochází k intracelulární reprodukci a následně se parazit množí ve střevním epitelu. Konkrétně se schizogonická (dceřiné buňky vzniklé rozpadem jádra mateřské buňky) a gamogonická (jedinci, kteří vznikli sexuální rozmnožováním) stádia vyskytují v kyčelníku na vrcholcích střevních koků, ale parazit se může vyskytovat v celém střevě. V tomto místě dochází tedy i k asexuálnímu množení, ale následně dochází k sexuální fázi. Výsledkem jsou gamogonické formy, které dozrávají v samčí mikrogametocyty a samičí makrogametocyty. Následným spojením vznikají oocysty, které opouštějí trávicí trakt společně s trusem. V trusu se oocysty objevují za tři až pět dní a definitivní hostitel je vylučuje po jeden až tři týdny. Zejména je vylučují infikovaná kořata. Vylučování neprobíhá nijak závažně dlouhou dobu, a však kočka je schopna vyloučit až 150 milionů oocyst a kočky v této době trpí průjmami.

Když oocysta opustí spolu s výměty vnitřní prostředí kočky, tak dochází při kontaktu s vnějším prostředím ke sporulaci a ta trvá přibližně jeden až pět dní, záleží na teplotě prostředí. Oocysta je velice odolná, aby byl parazit usmrcen, musí se nacházet v prostředí s teplotou -20°C po dobu 24 hodin nebo jej musíme vložit do vody o 70°C na 10 minut. Parazit je též velice odolný vůči čisticím prostředkům a vyschnutí. Po sporulaci je schopen přežít za vhodných podmínek až jeden rok. Oocysty mohou být přenášeny i tzv. přenašeči, mezi které patří například mouchy nebo švábi.

Když se *Toxoplasma gondii* dostane do těla jakéhokoliv teplotokrevného obratlovce, na řadu přichází asexuální množení prvoka. Problematice nákazy je věnován oddíl 3.1.1. *Způsoby nákazy*. Dochází k intracelulární reprodukci (endodyogonie) v mimostřevních buňkách. Jsou tvořeny tzv. pseudocysty, které obsahují merozoity. V této fázi se merozoiti

⁴KOUBA, Karel, JÍRA, Jindřich a HÜBNER, Jiří. *Toxoplazmóza*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1974. 312 s.

označují jako tachyzoiti (z řeckého slova tachy= rychle). Když pseudocysta praskne, tak se tachyzoiti dostanou do oběhu a infikují další buňky. Tato forma prvoka má jediný smysl a to je zmnožit se do co nejvyššího počtu a zahltit hostitelův organismus. U gravidní ženy hrozí proniknutí tachyzoitů transplacentárně do plodu. Tachyzoiti se v organismu vyskytují jen relativně krátkou dobu a to do chvíle než se vytvoří tkáňové cysty tzv. bradyzoiti (z řeckého slova brady= pomalý). Stádium bradyzoitů, tedy latentní toxoplazmóza je doživotní a k jediné změně může dojít pouze při reaktivizaci tedy přechod z bradyzoitů na tachyzoity. Stádium bradyzoitů je pro parazita v mezhospiteli konečné. Mezhospitel může být sežrán některou z vybraných kočkovitých šelem a cyklus se opakuje (viz Obr. č. 3).



Na obrázku 1-14 jsou mikrofotografie různých fází parazita *Toxoplasma gondii* se zvětšením 1600X. Obrázky 1-11 jsou čerstvé preparáty, obrázky preparátů 12-14 jsou obarveny dle Giemsy. Na obrázku (dále jen obr.) 1 jsou tachyzoiti z hlenu pobřišnice infikované myši. Obr. č. 2- Cysta z myšního mozku obsahující merozoity. Obr. č. 3 a 4- Nevysporulované oocysty. Obr. č. 5- Rozvoj oocysty po 9 hodinách v aerobním prostředí při pokojové teplotě. Ve středu se smršťuje sporont. Obr. č. 6- Oocysta po 12 hodinách za stejných podmínek. Zřetelně jsou již vidět dvě sporocysty. Obr. č. 7- Oocysty se dvěma sporocystami po 18 hodinách. Můžeme pozorovat prasklinu v oocystě. Obr. č. 8- Oocysta sporuluje již 24 hodin za stejných podmínek. Ve sporocystách můžeme pozorovat světlejší

místa tzv. granule. Obr. č. 9 a 10- Na oocysty se nechal působit 30 minut 6% roztok chlornanu sodného. Došlo k urychlení procesu a vnější stěna oocysty byla rozpuštěna. Na obr. č. 9 lze jasně vidět čtyři sporozoity v každé sporocystě. Na obr. č. 10 lze vidět uspořádání sporozoitů ve sporocystě. Obr. č. 11- Volní sporozoiti. Obr. č. 12- Sporozoit obarvený dle Giemsy. Obr. č. 13- Lze rozeznat jádro sporozoita. Obr. č. 14- Je zřetelně vidět jádro a kónické zakončení přední části.⁵

⁵ DUBEY, J. P., NANCY L. MILLER a J. K. FRENKEL. THE TOXOPLASMA GONDII OOCYST FROM CAT FECES. 1970.

3. Toxoplazmóza

Toxoplazmóza je nemoc vyvolaná prvokem *Toxoplasma gondii*. Choroba se též někdy označuje jako Morbus Janků. Toxoplazmózu základně rozdělujeme na získanou a vrozenou (kongenitální) a tedy podle způsobu nákazy. Promořenost v České republice se pohybuje od 25% do 30%, avšak v Německu a ve Francii se počet infikovaných osob odhaduje na 70% a v některých státech světa je promořenost 90%, ale průměrná světová prevalence se drží okolo 50%. Prevalence této choroby je poměrně vysoká, avšak následky u získané toxoplazmózy, kterých se veřejnost tolik obává, mohou být samozřejmě fatální, ale v naprosté většině případů se nemoc neprojeví klinicky nebo jsou příznaky mírné.

3.1 Získaná toxoplazmóza

Získanou toxoplazmózou subjekt onemocní během života a nenese si ji tedy z prenatálního období od matky jako je tomu u kongenitální toxoplazmózy. *Toxoplasma gondii* žije v mezipříteli až do jeho smrti a vzhledem k tomu, že jsou tkáňové cysty rozšířené po celém těle, není možné prvoka odstranit. To ovšem běžnému zdravému jedinci nepůsobí problémy a zdravý imunitní systém uhlídá Toxoplasmu před reaktivizací. Inkubační doba nemoci se pohybuje od jednoho do tří týdnů.

3.1.1 Způsob nákazy

Největší počet nakažení je alimentární cestou a to pozřením jiného mezipřítelce. Potenciální hostitel se tedy nakazí tkáňovými cystami a následně u něj dochází rozšíření parazita po téměř celém těle. Nejsnadnější a nečastější příčina nákazy u člověka je sněžení nedostatečně tepelně upraveného masa obsahujícího tkáňové cysty. Nakazit se lze i v důsledku transplantace orgánů, kdy se tkáňové cysty přenesou do nového hostitele, problém ovšem nastává z důvodu uměle snížené obranyschopnosti za účelem lepšího přijetí orgánu. Další způsob přenosu je transplacentárně, ovšem to již mluvíme o kongenitální toxoplazmóze, které je v práci věnovaný jiný oddíl. Vysporulované oocysty jsou pro mezipřítelce rovněž infekční. K nákaze dochází po pozření výmětů vybraných kočkovitých šelem. Výkaly se často vyskytují v oblasti pískovišť, kde se jimi mohou nakazit děti. Výměty se též mohou vyskytovat na obalech potravin. Téměř jakýkoliv teplokrevný obratlovec se též může nakazit i cestou respirační a tedy vdechnutím spory, ovšem tento druh nákazy je méně častý a převažuje nakažení alimentární cestou. Prevalence mezi domácími zvířaty je celkem vysoká, takže pochoutky jako je například tatarský biftek, mohou obsahovat bradyzoity (tkáňové cysty).

Výsledky prevalence a pozitivita séra na protilátky *Toxoplasma gondii* u testovaných domácích zvířat v České republice (Data jsou sbíraná od roku 1995 do 2012). Kozy 66%, ovce 59%, kočky 44%, prasata 36%, psi 26%, koně 23%, drůbež 12% (husy 43%, kachny 14%, brojleři 0,3%, krůty negativní, kuřata negativní) a skot 9,7% (viz Obr. č. 4).⁶

3.1.2 Průběh akutní toxoplazmózy a reaktivizace latentní fáze

Mezihostitele můžeme rozdělit podle vnímavosti na parazita a podle toho se dále určuje, zda je subjekt schopen přežít akutní fázi nebo se ho tato fáze netýká. U každého mezihostitele je průběh nemoci odlišný. Do první skupiny řadíme živočichy, jejichž průběh nemoci je akutní a končí smrtelně i v několika dnech. Tito teplokrevní obratlovci, mezi které patří například klokan nebo vačice, jsou málo odolní a silně vnímaví vůči parazitovi. Jejich organismus je zaplaven tachyzoity a ty se následně vyskytují ve všech tkáních kromě savčí krve (erytrocytů). Je zajímavé, že do této skupiny můžeme zařadit i malou kočkovitou šelmu jménem manul (*Otocolobus manul*). Díky vysoké vnímavosti a absenci protilátek dochází k častým úhynům a to zpravidla při chovu v zajetí. Ovšem pokud to manul stihne, tak je schopen před smrtí vyloučit oocysty. Do druhé skupiny řadíme živočichy sice vnímavé, ale odolné. U těchto živočichů záleží na infekční dávce a na stavu hostitele (i na věku). Onemocnění probíhá buď, bez akutní fáze a tedy dochází ke klinickému zdraví jedince nebo může dojít k akutní toxoplazmóze. Mezi živočichy této kategorie patří například šelmy, opice a člověk. Ve třetí skupině jsou živočichové, u kterých nedochází k akutní fázi, ani po opakovaných infekčních dávkách a infekce zůstává pouze latentní. Do čtvrté skupiny patří živočichové, kteří nejsou vnímaví a v jejich těle je pohyb parazitů velice pomalý, mezi tyto organismy se řadí studenokrevní živočichové.⁷

Akutní fáze může nastat po nakažení mezihostitele a zmnožení tachyzoitů v těle. Symptomy akutní fáze se projevují přibližně jen u 5 % případů. Ve zbylých 95% probíhá infekce asymptomaticky a dojde ke vzniku formy latentní, která je doživotní. Symptomatický průběh není tak častý, ale je možné, že dochází ke špatnému rozpoznání a záměnou s běžnějšími chorobami a tedy pouze nejsou záznamy. Nejčastěji se člověk s akutní fází nemoci setkává s uzlinovou formou, která se projevuje mírně zvýšenou teplotou, malátností, bolestmi hlavy, nebolestivým otokem mízních uzlin, může se objevit i zvětšení jater a sleziny

⁶ BARTOVA, Eva a Kamil SEDLAK. Toxoplasmosis in Animals in the Czech Republic – The Last 10 Years. 2012. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.5772/50022>

⁷ KOUBA, Karel, JÍRA, Jindřich a HÜBNER, Jiří. Toxoplazmóza. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1974. 312 s.

tzv. hepatosplenomegalie. Ve většině případů dojde k ústupu klinických příznaků do jednoho týdne od započetí projevů a k přechodu do latentního stavu nemoci, ovšem po několik týdnů, ba dokonce měsíců může přetrvat zduření uzlin. K těžkému akutnímu průběhu dochází velice vzácně a bez výhrady u lidí s imunodeficitem.

Reaktivizace toxoplazmózy je stav, kdy nemoc přejde z latentní fáze do akutní. K tomuto jevu dochází v důsledku snížení obranyschopnosti například při imunosupresi nebo při imunodeficitu jako je tomu například u AIDS. Existuje kritická hranice, kdy se latentní toxoplazmóza reaktivuje. Tato hranice je stanovená počtem bílých krvinek. Když je počet CD4+ T lymfocytů menší než 250 buněk na mikrolitr, dojde k reaktivaci. V důsledku reaktivizace prasknou tkáňové cysty *Toxoplasma gondii* a tachyzoiti zaplaví organismus jako je tomu u primoinfekce. Vzhledem k tomu, že veliký počet bradyzoitů byl ukrytý v nervové tkáni, tak nejčastější následnou formou infekce je tzv. mozková toxoplazmóza, což je encefalitida vyvolaná *Toxoplasma gondii*. Dále bývá postižené srdce (myokarditida).⁸

3.1.3 Latentní toxoplazmóza a ovlivnění člověka

Latentní fáze nemoci přichází po dostatečném zmnožení tachyzoitů a ve formě tkáňových cyst se uloží téměř po celém těle. Zejména se pak bradyzoiti nachází v nervové tkáni, což může mít za následek některé neurologické změny meziphostitele. Latentní toxoplazmózou trpí kolem třetiny obyvatel České republiky. Meziphostitel s touto formou nemoci, pokud nedojde k imunitním výkyvům, dožije svůj život bez zřejmých potíží a ve většině případů o své nemoci ani neví. Ovšem určitý vliv latentní toxoplazmóza na meziphostitele má. Vycházíme-li z pozorování infikovaných myší, tak oproti zdravým, infekce prostým myším lze pozorovat změny v chování. Myši s toxoplazmózou jsou méně bázlivé, dokonce se nebojí bezprostředního nebezpečí, jako je například přítomnost kočky. Tím se stávají snadnou kořistí a zapadají tak do životního cyklu *Toxoplasmy gondii*. Člověk, jakož to potenciální meziphostitel je jen slepým ramenem ve vývojovém cyklu prvoka. U lidí se často mluví o zpomalení reflexů a prodloužení reakčních časů. Tato hypotéza je podložena statistikou autonehod. Z výsledků vychází, že člověk séro-pozitivní na latentní formu toxoplazmózy má přibližně 2.5 krát vyšší riziko, že bude nebo byl přímým účastníkem dopravní nehody. Dále se mezi infikovanými lidmi vyskytují i známky snížené dlouhodobé koncentrace a zvýšená ochota riskovat. Podle Prof. RNDr. Jaroslava Flegra CSc. má vliv toxoplazmózy na člověka dalekosáhlejší důsledky. Z výsledků studií Prof. Flegra vyplývá, že

⁸ MACHALA, Ladislav, Petr KODYM a Rudolf ČERNÝ. TOXOPLAZMÓZA. 2005, roč. 2005, č. 3.

u mužů s latentní toxoplazmózou byly zaznamenány vlastnosti, jako je například: pokles ochoty respektovat společenské normy, zvýšení podezřívavosti či žárlivosti a u žen vlastnosti, jako například: zvýšená společenskost, srdečnost, otevřenost, síla vůle, ochota respektovat normy. Výsledky byly vyhodnoceny dle Cattelova dotazníku faktoru osobnosti.⁹

3.1.4 Toxoplazmóza u jedinců s imunodeficitem

U jedinců s imunodeficitem, tedy u jedinců se sníženou imunitou nedochází k žádné protilátkové odpovědi a imunitní systém nedokáže zastavit primoinfekci nebo reaktivizaci. Problém hrozí u lidí s imunitním onemocněním jako je například pokročilé stádium HIV a rovněž u imunosuprimovaných jedinců nastává stejný problém. U imunokompromitovaných pak následně dojde k nekontrolovanému množení parazita po těle hostitele a prvek způsobuje rozsáhlé infekce. Nejčastěji dochází k mozkové toxoplazmóze, myokarditidě, chorioretinitidě nebo polyradikuloneuritidě. Ložiskové postižení CNS se vyskytuje u 10 % - 20 % pacientů s AIDS. Dále dochází k postižení celé CNS, pneumonii, hepatitidě a může být postižena i kůže.¹⁰

Mozková toxoplazmóza (viz Obr. č. 5) je nejčastější parazitární infekcí postihující CNS u imunosuprimovaných. Onemocnění započne v řádu dnů a nejčastějšími příznaky jsou bolesti hlavy, horečka a postupně se rozvíjející neurologické změny. Mezi typické projevy ložiskového postižení CNS patří křeče jacksonského typu, poruchy hybnosti končetin, poruchy čítí a výpadky nervů. Mezi neurologické změny patří poruchy vědomí, chování a kognitivních funkcí, výpadky zorného pole, třes, poruchy koordinace a parkinsonismus. Při postižení hypofýzy se může vyskytovat syndrom SIADH (syndrom nepřiměřené sekrece ADH antidiuretického hormonu) a můžou vznikat rozmanité kombinace postižení a neurologických příznaků.¹¹

3.2 Kongenitální toxoplazmóza

Ke kongenitální toxoplazmóze dochází u plodů, jejichž matka se nakazila *Toxoplasma gondii* v prvním nebo v druhém trimestru gravidity. U matky dojde ke množení parazita a tachyzoiti při invazi procházejí přes placentu na plodu. Dnes je tento problém řešen prenatálními poradnami a v prvních dvou stádiích gravidity se matkám výrazně

⁹ FLEGR, Jaroslav a Jan HAVLÍČEK. Ukaž mi své parazity a já ti povím, kdo jsi. 1999/12, Vesmír 78, 667. Dostupné z: <http://www.vesmir.cz/clanky/clanek/id/1186>

¹⁰ MACHALA, Ladislav, Petr KODYM a Rudolf ČERNÝ. TOXOPLAZMÓZA. 2005, roč. 2005, č. 3.

¹¹ [online]. [cit. 2014-03-19]. Dostupné z: <http://kml.trios.cz/Predchozi/kmil07067c.htm>

doporučuje vyhýbat se kočkovitým šelmám. Povinnost testování gravidních žen na toxoplazmózu v České Republice není, avšak například ve Francii se všechny gravidní ženy testují. Odhaduje se, že se počet všech nenakažených těhotných žen v ČR pohybuje od 50 % do 80 %. Plod se nachází v bezpečí v případě, že matka je již parazitem infikována. Problém tedy může nastat pouze při primoinfekci. Riziko přechodu parazita na plod se pohybuje okolo 50 % a průběh primoinfekce je v u těhotných žen zhruba v 75 % nezjevný.

Když tachyzoiti projdou přes placentu, napadnou plod, ale ten se není schopen bránit a pokud nezemře, dojde k těžkým poruchám během prenatalního vývoje. Plod se poté nesprávně vyvíjí a děti se rodí postižené jak mentálně tak fyzicky. Rozsah poškození závisí na době nákazy a k nejhorším případům poškození dochází při nákaze v prvním trimestru. Klinické příznaky při porodu jsou znatelné u 6 % - 10 % postižených dětí a Sabinova trias se vyskytuje asi u 2 % případů. Sabinova trias se skládá ze tří komplikací a vyskytuje se hydrocefalus, chorioretinitida (uveitida) a mozková kalcifikace.¹²

Hydrocefalus (viz Obr. č. 6) je způsoben hromaděním mozkomíšního moku v mozkových komorách a je zapříčiněn zvýšenou sekrecí, sníženou resorpcí moku nebo obstrukcí likvorových cest. Dochází k útlaku mozkového parenchymu, v jehož důsledku se plodu špatně vyvíjí mozek a hlavička je značně deformovaná a zvětšená. Mentální retardace je v tomto případě nevyhnutelná.¹³ Chorioretinitida (viz Obr. č. 7) neboli zadní uveitida je zánět cévnatky a sítnice oka. Tato chorioretinitida je způsobena infekčně a klinické projevy jsou: oko je klidné a nebolestivé, změny v zorném poli (skotomy), pokles zrakové ostrosti, sklivec může být zakalený, na sítnicových cévách se může vyskytovat vaskulitida (bílé proužky).¹⁴ Kalcifikace mozku (viz Obr. č. 8) znamená ukládání vápníku do mozkového parenchymu a tvorbu ložisek. Defekt způsobený v mozkové tkáni se projevuje mentální retardací, svalovými křečemi a záškuby.

Nejčastější průběh po porodu je subklinicky a příznaky se mohou projevit až v novorozeneckém období a to horečkami, křečemi a novorozeneckou žloutenkou. Nejčastější je však latentní průběh a poškození se projeví v dětském nebo až v dorosteneckém věku.

¹² MACHALA, Ladislav, Petr KODYM a Rudolf ČERNÝ. TOXOPLAZMÓZA. 2005, roč. 2005, č. 3.

¹³ Hydrocefalus. [online]. [cit. 2014-03-18]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Hydrocefalus>

¹⁴Chorioretinitida. [online]. [cit. 2014-03-18]. Dostupné z: http://atlases.muni.cz/atlases/stud/atl_cz/main+cnspatol+tumcns.html

V takových případech může nastat výše zmíněná chorioretinitida, strabismus, hluchota, psychomotorická retardace nebo i epilepsie

3.3 Diagnostika

Diagnostika nejčastěji probíhá sérologicky a k invazivnímu vyšetření dochází jen v krajním případě. Protilátky se objevují od 2. týdne po infekci a nejvyšších hodnot dosahují po třech měsících. V nízkém titru přetrvávají po celý život. Běžně se provádí komplementfixace (o čerstvé infekci svědčí titry 1:256 a vyšší). Metoda komplementfixace je sice velice citlivá, avšak u některých pacientů nelze odlišit primoinfekci od odeznívající infekce. Kvůli tomuto problému se stanovují specifické protilátky IgM, IgG, IgA a i IgE. Ke stanovení se používá metoda ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) nebo metoda ISAGA (imunisorbentní aglutinace). Dále je možné vyšetřit aviditu protilátek IgG, nebo se opakovaně kvantitativně stanovují IgM a IgG protilátky. Akutní infekce se projevuje vzestupem hladin jakékoliv protilátky nebo mohou vzrůst hodnoty IgE, IgA a IgM, a zároveň se projevuje nízkou aviditou IgG. Avidita přetrvá nanejvýše čtyři měsíce po infekci.

U vyšetření plodu na toxoplazmózu se používá od 16. týdne detekce DNA *Toxoplasma gondii* metodou PCR z plodové vody. Tyto metody jsou neinvazivní a mnohem více používané, ale při neuroinfekci se rovněž používá metoda PCR, ovšem vyšetření se provádí z mozkomíšního moku. Dále se používá histologické vyšetření uzlin a v případě postižení lze nalézt typický obraz epitelioidních buněk retikula tzv. *lymfadenitis toxoplasmotica Piringeri-Kuchinka* (viz Obr. č. 9).

Standardní vyšetření spočívá v ambulantním vyšetření. Pacientům je odebrána krev a zjišťuje se přítomnost protilátek na *Toxoplasma gondii* a zjistí se, zda jsou titry pozitivní. Tento postup se používá u pacientů se zduřelými uzlinami, těhotných žen, pacientů s HIV+ nebo již s AIDS a u lidí s imunodeficitem. Stejně vyšetření podstupují novorozenci matek, u kterých byl zjištěn stoupavý titr během těhotenství. Doplnkové vyšetření je upřesnění standardního vyšetření. Stávající diagnóza je upřesněna opakovanými sérologickými testy. Pacienti s AIDS a novorozenci s podezřením na kongenitální toxoplazmózu jsou následně vyšetřováni pomocí RTG, CT nebo MRI.¹⁵

¹⁵ HAVLÍK, Jiří a Ladislav MACHALA. STANDARDY LÉČEBNÝCH POSTUPŮ A KVALITA VE ZDRAVOTNÍ PÉČI. [online]. [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: http://www.dashofer.cz/download/ukazky/PKSCD_ukazka_doporuceneho_postupu.pdf

3.3.1 Výsledky diagnostiky v Libereckém kraji v období 2001 – 11/2013

V letech 1993 – 2000 bylo v Libereckém kraji hlášeno průměrně 22 onemocnění ročně (5,1/100 000 obyvatel), maximum v roce 1993 – 42 případů. Následující část práce popisuje stav hlášených případů nemoci v Libereckém kraji. Výsledky diagnostiky popisují i vztah mezi anamnézou (kontakt s kočkou) a pozitivitou pacienta. Dále je z výsledků patrné, že toxoplazmóza je problém, týkající se mnoha lidí a je nutno se jím zabývat. Na základě těchto výsledků bylo vybráno i téma práce.

2001: V roce 2001 onemocnělo 14 osob (3,3/100 000 obyvatel), z toho 12 žen, nejvíce v okrese Liberec – 6 případů. Většina onemocnění (dále jen o.) se vyskytla ve věku 10 – 34 let (celkem 9 případů). Onemocnění bylo hlášeno v průběhu celého roku s maximem v 7. a 8. měsíci – 3 případy. Klinicky 13x uzlinová forma, 1x recidivující chorioretinitida pravého oka. V anamnéze uveden 13x kontakt s kočkou, 1x ochutnávání syrového masa.

2002: V roce 2002 onemocnělo 26 osob (6,1/100 000 obyvatel), z toho 11 mužů a 15 žen, nejvíce v okrese Liberec – 12 případů. Většina onemocnění se vyskytla ve věku 10 – 34 let (celkem 16 případů). Onemocnění bylo hlášeno v průběhu celého roku s maximem v 1. měsíci – 8 případů. Klinicky ve všech případech uzlinová forma. V anamnéze uveden 14x kontakt s kočkou, 3x kontakt se psem, 5x ochutnávání syrového masa, 4x anamnéza negativní.

2003: V roce 2003 bylo hlášeno 20 onemocnění (4,66/100 000 obyvatel) – po 6 případech z okresu Jablonec nad Nisou a Semily, 8 případů z okresu Liberec. Nejpočetnější byla věková skupina 15-59 let – celkem 16 případů (80%). V převážné většině se jednalo o uzlinovou formu onemocnění (17x, tj. 85%), 2x o oční formu, 1x klinický nález nepopsán. Kontakt se zvířetem uveden 15x (75%), ochutnávání syrového masa 5x (25%).

2004: V roce 2004 bylo hlášeno 24 onemocnění (5,6/100 000 obyvatel, v ČR 3,1/100 000 obyvatel) – 12 případů z okresu Semily, 9 případů z okresu Liberec, 2 případy z okresu Česká Lípa a 1 případ z okresu Jablonec nad Nisou. Nejpočetnější byla věková skupina 15-19 let – celkem 6 případů (25%). V převážné většině se jednalo o uzlinovou formu onemocnění (17x, tj. 71%), 2x o oční formu, 1x inaparentní onemocnění, 4x jinou formu. Kontakt se zvířetem uveden 14x (58%), ochutnávání syrového masa 5x (21%).

2005: V roce 2005 bylo hlášeno 30 onemocnění (7,0 na 100 000 obyvatel), v roce 2004 24 onemocnění, v ČR 3,4 na 100 000 obyvatel. Dle ÚP: 18 případů z okresu Liberec, 7

případů z okresu Česká Lípa, 3 z okresu Jablonec nad Nisou a 2 z okresu Semily. Nejpočetnější byla věková skupina 25 - 34 let – celkem 9 případů (30%). Onemocnělo 13 mužů a 17 žen. V převážné většině se jednalo o uzlinovou formu onemocnění (25x, tj. 83%), 2x o oční formu, 2x o inaparentní onemocnění, 1x o chřipkové onemocnění s únavou. Kontakt se zvířetem, převážně s kočkou, uveden 15x (50%), ochutnávání syrového masa 6x (20%).

2006: V roce 2006 bylo hlášeno 22 onemocnění (5,1 na 100 000 obyvatel), v roce 2005 30 onemocnění, v ČR 3,2 na 100 000 obyvatel. Dle ÚP: 9 případů z okresu Liberec, 8 případů z okresu Jablonec nad Nisou, 3 z okresu Semily a 2 z okresu Česká Lípa. Nejpočetnější byla věková skupina 35 - 44 let – celkem 6 případů (27%), shodný počet zaznamenán u dětí ve věku 2 – 8 let. Onemocnělo 9 mužů a 13 žen. V převážné většině se jednalo o uzlinovou formu onemocnění (19x, tj. 86%) a 3x o inaparentní onemocnění. Kontakt se zvířetem, převážně s kočkou, uveden 15x (68%), ochutnávání syrového masa 5x (23%).

2007: V roce 2007 bylo hlášeno 15 onemocnění (3,5 na 100 000 obyvatel), v roce 2006 22 onemocnění, v ČR 2,3 na 100 000 obyvatel. Dle ÚP: 7 případů z okresu Liberec, 6 případů z okresu Jablonec nad Nisou a po 1 z okresu Semily a Česká Lípa. Nejpočetnější byla věková skupina 25 - 34 let – celkem 4 případy (27%). Onemocnělo 6 mužů a 9 žen. V převážné většině se jednalo o uzlinovou formu onemocnění (13x, tj. 86,7%), 1x o onemocnění při imunodeficitu, 1x o onemocnění v graviditě. Kontakt se zvířetem, převážně s kočkou, uveden 10x (66,7%).

2008: Hlášeno 20 onemocnění (4,7 na 100 000 obyvatel), 9x o. Semily, 6x o. Liberec, 3x o. Jablonec nad Nisou a 2x o. Česká Lípa, nejvyšší nemocnost v o. Semily (11,9 na 100 000 obyvatel). V roce 2007 15 případů. Obě pohlaví postižena shodně po 10 případech. Nejvíce případů hlášeno ve věkové skupině 25-34 let (7, tj. 35%). Nemocní nejčastěji udávali kontakt s kočkou (9x), konzumaci syrového masa (4x) nebo práci s hlinou (3x). Převažovala forma uzlinová – 14x (70%), 3x hlášena forma inaparentní (15%), 2x se jednalo o primoinfekci v graviditě (10%), jiná forma v 1 případě (5%). V celé ČR nemocnost 2,4 na 100 000 obyvatel.

2009: Hlášeno 16 onemocnění (3,7 na 100 000 obyvatel), 8x o. Jablonec nad Nisou, 4x o. Česká Lípa a po 2 případech o. Liberec a Semily. Nejvyšší nemocnost byla v o. Jablonec nad Nisou (9,0 na 100 000 obyvatel). V roce 2008 20 případů. Dle pohlaví: ženy 11, muži 5. Nejvíce případů hlášeno ve věkové skupině 35-44 let (5, tj. 31%). Nemocní nejčastěji udávali

kontakt s kočkou a konzumaci syrového masa (po 5 případech) nebo práci s hlínou (3x). Převažovala forma uzlinová – 11x (69%), 2x hlášena forma oční (12,5%), po 1 případě (6,3%) se jednalo o primoinfekci v graviditě, inaparentní nebo jinou formu. V celé ČR nemocnost 2,1 na 100 000 obyvatel.

2010: V roce 2010 hlášeno 16 onemocnění (3,7 na 100 000 obyvatel), 6 z o. Liberec, 4 z o. Semily a po 3 z o. Jablonec nad Nisou a Česká Lípa. Nejvyšší nemocnost byla v o. Semily (5,3 na 100 000 obyvatel). Dle pohlaví: ženy 12, muži 4 ve věku 5 – 94 let. Nejvíce případů hlášeno ve věkových skupinách 25-34 a 35-44 let (po 4, tj. po 25%). Nemocní nejčastěji udávali kontakt s kočkou (8x) a konzumaci syrového masa (4x). Převažovala forma uzlinová – 12x (75%), 1x se jednalo o primoinfekci v graviditě - pozitivita IgM a IgG protilátek a vysoká avidita IgG protilátek zjištěná během gravidity, klinicky bez obtíží, vyšetření plodové vody na DNA TOXO negativní, infekce plodu nebyla prokázána. V celé ČR nemocnost 2,5 na 100 000 obyvatel.

2011: V roce 2011 hlášeno 10 onemocnění (2,28 na 100 000 obyvatel), v roce 2010 16. Dle okresu 6x Liberec, 3 x Jablonec nad Nisou a 1x. Česká Lípa. Dle pohlaví: ženy 8, muži 2 ve věku 6 – 69 let. Nejvíce případů hlášeno ve věkové skupině 25-34 (4, tj. 40%). Nemocní nejčastěji udávali kontakt s kočkou -4x a konzumaci syrového masa -4x. Převažovala forma uzlinová – 8x (80%). 1x se jednalo o primoinfekci v graviditě u ženy věk.sk. 35-44 let, sérologicky potvrzené onemocnění v 27. týdnu těhotenství. Jednalo se o uzlinovou formu. V rámci své profese (veterinářka) přichází často do kontaktu se zvířaty. A žena věk.sk. 25-34 let, 8. 11. 2011 samovolný potrat v 7. týdnu gravidity, předána do infekční poradny, kde na základě serologické vyšetření byla dg. uzavřena jako postakutní fáze toxoplazmózy. V anamnéze kontakt s kočkami v místě bydliště a občasná konzumace syrového masa (dovezeného z Německa). V celé ČR nemocnost 1,71 na 100 000 obyvatel.

2012: V roce 2012 bylo hlášeno 7 onemocnění (1,59 na 100 000 obyvatel), v roce 2011 10. V celé ČR 188 onemocnění (1,78 na 100 000 obyvatel). Dle okresu: 3 x Jablonec nad Nisou, 2x Liberec, 1x Česká Lípa a 1x Semily. Dle pohlaví: 2 muži a 5 žen. Dle věkové skupiny: 1-4 roky 1x, 10-14 let 1x, 20-24 let 1x, 35-44 let 3x a 55-64 let 1x. Všechna onemocnění byla sérologicky potvrzena a jednalo se o uzlinovou formu. Nemocní nejčastěji udávali kontakt s kočkou, práci s hlínou a konzumaci syrového masa.

2013: K 28. 11. 2013 bylo hlášeno 11 onemocnění (2,50 na 100 000 obyvatel). Dle okresu: 6x Liberec, 2 x Jablonec nad Nisou, 1x Česká Lípa a 2x Semily. Dle pohlaví: 3 muži a

8 žen. Dle věkové skupiny: 5-9 let 1x, 10-14 let 2x, 15-19 let 1x, 20-24 let 3x, 25-34 let 1x a 35-44 let 3x. Všechna onemocnění byla sérologicky potvrzena, 9x jednalo se o uzlinovou formu, 1x oční forma a 1x inaparentní forma. Nemocní nejčastěji udávali kontakt s kočkou (6x) a konzumaci syrového masa (3x).¹⁶

Grafy počtu hlášených případů toxoplazmózy v Liberci a v České Republice jsou umístěny v přílohách (viz Obr. č. 10 a Obr. č. 11)

3.4 Léčba

Jedinci, kteří jsou imunokompetentí a probíhá u nich asymptomatická forma nebo trpí uzlinovou formou získané toxoplazmózy, nemusí podstupovat léčbu. Léčbu podstupují těhotné ženy, imunodeficitní osoby, děti s kongenitální toxoplazmózou do věku pěti let a jedinci s oční toxoplazmózou. Největší spolehlivost vykazuje kombinace dvou léčiv a to dávkování pyrimetaminu (viz Obr. č. 12) a sulfadiazinu (viz Obr. č. 13). Úvodní dávka u dospělých jedinců se pohybuje od 50-70 mg pyrimetaminu a následně se podává 25 mg denně v kombinaci se sulfadiazinem, který se podává v dávce čtyřikrát denně v rozmezí hmotnosti 1,0-1,5 g. Kombinace léků se užívá podobu šesti týdnů. Nutné je u pacienta sledovat krevní obraz a jako prevence poruchy krvetvorby v důsledku užívání pyrimetaminu se používá dávkování kyseliny listové.

V průběhu těhotenství se tato kombinace nepoužívá do prvního měsíce druhého trimestru gravidity a do 15. Týdne se používá lék spiramycin v dávkách čtyřikrát denně v množství 0,5 g. Od 16. týdne se používá kombinace pyrimetamin, sulfadiazin a dávkují se v cyklech čtyři týdny léčby s přestávkami, které rovněž činní čtyři týdny. Při používání spiramycinu se riziko transplacentárního přechodu tachyzoitů na plod eliminuje o 60% a kombinace pyrimetaminu a sulfadiazinu riziko onemocnění sníží na 10%. Účinek terapie je založen na likvidaci tachyzoitů a parazit přejde do stádia bradyzoitů, nemoc tedy stane latentní a nedochází k odstranění či likvidaci parazita. Těhotné ženy, zejména ty, které onemocněly v prvním trimestru gravidity, jsou v návaznosti na léčbu sledovány metodou PCR. Když se infekce plodu nepotvrdí a sonografickou metodou není zaznamenáno poškození plodu, není důvod k uměle vyvolanému potratu.

¹⁶ KAFKOVÁ, Dušana. Krajská hygienická stanice Liberec. Výsledky diagnostiky v Libereckém kraji v období 2001 – 11/2013. 2013.

Osobám s imunodeficitem se podává při poklesu CD4+ T lymfocytů pod kritickou hodnotu lék cotrimoxazol a zahajující dávka 960 mg jednou denně. Dojde k zabránění rozvoje pneumocystové pneumonie.

Při léčbě reaktivované toxoplazmózy se používá rovněž kombinace pyrimetaminu se sulfadiazinem, ovšem léky se podávají v tzv. útočné dávce minimálně po dobu šesti týdnů. Hraje zde velikou roli i čas, respektive včasné zahájení léčby, jelikož například u mozkové toxoplazmózy, která je špatně léčená, nastává vždy smrt. Po reaktivizaci je nutné zahájit sekundární léčbu, která se rovněž provádí kombinací pyrimetaminu se sulfadiazinem, ovšem podává se již v redukováných dávkách. Pacientům s imunodeficiencí se léky podávají do té doby, dokud nepodaří dosáhnout zvýšení počtu CD4+ T lymfocytů a v případě, že se to nepodaří, je nutné podávat léky doživotně. Pokud pacient nedokáže snášet sulfonamidy, které obsahuje sulfadiazin, lék se nahrazuje klindamycinem, aztromycinem, klaritromycinem nebo atovaguonem a používá se v kombinaci s pyrimetaminem. V souvislosti s atovaguonem se mluví o účinku i na bradyzoity, ale není to zcela prokázáno. U oční toxoplazmózy nebo u lehčích forem se k léčbě používá klindamycin.¹⁷

¹⁷ MACHALA, Ladislav, Petr KODYM a Rudolf ČERNÝ. TOXOPLAZMÓZA. 2005, roč. 2005, č. 3.

4. Výskyt cyst *Toxoplasmy gondii* ve volně přístupných pískovištích na území Liberce

Praktická část práce se zabývá testováním volně přístupných VHP v intravilánu Liberce dle metodiky parazitických odběrů a výzkumů na přítomnost parazitického prvoka *Toxoplasma gondii*.

4.1 Venkovní hrací plochy

Venkovní hrací plocha (dále jen VHP) neboli veřejné hrací plocha je místo určené k hraní a pohybu dětí, k tomuto účelu bylo schváleno a má svého provozovatele. Součástí VHP je často i pískoviště a to je definováno jako ohraničená plocha s možností výměny písku. U VHP je třeba rozlišit, zda se jedná o plochy, které mají svého správce nebo o hřiště o které se nikdo nestará. Tato hřiště nemají svého provozovatele a děti hřiště využívají na vlastní nebezpečí respektive na zodpovědnost svých rodičů. U pískovišť se správcem je provozovatel VHP povinen zajistit, aby písek užívaný ke hrám dětí v pískovištích nebyl mikrobiálně, chemicky a parazitárně znečištěn nad hygienické limity. Podmínky provozu hrací plochy, režim údržby a způsob zajištění hygienických limitů stanovuje provozovatel v provozním řádu. Hygienické limity jsou stanoveny přílohou č. 10 vyhlášky č. 135/2004 Sb. Četnost kontrol stanovuje kontrolní plán Krajské hygienické stanice. Doporučuje se kontrolovat pískoviště jednou ročně a to před začátkem sezóny. Při zjištění závad je provozovateli zakázáno VHP provozovat a to do odstranění závad.

V roce 2003 provedla Krajská hygienická stanice v Liberci šetření ve čtyřech okresech a cílem bylo zmapovat míru znečištění v kraji. Bylo odebráno 132 vzorků z 63 pískovišť. Výsledky ukázaly, že 27,2 % odebraných vzorků nesplňovalo limity mikrobiálního znečištění. V sezóně roku 2009 bylo provedeno 31 kontrol a vyšetřeno 8 vzorků písku. V jednom případě byl písek mikrobiálně znečištěn a byl neprodleně vyměněn. Počet evidovaných VHP v libereckém kraji je 119 a kontroly jsou prováděny namátkově a rozbor se provádí pouze v případě, že je pískoviště viditelně znečištěné.

Pískoviště jsou kontrolována, protože často lákají zvířata, jako psy a kočky, a s jejich trusem se do pískovišť mohou dostat nebezpečné bakterie, fekální streptokoky, ale i vajíčka parazitů. Z výzkumů vyplývá, že průměrné dítě ve věku 1 – 6 let hrající si na pískovišti za den spolyká a vdechne 200 mg až 800 mg půdy. Proto děti představují rizikovou skupinu a je nutné provádět opatření. Doporučuje se pískoviště zavírat poklopem a tedy zabránit vstupu

zvířat, avšak ani jedno z osmi pískovišť, která byla zkoumána při práci, nebylo přikryté a vstup zvířatům nebyl nikterak zamezen.

4.1.1 Lokality pískovišť

Před samotným výzkumem bylo nutno vybrat ze seznamu VHP v Liberci, který čítá 22 hřišť, určitý počet pískovišť vhodných pro testování. Výběr se zakládá na porovnávání okolního zalidnění pomocí map Google Earth a bez výhrady se všechny vybrané VHP vyskytují v oblasti sídlišť, kde je největší koncentrace obyvatel. Tři hřiště jsou umístěna na sídlišti v Ruprechticích, jedno na sídlišti ve Vesci, jedno uprostřed města Liberec, jedno na sídlišti Dobiášova a dvě hřiště jsou umístěna v oblasti sídliště na Broumovské. Konečný počet vybraných hřišť je tedy osm.

Název	Ulice a č. p.	Obec	PSČ	Subjekt	IČ
VHP nám. Českých bratří	nám. Českých bratří	Liberec-Liberec V-Kristiánov	46005	STATUTÁRNÍ MĚSTO LIBEREC	00262978
VHP Vackova ppč. 490/1	Vackova	Liberec-Liberec XXIII-Doubí	46312	STATUTÁRNÍ MĚSTO LIBEREC	00262978
VHP Dobiášova ppč.1583/110	Dobiášova	Liberec-Liberec VI-Rochlice	46006	STATUTÁRNÍ MĚSTO LIBEREC	00262978
VHP Soukenická ppč. 1429/232, 231. 230	Soukenická	Liberec-Liberec VI-Rochlice	46006	STATUTÁRNÍ MĚSTO LIBEREC	00262978
VHP Vlnařská ppč. 1429/121, 1429/116	Vlnařská	Liberec-Liberec VI-Rochlice	46006	STATUTÁRNÍ MĚSTO LIBEREC	00262978
VHP Na Pískovně ppč. 144/2, 1441/7	Na Pískovně	Liberec-Liberec XII-Staré Pavlovice	46001	STATUTÁRNÍ MĚSTO LIBEREC	00262978
VHP Rychrářská ppč. 1443/25, 1443/29, 1443/28	Rychrářská	Liberec-Liberec XIV-Ruprechtice	46014	STATUTÁRNÍ MĚSTO LIBEREC	00262978
VHP Borový vrch ppč. 1422/3, 1422/4, umístěné za supermarketem Tesco	Borový vrch	Liberec-Liberec XIV-Ruprechtice	46014	STATUTÁRNÍ MĚSTO LIBEREC	00262978

4.2 Metodika

Metodika byla vykonána v souladu s pokyny Státního zdravotního ústavu (dále jen SZÚ). Každý pracovní postup s relevantními výsledky, který se týká metodiky odběru vzorků či jejich analýzy, musí být proveden dle metodik vydávaných SZÚ. Metodiky vycházejí ze zákonů České Republiky. Tyto pracovní postupy obsahují přesnou formu jak vzorek získat,

jak s ním zacházet, bezpečnostní pokyny a ostatní informace nutné k práci. Rovněž bývají vydávány v podobě tzv. příloh k pokynu.

4.2.1 Odběr vzorků písku

Při odběrech vzorků byla využita metodika odběru vzorku písku z pískovišť pro chemické, bakteriologické a parazitologické rozборы (Příloha č. 2 k pokynu HH č.j. MZDR 35023/2004 HEM). Předpis platí pro odběry vzorků písku z pískovišť pro fyzikálně-chemické a mikrobiologické rozборы. Vzorkovacím zařízením se na daném místě odebere vhodné množství písku a provede se jeho homogenizace a kvartace tak, aby bylo získáno potřebné množství vzorku na jednotlivé rozборы. Při práci je nutné dodržovat základní pravidla bezpečnosti a ochrany zdraví.

Na odběrovém místě se po celém profilu pískoviště odebraly vzorkovacím zařízením (např. lopatka) dílčí vzorky písku (vzorek písku z odběrového bodu) na vyznačených odběrových bodech do hloubky 30 cm o hmotnosti cca 200g. Schéma základní jednotky o rozměrech 2x2 m je v přílohách (viz Obr. č. 14). Podle této sítě, přizpůsobené odběrovému místu a počtu odběrových bodů se odebraly dílčí vzorky. Počet odběrových bodů a tedy dílčích vzorků se určuje podle plochy pískoviště dle tabulky (viz Obr. č. 15). Po odstranění cizorodého materiálu (např. kameny, úlomky skla, kořeny apod.) se dílčí vzorky z odběrových bodů (viz Obr. č. 16) smísily a zhomogenizovaly v plastické nádobě odpovídající velikosti manuálním promícháváním lopatkou nebo kruhovými pohyby s nádobou (viz Obr. č. 17). Obsah nádoby se pak převedl na umělohmotnou folii, vytvořil se z něho kruh o tloušťce 1-2 cm, který se rozdělil na čtyři kvadranty (viz Obr. č. 18). Dva protilehlé kvadranty se odstranily (viz Obr. č. 19) a zbylé dva se spojily. Plastická nádoba se vyčistila a vzorek se v ní znovu zhomogenizoval a následně kvartoval, až se výsledná hmotnost snížila na cca 1000g. Takto vniklý konečný směsný vzorek se rozdělil na tři části a dvě se vrátily zpět do pískoviště. Výsledný vzorek o hmotnosti cca 300g se uložil do čistých pytlů a transportoval. Mezi jednotlivými odběrovými body se lopatka a plastická nádoba vždy dezinfikovaly technickým lihem, aby nedošlo ke kontaminaci. Na každý vzorek byly použity čisté plastické pytle a kvartační folie. Práce byla prováděna vždy v čistých rukavicích. Po transportu byly vzorky skladovány cca dva měsíce při stálé teplotě 15°C. Každý vzorek má vlastní záznam (příloha č. – č.), ve kterém jsou uvedené přesné informace o vzorku. Záznam o odběru vzorku písku byl přizpůsoben dle „příloha č. 2 k pokynu HH č.j. MZDR 35023/2004 HEM“ požadavkům práce. Každý záznam obsahuje: označení záznamu, označení vzorku, jméno zadavatele, jméno zhotovitele. Dále jsou v každém záznamu uvedeny údaje o vzorku

jako: název VHP, Lokalitu nebo adresa, datum a čas při odběru, počasí při odběru, rozměry pískoviště, počet odběrových bodů, datum poslední výměny písku, dobu skladování, teplotu skladování, jméno a podpis osoby provádějící odběr a požadované analýzy.

4.2.2 Analýza vzorků v laboratoři

Při analytické práci byla použita metodika parazitologického vyšetření půd a pískovišť na přítomnost geohelminťů a to konkrétně flotační metoda (Příloha č. 3a k pokynu HH č.j. MZDR 35023/2004 HEM). Některé části předepsané metodiky byly upraveny v důsledku nedostupnosti přístrojů. Účelem této práce je zjištění přítomnosti parazita *Toxoplasma gondii* v písku z vybraných VHP v intravilánu Liberce. Metoda je založená na opakovaném promývání písku pitnou vodou s následnou flotací v roztoku dusičnanu sodného (NaNO_3). K detekci se v tomto případě používá optické mikroskopie. Stanovení je založeno na uvolnění parazita ze substrátu pomocí detergentu s následným promýváním za použití principu opakované sedimentace a flotace v roztocích o rozdílných hustotách. V konečné fázi je parazit zachycen na krycí sklíčko a následně se provádí detekce. Životoschopnost parazita v práci není zjišťována a práce se orientuje pouze na detekci. Rovněž se práce nezabývá kvantifikací parazita ve vzorku.

Nejprve se každý jednotlivý vzorek musel připravit, jelikož k dosažení homogenity bylo nutno jej prosít přes síto s oky o velikosti 2 mm. Síto se po každé použití důkladně umylo a vydesinfikovalo technickým lihem (viz Obr. č. 20). Dalším krokem bylo vytvoření výchozí suspenze. Z prosetého vzorku se na kalibrovaných předvážkách navážilo množství 15g (viz Obr. č. 21) do centrifugační nádoby o objemu 80ml. Přidalo se 30 ml destilované vody a přesně se napipetoval objem detergentu 0,25 ml (viz Obr. č. 22). Detergent slouží jako prostředek k uvolnění cyst ze vzorku a umožní jejich pohyb v suspenzi. Jako detergent byl použit tenzid zvaný Spolion 8 ($\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_7\text{S}$), (viz Obr. č. 23) o koncentraci $50\text{g}/\text{dm}^3$. Směs se pomocí skleněné tyčinky důkladně ručně promíchala a uzavřela. Poté se centrifugační nádoba přitiskla na gumový nástavec Vortexu. Vortex je druh kruhové třepačky, vhodné k třepání zkumavek. Při práci byl použit přístroj VORTEX Genius 3. Centrifugační nádoba se za přidržování třepala 2-3 minuty (viz Obr. č. 24). Po vytvoření výchozí suspenze přišlo na řadu vlastní stanovení a vyhodnocení vzorku. Po protřepání se suspenze vložila do centrifugy (Eppendorf Centrifuge 5702R) a centrifugoval se 5 minut při otáčkách $1000.\text{min}^{-1}$ (viz Obr. č. 25). Po odstředění se supernatant (tekutina, nacházející se při frakcionaci homogenátu ve zkumavce nad sedimentem) velice opatrně odlil tak, aby sediment zůstal pokud možno v klidu a v nádobě. Do centrifugační nádoby se přidalo 30 ml pitné vody, vzorek se promíchal a

odstředil v centrifuze (5 minut při otáčkách $1000.\text{min}^{-1}$) a znovu se supernatant odlil. Tento postup se opakoval celkem třikrát u každého vzorku. Po třetí centrifugaci se supernatant odlil jen částečně a zbylí obsah centrifugační nádoby se důkladně ručně promíchal a rovnoměrně rozdělil do čtyř 15 ml centrifugačních zkumavek (viz Obr. č. 26). Poté se vzorky centrifugovaly 5 minut při otáčkách $1000.\text{min}^{-1}$ (viz Obr. č. 27). Supernatant se opatrně odlil a k sedimentu se přidal roztok dusičnanu sodného (NaNO_3) o hustotě $1,350\text{kg.m}^{-3}$ (viz Obr. č. 28) a dolil se 1 cm pod okraj zkumavek (viz Obr. č. 29). Zkumavky se důkladně ručně promíchaly a neuzavřené se centrifugovaly 5 minut při otáčkách $1000.\text{min}^{-1}$. Po centrifugaci se zkumavky umístily do stojánku, pipetou se doplnily dusičnanem sodným až po okraj a vytvořil se konvexní meniskus. Shora se na hrdlo zkumavek opatrně přiložilo krycí sklíčko o velikosti 18x18 mm tak, aby pod ním nevznikla vzduchová bublina (viz Obr. č. 30 a Obr. č. 31). Po dvacetiminutové flotaci se sklíčka opatrně sejmula kolmým pohybem vzhůru tak, aby na sklíčku ulpěla povrchová blanka s vyflotovanými organismy. Krycí skla se opatrně položí do kapky glycerinu připravené na podložních sklech (viz Obr. č. 32). Z každé zkumavky se odlilo 0,5 ml roztoku a sediment se rozmíchal a poté zcentrifugoval 5 minut při otáčkách $1000.\text{min}^{-1}$. Zkumavky se se opět doplnily dusičnanem sodným tak, aby se vytvořil znovu konvexní meniskus. Na zkumavky se přiložila se nová krycí skla a po dvacetiminutové flotaci se skla sejmula výše popsaným způsobem. Po opakování celého procesu byl tedy celkový výsledný počet preparátů z jednoho vzorku 8. Pozorování vzorku se provádělo mikroskopicky (viz Obr. č. 33) a krycí skla byla prohlédnuta celá meandrovitým způsobem. Vzorky bylo nutné rychle prohlédnout, protože vzorky vysychaly a rovněž dusičnan sodný krystalizoval a znehodnocoval vzorky.

Práce byla prováděna v ochranném oděvu a rukavicích, aby se zamezilo kontaminaci. Likvidace vzorků a chemikálií a desinfekce pomůcek proběhla v souladu s obecnými požadavky na bezpečnost práce v parazitologické laboratoři.

4.3 Výsledky a vyhodnocení

Na základě výzkumu a mikroskopického šetření bylo dosaženo závěru a pozitivního výsledku v některých pískovištích. Po nálezů byly fotografie pořízené při mikroskopování srovnány s fotografiemi dostupnými na internetu a struktury i velikosti oocyst nalezené ve vzorcích se shodovaly s předlohou. Z výsledků vyplývá, že tři z osmy pískovišť obsahují oocysty a tedy nález byl v jejich případě pozitivní. Je nutno dodat, že u těchto pískovišť bylo patrné i jiné znečištění a to psími i jinými exkrementy a cigaretovými nedopalky. Parazit byl

zjištěn u vzorků číslo 1, 2 a 4. Pískoviště 1 a 4 byla silně znečištěna. Vzorek z pískoviště číslo 2 bylo největší a kolem byly pozorovány toulavé kočky. Pískoviště vzorku 4 je častým místem venčení domácích mazlíčků a schází se zde lidé, kteří na místě nechávají odpadky, což má za následek přitahování volně žijících zvířat. Ostatní vzorky nevykazovaly přítomnost parazita a množství vyflotovaného materiálu bylo rovněž nižší než u tří výše zmíněných vzorků. Vzorky 3 a 5 byly v době odběru značně podmáčené, což mohlo mít vliv na jejich kvalitu. Vzorky 5, 6, 7, 8 byly čistší než ostatní a hřiště celkově bylo jejich prostranství uklizenější. Záznamy pozitivních vzorků jsou umístěny přímo v práci a záznamy negativní na přítomnost *Toxoplasma gondii* tedy záznamy 3, 5, 6, 7 a 8 jsou umístěny v přílohách (viz Obr. č. 34, Obr. č. 35, Obr. č. 36 a Obr. č. 37).

4.3.1 Vzorek číslo 1

Záznam o odběru vzorku písku

Označení záznamu: 1

Zadavatel: Matyáš Krtička

Označení vzorku: 1

Zhotovitel: Matyáš Krtička

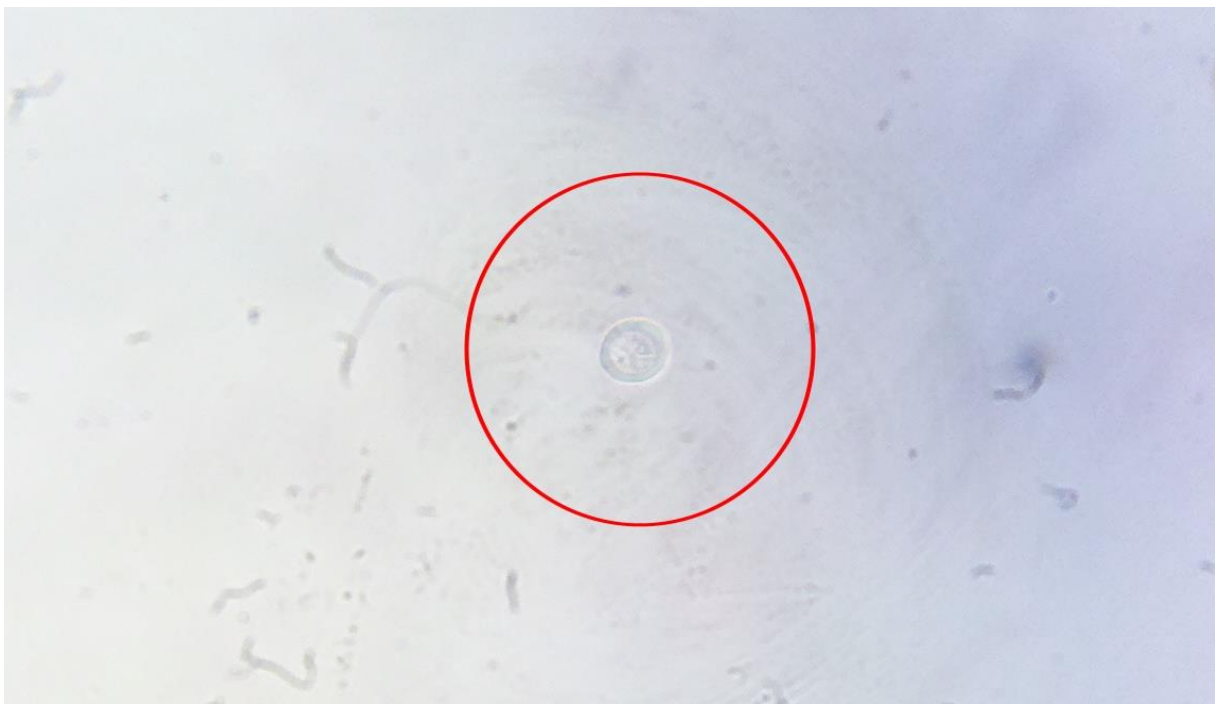
Údaje o vzorku:

- Název: VHP Borový vrch ppč. 1422/3, 1422/4, umístěné za supermarketem Tesco
 - Lokalita: Borový vrch Liberec XIV Ruprechtice 46014
 - Datum a čas odběru: 10.12.2013 12:10
 - Počasí při odběru: zataženo, dešť, bezvětří
 - Rozměry pískoviště: 3m X 3m
 - Počet odběrových bodů dle tabulky: 9
 - Doba skladování vzorku: 62 dnů
 - Teplota místa skladování: 15°C
-

Jméno a podpis osoby provádějící odběr: Matyáš Krtička Krtička

Požadované analýzy: Flotace, Optická mikroskopie

Foto: Matyáš Krtička



Fotografie nálezu ve vzorku číslo 1

Foto: Matyáš Krtička

4.3.2 Vzorek číslo 2

Záznam o odběru vzorku písku

Označení záznamu: 2

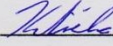
Zadavatel: Matyáš Krtička

Označení vzorku: 2

Zhotovitel: Matyáš Krtička

Údaje o vzorku:

- Název: VHP Na Pískovně ppč. 144/2, 1441/7
 - Lokalita: Na Pískovně Liberec XII Staré Pavlovice 46001
 - Datum a čas odběru: 10.12.2013 12:45
 - Počasí při odběru: zataženo, bez deště
 - Rozměry pískoviště: 7m x 7m
 - Počet odběrových bodů dle tabulky: 40
 - Doba skladování vzorku: 62 dní
 - Teplota místa skladování: -15°C
-

Jméno a podpis osoby provádějící odběr: Matyáš Krtička 

Požadované analýzy: Flotace, Optická mikroskopie

Foto: Matyáš Krtička



Fotografie nálezu ve vzorku číslo 2

Foto: Matyáš Krtička

4.3.3 Vzorek číslo 4

Záznam o odběru vzorku písku

Označení záznamu: 4

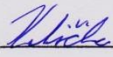
Zadavatel: Matyáš Krtička

Označení vzorku: 4

Zhotovitel: Matyáš Krtička

Údaje o vzorku:

- Název: VHP nám. Českých bratří
 - Lokalita: nám. Českých bratří Liberec V Kristiánov 46006
 - Datum a čas odběru: 10.12.2013 14:00
 - Počasí při odběru: zataženo, bez deště, bezvětrí
 - Rozměry pískoviště: 3,5m x 3,5m
 - Počet odběrových bodů dle tabulky: 13
 - Doba skladování vzorku: 62 dnů
 - Teplota místa skladování: 15°C
-

Jméno a podpis osoby provádějící odběr: Matyáš Krtička 

Požadované analýzy: Flotace, Optická mikroskopie

Foto: Matyáš Krtička



Fotografie nálezu ve vzorku číslo 4

Foto: Matyáš Krtička

4.4 Návrh na zamezení kontaminace

Mírná kontaminace pískovišť je běžná a není možné mít v pískovištích sterilní písek. Žádné pískoviště kontrolované pro výzkum nebylo kryté, a tak se lze domnívat, že i ostatní pískoviště nejsou chráněna proti příchodu zvířat. Většina z pískovišť nebo dětských hřišť jsou obehnána cca 50 cm vysokým plotem, ale ten však v žádném případě nezabraňuje ve vstupu například kočkám. Na některých pískovištích se vyskytovaly psí exkrementy a je jisté, že se tímto způsobem mohou do pískovišť dostat bakterie a rovněž škrkavky (*Toxocara canis*, *Toxocara cati*) a hrozí přenos na děti

Zakrývání pískovišť by v tomto případě bylo nejefektivnější, ale zároveň je nutno zdůraznit, že by museli spolupracovat návštěvníci hřišť a důsledně pískoviště zakrývat. Dále by jistě k větší čistotě písku přispěly i kontroly právě na přítomnost *Toxoplasma gondii*.

Další možností je chemické ošetření písku respektive desinfekce prostředky k tomu určenými, avšak nejlepší ochranou je pravidelná výměna písku a to v době před sezonou. K většímu bezpečí by jistě přispělo i zvýšení pokut za venčení domácích mazlíčků a důsledná kontrola. Například by v okolí pískovišť mohl být stanoven správce z řad veřejnosti a ten by měl za úkol občas namátkově kontrolovat dodržování řádu například z oken svého bytu.

Závěr

Díky médiím jsou dnes informace relativně rozšířené a povědomí o nemoci a jejím původci mezi veřejností existuje. Některé informace jsou však zkreslené a matoucí jako je tomu například u latentní toxoplazmózy, jelikož se neustále vedou spory o vlivu bradyzoitů na nervovou tkáň a její funkce. V České republice se této problematice věnuje například Prof. RNDr. Jaroslav Flegr CSc., který zastává názor velikého dopadu latentní toxoplazmózy na člověka. Daný problém studuje například i Prof. MUDr. Jiří Horáček Ph.D. z Psychiatrického centra v Praze. Prof. Horáček se rovněž zabývá i vlivem parazita na etiologii a progresi nemocí schizofrenního okruhu. Souběžně se vedou spory o mechanismu vlivu parazita na člověka. Toxoplazmózou a jejím původcem se dnes zabývá mnoho světových i Českých vědeckých kapacit jako například RNDr. Petr Kodým CSc.

Je zjevné, že téma *Toxoplasma gondii* a toxoplazmózy je velice široké a ani zdaleka nejsou probádány všechny okolnosti týkající se parazita. Vzhledem k tomu, že se světová prevalence nemoci pohybuje okolo 50 %, nemoc se tudíž týká každého druhého člověka na světě. To je důvodem, proč je nutno dále podporovat výzkum.

Bibliografie

Literatura

BARTOVA, Eva a Kamil SEDLAK. Toxoplasmosis in Animals in the Czech Republic – The Last 10 Years. 2012. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.5772/50022>

BLACK, Michael W. a John C. BOOTHROYD. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. 2000.

DUBEY, J. P., D. S. LINDSAY a C. A. SPEER. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. 1998.

DUBEY, J. P., NANCY L. MILLER a J. K. FRENKEL. THE *TOXOPLASMA GONDII* OOCYST FROM CAT FECES. 1970.

DUMÉTRE, Aurélien a Marie-Laure DARDÉ. *How to detect Toxoplasma gondii oocysts in environmental samples?*. 2003.

FLEGR, Jaroslav a Jan HAVLÍČEK. Ukaž mi své parazity a já ti povím, kdo jsi. 1999/12, Vesmír 78, 667. Dostupné z: <http://www.vesmir.cz/clanky/clanek/id/1186>

FLEGR, Jaroslav. Pozor, Toxo!: Tajná učebnice praktické metodologie vědy. 1. vyd. Praha: Academia, 2011. 348 s. (Galileo; sv. 48.) ISBN 978-80-200-2022-2.

HAVLÍK, Jiří a Ladislav MACHALA. STANDARDY LÉČEBNÝCH POSTUPŮ A KVALITA VE ZDRAVOTNÍ PÉČI. [online]. [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: http://www.dashofer.cz/download/ukazky/PKSCD_ukazka_doporuceneho_postupu.pdf

KAFKOVÁ, Dušana. Krajská hygienická stanice Liberec. Výsledky diagnostiky v Libereckém kraji v období 2001 – 11/2013. 2013.

KODYM, Petr, Kamil SEDLÁK, Jiří HORÁČEK, Markéta GELENEKY, František STEJSKAL, Zlata JIRSENSKÁ a Karel FAJFRLÍK. *Problémy toxoplazmózy: XIX. JEDNODENNÍ KONFERENCE*. (přednáška) Praha: SZÚ, 5. 12. 2013.

KOUBA, Karel, JÍRA, Jindřich a HÜBNER, Jiří. *Toxoplazmóza*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1974. 312 s.

MACHALA, Ladislav, Petr KODYM a Rudolf ČERNÝ. TOXOPLAZMÓZA. 2005, roč. 2005, č. 3.

TENTER, Astrid M., Anja R. HECKEROTH a Louis M. WEISS. *Toxoplasma gondii: from animals to humans*. 2000.

VOLF, Petr; HORÁK, Petr. Paraziti a jejich biologie. Praha: Triton, 2007. (Vyd. 1.) ISBN 978-80-7387-008-9. S. 318.

Internetové zdroje

Toxoplasma gondii. [online]. [cit. 2014-03-18]. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Toxoplasma_gondii

Toxoplazmóza. [online]. [cit. 2013-12-16]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Toxoplazm%C3%B3za>

Hydrocefalus. [online]. [cit. 2014-03-18]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Hydrocefalus>

Chorioretinitida. [online]. [cit. 2014-01-21]. Dostupné z: http://atlases.muni.cz/atlases/stud/atl_cz/main+cnspatol+tumcns.html

[online]. [cit. 2014-03-18]. Dostupné z: <http://lekarske.slovniky.cz/>

[online]. [cit. 2013-12-08]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

[online]. [cit. 2014-02-19]. Dostupné z: <http://kmil.trios.cz/Predchozi/kmil07067c.htm>

Ústní zdroje a konzultanti

MUDr. Jana Pilnáčková

Helena Scholzeová

RNDr. Dušana Kafková

Doc. Mgr. Irena Lovětinská Šlamborová Ph.D

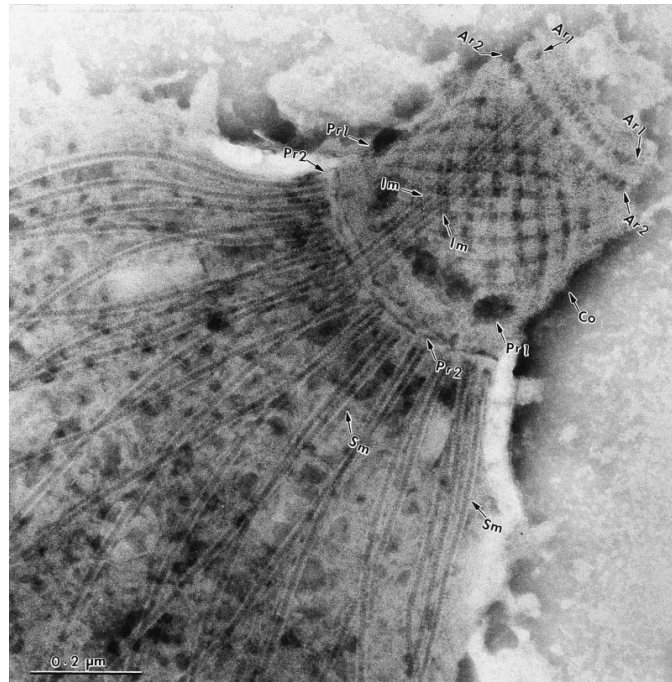
RNDr. Petr Kodym CSc

MUDr. Věra Vlková

Mgr. Tomáš Žižka

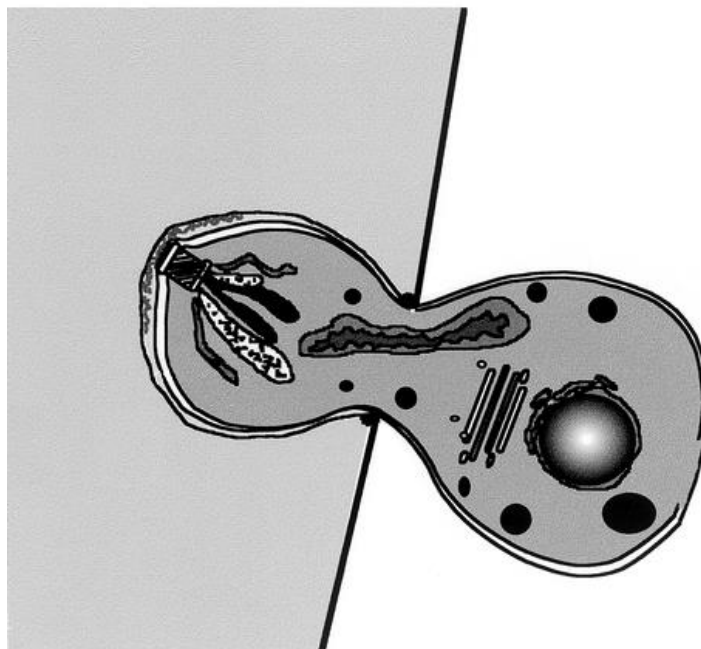
MUDr. Zajícová

Přílohy



Obr. č. 1: Fotografie konoidu pomocí elektronového mikroskopu

DUBEY, J. P., D. S. LINDSAY a C. A. SPEER. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. 1998.



Obr. č. 2: Vstup tachyzoita do hostitelské buňky

BLACK, Michael W. a John C. BOOTHROYD. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. 2000.

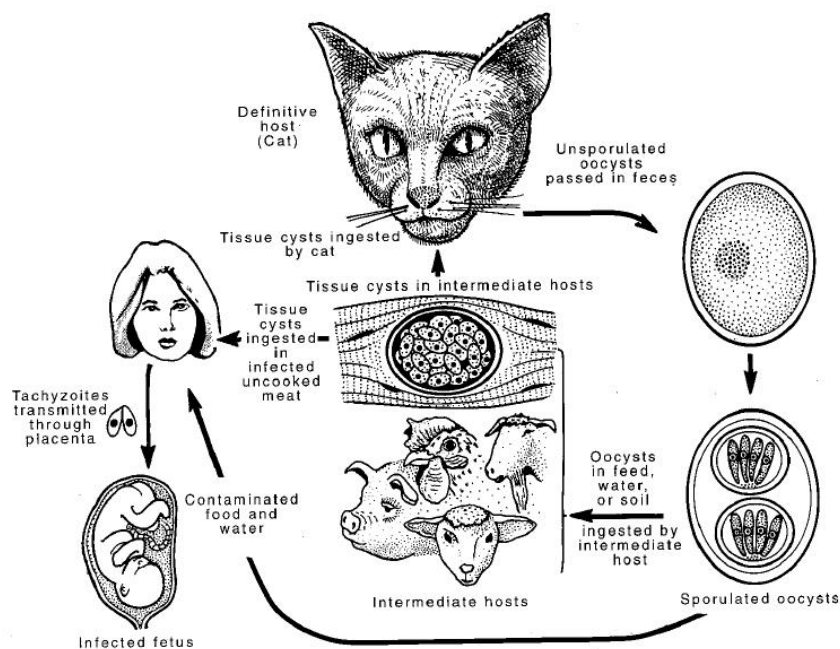
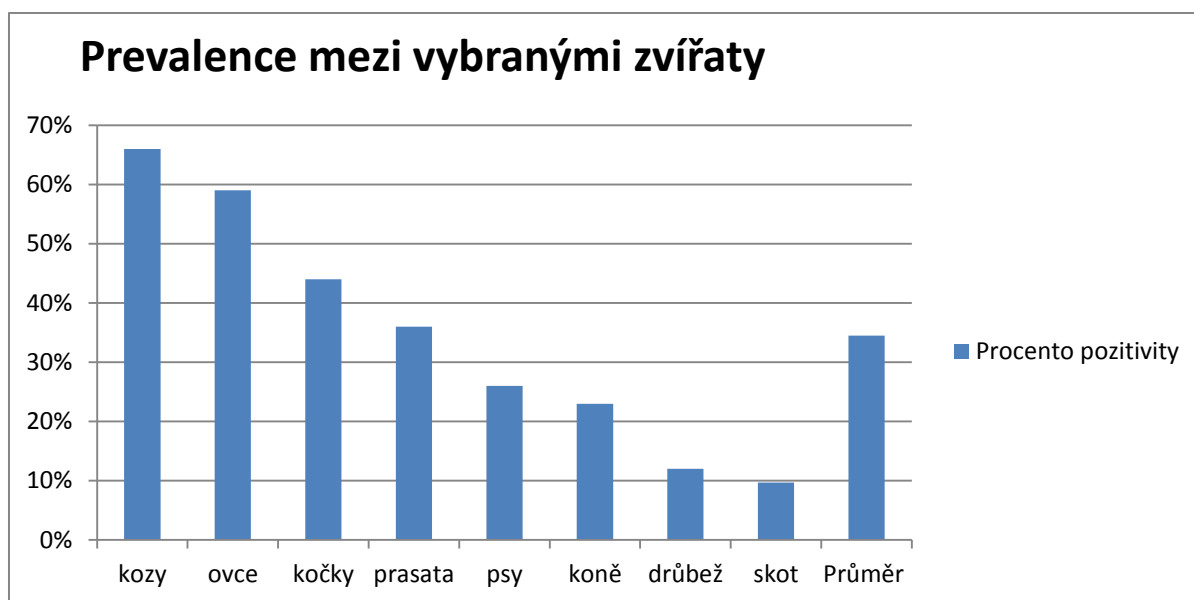


FIG. 1. Life cycle of *T. gondii*.

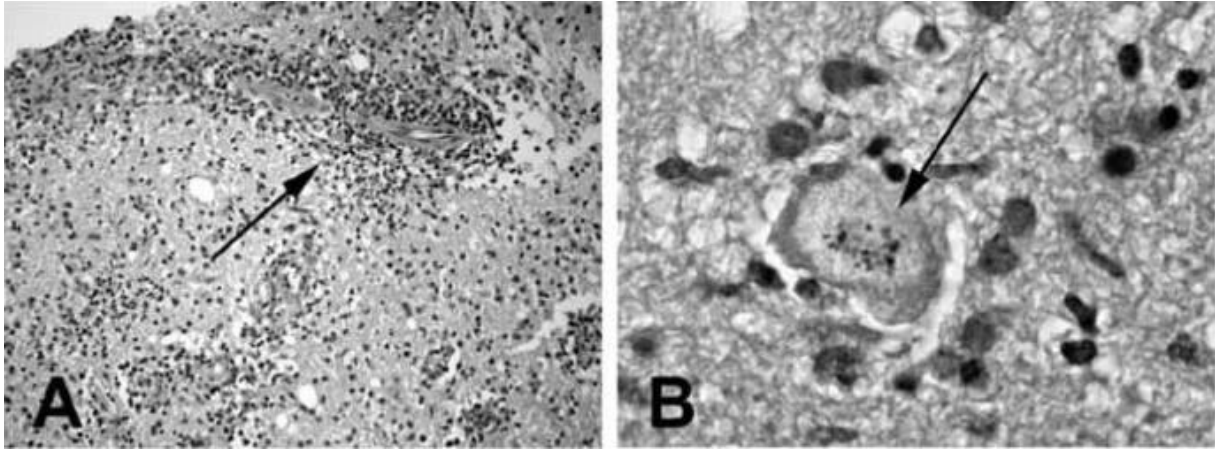
Obr. č. 3: Životní cyklus *Toxoplasma gondii*

DUBEY, J. P., D. S. LINDSAY a C. A. SPEER. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. 1998.



Obr. č. 4: Prevalence mezi vybranými domácími zvířaty

BARTOVA, Eva a Kamil SEDLAK. Toxoplasmosis in Animals in the Czech Republic – The Last 10 Years. 2012. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.5772/50022>Zdroj



Obr. č. 5: Histologický nálezn u mozkové toxoplazmózy: A- perivaskulární infiltráty, B- intracelulární kolonie

<http://www.eonkologie.cz/cs/2011-01/2011-01-jancalek>



Obr. č. 6: Hydrocefalus u živého jedince

<http://www1.lf1.cuni.cz/~hrozs/zoopch1.htm>



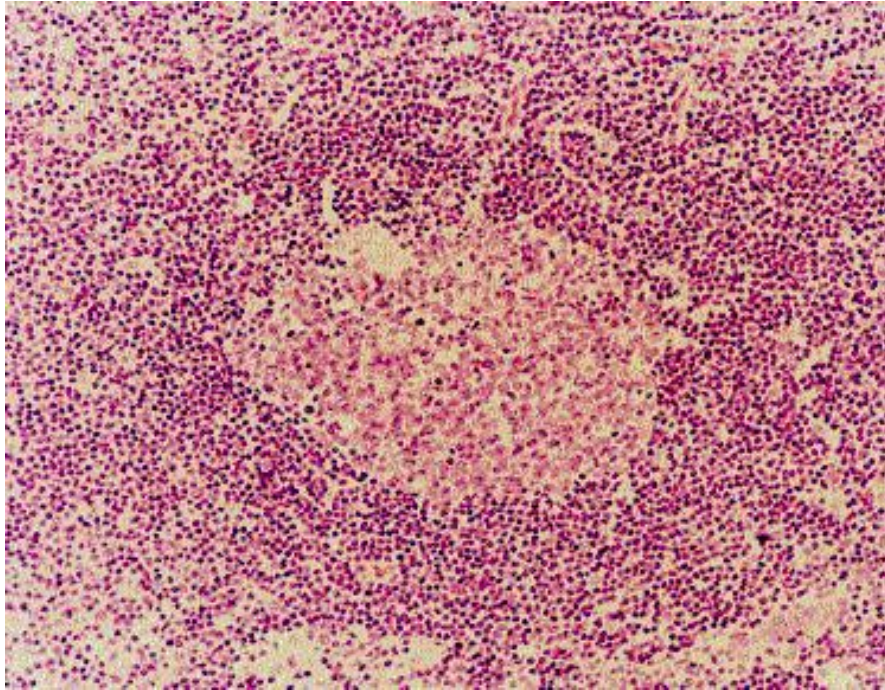
Obr. č. 7: Chorioretinitida

<http://optometrist.com.au/chorioretinitis/>



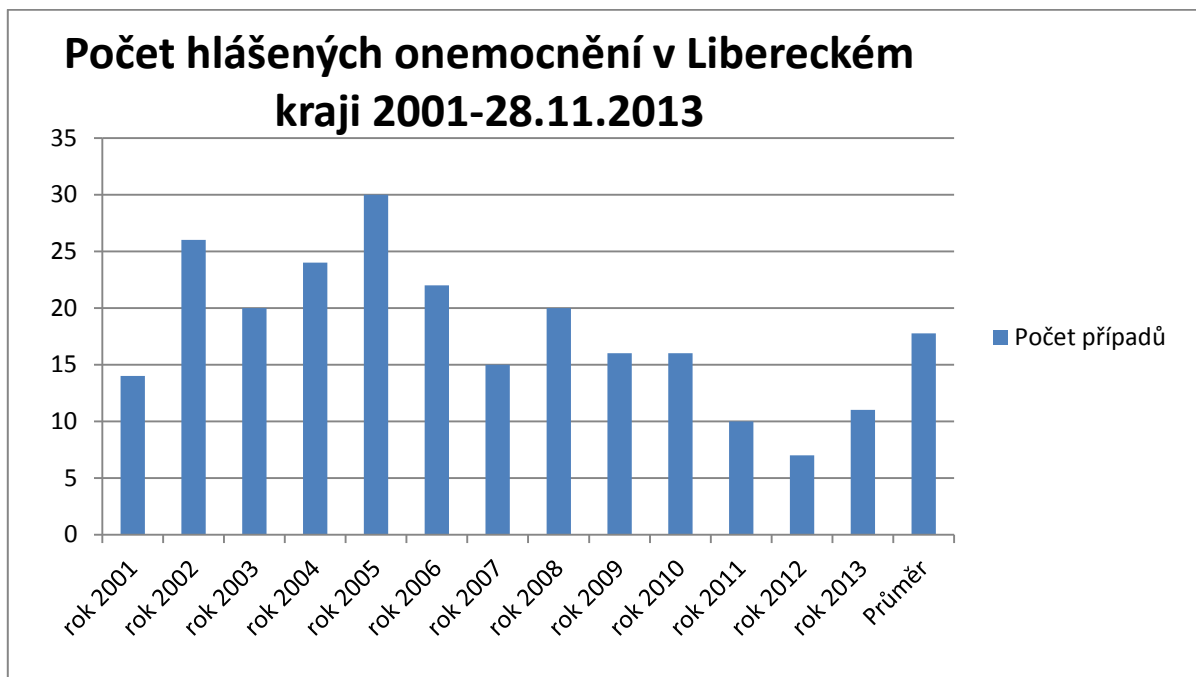
Obr. č. 8: Nález mozkové kalcifikace pomocí CT

<http://radiopaedia.org/articles/multiple-intracranial-calcifications>



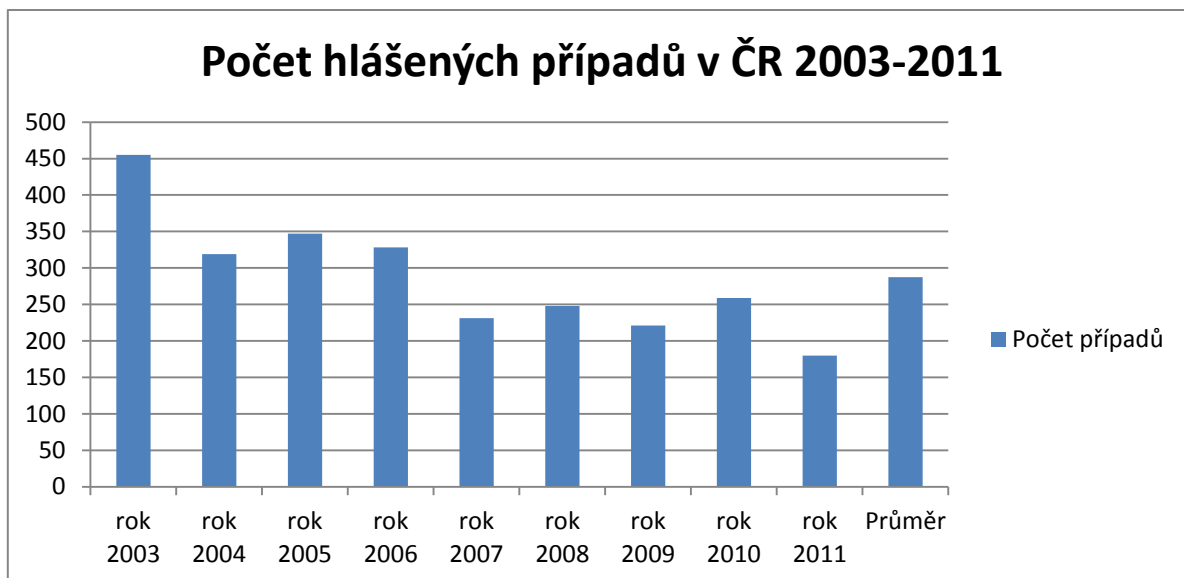
Obr. č. 9: Nález epiteloidních buněk *lymfadentis toxoplasmotica* Piringer-Kuchinka

http://www.avizora.com/publicaciones/agricultura/textos/0024_toxoplasmosis.htm



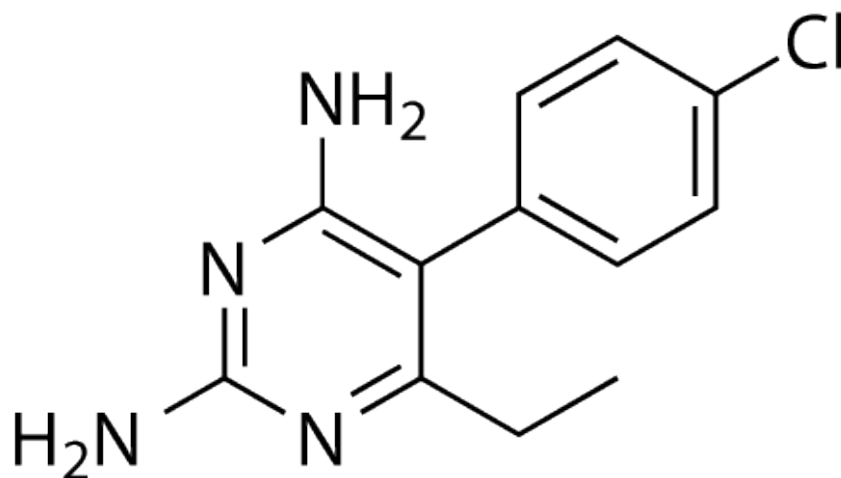
Obr. č. 10: Graf počtu hlášených případů toxoplazmózy v Liberci

KAFKOVÁ, Dušana. Krajská hygienická stanice Liberec. Výsledky diagnostiky v Libereckém kraji v období 2001 – 11/2013. 2013.



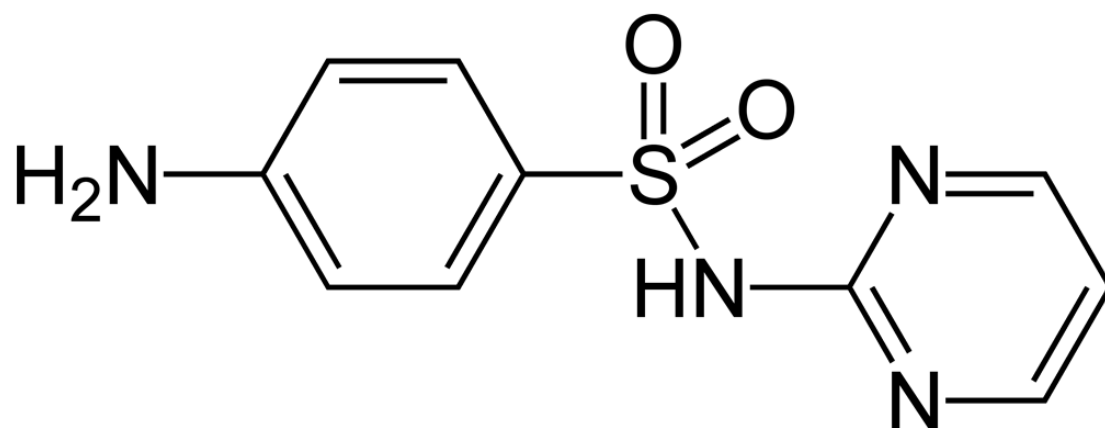
Obr. č. 11: Graf počtu hlášených případů toxoplazmózy v České Republice

<http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2003-2012-absolute>



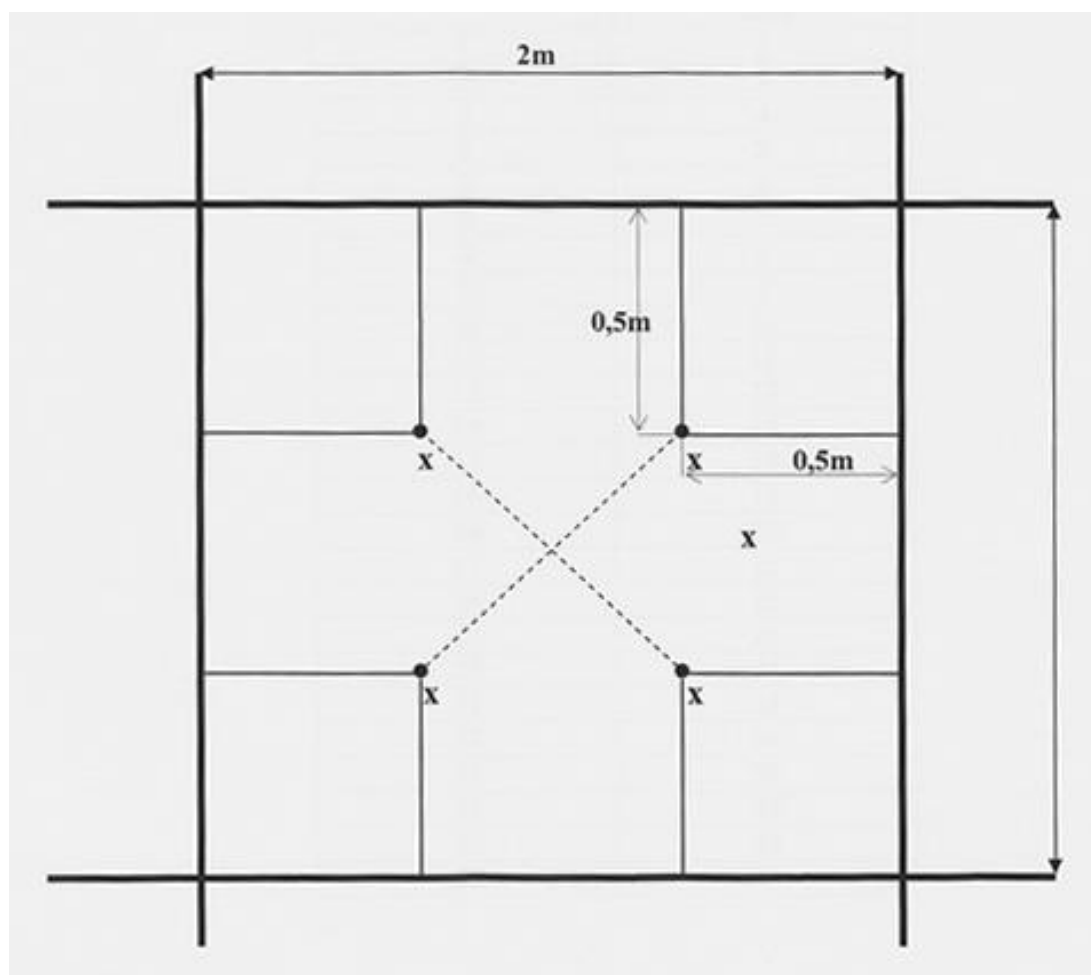
Obr. č. 12: Vzorec Pyrimetaminu

<http://www.selleckchem.com/products/Pyrimethamine.html>



Obr. č. 13: Vzorec Sulfadiazinu

<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sulfadiazine-2D-skeletal.png>



Obr. č. 14: Rozmístění odběrových bodů X na pískovišti

Příloha č. 2 k pokynu HH č.j. MZDR 35023/2004 HEM

Plocha pískoviště v m ²	Počet odběrových bodů
1	2
2	3
3	4
4	5
5	6
7	7
8	8
9	9
10	10
11	12
12	13
13	14
14	16
15	18
16	20
17	22
18	25
19	28
20	30
21	33
22	36
23	39
24	42
25	45
26	49

Obr. č. 15: Tabulka počtu odběrových bodů v závislosti na rozloze pískoviště

Příloha č. 2 k pokynu HH č.j. MZDR 35023/2004 HEM



Obr. č. 16: Odběrové body na pískovišti

Foto: Matyáš Krτίčka



Obr. č. 17: Zhomogenizovaný vzorek

Foto: Matyáš Krtička



Obr. č. 18: Vzorek před kvartací je rozdělený na čtyři části

Foto: Matyáš Krtička



Obr. č. 19: Vzorek po kvartaci

Foto: Matyáš Krtička



Obr. č. 20: Prosetý vzorek skrze síto

Foto: Matyáš Krtička



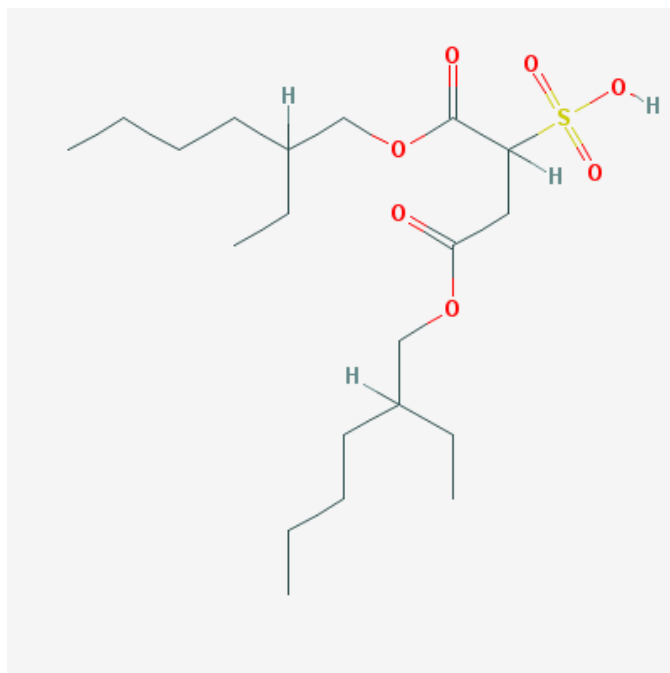
Obr. č. 21: 15g naváženého vzorku

Foto: Matyáš Krtička



Obr. č. 22: Vzorek se Spolionem a destilovanou vodou

Foto: Matyáš Krtička



Obr. č. 23: Vzorec Spolionu

<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=11339#itabs-3d>



Obr. č. 24: Centrifugační nádoba třepající se na Vortexu

Foto: Matyáš Krtička



Obr. č. 25: Centrifugační nádoby v centrifuze

Foto: Matyáš Krtička



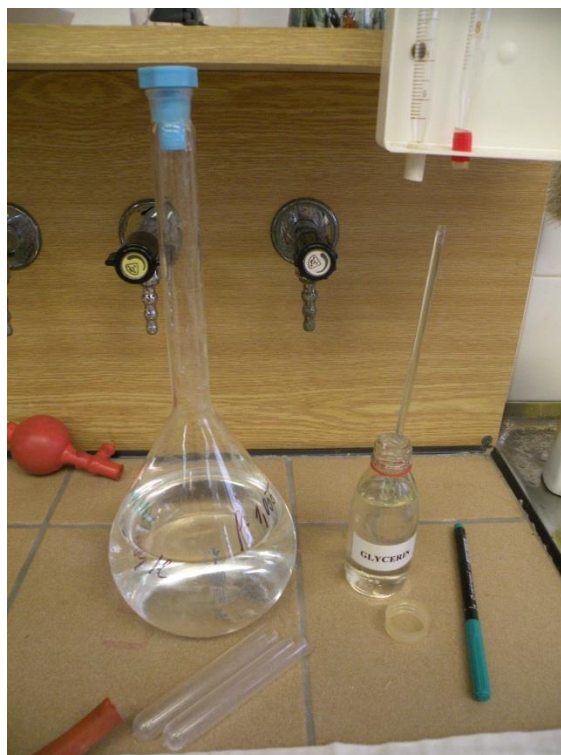
Obr. č. 26: Vzorky rozdělené do 15 ml zkumavek

Foto: Matyáš Krtička



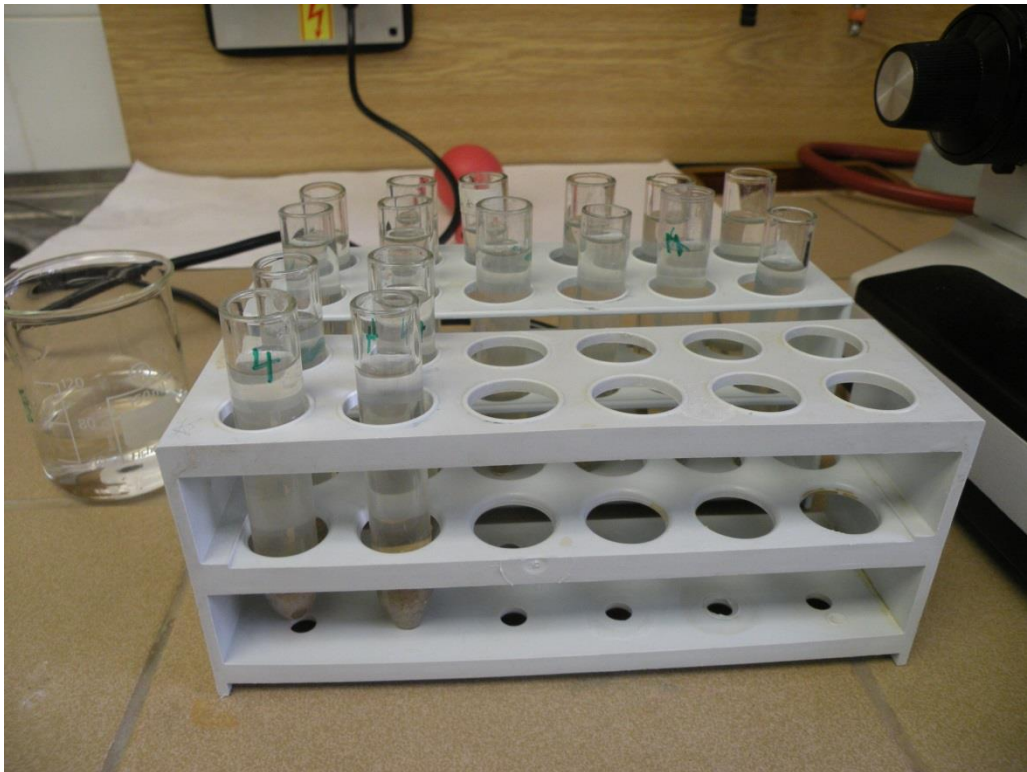
Obr. č. 27: Zkumavky vložené do centrifugy

Foto: Matyáš Krtička



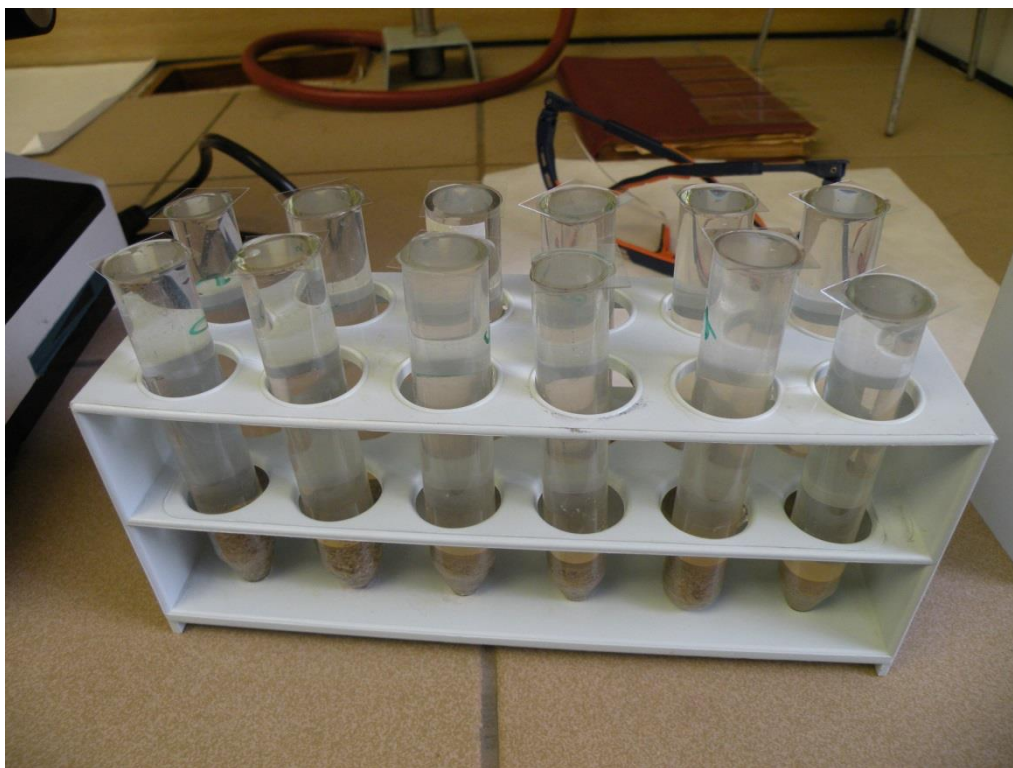
Obr. č. 28: Dusičnan sodný

Foto: Matyáš Krtička



Obr. č. 29: Vzorčky po přidání dusičnanu sodného

Foto: Matyáš Krτίčka



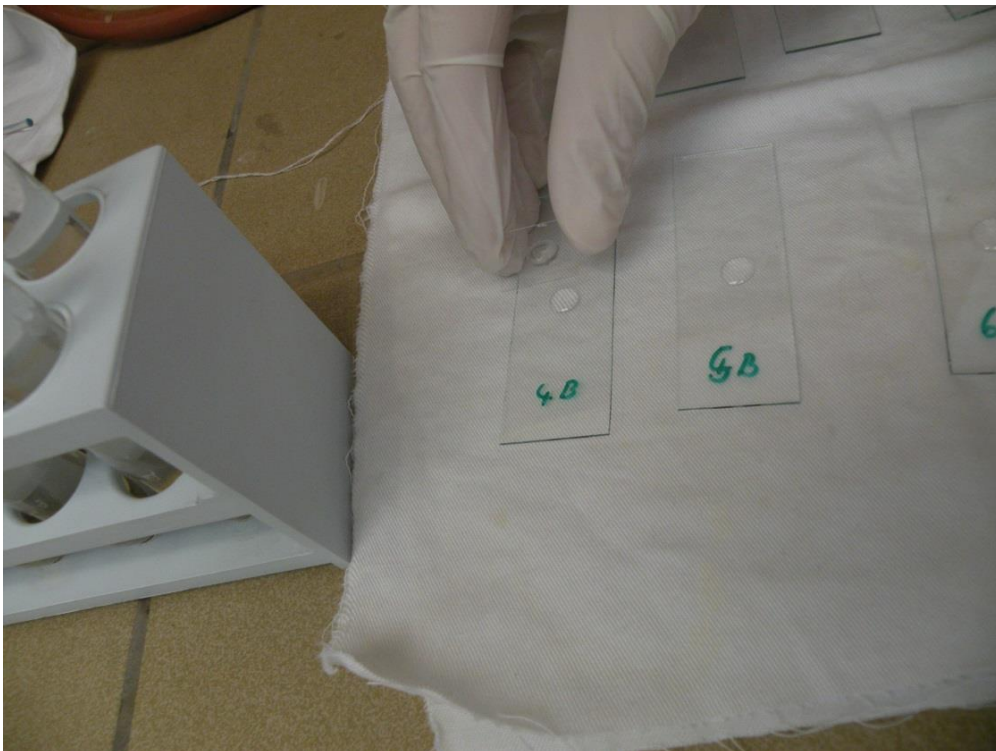
Obr. č. 30: Zkumavky po doplnění dusičnanem sodným

Foto: Matyáš Krτίčka



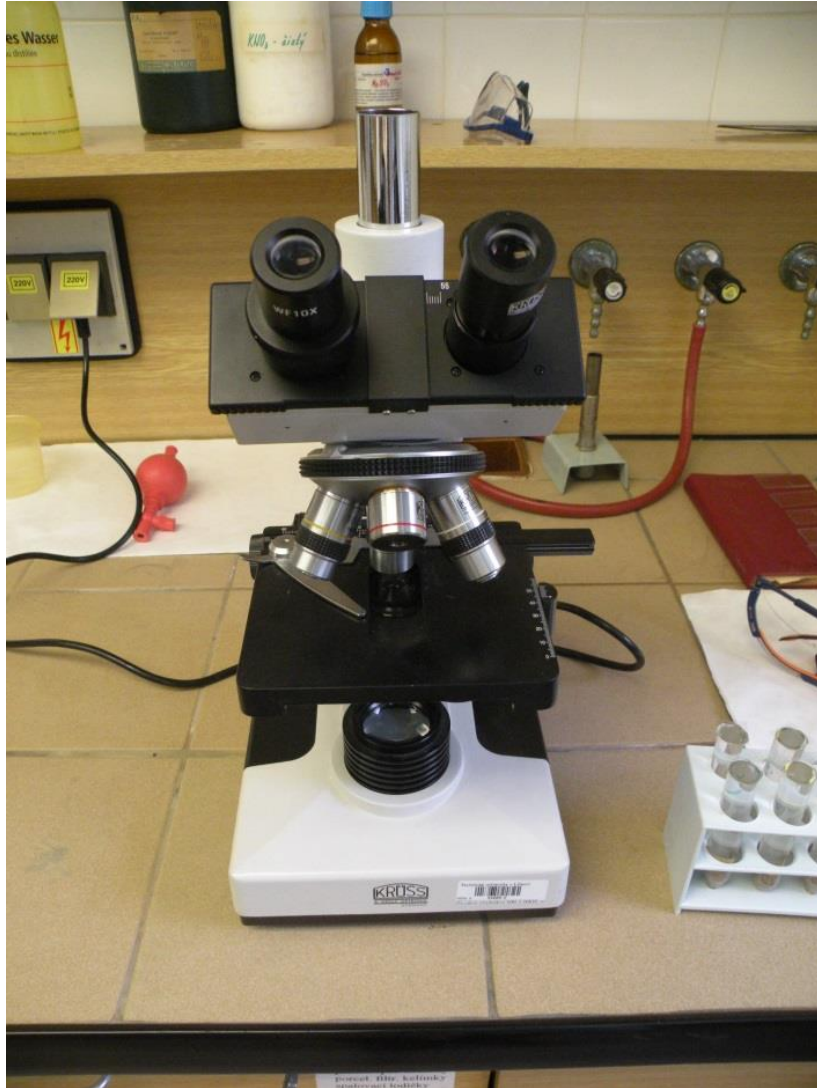
Obr. č. 31: Detail zkumavky přikryté krycím sklíčkem

Foto: Matyáš Krtička



Obr. č. 32: Pokládání vyfotovaných organismů na krycím skle na podložní sklo s glycerinem

Foto: Matyáš Krtička



Obr. č. 33: Mikroskop použitý při práci

Foto: Matyáš Krtička

Záznam o odběru vzorku písku

Označení záznamu: 3

Zadavatel: Matyáš Krtička

Označení vzorku: 3

Zhotovitel: Matyáš Krtička

Údaje o vzorku:

- Název: VHP Rybtařská ppč. 1443/25, 1443/29, 1443/28
 - Lokalita: Rybtařská Liberec XIV Ruprechtice 46014
 - Datum a čas odběru: 10.12.2013 13:24
 - Počasí při odběru: Zataženo, bez deště
 - Rozměry pískoviště: 3m X 6m
 - Počet odběrových bodů dle tabulky: 25
 - Doba skladování vzorku: 62 dnů
 - Teplota místa skladování: 15°C
-

Jméno a podpis osoby provádějící odběr: Matyáš Krtička Krtička

Požadované analýzy: Flotace, Optická mikroskopie

Obr. č. 34: Záznam číslo 3

Foto: Matyáš Krtička

Záznam o odběru vzorku písku

Označení záznamu: 5

Zadavatel: Matyáš Krtička

Označení vzorku: 5

Zhotovitel: Matyáš Krtička

Údaje o vzorku:

- Název: VHP Vackova ppč. 490/1
 - Lokalita: Vackova Liberec XXIII Doubí 463 12
 - Datum a čas odběru: 10. 12. 2013 15:10
 - Počasí při odběru: zataženo, bez deště, mírný vítr
 - Rozměry pískoviště: 4m X 4m
 - Počet odběrových bodů dle tabulky: 20
 - Doba skladování vzorku: 62 dnů
 - Teplota místa skladování: 15 °C
-

Jméno a podpis osoby provádějící odběr: Matyáš Krtička Krtička

Požadované analýzy: Flotace, Optická mikroskopie

Obr. č. 34: Záznam číslo 5

Foto: Matyáš Krtička

Záznam o odběru vzorku písku

Označení záznamu: 6

Zadavatel: Matyáš Krτίčka

Označení vzorku: 6

Zhotovitel: Matyáš Krτίčka

Údaje o vzorku:

- Název: VHP Dobruška ppč. 1583/110
 - Lokalita: Dobruška Liberec VI Ročlice 46006
 - Datum a čas odběru: 10.12.2013 16:37
 - Počasí při odběru: zataženo, bez deště, mírný vítr
 - Rozměry pískoviště: 2,5 m X 2,5 m
 - Počet odběrových bodů dle tabulky: 7
 - Doba skladování vzorku: 62 dnů
 - Teplota místa skladování: 15°C
-

Jméno a podpis osoby provádějící odběr: Matyáš Krτίčka Krτίčka

Požadované analýzy: Flotace, Optická mikroskopie

Obr. č. 35: Záznam číslo 6

Foto: Matyáš Krτίčka

Záznam o odběru vzorku písku

Označení záznamu: 7

Zadavatel: Matyáš Krtička

Označení vzorku: 7

Zhotovitel: Matyáš Krtička

Údaje o vzorku:

- Název: VHP Soukenická ppč. 1429/232, 231-230
 - Lokalita: Soukenická Liberec VI Raablice 46006
 - Datum a čas odběru: 11.12.2013 14:39
 - Počasí při odběru: zataženo, bez deště, bez větru
 - Rozměry pískoviště: 5m X 5m
 - Počet odběrových bodů dle tabulky: 40
 - Doba skladování vzorku: 59 dnů
 - Teplota místa skladování: 15°C
-

Jméno a podpis osoby provádějící odběr: Matyáš Krtička Krtička

Požadované analýzy: Flotace, Optická mikroskopie

Obr. č. 36: Záznam číslo 7

Foto: Matyáš Krtička

Záznam o odběru vzorku písku

Označení záznamu: 8

Zadavatel: Matyáš Krtička

Označení vzorku: 8

Zhotovitel: Matyáš Krtička

Údaje o vzorku:

- Název: VHP Vlnařská ppi. 1429/121, 1429/116
 - Lokalita: Vlnařská Liberec VI Rochlice 46006
 - Datum a čas odběru: 11.12.2013 15:06
 - Počasí při odběru: Zataženo, bez deště, bezvětrí
 - Rozměry pískoviště: 3m X 3m
 - Počet odběrových bodů dle tabulky: 9
 - Doba skladování vzorku: 59 dnů
 - Teplota místa skladování: 15 °C
-

Jméno a podpis osoby provádějící odběr: Matyáš Krtička Krtička

Požadované analýzy: Flotace, Optická mikroskopie

Obr. č. 37: Záznam číslo 8

Foto: Matyáš Krtička