

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Kongenitální infekce plodu
Lenka Mráková

Bakalářská práce
2020

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lenka Mráková**
Osobní číslo: **C17194**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Kongenitální infekce plodu**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Vypracujte literární rešerši popisující tento obsáhlé téma zaměřené na vrozené infekce plodu.
- 2) Zaměřte se na onemocnění shrnutá do termínu **STORCH**: **Syfilis**, **Toxoplasmóza**, **Ostatní**, **Rubeola**, **Cytomegalovirus**, **Herpes simplex**. Popište diagnostické i laboratorní metody.
- 3) Literární zdroje čerpejte zejména z databází WOS a Medline i dostupných informacích z národních referenčních laboratoří SZÚ. Seznamte se s vybranými kazuistikami k tomuto tématu.
- 4) Bakalářskou práci zpracujte dle platné směrnice Univerzity Pardubice.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Lenka Mráková

Poděkování:

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé práce doc. Ing. Marcele Pejchalové, Ph. D. za množství cenných rad, doporučení a pomoc při vypracování této bakalářské práce. Také bych ráda poděkovala své rodině a přátelům za ochotu a podporu při jejím zpracování.

ANOTACE

Bakalářská práce obsahuje základní informace týkající se kongenitálních onemocnění plodu. Zaměřuje se především na infekce **STORCH**, tedy **Syphilis**, **Toxoplazmóza**, **Ostatní**, **Rubeola**, **Cytomegalovirus**, **Herpes simplex**, jejich klinický obraz, léčbu a laboratorní diagnostiku. Práce poukazuje také na problematiku výskytu těchto infekcí nejen v České republice, ale i v rozvojových zemích. Závěr práce je zaměřen na kazuistiku těchto onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA

infekce, gravidita, **STORCH**, novorozenec, diagnostika

TITLE

Congenital fetal infections

ANNOTATION

The bachelor thesis contains basic informations about congenital fetus diseases. It focuses mainly on **STORCH**, **Syphilis**, **Toxoplasmosis**, **Others**, **Rubella**, **Cytomegalovirus**, **Herpes simplex**, their clinical manifestations, treatment and laboratory diagnostics. The work points out the issue of the occurrence of these infections not only in the Czech Republic, but also in developing countries. The conclusion of the work is focused on case reports of these diseases.

KEYWORDS

infections, gravidity, **STORCH**, newborn, diagnostics

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	9
SEZNAM ZKRATEK	10
ÚVOD	11
1 FUNKCE A HISTOLOGIE PLACENTY	12
2 IMUNITNÍ SYSTÉM PLODU	13
3 VROZENÉ INFEKCE PLODU A NOVOROZENCE	14
4 VIROVÉ KONGENITÁLNÍ INFEKCE	15
4.1. Vrozená rubeola (zarděnky)	15
4.1.1. Patogeneze	16
4.1.2. Epidemiologie	16
4.1.3. Diagnostika	16
4.2. Herpes simplex virus (HSV)	17
4.2.1. Klinický obraz onemocnění	18
4.2.2. Diagnostika HSV	19
4.2.3. Léčba a prevence HSV	21
4.3. Cytomegalovirová infekce	21
4.3.1. Klinický průběh	21
4.3.2. Diagnostika primární maternální infekce CMV	22
4.3.3. Prenatální diagnostika CMV	22
4.3.4. Léčba CMV	23
4.4. Infekce HIV/AIDS	23
4.4.1. Patogeneze	24
4.4.2. Klinické fáze infekce	25
4.4.3. Projevy infekce u žen	26
4.4.4. Přenos HIV z matky na plod (MTCT)	27
4.4.5. Klinický obraz infekce u novorozenců a dětí	28
4.4.6. Diagnostika HIV u novorozence	28
4.4.7. Antiretrovirová terapie a postnatální léčba	31
5 BAKTERIÁLNÍ KONGENITÁLNÍ INFEKCE	32
5.1. Infekce způsobené streptokoky skupiny B	32
5.1.1. Etiologie	32

5.1.2.	Klinický průběh.....	33
5.1.3.	Laboratorní diagnostika.....	34
5.1.4.	Profylaktická léčba.....	37
5.2.	Vrozená syfilis.....	37
5.2.1.	Průběh onemocnění u těhotných žen.....	38
5.2.2.	Transmise onemocnění.....	39
5.2.3.	Klinický obraz kongenitální syfilis.....	40
5.2.4.	Imunitní reakce.....	41
5.2.5.	Koinfekce syfilis a HIV.....	41
5.2.6.	Laboratorní diagnostika.....	41
5.2.7.	Terapie u novorozenců a kojenců.....	43
6	PARAZITÁRNÍ KONGENITÁLNÍ INFEKCE.....	44
6.1.	Kongenitální toxoplazmóza.....	44
6.1.1.	Vývojová stádia a životní cyklus.....	44
6.1.2.	Možnosti přenosu.....	45
6.1.3.	Manifestace vrozené toxoplazmózy.....	46
6.1.4.	Diagnostika onemocnění.....	46
6.1.5.	Profylaktická léčba matky a terapie vrozené toxoplazmózy.....	48
7	KAZUISTIKY.....	49
7.1.	Vrozená rubeola.....	49
7.2.	Vrozená CMV infekce.....	49
7.3.	Pozdní forma infekce způsobená GBS.....	50
7.4.	Kongenitální syfilis.....	51
7.5.	Kongenitální toxoplazmóza.....	52
8	ZÁVĚR.....	53
9	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	54

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Virus rubeoly	15
Obrázek 2: Detekce Herpes simplex viru pomocí přímé imunofluorescence	20
Obrázek 3: Chemokinové koreceptory	25
Obrázek 4: Klinické fáze infekce HIV/AIDS	26
Obrázek 5: CAMP test <i>S. agalactiae</i>	35
Obrázek 6: Mikroskopie <i>T. pallidum</i> v zástínu.....	38
Obrázek 7: Životní cyklus <i>T. gondii</i>	45

SEZNAM ZKRATEK

APC – antigen prezentující buňky

ART – antiretroviróvá terapie

b-DNA (branched DNA) – rozvětvená DNA

CDC (Centers for Disease Control and Prevention) – Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí

CIN – cervikální intraepiteliální neoplázie

CPE - cytopatický efekt

CTB – cytotrofoblast

DBS (Dried blood spot) – vzorek suché kapky krve

EIA – enzymová imunoanalýza

GBS (Group B Streptococcus) – streptokoky skupiny B

HBV – hepatitida typu B

HCV – hepatitida typu C

HIG – hyperimunní globulin

HIV – virus lidské imunitní nedostatečnosti

HPV – lidský papilomavirus

HSV – Herpes simplex virus

IgG – imunoglobulin G

IUGR – růstová restrikce/retardace plodu

MHC – hlavní histokompatibilní komplex

MTCT (mother-to-child transmission) – přenos z matky na dítě

NK – „natural killer“ buňky

PID (pelvic inflammatory disease) – hluboký pánevní zánět

STB – syncytiotrofoblast

TPHA (*Treponema pallidum* hemagglutination) – hemaglutinační test na protilátky proti
Treponema pallidum

RRR – rychlá reaginová reakce

RT – reverzní transkriptáza

RT-PCR – polymerázová řetězová reakce spojená s reverzní transkripcí

RV – virus rubeoly

VDRL (venereal disease research laboratory) – test k diagnostice venerických chorob

WHO (World health organization) – Světová zdravotnická organizace

ÚVOD

Vrozené neboli kongenitální infekce jsou infekce, které vznikly intrauterinně nebo perinatálně. Tyto infekce jsou bakteriálního nebo virového původu, některé z nich jsou vyvolány také parazity. Riziko onemocnění plodu však závisí na stádiu těhotenství a také na patogenetických faktorech gravidní ženy. Při těchto infekcích je ohrožen nejen plod, ale i matka, proto je důležitá jejich časná diagnóza a případná konzultace s ošetřujícím lékařem. Projevy nemoci mohou být identifikovány ihned, některé však mohou probíhat asymptomaticky nebo se projevit dokonce až v prvních letech života dítěte.

1 FUNKCE A HISTOLOGIE PLACENTY

Placenta je dočasný orgán vznikající z tkáně matky i plodu. Slouží jednak jako komunikační, ale i obranné rozhraní mezi dvěma organizmy. Lidská placenta je také endokrinní orgán tvořící mnoho hormonů. (Kittnar, 2011)

Placentární bariéra je tvořena několika vrstvami, na kterých závisí výměna metabolitů a také škodlivých látek. Tyto vrstvy se skládají z endotelu fetálních kapilár, jejich bazální laminy, dále vaziva choriových klků, bazální laminy trofoblastu, cytotrofoblastu s Langhansových buňek a syncytiotrofoblastu. Se stárnutím placenty se jednotlivé vrstvy ztenčují a postupně dochází až ke kontaktu syncytiotrofoblastu s cévami klků. (Silbernagl, 2004)

Placenta je silně prokrvena a umožňuje výměnu živin právě mezi ní a plodem. Krev je zde okysličována, proto funguje jako plíce plodu, jako výměník odpadních látek a především živin. Oběh je tvořen několika spirálovitými arteriemi, kde probíhá okysličení krve, a které se sbíhají v pupečnickovou žílu a tepnu. Krevní oběh matky není spojen s krevním oběhem plodu díky trofoblastům, jež tvoří jakési „zátky“ na koncích spirálovitých arterií a zabraňují tak kontaktu mezi krví plodu a matky. (Kittnar, 2011)

Průnik látek skrze placentovou bariéru je umožněn jak prostou difuzí, tak i aktivním transportem. Placenta je propustná pro hormony, a to oběma směry, glukózu, vodu, aminokyseliny, také malé množství proteinů a IgG. K plodu pronikají také látky, které ho mohou neodvratně poškodit jako např. léky, omamné látky a viry. Tato výměna je zajištěna prostřednictvím syncytiotrofoblastů (STB), které vznikly z původních cytotrofoblastů (CTB). V druhé vývojové cestě se CTB agregují do stěny placenty, zajišťují tak její integritu a usnadňují pohyb buněk. (Pereira, 2018)

2 IMUNITNÍ SYSTÉM PLODU

Imunitní systém fétu se začíná tvořit již během prvních týdnů těhotenství. Mezi základní složky nespecifické imunity patří NK buňky, makrofágy, dendritické buňky, neutrofilů a epitelální buňky. Tyto komponenty fungují ve spolupráci se složkami specifické imunity pomocí cytokinů, chemokinů, antigen prezentujících buněk (APC) a také histokompatibilního systému (MHC) třídy I. a II. (Chu H. Y., a kol., 2017)

Specifická imunita plodu se skládá z lymfocytů typu B a T. Nejdříve se tvoří B-lymfocyty do 9. týdne těhotenství a to v játrech z pluripotentní kmenové buňky. Lymfopoéza během dalších tří týdnů probíhá také ve slezině fétu a B-lymfocyty jsou následně vyplaveny do krve. Lymfocyty typu T opouštějí brzlík plodu asi od 14. týdne těhotenství. Ve slezině jsou pak přítomny jednotlivé typy T-lymfocytů dělené dle funkce na pomocné a cytotoxické. Po zániku patogenu v oběhu zůstávají ve formě paměťových buněk, které se opět aktivují při setkání se specifickým antigenem. (Mestecky, 2015)

Tyto antigen-specifické T-lymfocyty je možné detekovat u mnoha novorozenců narozených matkám s parazitární infekcí. Důkazem, že plod byl in utero vystaven viru HIV nebo cytomegaloviru, je přítomnost specifického CD4+ a CD8+ antigenu T lymfocytu dokonce i když není kojenec infikován. (Mestecky, 2015)

Plazma plodu obsahuje stejnou hladinu IgG protilátek jako u dospělého, jelikož volně přecházejí přes placentu. Fyziologicky se v plazmě nachází i malé množství IgM (20mg/dl), jež zahrnují protilátku se specifitou pro mateřské lymfocyty. Syntéza IgA začíná až 2 – 3 týdny po narození. Špatné protilátkové odpovědi nalézáme zejména u Herpes simplex viru a Varicella zoster viru, na které je plod či novorozenec výrazně citlivý. (Chougnet, 2018)

Na imunitních reakcích se výrazně podílí i samotná placenta. Ta je hlavním zdrojem protizánětlivých cytokinů (IL-10, IL-4) a řady růstových faktorů, včetně TGF- β . Tyto faktory nejen stimulují a inhibují růst plodu, ale účastní se také buněčné a tkáňové diference, programované buněčné smrti, metabolismu, příjmu živin a angiogeneze. Spolu s IL-10 a IL-4 chrání TGF- β plod před systémovým a lokálním zánětem inhibicí NK-buněk aktivovaných lymfokinem, allospecifických cytotoxických T-lymfocytů a buněk prezentujících antigen. (Wicher K., V., 2001)

3 VROZENÉ INFEKCE PLODU A NOVOROZENCE

Kongenitální infekce jsou takové infekce, které jsou přeneseny z matky na plod již intrauterinně, nebo během porodu. Mezi tyto nákazy patří nejčastěji **Syfilis**, **Toxoplasmóza**, **Ostatní** (tj. HIV, parvovirus HPV B19, Varicella-zoster a další), **Rubeola**, **Cytomegalovirus**, **Herpesvirová infekce**. Odtud zkratka **STORCH**. (Sedláček, Šubrt, Dort, 2007)

Většina infekcí u matky, ale i plodu probíhá asymptomaticky. Podstatná je infekční dávka a momentální stáří fétu. V časných fázích vývoje může dojít i ke smrti plodu. Pokud infekce proběhne ve stádiích pozdějších, vzniká riziko vrozených vad či těžkého systémového poškození. (Velemínský, 2005)

Infekce **STORCH** často způsobují jen mírnou manifestaci onemocnění u matky, ale mají vážné projevy u fétu. Léčba mateřské infekce však nemá vliv na stav plodu. Proto je včasná diagnóza a znalost těchto nemocí velice důležitá. Gravidní ženy je také nutno informovat o prevenci a možném riziku vzniku infekce, také o možnosti ochrany formou očkování. (Stegmann BJ, 2002)

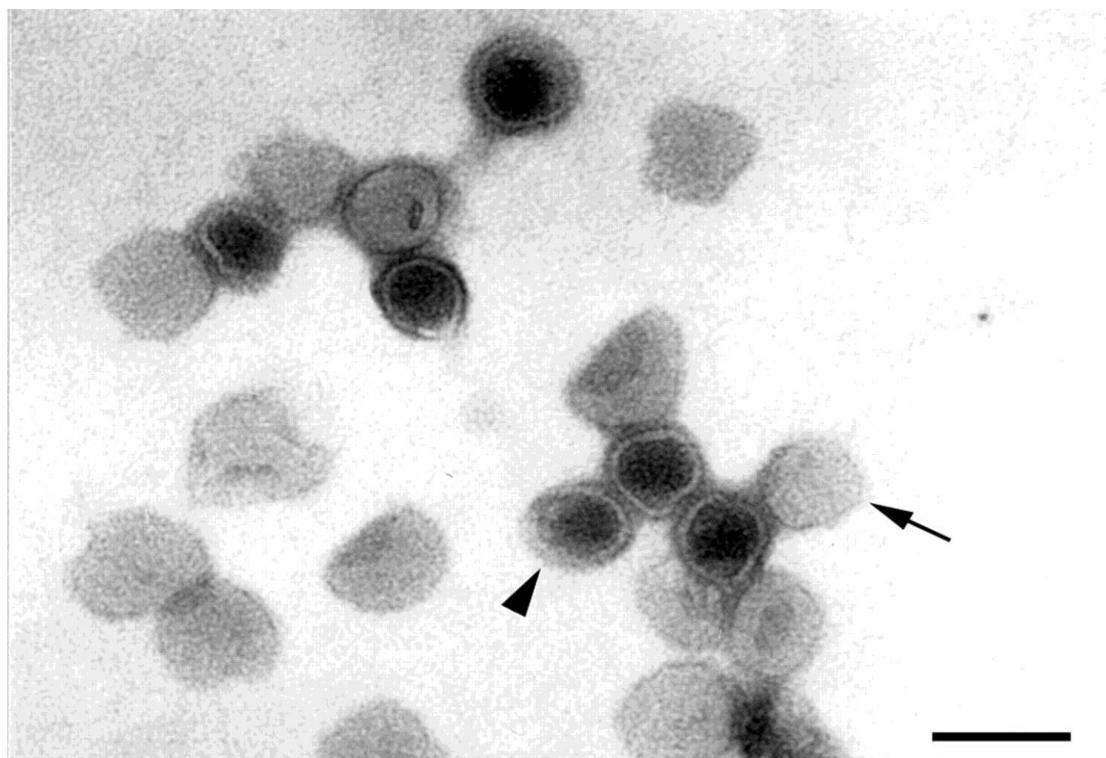
Kongenitální infekce se dělí na virové, bakteriální a parazitární, přičemž rozpoznání jejich symptomatiky a diagnostika jsou důležité zejména pro postup léčby.

4 VIROVÉ KONGENITÁLNÍ INFEKCE

Mezi významné vrozené virové infekce patří cytomegalovirus, zarděnky, HIV, parvovirus B19, dále pak varicella a herpes simplex virus. Mnoho z nich se přenáší intrauterinně, ale největší riziko přenosu vzniká při porodu (HIV, HCV, HBV). Další významné viry, které jsou přenášeny postnatálně a to nejčastěji nozokomiálně, jsou respirační viry, rotaviry a příležitostně i hepatitida A. (Taeusch, Ballard, Gleason, 2005)

4.1. Vrozená rubeola (zarděnky)

Rubeola je poměrně mírné onemocnění podobné spalničkám. Poprvé bylo popsáno v Německu v roce 1941, odtud také pochází pojmenování „německé spalničky“. Virus rubeoly (RV) patří mezi RNA viry rodu *Rubivirus* čeledi *Togaviridae*, má kulovitý tvar a replikuje se pouze u lidí a experimentálně infikovaných primátů. RNA kóduje strukturální proteiny a proteiny nestrukturální potřebné pro replikaci. (Pereira L., 2018) Onemocnění se u infikovaného projevuje jemnou vyrážkou, horečkou a zduřením uzlin. V krevním obraze je zřejmá leukopenie s převahou plazmatických buněk. Infekce však může proběhnout i asymptomaticky. (Velemínský, 2005).



Obrázek 1: Virus rubeoly (Cynthia S. Goldsmith, Sara E. Miller, 2009)

4.1.1. Patogeneze

Infekce je nejčastěji přenášena vzdušnou cestou, a pokud není gravidní žena očkována nebo má nízkou hladinu protilátek v krvi, může se virus na sliznici nosohltanu pomnožit a hematogenně infikovat mnoho orgánů včetně placenty. Infekce napadá placentární cévy a klky s jejich následnou nekrózou. Nemožnost transportu důležitých látek přes tyto buňky vede k růstové restrikci plodu (IUGR). Riziko potratu je nejvyšší do 10. týdne těhotenství a to až v 40 – 60% případů. Virus je velmi nebezpečný zejména v prvním a druhém trimestru gravidity (do 16. týdne). Postiženo bývá zejména srdce, oči (katarakta, glaukom) a uši, přičemž tyto poruchy jsou označovány jako Greggův syndrom. Riziko poškození v pozdějších měsících klesá a to až na 10%. (Sedláček a kol., 2007)

Perzistující infekce se může rozvinout až později a způsobit např. psychomotorickou retardaci, srdeční abnormality či mentální retardaci včetně autismu. Další neonatální onemocnění postihující novorozence jsou trombocytopenie, hepatosplenomegalie, encefalitida a pneumonie. (Sedláček a kol., 2007)

4.1.2. Epidemiologie

Rubeola je celosvětově rozšířené onemocnění, avšak od 70. let 20. století, kdy byla zavedena vakcinace, se počty onemocnění výrazně snížily. V dnešní době jsou nejvíce postiženy oblasti Afriky a jihovýchodní Asie. Vakcinace v České republice byla povinně zavedena od roku 1982 u dvanáctiletých dívek a od roku 1986 u všech dětí. Jedná se o atenuovanou vakcínu v kombinaci s látkou proti spalničkám a příušnicím. První dávka je podávána nejpozději do osmnáctého měsíce, poslední dávka do šestého roku věku dítěte. Později je možné přeočkování jednou dávkou vakcíny. Vrozený Greggův syndrom nebyl v České republice zaznamenán více jak 30 let, pouze v roce 2011 a 2012 byl zachycen u dvou vietnamských dětí neočkovaných žen. Vakcinace těhotných žen se může provést pouze v raných fázích gravidity a to smíšeným imunoglobulinem. V důsledku toho ale u nakažených žen dochází k prodloužení inkubační doby nebo skrytí typických příznaků infekce, nákazu ale nevyhlídí. (SZÚ, 2019)

4.1.3. Diagnostika

Prenatální diagnostika je prováděna, pokud je diagnostikována infekce matky. Je založena především na detekci RV-IgM ve fetální krvi získané kordocentézou, detekci virového genomu v amniotické tekutině a biopsii choriových klků placenty. Přítomnost viru

v choriových klcích ale není důkazem fetální infekce. Diagnostika se provádí nejvíce průkazem specifických protilátek. Dříve byly základy techniky založeny na inhibici hemaglutinace, kdy pozitivitu značila čtyřnásobně zvýšená hladina protilátek. Velice podobná byla i metoda komplement-fixační reakce. Obě techniky však byly zdlouhavé, tudíž se od jejich používání upustilo. Dnes je v laboratořích nejpoužívanější metoda ELISA. Přítomnost IgM je důkazem právě probíhající či nedávné infekce (1 – 3 měsíce). Výsledky mohou být falešně pozitivní, proto se stanovují i protilátky typu IgG a to i jejich kvantita. Specifita prenatalních metod je téměř 100%, citlivost kolem 90%, musí být ale splněny podmínky a to: dodržení šestitýdenní doby mezi infekcí a odběrem vzorku, odběr je proveden do 21. týdne těhotenství a vzorky pro RT-PCR jsou přepravovány zmrazené (fetální krev pro důkaz RV-IgM při 4°C). (Bouthry, Picone a kol., 2015; Velemínský, 2005)

Postnatální diagnostika se provádí, stejně jako u prenatalní, důkazem protilátek na principu ELISA. Přítomnost viru může být detekována také výtěry z nosohltanu, moči a slin. Kultivace se provádí na tkáňových kulturách, zejména kuřecích a kachních embryí. Další možností je průkaz RV na půdách obsahující Vero buňky (ledvinné buňky afrického primáta *Chlorocebus*), jež v přítomnosti viru rubeoly nejsou schopny produkovat interferony. Optimální inkubační doba je 7 dní při 35°C. (Zhen a kol., 2007)

4.2. Herpes simplex virus (HSV)

Kongenitální infekce HSV byla poprvé hlášena v 30. letech 20. století a v dnešní době patří k nejfrekventovanějším sexuálně přenosným onemocněním. HSV patří mezi dvouvláknové DNA obalené viry, z nichž nejčastější jsou typy HPV-1 a HPV-2. Pouzdro obsahuje několik glykolipidů, které umožňují průnik do hostitelské buňky. V buňce poté virus přetrvává latentně a klinicky se může projevit až při oslabení organismu. Genom viru se skládá z L (dlouhé) a S (krátké) komponenty, jež se mohou vzájemně kombinovat a tvořit tak čtyři různé izomery. Infekce HSV-1 obvykle postihují oblasti nad pasem, zejména oblast orolabiální, tedy okolí úst a sliznice dutiny ústní. Typ HSV-2 způsobuje infekce v oblasti genitálu a pokožky pod pasem. Kongenitální nákazu mohou způsobit oba dva typy HSV, přičemž větší riziko v graviditě představuje typ HSV-2. HSV je přenášen těsným kontaktem s infikovanou osobou a tělními tekutinami, druhý typ především pohlavním stykem. Přes 90% novorozenců získá HSV během porodu, pouze 5% pozitivních novorozenců je infikováno v prenatalním období transplacentárně. Největší riziko pro plod je v prvním trimestru těhotenství a perinatálním období (od 26. týdne fetálního období do 4. týdne po porodu), kdy

dochází ke vzniku vrozených vad nebo dokonce k abortu. (Fernandes, 2019; Velemínský, 2005)

4.2.1. Klinický obraz onemocnění

Klinický obraz u těhotné má různé podoby, infekce může probíhat i asymptomaticky. Typickým projevem je tvorba puchýřků a vaginitida. Tyto znaky se objevují také u mykózy, proto je těžké rozlišit, zda se jedná o vaginitidu herpetickou či mykotickou. Mezi další příznaky nákazy patří pálení v oblasti genitálu a retence moči. Nebezpečná je zejména primoinfekce gravidní ženy probíhající bez základních příznaků, tedy bez mukokutánního výsevu. (Fernandes, Badri, 2019)

U plodu se infekce projevuje především abnormalitami nervové soustavy, jako je mikrocefalie a intrakraniální kalcifikace. Zasaženy jsou i senzorické orgány, např. u očí mikroftalmií, dysplazií retiny a šedým zákalem. U novorozenců do 6. týdne se HSV infekce projevuje ve třech formách: mukokutánní (SEM), encefalická a generalizovaná. (Kimberlin, 2004)

Dle zkratky SEM mukokutánní infekce postihuje kůži (skin), oči (eyes) a ústa (mouth). Příznaky se objeví do deseti dní po porodu. Jedná se o nejčastější z forem infekce, jenž se objevuje u 45% infikovaných. Je charakterizována erytematózními vezikuly velkými 1 – 3 mm, které se objevují jak na kůži, tak i sliznici úst a oka. Diagnóza se obvykle provádí podle klinického vzhledu, nebo je možné zhotovit mikroskopický nátěr dle Wrighta z obsahu vezikul. Ty obsahují mnoho eozinofilů a menší množství neutrofilů. Mukokutánní forma nepostihuje viscerální orgány, ale pokud není léčena, může postoupit do CNS. (Fernandes, Badri; 2019)

U téměř třetiny novorozenců s infekcí HSV se projeví forma encefalická. Novorozenec má poruchy CNS (herpetická meningoencefalitida), které se projeví do 3. týdne po porodu. Mezi klinické projevy onemocnění patří opakující se záchvaty podrážděnosti, letargie, třes a křeče. S tím souvisí i patologický záznam EEG a přítomnost hypodenzních ložisek v mozku. Mortalita u neléčených dětí bývá až 50%. (Fernandes, Badri; 2019)

Diseminovaná forma se projevuje těžkým poškozením vnitřních orgánů a to především jater a plic. Dříve postihovala až dvě třetiny novorozenců s HSV, s objevem antivirotik poklesl počet na 25%. Častý je výskyt hepatomegalie a celkové jaterní dysfunkce, myokarditidy, pneumonie a projevů podobných sepsím. Encefalitida je běžnou součástí

generalizované infekce projevující se až u 75% nakažených, za to virový exantém prokazuje pouze 20%. (Kimberlin, 2007)

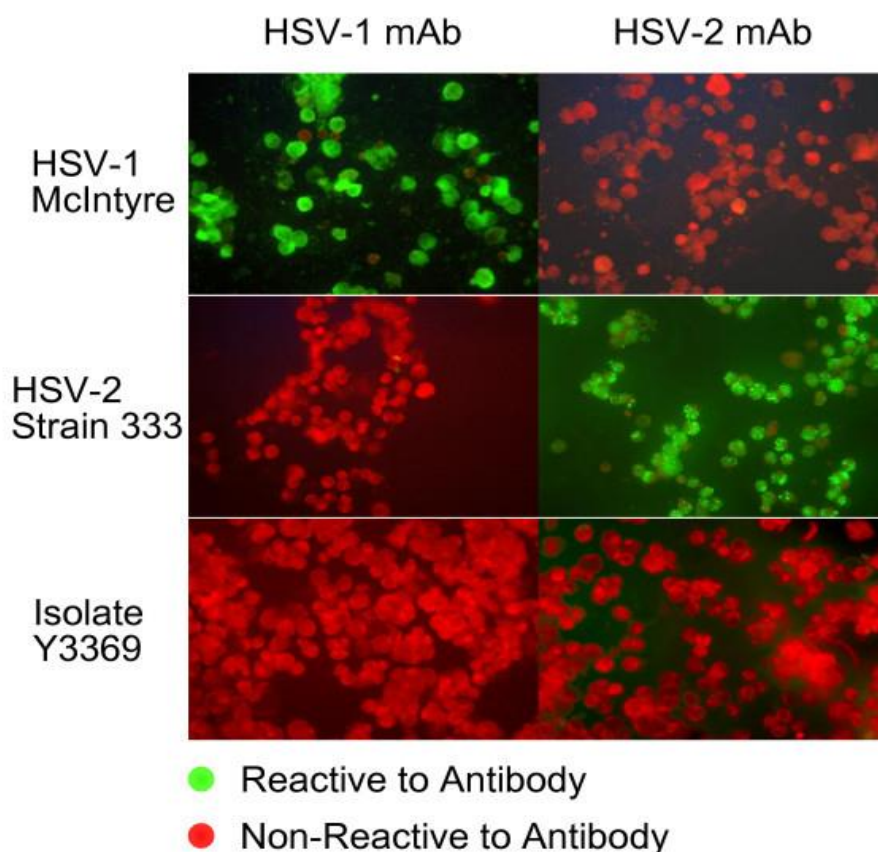
4.2.2. Diagnostika HSV

Sérologické vyšetření nemělo donedávna velký význam, jelikož plodová voda obsahuje matčiny IgG protilátky, tudíž výsledky při akutní infekci bývaly zkreslené. Testy navíc nebyly schopny určit, zda se jedná o HSV-1 či HSV-2. V posledních letech je tato metoda stále více prosazována (především v USA). Moderní komerční soupravy dokáží odlišit jednotlivé formy HSV a jsou schopny identifikovat diskordantní páry, kdy žena je séronegativní a muž má recidivující herpes. U HSV také existuje tzv. „infekční okno“, kdy testování IgG dává falešně negativní výsledky. Mezi standardní nekomerční testy pro HSV patří imunodotové testy a Western blot. (LeGoff a kol.; 2014)

Vzorek pro kultivaci viru se získává ze stěru kožní papuly nebo z tekutiny, kterou vezikula obsahuje. Možná je i kultivace vaginálního sekretu, očních a orofaryngeálních kultur. Vzorky jsou poté transportovány ve vhodném médiu (vhodné Leibovitz CVTM obsahující živočišné uhlí) do virologické laboratoře. Pro HSV se používají tkáňové kultury lidských buněk (fibroblasty předkožky), ale i půdy obsahující opičí či králičí ledvinné buňky, na které má virus během dvou až tří dnů klasický cytopatický efekt (CPE). Pozměněné buňky se mohou rozpadat, jsou velké a někdy i vícejaderné. Kultivace je poměrně rychlá, trvá 2 – 7 dní. Preparáty se barví Wright-Giemsovým barvením nebo může být použito barvení hematoxylin-eosin, které je sice rychlé, ale neumožní rozeznat HSV-1 a HSV-2. Izolaci lze provést metodou shell-vial, kdy je použita zrychlená centrifugace. Při tom je doba kultivace zkrácena ze sedmi dní na 16 až 48 hodin. Nevýhodou je ale menší citlivost. (Singh, Preiksaitis, 2005; Velemínský, 2005)

Diagnostika pomocí průkazu antigenu se provádí zejména v případech, kdy doba transportu vzorku byla nepřiměřeně dlouhá a mohlo tak dojít k inaktivaci viru. Detekce antigenu se provádí metodou ELISA, ale častěji pomocí přímé imunofluorescence. Pozitivní test je indikován přítomností charakteristické zelené fluorescence jádra a cytoplazmy bazálních buněk. (Singh, Preiksaitis, 2005)

Virová DNA může být detekována hybridizačními technikami s použitím radioaktivně značených sond. Tento způsob je však pracný, proto se využívá především amplifikace cílové DNA pomocí polymerázové řetězové reakce v reálném čase (RT-PCR). Je to nejrychlejší (do 3 hodin) a nejcitlivější metoda pro průkaz virové DNA. Infekci takto lze detekovat v počátečních i pozdějších stádiích, kdy je ale výsledek zatížen vyšším rizikem falešně pozitivních výsledků. Je však nižší riziko kontaminace než při klasické PCR. Průkaz infekce pomocí RT-PCR je možno provést z tekutiny puchýřků, ale i ze séra či krve novorozence. Ve spinální tekutině lze touto metodou prokázat i pokročilé stádium herpetické meningoencefalitidy. Primery pro oba typy HSV jsou totožné a jedná se o HSV DNA polymerázu, HSV thymidinkinázu a glykoprotein B. Odlišení HSV-1 a HSV-2 je možné díky rozdílným křivkám tání. (LeGoff a kol.; 2014)



Obrázek 2: Detekce Herpes simplex viru pomocí přímé imunofluorescence (Daniel N. Clark a kol., 2011)

4.2.3. Léčba a prevence HSV

K léčbě kongenitálního HSV se používá acyklovir. U novorozenců s formou SEM se acyklovir podává po dobu 14 dnů, přičemž výsledky léčby jsou u této formy infekce HSV nejpříznivější. Navíc díky léčbě nedochází ke generalizaci infekce. V případě, že se jedná o infekci disseminovanou a postihující CNS, acyklovir je podáván intravenózně po dobu 21 dní. Po této době se znovu vyšetřuje mozkomíšní mok na přítomnost virové DNA pomocí PCR. Míra přežití u infekce CNS je při systémové terapii acyklovirem 95%, ale více než polovina má trvalé neurologické postižení. (Cherpes, Matthews; 2012)

V případě, že je infekce potvrzena u gravidní ženy před 36. týdnem těhotenství, je až do porodu doporučena léčba acyklovirem z důvodu snížení virové zátěže a pravděpodobnosti vzniku aktivní genitální léze. Těhotným s primoinfekcí je doporučen porod císařským řezem, naopak ženy s recidivující infekcí mohou porodit spontánně. (Lee, Nair; 2017)

4.3. Cytomegalovirová infekce

Cytomegalovirus (CMV) je DNA vir patřící do skupiny *Herpesviridae* a je také znám pod označením HHV-5. V době primární infekce, kdy virus aktivně roste, je CMV přítomen v krvi, moči, slinách, ale i mateřském mléce. Po infekci perzistuje virus v organismu doživotně. Latentní infekce je charakterizována nízkou hladinou nebo absencí detekovatelného viru v periferní krvi (CD14) a kostní dřeni (CD34, CD33). Taková infekce může být znovu aktivována v důsledku oslabení imunity, zánětu nebo těhotenství. Virový genom CMV je značně variabilní a produkuje velké množství různých kmenů, což umožňuje opětovnou infekci jiným kmenem CMV (nepřímá infekce). (Van Zuylen a kol.; 2014)

4.3.1. Klinický průběh

Infekce CMV probíhá u většiny imunokompetentních lidí asymptomaticky, ačkoli klinické příznaky primární infekce mohou být podobné mononukleóze nebo lehké chřipce. Dalším projevem je únava a vzácně i hepatitida. (Uduak, Pillarisett, 2019)

Kongenitální CMV je pro plod nejvíce nebezpečný v prvním a druhém trimestru těhotenství. CMV fetopatie bývají nejzávažnější právě v časných fázích těhotenství, kdy vznikají vady jako např. mikrocefalie, hydrocefalus, hepatomegalie a oční defekty. Poškozen bývá i vestibulární aparát a sluch. Později se onemocnění projevuje i mentální retardací. V krevním obraze je přítomna trombocytopenie, neutropenie, zvýšená hladina alaninaminotransferázy a známky hemolýzy. Při primární infekci je riziko transplacentárního

přenosu až 35%, u neprimární je to okolo 1,7%. (Uduak, Pillarisett, 2019; Sedláček, Šubrt, Dort; 2007)

4.3.2. Diagnostika primární maternální infekce CMV

Jednou z metod diagnostiky primární infekce je záchyt sérokonverze z původně negativní hladiny protilátky IgG na stav pozitivní. Studie v posledních letech ukazují, že velmi citlivou a specifickou metodou je měření avidity CMV IgG. Avidita je síla, jíž se IgG váže na antigenní epitopy. Během dalších měsíců postupně maturuje, což odráží antigenem řízenou selekci B-lymfocytů produkujících IgG. Nízká avidita IgG proti CMV je ukazatelem primární infekce během posledních 3 – 4 měsíců, zatímco vysoká hodnota nedávnou infekci vylučuje. Pokud je přítomna i protilátka IgM, nelze spolehlivě říci, že se jedná o primární infekci a to díky variabilitě CMV infekce a její schopnosti v těle perzistovat doživotně. IgM jsou také produkovány neprimární CMV infekcí a falešně pozitivní výsledky poskytují i jiné virové infekce. Nejvyšší možné senzitivity a specifity je možno dosáhnout detekcí IgM využívající strukturální a nestrukturální virové proteiny. (Hughes, Gyamfi-Bannerman, 2016; Pass, Arav-Boger, 2018)

4.3.3. Prenatální diagnostika CMV

Standardní metodou diagnostiky vrozené CMV je jeho izolace a kultivace na tkáňových kulturách (lidské fibroblasty). Kultura poté vykazuje CPE charakterizovaný typickými plochými buňkami. Tato metoda je však náročná na práci i čas, proto není vhodná pro účely plošného screeningu. (Marsico, Kimberlin, 2017)

Prenatální diagnostika se provádí zejména pomocí PCR amniové tekutiny detekující virovou DNA. Optimální doba pro provedení tohoto testu je po 21. týdnu těhotenství nebo nejméně 6 týdnů po nákaze matky. Citlivost u pozitivního testu je po 21. týdnu asi 97%, zatímco citlivost u negativity je výrazně nižší. Negativní výsledky tudíž často bývají falešné. V plodové vodě nelze kvantifikovat množství viru, proto je možné provést i kordocentézu a určit tak virovou nálož v krvi plodu. Kordocentéza je však invazivní zákrok s vysokým rizikem spontánního potratu. (Hughes, Gyamfi-Bannerman, 2016)

Ke kvantifikaci se používá zejména test na antigenemii. Tento test je závislý na použití monoklonálních protilátek detekující virový antigen pp65, strukturální protein exprimovaný v leukocytech během rané fáze replikačního cyklu CMV. Hladina antigenemie se měří

imunofluorescenčním testem fosfoproteinů pp65 CMV v jádrech leukocytů. Nevýhodou testu je nemožnost jej automatizovat. (Ross, Novak, 2011)

Detekovat CMV lze také protilátky proti obalovým glykoproteinům H (gH) a B (gB) a to pomocí sérologických metod (ELISA) nebo qPCR. Glykoprotein H může být dále rozdělen na dva typy, gH(AD) a gH(TO). Tento glykoprotein bývá spojován se ztrátou sluchu u novorozenců s vrozenou CMV.

Diagnostikovat infekci lze i vyšetřením ultrazvukem, kdy je možné identifikovat strukturální nebo růstové abnormality jako je ascites, růstová retardace či mikrocefalie. Sonografie plodu ale objeví abnormality pouze u třetiny infikovaných. Vyšší citlivosti dosahuje pouze vyšetření magnetickou rezonancí. (Ross, Novak, 2011)

4.3.4. Léčba CMV

Gancyklovir byl prvním intravenózně používaným lékem proti CMV. Studie dokázaly, že pouze 21% příjemců mělo po narození poškozený sluch, oproti 68%, kteří terapii nepodstoupili. Novější formou je valacyklovir, který je možno podávat matkám perorálně. Podobných výsledků dosahuje také hyperimunní globulin (HIG). V současné době ale neexistuje žádná schválená léčba, která by dosahovala potřebné účinnosti. (Pass, Arav-Boger, 2018)

4.4. Infekce HIV/AIDS

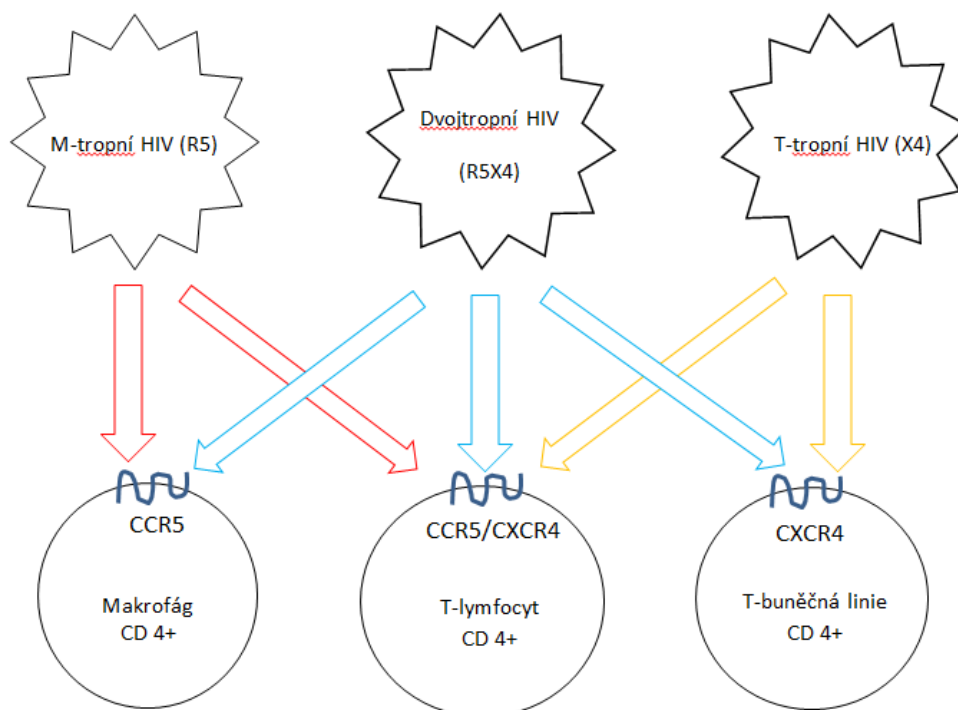
Virus lidské imunodeficiency (HIV) patří mezi RNA viry rodu *Lentivirus*, čeledi *Retroviridae*. Vyvinul se z virů imunodeficiency středoafričských šimpanzů a do lidské populace byl zavlečen mezi roky 1920 až 1940. Virus měří 100 nm v průměru a má lipidovou membránu, jedná se tedy o virus obalený. HIV je podle virových antigenů klasifikován do dvou skupin, HIV-1 a HIV-2. Virus HIV-1 je globálně rozšířenější a virulentnější než podtyp 2. HIV-2 má epicentrum zejména v západní Africe a vyskytuje se také v zemích, které mají historické koloniální vazby na tuto oblast, zejména Portugalsko a Francie. V současnosti je zhruba 37,9 milionů žijících s infekcí HIV, z toho je 2,8 milionů dětí ve věku 0 – 19 let. Každý den se narodí odhadem 980 infikovaných a to především v subsaharské Africe. (*Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 2016; WHO, 2020)

Genom HIV-1 viru se skládá ze dvou identických RNA molekul. Virová částice obsahuje kromě RNA také oligopeptidy, tvořící se během zrání virionů, a enzymy ribonukleázu H, katalyzující degradaci RNA v RNA/DNA substrátu, a integrázu, díky které

se po infekci virus zabudovává do lidského genomu. DNA genom kóduje strukturální glykoproteiny, např. povrchový gp120, gp41 a pouzderný p24. Kromě strukturálních proteinů genom kóduje také proteiny regulační. Tat (transaktivátorový protein) a Rev (regulátor sestřihu RNA) jsou nezbytné pro zahájení replikace HIV. Ostatní, např. Nef (negativní regulační faktor), Vif (virový infekční faktor), Vpr (virový protein r) a Vpu (jedinečný virový protein), mají vliv na replikaci, vznik a patogenezi viru. Vpu je mimo jiné zodpovědný za nižší patogenitu HIV-2. (*Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 2016)

4.4.1. Patogeneze

Virus HIV je schopen proniknout do těla exematózní nebo porušenou kůží, dokonce i neporušenými sliznicemi a transplacentárně. Většina nových infekcí HIV je stále přenášena pohlavním stykem. Hlavním faktorem ovlivňující patogenezi HIV je buněčný tropismus. Virus HIV infikuje buňky, které na svém povrchu exprimují molekulu CD 4 a těmi jsou pomocné T-lymfocyty a makrofágy. Vstup viru do buňky je zprostředkován interakcí povrchového glykoproteinu gp120 s molekulou CD 4 a také chemokinovými receptory. Kmeny HIV lze podle buněčného tropismu rozdělit do tří skupin: kmeny makrofágů (M-tropic) s fenotypem netvořícím syncytium (NSI), tropní linie T-lymfocytů (T-tropic) s fenotypem tvořícím syncytium (SI) a duální varianty se smíšenými fenotypy NSI/SI. NSI kmeny ke vstupu do hostitelské buňky používají chemokinový koreceptor CCR5 a jsou schopny se replikovat v makrofázích a T-lymfocytech. U plodu se CCR5 receptory nacházejí také v mikroglialních buňkách. Tyto HIV viry se nazývají R5. Receptor pro kmeny SI CXCR4 (viry značeny X4) se vyskytuje na T-lymfocytech, na makrofázích nikoli. Přítomnost X4 koreluje s rychlým úbytkem CD 4+ T-buněk a progresí onemocnění je výrazně vyšší než u virů R5. Dvojtropní kmeny používají ke vstupu do makrofágů a buněk T-linií jak receptor CCR5, tak i CXCR4 (R5X4 viry). (Naif H., 2013)



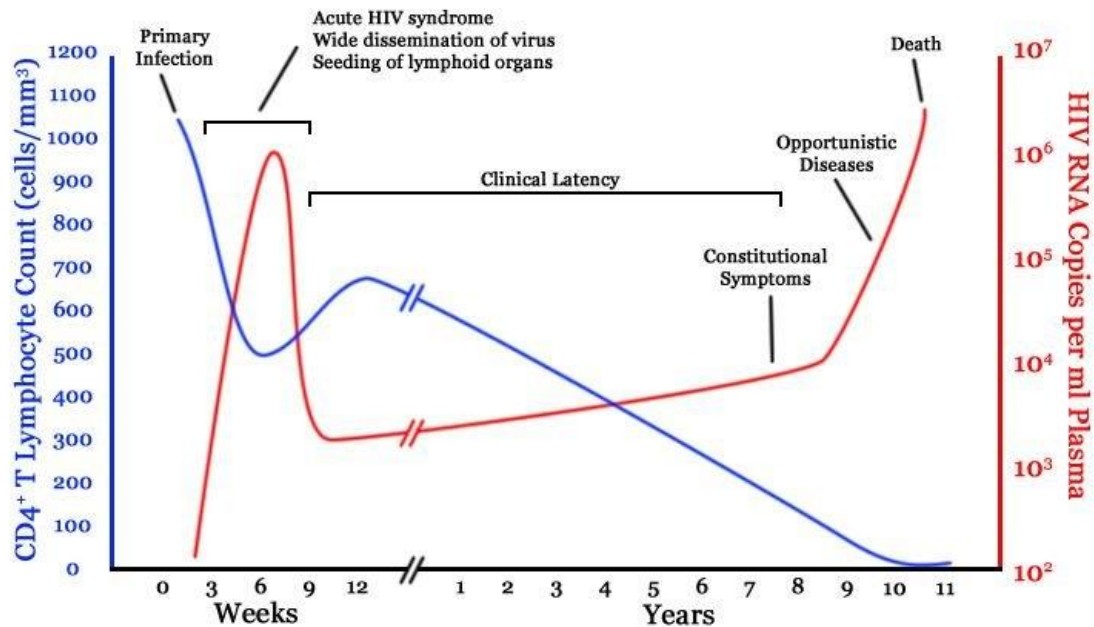
Obrázek 3: Chemokinové koreceptory

4.4.2. Klinické fáze infekce

V prvních dvou dnech se infekce rozšíří do lymfatických tkání a v lymfatických uzlinách je detekovatelná po 5 – 6 dnech od nákazy. Po 10 – 14 dnech infekce postihne celé tělo včetně nervového systému. Tato fáze je bezpříznaková a během ní začíná populace CD 4+ lymfocytů prudce klesat a to na 500/μl. Následuje fáze akutní, která se projeví po 2 – 4 týdnech od nákazy. V organismu stoupá virová nálož až na 10⁹ kopií/ml a virus je již v krvi detekovatelný. V akutní fázi má infikovaný příznaky podobné chřipce, tedy zvýšenou teplotu, zduřelé lymfatické uzliny, nespecifický exantém a malacii. (Deeks a kol., 2015; Vaillant, 2019)

Následuje fáze chronická, kdy je virus stále aktivní, ale jeho reprodukce je velmi nízká. Infekce je v latentní fázi asymptomatická a bez správné terapie a potlačení viru přetrvává až deset let, v některých případech může tato fáze postupovat i rychleji. U infikovaného, který podstupuje léčbu pomocí antiretrovirotik (ART), se období chronicity výrazně prodlužuje na několik desítek let. Virová nálož je v tomto případě velmi nízká (< 10² kopií/ml) a riziko přenosu na HIV negativního jedince je téměř mizivé. I přesto se počet CD 4+ buněk snižuje (< 350 buněk/μl) a imunodeficience se začne projevovat vnímavostí nemocného na jiné oportunní infekce, dochází také k úbytku tělesné hmotnosti. V pozdní fázi je počet CD 4+ lymfocytů menší než 200/μl a dle Centra pro kontrolu

a prevenci nemocí (CDC) je tento stav definován jako AIDS. Onemocnění AIDS doprovází také přidružené infekce jako je kandidóza dýchacích cest, meningitida, chronická kryptokokóza, HSV, CMV, Kaposiho sarkom a další. (Deeks a kol., 2015; Vaillant, 2019)



Obrázek 4: Klinické fáze infekce HIV/AIDS (Popoolo AD, 2016)

4.4.3. Projevy infekce u žen

Příznaky infekce HIV jsou u mužů i žen velice podobné, ale mohou existovat i určité rozdíly. Přítomnost opakujících se či recidivujících gynekologických infekcí může být první klinickou manifestací u infikované ženy a v důsledku nižší úrovně virové nálože u žen nežli u mužů se příznaky mohou vyskytnout i dříve v průběhu nákazy. Běžnými časnými projevy onemocnění jsou menstruační poruchy, dysplázie, neoplázie a vaginální infekce. Právě vaginální infekce bývají u infikovaných mnohem častější a obzvláště perzistentní. Jejich léčba je většinou obtížná a standardní léky jsou mnohdy neúčinné, jako např. u infekce HSV léčba již zmíněným acyklovirem. (Gatali, Archibald, 2004; Velemínský, 2005)

Frekventovanější je i infekce lidským papilomavirem (HPV) často vedoucí k rakovině děložního čípku. Právě cervikální intraepiteliální neoplázie (CIN) se vyskytuje u HIV-pozitivních žen mnohem častěji, kdy riziko vzniku roste s úbytkem CD 4+ T-lymfocytů. Proto by u pacientek s CIN měly být vyšetřeny specifické protilátky proti HIV. (NIAID, 2001)

V důsledku postupující imunodeficiency se u pozitivních žen často objevuje také hluboký pánevní zánět (PID), jehož průběh bývá agresivnější. Jedná se o infekci způsobenou

sexuálně přenosnými bakteriemi jako je *Neisseria gonorrhoeae* a *Chlamydia trachomonatis*, ale i bakteriemi běžně se vyskytujícími v gastrointestinálním traktu, např. *E. Coli*. Zánět může probíhat asymptomaticky, avšak u mnoha žen může PID přejít v neplodnost. (Michell, Prabhu, 2013)

4.4.4. Přenos HIV z matky na plod (MTCT)

Infekce HIV může být přenesena vertikálně již infekcí zárodečných buněk, během těhotenství transplacentárně, v průběhu porodu, nebo po porodu. Pravděpodobnost přenosu HIV-1 je i v tomto případě mnohonásobně vyšší a častější než HIV-2. Při správné antiretrovirové terapii je riziko intrauterinního transplacentárního přenosu pouze 2% a neporušená placentární bariéra je účinnou překážkou pro průnik viru HIV. Plod může být infikován transplacentárně skrze syncytiotrofoblast a následně i přes Hofbauerovy buňky, specializované makrofágy, které jsou virem napadeny. V takovém případě bývá trofoblast porušen a to především v důsledku užívání návykových látek či kouření. (Ahmad, 2011; Milligan, Overbaugh, 2014)

Nejrizikovějším obdobím pro přenos infekce je období perinatální s následným spontánním porodem (více než 50% vertikálních přenosů). Přenos infekce je umožněn skrze gastrointestinální trakt a nasofaryngeální epitel plodu. Tyto slizniční bariéry jsou v průběhu těhotenství ve styku s mateřskými tekutinami infikovanými HIV. K přenosu ale ve většině případů nedochází díky polarizované epiteliální bariéře pokrývající sliznice dítěte. Aby došlo k systémové infekci plodu, musí být napadeny citlivé buňky pod slizniční bariérou, poté se infekce šíří i lymfatickými a krevními cévami. V posledních letech se riziko infekce během porodu snížilo až na 5% díky mnoha preventivním opatřením. Těmi jsou především účinná antiretrovirová terapie gravidních žen od 14. týdne těhotenství a porod císařským řezem. Jako prevence se těhotným podávají inhibitory proteázy a reverzní transkriptázy (RT) viru HIV. Inhibitory proteázy se používají především v pokročilých stádiích onemocnění, RT naopak v počátečních fázích. ART přípravky se mohou používat v kombinaci, nebo jako monoterapie, přičemž nejznámějším je zidovudin. Užívání vysokých dávek léčiva má však i vedlejší účinky nejen u gravidních žen, ale také u plodu. Mezi ty nejčastější patří preeklampsie, metabolické poruchy, jaterní a dermatologické změny. (Siemieniuk a kol., 2017; Velemínský a kol., 2005)

Novorozenec může být infikován také post partum, tedy po porodu, kde je nejčastější příčinou kojení. Ačkoli je ART v mnoha případech účinná a infekční dávka v mateřském

mléce není vysoká, přesto není zabráněno přenosu. Proto je doporučena náhradní kojenecká výživa, která však není v mnoha oblastech dostupná a kojenci často trpí podvýživou. V rozvojových zemích je navíc výživa pro kojence připravována z vody kontaminované enterokoky, které způsobují průjemová onemocnění. Kolostrum také obsahuje mateřské protilátky, které náhradní kojenecká strava postrádá. (Mallampati, Maclean, Shapiro, 2018)

4.4.5. Klinický obraz infekce u novorozenců a dětí

Většina novorozených dětí nemá žádné příznaky onemocnění a vrozené vady se objevují zřídka, proto je mnohdy obtížné u novorozence s neznámým stavem HIV určit diagnózu. Novorozenec je většinou nedonošený a má nízkou hmotnost. Navíc jsou projevy infekce velmi podobné běžným dětským bakteriálním i virovým onemocněním. Perzistence, recidiva infekcí a necitlivost na standardní léčbu jsou projevy slabé imunitní reakce a vodítky pro testování dětí na infekci HIV. Nejvíce se infekce projeví mezi 4. a 6. měsícem života dítěte. HIV-pozitivní novorozenci často trpí sekundárními oportunními infekcemi, jako je recidivující infekce horních cest dýchacích, tuberkulóza a intersticiální pneumonie. Dermatologické projevy, např. nespecifická vyrážka, orální kandidóza a přetrvávající herpes simplex, jsou dalšími typickými příznaky u dětí. Pozdějšími symptomy jsou lymfadenopatie, hepatosplenomegalie, trombocytopenie, přetrvávající horečky a také anémie. Anémie je obvykle multifaktoriální, může být výsledkem přímého působení viru HIV na buňky kostní dřeně, ale také důsledkem sekundárních infekcí. V souvislosti s HIV pozitivitou může být anémie způsobena léčbou zidovudinem, který potlačuje erytropoézu. (Sütçü a kol., 2017; Jeena a kol., 2013; Odhiambo a kol., 2015)

4.4.6. Diagnostika HIV u novorozence

Správná a včasná diagnóza infekce HIV je v současné době velmi důležitá pro účinnost ART terapie a prodloužení doby přežití dítěte. Dle WHO by virologické testy měly dosahovat nejméně 95% senzitivity a specifity více jak 98%. Načasování testování je v tomto případě také důležité, jelikož je virus u dětí krátce po porodu detekovatelný pouze krátkou dobu. Navíc u novorozenců infikovaných při porodu bývá progrese onemocnění rychlá a při nezačínání léčby míra životnosti nízká. V případě prenatální diagnostiky je nutno zvážit provedení aminocentézy u HIV-pozitivní gravidní ženy. V tomto případě hrozí infekce plodu po průchodu jehly placentou, ale pokud matka již delší dobu podstupuje vysoce účinnou ART, je možné zákrok provést. (Abdollahi, Saffar, 2016)

Sérologická testování na základě reakce antigen-protilátka, jako je např. ELISA/EIA, patří mezi nejpoužívanější diagnostické soupravy a to především díky dostupnosti, jednoduchosti a rychlosti. Dnes jsou již komerčně dostupná rychlá testovací zařízení s diagnostickým výkonem srovnatelným s tradičními metodami EIA. Tyto testy jsou vhodné pro použití v oblastech s omezenými zdroji na vybavení. Navíc jako vzorek může být použita žilní nebo kapilární plná krev. Výsledky mohou být poskytnuty do 30 minut a jejich interpretace je obecně jednoduchá. (WHO, 2010)

Enzymatická imunoanalýza (EIA) detekuje protilátky proti viru HIV, ale i jeho jednotlivé varianty. Moderní soupravy dokáží detekovat jak protilátky, tak antigen i p24 současně. Díky této kombinaci se výrazně zkracuje období „diagnostického okna“, ve kterém tělo nevytvoří dostatek protilátek. EIA jsou vyráběny pro screening velkého množství vzorků najednou, výsledky analýz navíc bývají dostupné do dvou hodin. Skrze placentu mohou pasivně přecházet mateřské protilátky, které lze u dítěte detekovat do 18. měsíce věku, tudíž výsledky často bývají falešně pozitivní. Pokud je výsledek hned po narození negativní, doporučuje se testování opakovat v 3. a 6. měsíci, při opakované negativitě také v 15. a 18. měsíci. Výsledky by měly být potvrzeny jinými druhy testů, jako je Western blot, imunofluorescenční test nebo dalším virologickým testováním. Metoda Western blot detekuje HIV antigen na proužku nitrocelulózy, přičemž výsledky lze interpretovat jako pozitivní, negativní nebo neurčité (většinou v případě zkřížené reakce nebo v době sérokonverze). V tomto případě se test musí opakovat o 3 týdny později. Vzhledem k tomu, že Western blot je sofistikovaná metoda a k obsluze je potřeba odborné znalosti, dnes se zlepšením virologických testů není nezbytné tuto metodu používat jako konfirmační test. (WHO, 2011)

Virologické testování je založeno na přímé detekci viru, respektive jeho nukleové kyseliny (tj. RNA či DNA) nebo virových produktů, jako je např. antigen p24. Toto testování je možné spolehlivě realizovat i u dětí mladších osmnácti měsíců a je velmi doporučováno ho provést kojencům vystaveným HIV v době nejlépe 4 – 6 týdnů věku. Pokud je první virologický test pozitivní, doporučuje se okamžité zahájení ART léčby i před další konfirmací. U kojenců podstupujících virologické vyšetření lze detekovat HIV DNA ve vzorku plné krve nebo suché kapce krve (DBS), HIV RNA ve vzorku plazmy nebo DBS a antigen Up24 ve vzorku plazmy nebo DBS. V případě, že matka již podstupuje ART léčbu inhibující replikaci viru, je testování na přítomnost viru pomocí antigenu p24 vhodnější provést do osmnáctého měsíce věku dítěte, jelikož citlivost testu může s rostoucím věkem klesat. Pro testy je požadováno 500 – 1000 µl plazmy, zatímco DBS pouze 25 – 100 µl plné

krve. Vzorky DBS jsou navíc po delší dobu stabilní při pokojové teplotě a snáze se přepravují, což umožňuje centralizované laboratorní testování. (WHO, 2010)

Většina virologických testů je založena na amplifikaci genetického materiálu, tedy virové RNA. Výsledky mohou poskytovat jak kvalitativní, tak i kvantitativní parametry umožňující sledování progresu onemocnění HIV. Mezi nejrozšířenější metody patří amplifikace na bázi PCR, NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification) nebo rozvětvené DNA (b-DNA). PCR exponenciálně zmnoží cílovou DNA, což umožní její analýzu. V případě HIV je nutno převést její RNA na DNA reverzní transkriptázou (RT-PCR). Testování pomocí PCR je rozdělováno na konvenční a v reálném čase. U konvenčního, neboli PCR v koncovém bodě, se detekce provádí až na konci amplifikace a je nutná manipulace se vzorkem, kdy hrozí riziko kontaminace. Tento typ je navíc náročnější na práci. Při real-time PCR (také PCR v reálném čase), není vyžadována žádná manipulace s produktem PCR, čímž se minimalizuje křížová kontaminace vzorků a zkracuje se také doba potřebná k dosažení výsledků. Detekce se provádí při amplifikaci nukleové kyseliny, obvykle vazbou fluorescenčně značených sond na produkt PCR emitující záření určité vlnové délky. Kvantifikace se provádí porovnáním intenzity fluorescence vzorku se standardy. Tato metoda tedy umožňuje sledování produktu PCR v procesu amplifikace (v reálném čase). (Abdollahi, Saffar, 2016; WHO, 2010)

Metoda založená na amplifikaci RNA sekvencí nukleových kyselin (NASBA) detekuje jednu nebo více určitých částí HIV genomu, jako je např. HIV-env kódující glykoprotein gp120 a gp41, nebo gen HIV-pol zajišťující produkci virových enzymů. Princip metody je téměř shodný jako u real-time PCR, kdy se selektivně amplifikuje cílová RNA, poté je pomocí RT syntetizována komplementární DNA, jenž slouží jako templát pro cyklickou amplifikaci RNA. Fluorescenčně značené sondy hybridizují s nově nasyntetizovanou RNA a kvantifikace se následně provede porovnáním intenzity fluorescence cílové sekvence se standardy. Detekce b-DNA je založena na zesílení signálu RNA viru, který musí být nejprve zkoncentrován odstředěním plazmy. Virová RNA je poté zachycena komplementárními nukleotidovými sondami připojenými k mikrotirační destičce. Další sada oligonukleotidových sond se připojí jak k RNA, tak k sondám preamplifikačním, které hybridizují s b-DNA. Nakonec je přidán chemiluminiscenční substrát a alkalická fosfatáza, která aktivuje emisi záření. Množství vyzářeného světla je úměrné koncentraci virové RNA. (Abdollahi, Saffar, 2016; WHO, 2010)

4.4.7. Antiretrovirová terapie a postnatální léčba

Dle WHO je antiretrovirová terapie doporučena všem HIV-pozitivním. Přestože tato terapie pacienta nevyлéčí, může alespoň zajistit delší životnost a snížit riziko přenosu infekce. Právě díky tomu je ART vhodná pro jedince HIV-pozitivní, jejichž partner je HIV-negativní. ART výrazně prodlužuje chronickou fázi infekce. V mnoha oblastech světa je postup do fáze AIDS vzácný a to dokonce až u 80% léčených. Do roku 2030 plánuje CDC implementovat plán 90-90-90, tedy 90% diagnostikováno, 90% podstupující terapii, 90% potlačeno. V ART se používá šesti druhů léků a jejich indikace závisí na fázi infekce. Typický režim ART zahrnuje tři léky minimálně ze dvou různých tříd. Nejběžnější kombinací je již zmiňovaný inhibitor RT a proteázy nebo integrázy v poměru 2:1. (WHO, 2011)

Studie z posledních let ukázaly, že brzké zahájení ART léčby u novorozence dramaticky snižuje riziko progresu onemocnění a úmrtí. Všem novorozencům do 24. měsíce věku potvrzovaným jako HIV-pozitivní, by měla být ART nasazena okamžitě nehladě na klinické příznaky nebo stav imunitního systému. Zahájení léčby asymptomatických novorozenců ihned po diagnóze vede ke snížení úmrtnosti ve srovnání s těmi, u kterých je začátek léčby zpožděn. V tomto případě až polovina infikovaných umírá do dvou let. Pokud není přístupné virologické testování a novorozenec je mladší osmnácti měsíců, dle WHO je možné ART zahájit v případě, že je testování na HIV protilátky pozitivní a novorozenec má typické příznaky, jako je těžká pneumonie, sepse nebo orální kandidóza. U dětí ve věku 24 měsíců a starších by měly být měřeny imunologické parametry, podle kterých je možno posoudit závažnost imunodeficiency a zahájení ART. Všechny děti ve věku 2 až 5 let s hladinou CD 4+ buněk nižší jak 750 buněk/mm³ mají nárok na ART. (WHO, 2010)

5 BAKTERIÁLNÍ KONGENITÁLNÍ INFEKCE

Nejvíce novorozeneckých infekcí je způsobeno právě bakteriemi. Každoročně následkem bakteriální infekce podlehnou až 600 000 novorozenců, přičemž nejvyšší procento připadá na rozvojové země. Velice závažné následky nastávají u novorozenců infikovaných při porodu nebo v následujících 72 hodinách. Nejčastější jsou infekce způsobené grampozitivními bakteriemi (*Streptococcus* skupiny B, *Staphylococcus*), ale také infekce spirochetové (*Treponema pallidum*) a chlamydiové (*Chlamydia trachomatis*). (Vergnano S. a kol., 2017; Velemínský M. a kol., 2005)

5.1. Infekce způsobené streptokoky skupiny B

Streptokoky skupiny B (GBS), jako je *S. agalactiae*, jsou β -hemolytické grampozitivní bakterie. Jedná se především o fakultativně anaerobní koky vyskytující se jako součást lidské mikroflóry a sliznice genitálu. Jsou to tedy podmíněně patogenní bakterie, které mohou být příčinou novorozenecké sepsy a meningitidy. Od 60. let byl zaznamenán nárůst šíření GBS nejspíše z důvodu mechanizace výroby mléka. Dalším důvodem byla také stoupající rezistence novorozenců na tetracyklin, antibiotikum, které bylo v tomto období velmi používané. (Lawn E., Bianchi-Jassir F., Russel N. J., 2017)

5.1.1. Etiologie

Bakterie způsobující infekci plodu nebo novorozence nejčastěji pochází z urogenitálního traktu matky a to v 15 až 35% případů. Streptokoky také mohou proniknout do amniové tekutiny, která je pro bakterie dokonalým kultivačním médiem. Stát se tak může skrze porušené plodové obaly, ale i intaktní placentu. K systémovým infekcím plodu dochází i přes pupečnickovou šňůru. Nejvíce infekcí však vzniká intrapartum v důsledku aspirace nebo požití plodové vody. Hematogenně se infekce přenáší jen zřídka. Mezi rizikové faktory pro streptokokovou infekci patří také předčasný porod, nízká porodní hmotnost, etnicita matky (u černošských a hispánských matek je riziko vyšší), ale i častá gynekologická vyšetření v době gravidity. Důležitým faktorem je i socioekonomický status. (Heath, Jardine, 2014)

S. agalactiae má navíc mnoho faktorů virulence, díky kterým je odolný vůči imunitnímu systému plodu. Bakterie má polysacharidové pouzdro obsahující kyselinu sialovou, což je látka společná i pro lidské buňky. Nezralé imunitní buňky novorozence

mohou zaměřovat *S. agalactiae* (typické pro sérotyp III) za buňky vlastní, což GBS umožňuje přežít v těle hostitele. Dalšími faktory virulence jsou fimbrie, které bakterii napomáhají připojit se k hostitelské buňce, a beta-hemolysin způsobující hemolýzu erytrocytů. GBS také produkují enzym C5a-azu, jenž inaktivuje komplementovou složku chemoatraktantu C5a. Tento enzym napomáhá bakteriím tak, že zabrání fagocytóze a hromadění neutrofilů v místě infekce. Díky tomuto mechanismu jsou GBS schopny se skrýt před imunitním systémem hostitele. (Heath, Jardine, 2014)

5.1.2. Klinický průběh

Gravidní ženy s pozitivní kolonizací GBS mohou mít asymptomatický průběh infekce téměř ve čtvrtině případů. Při nitroděložní infekci hrozí riziko předčasného porodu, spontánního potratu nebo dokonce porod mrtvého plodu. Klinický průběh u novorozence se dělí na několik forem podle doby, kdy se příznaky projeví. (Hanna, Noor, 2020)

Časná forma je definována nástupem symptomů do šesti dnů po porodu, ale většina novorozenců (61% až 91%) onemocní během 24 hodin. U infikovaných kojenců se vyskytují dýchací obtíže, jako je tachypnoe, ale i celková dechová nedostatečnost spojená s cyanózou. Projevy mohou být také nespecifické (letargie, tachykardie, hypotenze). Až 80% novorozenců postihuje septikémie, která může způsobit vážné komplikace. Častá je i pneumonie (≈ 26%), méně pak meningitida (≈ 10%). Pozdní forma onemocnění se vyskytuje v období od 7 do 90 dnů věku dítěte. Novorozenci jsou v tomto období náchylní zejména na GBS typu III, který je více rezistentní a má schopnost prostupovat i skrze hematoencefalickou bariéru. Vyšší vnímavost kojenců do tří měsíců věku je také důsledkem nízké tvorby protilátek. Typickým projevem pozdní fáze je meningitida, která se může objevit až u 30% případů. Méně častá je bakterémie většinou s obtížně zjištěným ložiskem, osteomyelitida postihující především proximální humerus a pyogenní artritida kyčelních a kolenních kloubů. V krevním obraze bývá patrná leukocytóza a zvýšená hladina CRP. Velmi pozdní forma je definována u kojenců ve věku tří měsíců a starších. Většina případů se vyskytuje u předčasně narozených dětí nebo u dětí s nízkou porodní hmotností. U novorozenců může být pozdní nástup GBS onemocnění spojen i s infekcí HIV nebo jinou imunodeficiencí. (Hanna, Noor, 2020)

Celková míra úmrtnosti se u časně formy pohybuje v rozmezí 3% až 10%, u formy pozdní je to od 1% do 6%. Nejvyšší úmrtnost (téměř 20%) se vyskytuje u novorozenců narozených před 37. týdnem těhotenství. Nehledě na pokrok v prevenci, detekci a péči

o novorozence, neurologická poškození zůstávají stejně závažná jako v minulosti. Přibližně 30% kojenců s meningitidou s časným nebo pozdním nástupem bude mít trvalé neurologické poruchy, jako je kortikální slepota, oboustranná ztráta sluchu nebo těžká dětská obrna. Dalších 25% bude mít středně vážná až mírná poškození, např. hydrocefalus, opožděný mentální vývoj nebo poruchy učení. (Hanna, Noor, 2020)

5.1.3. Laboratorní diagnostika

Detekce kolonizace GBS je velmi důležitá pro včasné podání antibiotické profylaxe. Protože stupeň kolonizace se může v době těhotenství měnit, je nutné i správné načasování testování. Vyšetření výtěru z pochvy, nejlépe i z rekta, je vhodné provést mezi 35. a 37. týdnem těhotenství. Jestliže není možné vzorek ihned vyšetřit (do 2 hodin), měl by být uložen do vhodného transportního média. V Amiesově půdě nebo Stuartově médiu může být uchován až 4 dny. Na bakteriologické odběry je vhodné použít Flocked tampony vyrobené nástřikem nylonových vláken v elektrostatickém poli. Oproti standardním výtěrovým tamponům mají vyšší výtěžnost. (Rosa-Fraile a kol., 2017)

Obecně používanou diagnostickou metodou je kultivace. Kolonie GBS se nejprve inokuluje do pomnožovacího bujónu, např. Todd-Hewittova s gentamycinem, kyselinou nalidixovou a ovčí krví nebo kolistinem. Inkubace probíhá 35 – 37 °C po dobu 18 až 24 hodin. Následně se kultura očkuje na různé agary, nejčastěji na krevní agar, selektivní krevní agar (agar s neomycinem a kyselinou nalidixovou [NNA] nebo s kolistinem [CNA]), granada agar nebo chromogenní médium. Agary jsou inkubovány při 35 – 37 °C (granada agar anaerobně) 24 – 48 hodin. Na chromogenním agaru rostou GBS kolonie barevně, nepigmentované kolonie by měly být dále testovány (CAMP test, latexový aglutinační test), aby se vyvrátil falešně pozitivní výsledek. Na granada agaru jsou GBS zabarveny oranžově až cihlově červeně. Nezbarvené kolonie by měly být potvrzeny dalšími testy, aby se vyloučily nehemolytické GBS. (Rosa-Fraile a kol., 2017)

Na krevním agaru vytváří GBS typickou β -hemolýzu, která však nemusí být zcela patrná. Proto se identifikace potvrzuje CAMP testem a testem latexové aglutinace. CAMP test umožňuje odlišit GBS díky produkci CAMP (Christie, Atkins, Munch-Petersen) faktoru. Tento faktor není sám o sobě hemolytický. Na krevním agaru lyzuje ovčí erythrocyty pouze v přítomnosti β -hemolysinu (sfingomyelinázy) *Staphylococcus aureus*. Test se provede naočkováním GBS kolmo na pruh *S. aureus* a po inkubaci (24 hod., 37 °C) se pozitivní reakce projeví vytvořením zóny hemolýzy ve tvaru „mašličky“. Test však není 100% spolehlivý, jelikož CAMP faktor mají i některé streptokoky skupiny A. (Rosa-Fraile a kol., 2017)



Obrázek 5: CAMP test *S. agalactiae*

Dalším testem pro odlišení GBS od *S. pyogenes* nebo *S. porcinus* je přítomnost pyrrolidonyl arylamidázy (PYRáza). GBS tento enzym nemají a test je pro ně tedy negativní. Rozklad substrátu PYRázou se projeví zčervenáním detekční zóny, při negativní reakci k barevné změně nedochází nebo se zóna zbarví krémově až žlutě. Rozlišit *S. agalactiae* od *S. pyogenes* lze i bacitracinovým testem. Bacitracin je baktericidní antibiotikum získané z *Bacillus subtilis* a právě na něj jsou GBS rezistentní. Na rozdíl od GBS, *S. pyogenes* vytváří kolem disku s bacitracinem zónu inhibice. Sérologické stanovení skupinových stěnových antigenů je důležitou rutinní identifikační technikou. Soupravy jsou založeny na principu

latexové aglutinace nebo stafylokokové koagulace. Streptokoky se smísí s latexovými částicemi nebo s hyperimunním sérem obsahujícím usmrčené stafylokokové kolonie. Pozitivní reakce se projeví shlukováním latexových částic nebo stafylokoků. Výhodou tohoto testování je jejich komerční dostupnost a rychlost, kdy identifikace trvá řádově minuty. Specifita těchto testů závisí na koncentraci viru ve vzorku a pohybuje se v rozmezí 81% až 99%, senzitivita poté od 84% do 97%. (Rosa-Fraile a kol., 2017)

Podobné β -hemolytické kolonie jako *S. agalactiae* tvoří i *S. porcinus* patřící do sérologické skupiny E dle Lancefieldové. Tento streptokok zkříženě reaguje s GBS na aglutinačních soupravách. Jednoduchá a specifická metoda k jejich rozlišení je detekce načervenalého polyenického pigmentu granadaenu *S. agalactiae* v granada bujónu. Nehemolytické GBS by měly být testovány také, jelikož některé invazivní kmeny GBS mohou vzniknout spontánní mutací během infekce. (Rosa-Fraile a kol., 2017)

Novým nástrojem pro identifikaci GBS a jiných mikroorganismů je MALDI-TOF MS. Tato technika je založena na detekci proteinových profilů charakteristických pro jednotlivé kmeny, dokonce i druhy, bakterií. Nejdříve je vzorek ionizován laserovými pulsy a menší částice jsou přeneseny do hmotnostního spektrometru, kde jsou jednotlivé proteiny analyzovány. Detekce je velmi přesná a rychlá. Spotřeba laboratorního materiálu a provozní náklady jsou nízké, nicméně počáteční investice pro koupi MALDI-TOF MS je nákladná. K analýze je navíc třeba čisté kultury, což tuto techniku vylučuje pro použití přímé detekce GBS. (Rosa-Fraile a kol., 2017)

V posledních letech se značně vyvíjí molekulární metody pro specifické diagnostické účely. Amplifikační techniky (např. PCR) nejsou ve většině případů vyžadovány. Pokud je ale izolát GBS atypický, PCR je spolehlivým testem pro identifikaci druhu. Toho lze dosáhnout sekvenováním genu 16S kódujícího bakteriální rRNA, který je charakteristický pro jednotlivé druhy. Amplifikační metody i přesto nedosahují takové míry citlivosti jako u detekce pomocí biochemických testů. Senzitivitu lze zvýšit po předchozím pomnožení kultury v selektivním bujónu. Tímto krokem se ale detekce GBS prodlužuje a nemusí poskytnout dostatečně rychlé výsledky pro včasné podání profylaxe. V případě, že má gravidní žena alergii na penicilin, amplifikační metody navíc neposkytují dostatek informací o citlivosti GBS na náhradní antibiotikum. Proto CDC nedoporučuje rutinní screening GBS pomocí těchto metod. (Rosa-Fraile a kol., 2017)

GBS je možno identifikovat i přímou detekcí antigenu. Žádný z aktuálně dostupných testů však nemá přijatelný stupeň senzitivity ani specifity a testy za účelem detekce antigenu GBS nejsou doporučovány. (Rosa-Fraile a kol., 2017)

5.1.4. Profylaktická léčba

Doporučeným intrapartálním antibiotikem podávaným proti GBS je penicilin G (β -laktamové antibiotikum). Penicilin G je podáván intravenózně v množství 5 milionů jednotek v úvodní dávce, po níž následují 2,5 až 3 miliony jednotek každé 4 hodiny během porodu až do ukončení porodu. Další ověřenou alternativou je podávání ampicilinu v množství 2 g intravenózně v iniciační dávce, dále pak každé 4 hodiny 1 g i.v. během porodu. Pokud je gravidní žena alergická na penicilinová antibiotika hrozí nebezpečí anafylaxe, vhodnou volbou profylaxe je klindamycin (linkosamid) v dávce 900 mg každých 8 hodin během porodu. Všechna antibiotika by měla být podána nejméně 4 hodiny před porodem, v opačném případě roste riziko infekce plodu. (Morgan, Cooper, 2020)

Při vzniku novorozenecké bakteriémie je pro počáteční léčbu indikován ampicilin v kombinaci s aminoglykosidem, obvykle gentamycinem. Tato kombinace má synergický účinek a je účinnější než samotný ampicilin či penicilin G. Pokud se po této léčbě v krvi či mozkomíšním moku novorozence nevyskytují GBS a je pozorováno klinické zlepšení, k dokončení terapie postačí samotný penicilin G. Délka trvání terapie je minimálně 10 dnů. Kojenci s meningitidou by měli podstoupit další vyšetření mozkomíšního moku 1 – 2 dny po léčbě ampicilinem a terapii opět dokončit samotným penicilinem G po dobu minimálně 14 dnů. Po ukončení léčby by mělo být zvaženo další vyšetření lumbální punkcí. Nálezy zvětšených polymorfonukleárních buněk nebo množství bílkovin větší než 200 mg/dl souvisí s probíhající cerebritidou¹ a destrukcí mozkového parenchymu. V takovém případě je vyžadována delší terapie. Všichni novorozenci, kteří se zotavili z meningitidy způsobenou GBS, by měli podstoupit automatizovaný test sluchových a mozkových funkcí. (Morgan, Cooper, 2020)

5.2. Vrozená syfilis

Původcem kongenitální syfilis je bakterie z kmene spirochety *Treponema pallidum*. Tyto gramnegativní mikroaerofilní bakterie jsou spirálovitě stočené buňky, dlouhé 6 – 15 μm a 0,1 – 0,2 μm široké. Jsou složeny z centrálního protoplazmatického válce ohraničeného cytoplazmatickou membránou, kterou překrývá vrstva peptidoglykanu a vnější membrána obsahující lipopolysacharidy. Jsou pohyblivé a díky vývrtkovitému pohybu, který jim umožňují axilární bičíky (2 – 3) ukotvené v cytoplazmatické membráně, jsou schopny

¹ zánět mozku a mozkových blan

proniknout skrze kůži, prostředí o vysoké viskozitě a placentu. Vnější membrána *T. pallidum* však obsahuje relativně málo lipopolysacharidů a transmembránových proteinů. Právě díky tomu je *T. pallidum* odolná vůči imunitním reakcím a nástup buněčné imunity je opožděn. Tato spirochéta má také slizový obal, který ji chrání před fagocytujícími buňkami a protilátkami. *T. pallidum* má navíc několik antigenních variant, jejichž důsledkem je perzistence bakterie v hostiteli a výrazné prodloužení samotné infekce. Genom *T. pallidum* obsahuje 1 138 006 párů bazí. Tento relativně malý genom vypovídá o nutnosti bakterie využít mnoho biosyntetických drah hostitele k řadě metabolických pochodů. (Hussain, Vaidya, 2020)

Treponemy jsou ale velice náchylné k vnějším vlivům (citlivé na kyslík a teplotu > 39 °C) a zatím nebyly kultivovány *in vitro* (kultivace je možná pouze v krevních konzervách po dobu 4 hodin), a proto je nelze prokázat klasickými barvicími technikami. Lze pozorovat imunofluorescenčně obarvené preparáty. Používá se i impregnace stříbrem. Kvůli své velikosti jsou těžko pozorovatelné ve světelném mikroskopu. Možná je vizualizace v zástinu nebo fázovém kontrastu. (Cooper, Sánchez, 2018)



Obrázek 6: Mikroskopie *T. pallidum* v zástinu (Charles B. Hicks, 2011. Dostupné z: <https://somepomed.org/articulos/contents/mobipreview.htm?35/49/36628>)

5.2.1. Průběh onemocnění u těhotných žen

Syfilis je chronické onemocnění, které má primární, sekundární a terciální stádium a bez léčby může přetrvávat po mnoho let. Symptomy primární fáze se objeví v průběhu 10 – 90 dnů od expozice. Hlavním projevem je tvorba nebolestivého tvrdého vředu v místě

vzniku infekce. Vřed většinou vymizí do 3 až 10 týdnů, proto si většina pacientek tohoto symptomu nepovšimne. Léze může být atypická a bolestivá v důsledku koinfekce jinými bakteriemi či viry. Může se objevit také lokalizovaná lymfadenopatie. Sekundární stádium je projevem bakteriálního šíření, které se projevuje symetrickou nesvědící makulopapulární vyrážkou. Dalšími nespecifickými symptomy bývá malátnost, horečka, bolest hlavy a generalizovaná lymfadenopatie. Příznaky sekundární fáze se objevují 4 – 12 týdnů po nákaze. V obou fázích je gravidní žena vysoce infekční. Pro plod jsou tato stádia nejvíce riziková. Neléčená syfilis vede k abortům nebo porodům mrtvého plodu. Mrtvorození mají systémová postižení a často nekrotické orgány. Přibližně po 8 týdnech symptomy vymizí a infekce se dostává do stádia latence. Latentní fáze má časnou a pozdní formu. V časném období (< 1 rok od infekce) je možný relaps onemocnění a příznaky jsou podobné jako symptomy 2. stádia. Protože tento relaps poukazuje na bakteriální replikaci, může být období latence infekční. Pozdní stádium latence je bez dalších manifestací a je neinfekční. Tato fáze nastupuje po 1 – 2 letech od nákazy a může trvat i několik let. Poslední, terciální, fáze nastupuje v rozmezí 1 – 46 let. V terciálním stádiu neléčená infekce způsobuje neurosyfilis, gumatózní a kardiovaskulární syfilis. Gumatózní syfilitida je charakterizována vznikem měkkých granulomat, která se objevují v mozku, srdci, játrech, kostech a na kůži. Terciální stádium je opět neinfekční. (O'Byrne, MacPherson, 2019; Velemínský, 2005)

5.2.2. Transmise onemocnění

Syfilis je přenášena především sexuálním kontaktem, ale také z matky na dítě v průběhu těhotenství transplacentárně, méně obvykle pak při porodu. *T. pallidum* je schopna přecházet přes fetální membrány, infikovat plodovou vodu a nakonec i samotný plod. Spirochety mohou infikovat plod od 14. týdne těhotenství a riziko fetální infekce se zvyšuje s gestačním věkem. Riziko vertikálního přenosu významně souvisí se stádiem mateřské syfilis. Novorozenci těhotných žen v primárním či sekundárním stádiu mají téměř vždy zdravotní následky. U poloviny rodiček dochází k předčasnému porodu nebo porodu mrtvého plodu, druhá polovina porodí dítě s vrozenou syfilitidou. Pravděpodobnost přenosu je snížena u neléčených žen v časně fázi latentního stádia (20% předčasných porodů, 4% novorozeneckých úmrtí, 10% mrtvorozenosti, 40% novorozenců s vrozenou infekcí a 20% bez průkazu syfilis). Placentární růstové faktory (TGF- β) společně s cytokiny podporují růst placenty i plodu a toleranci plodu jako aloštěp, čímž mohou náhodně prospět a chránit invazivní patogen, jako je *T. pallidum*. Samotná placenta je po porodu abnormálně

zvětšená a bledá. Dalšími histopatologickými jevy jsou nekrotizující funisitida² a zesílené stěny cév. (Stoltey, Cohen, 2015; Wicher K., V., 2001)

5.2.3. Klinický obraz kongenitální syfilis

Většina novorozenců narozených neléčeným matkám nemá ihned po porodu žádné klinické ani laboratorní projevy infekce. První známky syfilis se objevují až po 4. týdnu života a přetrvávají následných 24 měsíců. Hepatosplenomegalie společně s hepatitidou jsou nejčastějšími projevy *časné formy* kongenitální syfilis a při léčbě infekce penicilem se může hepatitida přechodně zhoršit. Obvyklé jsou také mukokutánní léze, které se vyskytují u 40 – 60% dětí. Exantém je obvykle růžový až červený, ale na chodidlech a dlaních se objevují deskvamace charakteristické měděným zbarvením. V periorální a perianální oblasti se mohou vyskytnout ploché rýhy známé jako condylomata lata. U některých postižených dětí se vyskytuje chronická rýma zpočátku vodnatá, později však silná, hnisavá až krvavě zbarvená. Výtok obsahuje velké množství spirochet a je velmi infekční. Krevní obraz vykazuje hematologické poruchy, jako je anémie, trombocytopenie a leukopenie, popř. leukocytóza. Lymfadenopatie se objevuje téměř u 50% novorozenců. Na RTG snímcích lze také zachytit kostní abnormality, např. osteochondritidu, která může vést až k pseudoparalýze neboli Parrotově syndromu. U novorozence může dojít také k invazím CNS. Dysfunkce hypofýzy se projevuje nízkou produkcí ADH (diabetes insipidus). Mezi další projevy patří hydrocefalus či ochrnutí hlavových nervů. (Cooper, Sánchez, 2018; Velemínský, 2005)

Pozdní forma kongenitální syfilis je období mezi 2. až 14. rokem života dítěte a typickými symptomy infekce je tzv. Hutchinsonova triáda. První příznakem z této triády jsou zubní stigmata. Horní řezáky bývají nezvykle malé, široce rozložené a mají soudkovitý tvar. Moláry mají mnoho deformit a namísto obvyklého počtu 4 – 5 hrbolků jich mají větší množství („morušovité“ stoličky). Druhým symptomem z této triády je intersticiální keratitida, pro kterou je typické rozmazané vidění, bolest očí a vyšší citlivost na světlo. Tento příznak se projevuje mezi 5. až 20. rokem života. Poslední složkou Hutchinsonovy triasy je hluchota způsobená poškozením VIII. hlavového nervu (*n. vestibulocochlearis*). Ztráta sluchu se vykytuje pouze u 3% postižených dětí. Časté jsou deformity kostí, typické je např. vyklenuté (olympské) čelo, šavlovité holeně a bezbolestné oteklé klouby. Pozdní forma infekce není infekční. (Cooper, Sánchez, 2018; Velemínský, 2005)

² zánět pupečníku

5.2.4. Imunitní reakce

Plod je schopen na infekci reagovat již od 18. týdne těhotenství a to nespecifickými faktory jakou jsou fagocytární buňky, NK buňky, $\gamma\delta$ T-lymfocyty a CD 5+ B-lymfocyty. Imunitní systém plodu však není zralý dokonce ani při porodu a formuje se až v novorozeneckém věku postupnou expozicí vnějším patogenům. V imunitní odpovědi hrají důležitou roli také genetické faktory. Bylo prokázáno, že existují jedinci citliví (kmen C4D) a rezistentní (kmen Alb) na kožní infekce *T. pallidum*. Avšak novorozenci infikovaní kmenem C4D (ve věku 1 – 3 dny) jsou dočasně rezistentní (2 – 3 měsíce) k intradermálním infekcím, ale jsou vysoce citliví v dospělosti. Opak se vyskytuje u kmene Alb. Tyto kmeny vyvolávají při infekci *in utero* časnou infekci a tvorbu protilátek IgM antitreponemálních a IgM revmatoidního faktoru. Opožděný je ale přechod na protilátky IgG. Ve vzorcích sér kongenitálně infikovaných novorozenců byly zjištěny vysoké hladiny cirkulujících imunitních komplexů obsahujících kreatinkinázu, fibronektin a IgG. U infikovaného plodu může dojít k selhání rovnováhy mezi reakcemi naivních a zralých CD 45+ T-lymfocytů. V důsledku toho dochází k autoimunitní odpovědi a nevratnému poškození tkání. (Wicher V., K., 2001)

5.2.5. Koinfekce syfilis a HIV

Prevalence syfilis každoročně celosvětově roste, přičemž u HIV pozitivní populace se tato infekce vyskytuje až v 10%. Koinfekce má negativní účinek především na průběh infekce HIV, kdy syfilis může být příčinou zvýšené virové nálože u neléčených pacientů a také snížení počtu CD 4+ buněk. Až u třetiny infikovaných se více vyskytuje neurosyfilis, která je navíc ve většině případů bezpříznaková. Dalším rizikem je zvýšená možnost přenosu HIV, a proto tato koinfekce vyžaduje větší pozornost v oblasti veřejného zdraví. (Lang R, Read R., 2018)

5.2.6. Laboratorní diagnostika

Diagnostika kongenitální syfilis u plodu a novorozence je velice náročná díky přenosu IgG mateřských protilátek skrze placentu, což komplikuje interpretaci sérologických testů. Přesto se jedná o nejpoužívanější formu testování především díky finanční dostupnosti. Prenatální diagnostiku také ztěžuje nemožnost kultivace *T. pallidum*. Pokud je podezření na infekci před porodem nebo během něj, mělo by být provedeno histologické vyšetření placenty nebo pupeční šňůry. Definitivní diagnózu je možno stanovit imunofluorescencí, pozorováním

bakterie v zástinovém mikroskopu, PCR nebo histopatologií. CDC doporučuje testování při prvním vyšetření u všech těhotných žen, ve druhém trimestru a častěji také u žen, které žijí v oblastech s vyšším výskytem syfilis. (Hena-Martinez, Johnson, 2014)

Sérologické nepřímé testování lze rozdělit do dvou kategorií, treponemové a netreponemové. Mezi netreponemové testy patří VDRL (Veneral disease research laboratory) mikroskopický test a RRR (rychlá reaginová reakce). Tyto testy detekují nespecifické protilátky (reaginy) proti lipoidním antigenům. Lipoidní antigeny (kardiolipiny) jsou obsaženy v membráně *T. pallidum*, ze které jsou uvolňovány. Při těchto testech jsou měřeny titry IgG a IgM produkovaných hostitelem v reakci na kardiolipin uvolněný z poškozených buněk. Lipoidní antigeny jsou obsaženy i v mitochondriích a jiných bakteriích, proto jsou časté zkřížené reakce při infekční endokarditidě, s rickettsiemi či mykobakteriemi. Falešně pozitivní výsledky u plodu mohou nastat také během těhotenství právě v důsledku přechodu IgG protilátek skrze placentu, tudíž je tento imunoglobulin pro diagnostiku nevýznamný. Imunoglobulin M však není schopen transplacentárního přenosu, a pokud je u novorozence titer těchto protilátek čtyřnásobně vyšší než u matky, je u něj indikována kongenitální syfilis. VDRL se používá pro testování mozkomíšního moku, RRR zase pro stanovení infekce v séru. Senzitivita a specifita netreponemových testů není dostatečná, proto je nutné provést konfirmační testy. (Phiske, 2014; Hena-Martinez, Johnson, 2014)

Screeningové treponemové testy jsou založeny na detekci protilátek *T. pallidum*. Jako základní diagnostické soupravy jsou používány hemaglutinační (TPHA) nebo mikrohemaglutinační testy (MHA-TP) a ELISA. Principem TPHA je aglutinace ovčích nebo kuřecích erytrocytů senzibilizovaných *T. pallidum ssp. pallidum Nichols* s protilátkami séra. TPHA v primární fázi syfilis vykazuje nižší senzitivitu, naopak v sekundární téměř 100%. Jako konfirmační test je používán treponemový imunofluorescenční test po absorpci specifických protilátek (FTA-ABS) IgG a IgM. K séru je při tomto testu nejprve přidán absorbent obsahující nepatogenní kmen *T. phagedensis Reiter*. Cílem absorbentu je vysycení anti-treponemových protilátek, které nejsou specifické pro bakterie syfilis. Na sklíčko se poté přidá vyšetřovaný vzorek, a pokud je pacient pozitivní, jeho protilátky se naváží na *T. pallidum*. Následně jsou přidány sekundární anti-lidské protilátky značené fluorochromem, které se na vzniklý imunokomplex naváží. Emitované záření je pozorováno fluorescenčním mikroskopem. Přítomnost IgM potvrzuje nedávnou nebo právě probíhající infekci, naopak IgG přetrvávají v těle dlouhodobě, tudíž i po vyléčení bývají testy pozitivní. Dalším potvrzovacím testem je Nelson-Mayerův *T. pallidum* imobilizační test (TPI), který je založen na ztrátě pohyblivosti spirochet při kontaktu s protilátkami (imobiliziny) nemocného.

Tento test je sice velmi přesný a spolehlivý, avšak velmi náročný na vybavení, proto se téměř nevyužívá. (Rowe, Newberry, Jnah, 2018)

Treponemové testy v krvi plodu detekují hladiny IgG i IgM. K odbourání mateřských IgG u novorozence dochází až po 4. měsících života, proto je třeba testy po této době opakovat. Diagnóza kongenitální syfilis je u treponemových testů potvrzena v případě, že protilátky u novorozence přetrvávají i ve věku 12. – 18. měsíců. V diagnóze kongenitální syfilis hraje důležitou roli průkaz IgM a to metodou FTA-ABS nebo 19 S FTA-ABS. Pokud jsou tyto testy pozitivní a hladiny ceruloplazminu a haptoglobinu ve fyziologických hodnotách jak u novorozence (známka tvorby IgM), tak i matky, je diagnóza kongenitální syfilis potvrzena. (Velemínský, 2005)

Přímá diagnostika pomocí amplifikace nukleové kyseliny (PCR) je velice citlivá a téměř 100% specifická. Při tomto typu testování je vyloučena interference s ostatními bakteriemi (především v mozkomíšním moku) a zkřížená reakce mateřských a novorozeneckých protilátek. Pro průkaz metodou PCR lze použít jakýkoliv laboratorní materiál, amniovou tekutinu, plnou krev, trofoblastické klky atd. (Zákoucká, 2007)

5.2.7. Terapie u novorozenců a kojenců

Jako jediná účinná prevence proti vertikálnímu přenosu a léčbě kongenitální syfilis je penicilin. Novorozenec by měl začít léčbu ihned, jakmile je titer jeho protilátek u netreponemového testu čtyřikrát vyšší než u matky, vykazuje fyzické abnormality typické pro syfilis nebo má pozitivní průkaz *T. pallidum* při mikroskopii v zástině. V těchto případech novorozenec dostává vodný roztok penicilinu G v dávce 50 000 U/kg³ intravenózně každých 12 hodin. Tyto dávky jsou podávány v prvním týdnu věku, poté jsou podávány každých 8 hodin další týden. Jestliže je penicilin G podáván intramuskulárně, postačí stejná dávka pouze jednou denně po dobu 10 dnů. Pokud je vynechán i jediný den v celém cyklu, terapie musí být opakována. Kojencům narozeným bez klinických příznaků a se standardními titry protilátek, jejichž matky byly nedostatečně léčeny nebo neléčeny, by měla být indikována jednorázová dávka benzathin-penicilinu G (50 000 U/kg) intramuskulárně. (Cooper, Sánchez, 2018)

³ U/kg = jednotky (anglicky *unit*)/kg

6 PARAZITÁRNÍ KONGENITÁLNÍ INFEKCE

Parazitární infekce jsou přenášeny pouze *in utero* nebo v době porodu, přenos v průběhu kojení není znám. Parazité, o kterých je známo, že způsobují kongenitální infekce, jsou především prvoci (*Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma kruzi*, *Plasmodium spp.* nebo *Leishmania spp.*). Vertikální kongenitální přenos helmintů probíhá velmi zřídka. (Carlier a kol., 2012)

6.1. Kongenitální toxoplazmóza

Toxoplazmóza je parazitární infekce způsobená oportunním intracelulárním prvokem *Toxoplasma gondii*. Patří do podkmenu *Apicomplexa* (výtrusovci), podtřídy *Coccidia*, známé pod českým názvem kokcidie. *T. gondii* má širokou škálu meziphostitelů, přirozeně infikuje většinu teplokrevných zvířat včetně ptáků, hlodavců a lidí. Definitivním hostitelem *T. gondii*, u kterého dochází k množení a sexuálnímu vývoji parazita, jsou kočkovité šelmy. U většiny imunokompetentních lidí tento parazit přetrvává v latentním asymptomatickém stádiu. Nebezpečný je především jako akutní infekce v těhotenství, pro novorozence a imunodeficitní pacienty. (Kota, Shabbir, 2019)

6.1.1. Vývojová stádia a životní cyklus

Toxoplasma má tři stádia vývoje, a to tachyzoit, bradyzoit a oocysta.

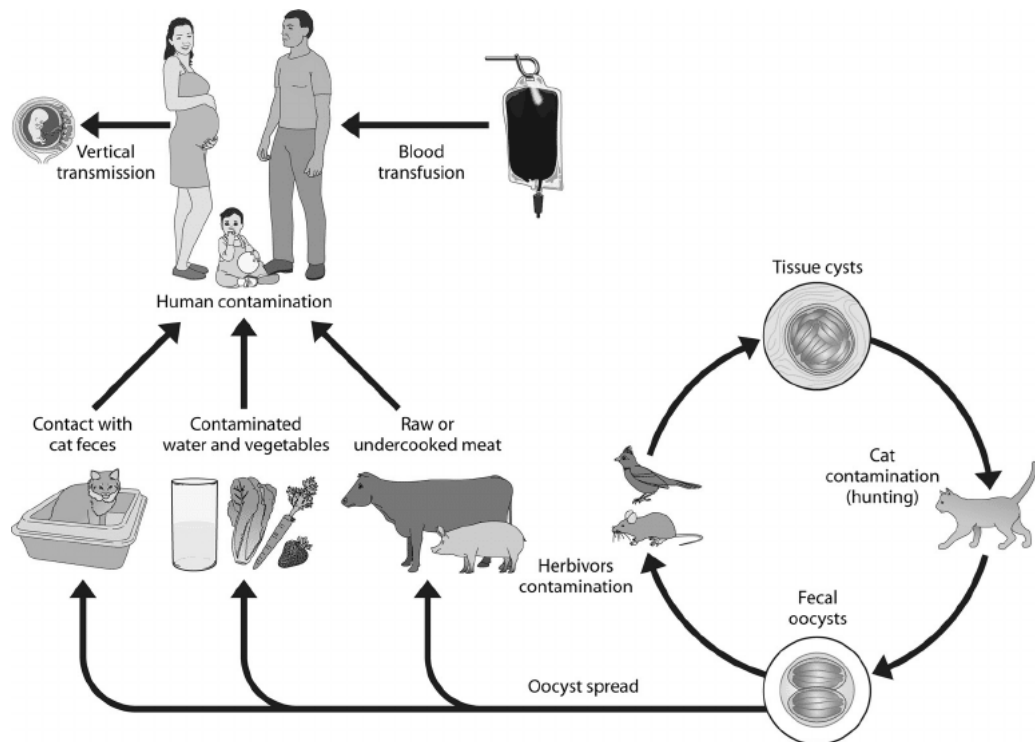
Tachyzoiti jsou asexuální formou *T. gondii*, mají tvar půlměsíce a jsou 5 μm dlouhé a 2 μm široké. Během akutní infekce cirkulují v organismu a jsou schopny napadnout jakoukoli hostitelskou buňku. Uvnitř parazitoformní vakuoly⁴ se rychle replikují (generační doba 6 – 8 hodin). Po nahromadění 64 až 128 parazitů opouštějí (lyzují) buňku mechanismem závislým na vápenatých iontech a infikují buňky sousední. (Lueder, Rahman, 2017) *T. gondii* je schopna proniknout do hostitelské buňky díky apikálnímu komplexu, který obsahuje protein RNG2 umožňující penetraci skrze buněčné membrány. (Blader a kol., 2015)

Bradyzoiti jsou klidová stádia diferencovaná z tachyzoitů, která po průniku do hostitelské buňky tvoří tzv. tkáňovou cystu. Cysty dosahují velikosti až 100 μm , tvoří se 7 až 10 dní po infekci a nejčastěji se vyskytují v kosterní svalovině a CNS (mozek, mícha). Jedna cysta může obsahovat až několik stovek bradyzoitů, kteří se téměř nereplikují a metabolicky jsou spíše neaktivní. Tato fáze je definována jako chronická a asexuální část

⁴ částice v hostitelské buňce obsahující parazita

životního cyklu. Bradyzoit se může u imunokompromitovaných lidí změnit zpět na tachyzoita, což je hlavní příčinou mortality tohoto onemocnění. (Lueder, Rahman, 2017)

Oocysty jsou posledním stádiem a jsou vylučovány ve výkalech definitivního hostitele. Oocysta obsahuje dvě sporocysty, z nichž každá nese čtyři sporozoity. Sporozoiti jsou infekční a v tenkém střevě infikují epitelové buňky. Jsou pohybliví (spolu s tachyzoity) „klouzáním“ díky aktino-myozinovému komplexu. Následně se sporozoiti vyvinou na tachyzoity a celý cyklus se opakuje. (Blader a kol., 2015)



Obrázek 7: Životní cyklus *T. gondii* (Esch, Petersen, 2013)

6.1.2. Možnosti přenosu

T. gondii je primárně získávána alimentárně pozřením kontaminované vody či nedostatečně tepelně upraveného masa. Infekci je možno získat ze dvou infekčních forem a to pozřením zralé oocysty vyloučené kočkovitou šelmou nebo tkáňové cysty z masité potraviny. V České republice se takto nakazí až třetina obyvatel. Přenos je možný také skrze krevní transfuzi nebo orgánovou transplantaci. (Djurkovi Djakovi, 2012)

Mechanismus transplacentárního přenosu *T. gondii* není zcela pochopen. Nejvíce pravděpodobný je přenos parazita přímo z krve matky přes syncytiotrofoblast. Parazit nejprve prostoupí skrze bariéru trofoblastů, kdy vstoupí do vrstvy mezenchymového vaziva obklopující fetální cévy, a následně i do krevního oběhu plodu. Infekce matky může být spojena i se zánětem placenty, infiltrací neutrofilů a lymfocytů vyvolávající apoptózu

placentárních buněk a následně i rupturu trofoblastické bariéry. Důležitou roli ve vertikálním přenosu hraje také sérotyp *T. gondii*. V Evropě jsou při kongenitálních infekcích zastoupeny především rekombinanty typu I a II. (Carlier a kol., 2012)

6.1.3. Manifestace vrozené toxoplazmózy

Vrozená toxoplazmóza má široké spektrum projevů. Závažnost klinických projevů plodu závisí na gestačním věku matky, ve kterém infekce vznikla, virulenci kmene a imunitním stavu matky. Pro infekci jsou nejméně rizikové časně fáze gravidity, avšak následky u novorozenců jsou nejzávažnější. V mnoha případech dochází ke spontánnímu potratu, předčasnému porodu či porodu mrtvého dítěte. Pokud gravidní žena onemocní v 2. – 3. trimestru, novorozenci zpravidla trpí poruchami CNS. Toxoplazmóza se u řady dětí nemusí projevit nebo se vyskytuje pouze mírnější lymfadenopatie či hepatosplenomegálie. Typickými příznaky vrozené toxoplazmózy je Sabinova tetráda, tedy hydrocefalus, křeče, mozková kalcifikace a chorioretinitida⁵. Chorioretinitida je nejčastějším symptomem vrozeného onemocnění. Může se objevit až v druhé nebo třetí dekádě života, kdy dochází k ruptuře cysty a uvolnění tachyzoitů. Tyto subklinické případy jsou ohroženy pozdějšími následky, jako jsou poruchy učení, ztráta sluchu nebo abnormality v endokrinním řízení organismu v důsledku poškození hypofýzy a hypotalamu. Mozkomíšní mok postiženého dítěte vykazuje zvýšenou koncentraci proteinů (> 1 g/dl) vedoucí k obstrukci Sylviova kanálku a následně k hydrocefalu. U dětí s poruchami mozku se často rozvíjí i strabismus. (Khan W., K., 2018)

6.1.4. Diagnostika onemocnění

K detekci toxoplazmózy existuje několik metod, které jsou rozdělovány jako přímé a nepřímé. Mezi přímé testování je řazena detekce pomocí PCR, buněčná kultivace nebo průkaz obarveného preparátu. Do nepřímé diagnostiky spadá detekce protilátek pomocí ELISA či Sabinova-Feldmanova barevná reakce. Přímé diagnostiky se v případě kongenitální toxoplazmózy využívá častěji. (Khan K., W., 2018)

Kultivace *T. gondii* je možná na fetálních buněčných kulturách, jako jsou placenta, játra či slezina. Možná je také inokulace parazita laboratorním myším a jeho následný průkaz. Testované tkáně jsou uchovávány ve fyziologickém roztoku při 4 °C. Tyto metody nejsou

⁵ zánět sítnice a cévnatky oka

vhodné do laboratoří běžného provozu a zabývají se jimi pouze laboratoře specializované. (Beneš, 2009)

Nejspolehlivější metoda k určení vrozeného onemocnění, která se používá také ke confirmaci sérologických testů, je PCR. Detekci parazitární DNA je možno provést ze vzorků amniové tekutiny, krve, mozkomíšního moku nebo tkáně získané biopsií. Jedná se o nejcitlivější metodu, která je však časově náročná. Rychlejší výsledky poskytuje RT-PCR, která je zároveň schopna kvantifikace, a tudíž je vhodná i pro rutinní screening v klinických laboratořích. Metoda PCR je také používána pro detekci onemocnění u imunodeficitních jedinců, kteří nejsou schopni produkovat specifické imunoglobuliny potřebné pro sérologické testování. (Kota, Shabbir, 2019; Beneš, 2009)

Sérologické testování specifických protilátek IgG, IgM a IgA je často používanou metodou především ve snaze zjistit, zda těhotná žena získala akutní infekci během těhotenství. Pokud je titr IgG v matčině séru nízký a IgM negativní v prvních 24 týdnech těhotenství, nejedná se o infekci akutní, ale přenesenou již před početím. Pozitivní výsledek IgM značí nedávnou infekci, infekci vyvinutou v dávné minulosti nebo falešně pozitivní výsledek. Po primární expozici antigenů *T. gondii* je avidita specifických IgG nízká, v následujících týdnech a měsících však roste. Pokud je tedy avidita IgG těhotné v prvním trimestru vysoká, infekce proběhla alespoň 3 – 5 měsíců před početím. Pro rozlišení nedávno získané a chronické infekce se používá např. VIDAS test IgG avidity společně s testem VIDAS IgG/IgM. Tento typ testování je vysoce citlivý především pro detekci protilátek typu IgM. Imunoglobulin M nemusí nutně znamenat nedávnou infekci, protože se vyskytly i výsledky falešně pozitivní. (Khan K., W., 2018) V případě sérologického testování protilátek u novorozence jsou testovány především protilátky IgM a IgA. Poločas rozpadu IgM je 5 dní, IgA 10 dní. Pokud tedy došlo během porodu ke kontaminaci fetální krve krví mateřskou, mělo by se vyšetření po 10 dnech opakovat. Během postnatálního období nemá detekce specifických IgG významnou roli v důsledku jejich pasivního přenosu skrze placentu. Pokud titr IgG přetrvává nebo stoupá ve věku více jak jednoho roku novorozence, je infekce potvrzena. (Kota, Shabbir, 2019)

K vyšetření specifických protilátek je využívána řada dalších metod. Sabinova-Feldmanova barevná reakce je v oblasti diagnostiky vrozené toxoplazmózy zlatým standardem. Jedná se o velmi citlivý test, k jehož provedení jsou vyžadovány živé virulentní kmeny *T. gondii*. Proto je tento confirmační test prováděn pouze v referenčních laboratořích. Principem je aktivace komplementového systému po přidání tachyzoitů k séru se specifickými protilátkami. Sérum je barveno methylenovou modří, ale v důsledku aktivace

komplementu je prvok lyzován a nezbarvuje se. V případě neinfikovaného séra inokulování tachyzoiti zduří a po přidání barviva se zbarví modře. Ředění séra, při kterém je polovina organismů usmrcena (nezbarvená) a druhá polovina není usmrcena (modře zbarvená), odpovídá titru protilátek. Limitací je finanční, pracovní, ale i časová náročnost. Živí tachyzoiti se inkubují v peritoneální dutině myši a při manipulaci s virulentními kmeny může dojít k nákaze pracovníků. Navíc test nedokáže odlišit právě probíhající infekci od již proběhlé. (Tankeshwar, 2019)

Vysokou citlivost při vyšetření protilátek poskytuje imunosorbentní aglutinační test IgM. Test dosahuje citlivosti až 82% a je vhodný pro detekci IgM protilátek u novorozenců mladších šesti měsíců. Jako další metody se používají ELISA, komplement fixační reakce či nepřímý fluorescenční test. Poslední ze jmenovaných je jednodušším a také velmi rozšířeným testem. (Pomares a kol., 2016)

6.1.5. Profylaktická léčba matky a terapie vrozené toxoplazmózy

Od objevu *T. gondii* vzniklo mnoho názorů na profylaktickou léčbu infekce, avšak nejvíce jsou standardizovány dva z nich. Prvním z nich je léčba pomocí spiramycinu, který zabraňuje prostupu parazita skrze placentu na neinfikovaný plod. Toto makrolidové antibiotikum je koncentrováno v placentě a tedy nepřestupuje až ke zdravému plodu. Druhou možností léčby je terapie perimethaminem se sulfadiazinem. Této kombinace se využívá v případech, kdy je už infekce plodu možná nebo i jistá. Pozitivita infekce by měla být potvrzena amniocentézou, nebo je možné terapii indikovat v případě, že je matka infikována ve třetím trimestru a hrozí vážné poškození plodu. Velkou nevýhodou perimethaminu jsou jeho teratogenní účinky, a proto je doporučováno s léčbou začít až od 17. týdne těhotenství. Perimethamin je navíc antagonistou kyseliny listové, tudíž je nutno k léčbě podávat i přípravky obsahující tuto složku, která tak zabraňuje negativnímu působení léku na kostní dřeň. V České republice je nejběžnější terapií akutní infekce střídání netoxického spiramycinu s třítydenní léčbou perimethaminu a sulfadiazinu. Tento cyklus by měl být opakován až do porodu. (Khan K., W., 2018)

U novorozence s potvrzenou vrozenou toxoplazmózou je nejčastěji používaný léčebný režim v trvání jednoho roku. V prvních 6 měsících je podáván perimethamin v kombinaci se sulfadiazinem, následných 6 měsíců je střídán měsíční cyklus perimethaminu a spiramycinu. Delší trvání léčby (2 roky) je doporučeno novorozencům s vážnějšími následky. Oba léky působí na aktivně se dělící parazity, tedy bradyzoity a tachyzoity. (Kota, Shabbir, 2019)

7 KAZUISTIKY

7.1. Vrozená rubeola

V tomto případě se jedná o šestadvaceti letou ženu vietnamského původu, která v sedmém týdnu gravidity přicestovala z Vietnamu do České republiky. Po měsíci od příletu poprvé navštívila svého gynekologického lékaře. Následovaly kontroly po čtyřech týdnech. Do 19. týdne byla všechna vyšetření v normálu. V tomto týdnu ultrazvukové vyšetření odhalilo vývojové patologie mozku a o týden později byla u plodu diagnostikována růstová retardace. Následně bylo matce navrženo genetické testování pro případné chromozomové mutace. Matka toto vyšetření ale odmítla. Ve 24. týdnu další ultrasonografie plodu odhalila abnormality v růstu kostí. Echokardiografické vyšetření navíc prokázalo srdeční vady, konkrétně subaortální komorový defekt. Sérologické testování na protilátky proti kongenitálním (STORCH) infekcím potvrdilo pozitivní titr IgG i IgM proti rubeole. Zhruba ve 30. týdnu těhotenství byl proveden poslední ultrazvuk. Byla potvrzena katarakta, ostatní funkce zůstaly beze změny. Matka však odmítala umělé ukončení těhotenství. Ve 39. týdnu proběhl porod bez komplikací, novorozenec měl ale nízkou porodní váhu a abnormality neslučitelnými se životem. Po sedmi minutách po porodu novorozenec zemřel. Následně provedená pitva odhalila rozsáhlé kalcifikace mozku, ložisko krvácení do mozku, poškození zraku (katarakta, retinopatie), polydaktylii a růstovou retardaci. Vyšetření IgM a IgG protilátek proti rubeole bylo pozitivní jak u dítěte, tak i u matky. IgG protilátky vykazovaly sníženou aviditu. Při šetření bylo zjištěno, že se žena infikovala ve Vietnamu, kde byla také vyšetřena. V ČR pak svému lékaři nahlásila, že se jednalo o lehkou virózu. (Marešová, 2012)

7.2. Vrozená CMV infekce

Dvaceti sedmi letá žena bez viditelných známek onemocnění, byla během druhého těhotenství infikována CMV, i přestože anti-CMV protilátky získala během infekce v prvním těhotenství. V předchozím těhotenství byly IgG protilátky pozitivní, pozitivní IgG i IgM měla také v průběhu druhé gravidity, navíc se zvýšenou aviditou v 9. týdnu. Těhotenství následně pokračovalo bez potíží a dítě bylo spontánně porozeno ve 40. týdnu. Novorozenci byl po narození proveden test PCR, který přítomnost vrozené CMV potvrdil. 5 dní po porodu byl uskutečněn sluchový test reakcí na evokované potenciály, kdy byla zjištěna jednostranná ztráta sluchu. Matce byly odebrány vzorky k určení genotypu v 8. a 37. týdnu po porodu, dítěti ve 4. a 37. týdnu. V moči matky byly detekovány protilátky anti-gH(TO) při každém

odběru, zatímco u dítěte byly identifikovány nejprve oba typy protilátek, tedy anti-gH(TO) i anti-gH(AD), při testu v 37. týdnu pouze anti-gH(AD). Vyšetření bylo provedeno dvakrát metodami ELISA a qPCR. Tyto výsledky ukazují, že matka byla v prvním těhotenství infikována typem gH(TO), zatímco v druhém typem gH(AD). Protilátky IgG anti-gH(TO) detekované u novorozence ve 4. týdnu věku byly přeneseny od matky transplacentárně. (Koshizuka a kol., 2018)

Tento případ tedy poukazuje na reinfekci CMV s odlišným epitopem. V krvi matky ale nebyly detekovány protilátky kmenu gH(AD). Tento jev, zvaný také jako Hoskinův efekt, popisuje sklon imunitního systému využívat přednostně paměťové buňky z předchozí infekce před buňkami naivními. Zde se jednalo o mírně odlišné druhy CMV, kdy se matce tvořily pouze protilátky proti epitopům gH(TO). Jelikož má infekce CMV asymptomatický průběh, je těžké ji detekovat tím spíše u právě popsaného jevu. (Koshizuka a kol., 2018)

7.3. Pozdní forma infekce způsobená GBS

Postižený novorozenec se narodil v 39. týdnu těhotenství vaginálním porodem a s váhou 2,6 kg. 35 letá gravidní žena byla prvorodičkou. Mikrobiologický rozbor provedený v 35. týdnu těhotenství nevykazoval žádnou kolonizaci GBS. Těhotenství proběhlo bez komplikací, nebyly pozorovány žádné abnormality placenty či pupečnickové šňůry. 4 dny po narození byla novorozenci provedena fototerapie kvůli novorozeneckému ikteru. Po dvou dnech byl novorozenec propuštěn. Od 13. dne přestalo dítě prospívat a bylo bledé, proto se lékaři rozhodli novorozence hospitalizovat. Klinické vyšetření odhalilo mírnou horečku, nepravidelné dýchání až apnoe s periferní cyanózou (saturace kyslíkem byla < 90%). Počet leukocytů, trombocytů a koncentrace glukózy byly v normě, pouze hladina CRP byla mírně zvýšená. Vyšetření mozkomíšního moku prokázalo zvýšení počtu buněk. Novorozenec však neměl žádné patologické hodnoty sérových imunoglobulinů. GBS byl kultivován z krve a moči, proto byla dítěti nasazena antibiotika, konkrétně ampicilin a ceftriaxon společně s kyslíkovou terapií. Poté se stav novorozence výrazně zlepšil. Během terapie byla u dítěte pozorována světle zbarvená stolice a následně diagnostikována intrahepatální vrozená atrezie⁶. Ve 23. dnu věku podstoupil novorozenec chirurgický zákrok a po léčbě steroidy se u něj infekce znovu nepotvrdila. (Takei a kol., 2013)

Matce navíc byly odebrány vzorky (mateřské mléko, vaginální a anální výtěr) kvůli upřesnění cesty přenosu a druhu streptokoka. Metodou real-time PCR s amplifikací genu *dlfS*

⁶ nevyvinutí či zúžení žlučových cest

byla bakterie detekována ve vaginálním vzorku. Výsledek byl potvrzen i kultivací. U matky i novorozence byl identifikován shodný sérotyp VIII. Tento případ poukazuje na problém při detekci GBS během těhotenství a porodu. Kolonizace GBS během těhotenství je odlišná od té při porodu a to především kvůli proměnlivému pH genitálu matky. Problémem je také nízká citlivost kultivačních testů. (Takei a kol., 2013)

7.4. Kongenitální syfilis

V tomto případě se jedná o novorozence ve věku dvou týdnů narozeného třicetileté matce. Dítě mělo již při porodu viditelné deskvamace kůže na ruce i nohou. Matka během těhotenství nepodstoupila žádné vyšetření na pohlavní choroby, tedy ani test VDRL či RRR. Oba rodiče měli více sexuálních partnerů, byli však bez příznaků a zjevně zdraví. Dítě se narodilo spontánním porodem s fyziologickou porodní váhou. V následujících dnech začalo odmítat stravu, a tudíž neprospívalo, bylo bledé a podrážděné. Při vyšetření nebyla prokázána žádná lymfadenopatie, oftalmologické či jiné abnormality. Diferenciální počet krevních elementů byl na spodní hranici referenčních hodnot, ale Coombsův test vyšel negativně, stejně tak i jaterní testy. Sérologické testy na HPV, toxoplazmózu, virus Epstein – Barrové, CMV a virus rubeoly byly také negativní. Novorozenec měl pozitivní test VDRL s titrem 1:256 i pozitivní test hemaglutinace TPHA. Matce byl taktéž proveden VDRL test společně s TPHA, oba vyšly pozitivně s titrem 1:16. V důsledku těchto vyšetření byla diagnostikována vrozená syfilis. Vyšetření mozkomíšního moku a moče neprokázala přítomnost spirochet. Sluchové testy a rentgenové vyšetření kostí bylo v normálu. Novorozenci byl podáván vodný roztok penicilinu G intravenózně v dávce 50 000 U/kg každých 8 hodin po dobu 10 dnů. Již po 14 dnech vymizel kožní exantém a v měsíci věku také stoupl počet erytrocytů, trombocytů i množství hemoglobinu. Po třech měsících byl titer VDRL 1:2, po dalších třech měsících již negativní. Rodiče byli ošetřeni prokainovým penicilinem intramuskulárně v jednorázové dávce 2 400 000 jednotek. (Leung a kol., 2018)

Novorozenci byla diagnostikována časná syfilis na základě titru VDRL, který byl čtyřnásobně vyšší než titer protilátek matky. Diagnózu také potvrdil pozitivní TPHA test, deskvamace kůže, mírná anémie a trombocytopenie. Kongenitální syfilis v současné době není problémem pouze v rozvojových zemích. Ve vyspělých zemích se v posledních letech objevuje čím dál více případů, a proto by se na toto infekční onemocnění měl brát větší zřetel. (Leung a kol., 2018)

7.5. Kongenitální toxoplazmóza

V této kauze 25letá těhotná žena byla v 15. týdnu hospitalizována s bolestmi hlavy, horečnatými stavy, zvětšenými lymfatickými uzlinami a dalšími příznaky nachlazení. Těhotné byl indikován cefixim (cefalosporinové antibiotikum) s co-amoxiclavem (penicilinové antibiotikum) pro léčbu bakteriální infekce dýchacích cest. Při druhém příjmu, tentokrát na ORL ambulanci, byly vyžádány sérologické testy na *T. gondii* metodou Monobind ELISA. Testy na IgG i IgM byly silně pozitivní. Hladina IgM vykazovala hodnoty 44 IU/ml⁷ (referenční rozmezí = < 10 IU/ml), IgG 98 UI/ml (referenční rozmezí = < 8 UI/ml). Vzorky zasláné do referenční laboratoře potvrdily pozitivitu sérologických výsledků. Byly provedeny i testy na CRP a další biochemické testy, které však byly negativní. Krevní obraz nevykazoval žádné abnormality, pouze sedimentační rychlost erytrocytů byla vyšší. Aspirace lymfatické submandibulární uzliny odhalila lymfadenopatii, ale barevná Sabinova-Feldmanova reakce přítomnost parazita nepotvrdila. Plod byl v 17. týdnu vyšetřen pomocí ultrasonografie, která nezaznamenala žádné abnormality. Také byla provedena amniocentéza s odběrem 10 ml plodové vody. Vzorek byl vyšetřen pomocí PCR a následně potvrzena pozitivita infekce. Pacientce byla nasazena léčba spiramycinem v dávce 1 g orálně každých 8 hodin následovaná perimethaminem orálně (50 mg/den) a sulfadiazinem perorálně (3 g/den ve 2-3 dávkách). Gravidní žena netolerovala léčbu perimethaminem, tudíž musela být tato terapie ukončena. Ve 24. týdnu byla provedena druhá ultrasonografie, která prokázala mírné fetální abnormality včetně hydrocefalu v počáteční fázi a snížený objem plodové vody. Pacientce bylo navrženo ukončení těhotenství. Ukončeno bylo po 178 dnech gravidity. Plodová voda byla zkalena mekoniem a orgány plodu vykazovaly těžkou autolýzu. (Sarkari, Khabisi, 2015)

Jak ukazuje tento případ, prenatální diagnostika vrozené toxoplazmózy se spoléhá především na detekci DNA *T.gondii*. Detekce pomocí PCR má vysokou citlivost a specifitu dosahující téměř 100%. Negativní výsledek však infekci nevylučuje, pozitivní naopak infekci potvrzuje. V tomto případě PCR navíc ukázala, že se jedná o genotyp typu I, který je mnohem virulentnější a rizika transplacentárního přenosu jsou vyšší než u ostatních genotypů. Toto zjištění vyvrací teorii, že jediným genotypem *T. gondii* vyskytujícím se u těhotných žen, je typ II. Typ II je i přesto nejrozšířenějším genotypem v Evropě. Studie navíc poukazuje na nedostatečné množství účinných léků pro léčbu toxoplazmózy během gravidity. (Sarkari, Khabisi, 2015)

⁷ UI/ml = mezinárodní jednotka (anglicky *International Unit*)/ml – vyjadřuje množství účinné složky v daném objemu

8 ZÁVĚR

Bakalářská práce obsahuje základní popis onemocnění a nejčastějších postupů v laboratorní diagnostice. Mnoho vrozených onemocnění se již vyskytuje zřídka především díky pokrokům v medicíně, avšak počet případů některých infekcí v posledních letech stoupá a to často v důsledku nedostatečné prevence a osvěty. Maternální infekce jsou v případě latentního průběhu přehlíženy (HIV, syfilis), a proto jsou pro plod velmi nebezpečné až fatální.

Hlavní problematikou v této práci byla diagnostika vrozených infekcí. Nejmodernější laboratorní metody mají vysokou citlivost i specifitu při detekcích daných infekcí, avšak stále existují rizika spojená s falešnou negativitou výsledků. Možná je také interference některých látek vyvolávající naopak výsledky falešně pozitivní. To platí především pro metody sérologické, které patří nejen v České republice k těm nejpoužívanějším. K nejdůvěryhodnější metodě, která se v posledních letech čím dál více používá a je vhodná pro confirmaci výsledků, je PCR. Nevýhodou je ale její finanční náročnost a nutnost proškolení pracovníků.

Závěrem bych chtěla poukázat na vážnost těchto onemocnění, která jsou mnohdy samotnými matkami podceňována. Konkrétním případem je i poslední zmíněná kauza vrozené toxoplazmozy.

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ABDOLLAHI A., H. SAFFAR. The Diagnosis of HIV Infection in Infants and Children. *Iran J Pathol*. 2016. **11**(2), 89–96.
2. AHMAD, Nafees. Molecular mechanisms of HIV-1 mother-to-child transmission and infection in neonatal target cells. *Life Sciences*. 2011, **88**(21-22), 980-986.
3. BENEŠ, Jiří. *Infekční lékařství*. Praha: Galén, c2009. 651 s. ISBN 978-80-7262-644-1.
4. BLADER, Ira J., Bradley I. COLEMAN, Chun-Ti CHEN a Marc-Jan GUBBELS. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*: 15 Years Later. *Annual Review of Microbiology*. 2015, **69**(1), 463-485.
5. BOUTHRY, Elise, Olivier PICONE, Ghada HAMDI, Liliane GRANGEOT-KEROS, Jean-Marc AYOUBI a Christelle VAULOUP-FELLOUS. Rubella and pregnancy: diagnosis, management and outcomes. *Prenatal Diagnosis*. 2014, **34**(13), 1246-1253.
6. CARLIER, Yves, Carine TRUYENS, Philippe DELORON a François PEYRON. Congenital parasitic infections: A review. *Acta Tropica*. 2012, **121**(2), 55-70.
7. CHERPES, THOMAS L., DEAN B. MATTHEWS a SAMANTHA A. MARYAK. Neonatal Herpes Simplex Virus Infection. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2012, **55**(4), 938-944.
8. CHOUGNET, Claire A. Human fetal immune cells fight back. *Science Translational Medicine*. 2018, **10**(438), 1-3
9. CHU, Helen Y., Janet A. ENGLUND. Maternal immunization. *Birth Defects Research*. 2017, **109**(5), 379-386.
10. CLARK, Daniel N, Brian D POOLE, Daniel V HAMMOND, Tyler J HEDMAN, Danny S CATTS, Amanda STEWART a F Brent JOHNSON. Characterization of herpes simplex virus clinical isolate Y3369 as a glycoprotein G variant and its bearing on virus typing. *Virology Journal* [online]. 2011, **8**(1) [cit. 2020-02-07]. Dostupné z: <http://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-8-290>
11. COOPER, Joshua M. a Pablo J. SÁNCHEZ. Congenital syphilis. *Seminars in Perinatology*. 2018, **42**(3), 176-184.
12. DEEKS, Steven G., Julie OVERBAUGH, Andrew PHILLIPS a Susan BUCHBINDER. HIV infection. *Nature Reviews Disease Primers*. [online]. 2015, **1**(1), 15035. [cit. 2020-04-02]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.35>

13. DJURKOVI DJAKOVI, Olgica, ed. *Toxoplasmosis - Recent Advances*. InTech, 2012. ISBN 978-953-51-0746-0.
14. ESCH, Kevin J. a Christine A. PETERSEN. Transmission and Epidemiology of Zoonotic Protozoal Diseases of Companion Animals. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2013, **26**(1), 58-85. [cit. 2020-04-29]. Dostupné z: <http://cmr.asm.org/lookup/doi/10.1128/CMR.00067-12>
15. FERNANDES ND, BADRI T. Congenital Herpes Simplex. *StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)*; [online] 2019. [cit. 2020-02-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507897/>
16. GATALI, Marene a Chris ARCHIBALD. Women and HIV. *BMC Women's Health*. 2004, **4**(Suppl 1), S27
17. GOLDSMITH, Cynthia S. a Sara E. MILLER. Modern Uses of Electron Microscopy for Detection of Viruses. *Clinical Microbiology Reviews*. 2009, **22**(4), 552-563
18. HANNA Morcos, Asif NOOR. Streptococcus Group B. [Updated 2020 Jan 17]. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*; [online]. 2020. [cit. 2020-04-02]. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553143/#_NBK553143_pubdet_
19. HEATH, P. T., JARDINE, L. A. Neonatal infections: group B streptococcus. *BMJ clinical evidence* [online], 2014, 0323. [cit. 2020-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3938141/pdf/2014-0323.pdf>
20. HENAO-MARTINEZ, A. F. a S. C. JOHNSON. Diagnostic tests for syphilis: New tests and new algorithms. *Neurology: Clinical Practice* [online]. 2014, **4**(2), 114-122
21. HUGHES, Brenna L. a Cynthia GYAMFI-BANNERMAN. Diagnosis and antenatal management of congenital cytomegalovirus infection. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2016, **214**(6), B5-B11
22. HUSSAIN Syed A. a Ruben VAIDYA. Congenital Syphilis. [Updated 2019 Feb 10]. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*; [online]. 2020. [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537087/>
23. GERMAN ADVISORY COMMITTEE BLOOD. Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2016, **43**(3), 203-222
24. JEENA, P M, K REICHERT, M ADHIKARI, M POPAT, J B CARLIN, M W WEBER a D H HAMER. Clinical manifestations and outcome in HIV-infected young infants

- presenting with acute illness in Durban, South Africa. *Annals of Tropical Paediatrics*. 2013, **31**(1), 15-26
25. KHAN, Khadija a Wajihullah KHAN. Congenital toxoplasmosis: An overview of the neurological and ocular manifestations. *Parasitology International* [online]. 2018, **67**(6), 715-721
 26. KIMBERLIN, David W. Neonatal Herpes Simplex Infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 2004, **17**(1), 1-13.
 27. KIMBERLIN, David W. Herpes Simplex Virus Infections of the Newborn. *Seminars in Perinatology*. 2007, **31**(1), 19-25.
 28. KITTNAR, Otomar, et al. Lékařská fyziologie. 1. vydání. Praha: Grada, 2011. 790 s. ISBN 978-80-247-3068-4
 29. KOSHIZUKA, Tetsuo, Kuniaki TORIYABE, Yuko SATO, Kazufumi IKUTA, Tomoaki IKEDA a Tatsuo SUZUTANI. Congenital cytomegalovirus infection via a re-infected mother with original antigenic sin: A case report. *International Journal of Infectious Diseases*. 2018, **77**, 87-89
 30. KOTA S. Archana a Nadeem SHABBIR. Congenital Toxoplasmosis. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*; [online] 2019. [cit. 2020-04-26]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545228/#!po=8.33333>
 31. LANG, Raynell, Ron READ, Hartmut B KRENTZ, Mingkai PENG, Soheil RAMAZANI, Quang VU a M John GILL. A retrospective study of the clinical features of new syphilis infections in an HIV-positive cohort in Alberta, Canada. *BMJ Open*. [online] 2018, **8**(7): e021544 [cit. 2020-03-19]. Dostupné z: <https://bmjopen.bmj.com/content/8/7/e021544.full>
 32. LAWN, Joy E, Fiorella BIANCHI-JASSIR, Neal J RUSSELL, et al. Group B Streptococcal Disease Worldwide for Pregnant Women, Stillbirths, and Children: Why, What, and How to Undertake Estimates? *Clinical Infectious Diseases*. 2017, **65**(suppl_2), S89-S99.
 33. LEE, Rachel a Manju NAIR. Diagnosis and treatment of herpes simplex 1 virus infection in pregnancy. *Obstetric Medicine*. 2017, **10**(2), 58-60.
 34. LEGOFF, Jérôme, Hélène PÉRÉ a Laurent BÉLEC. Diagnosis of genital herpes simplex virus infection in the clinical laboratory. *Virology Journal*. 2014, **11**(1), 83
 35. LEUNG, Alexander K. C., Kin Fon LEONG a Joseph M. LAM. A Case of Congenital Syphilis Presenting with Unusual Skin Eruptions. *Case Reports in Pediatrics*. 2018, **2018**, 1-4

36. LUEDER, Carsten G.K. a Taibur RAHMAN. Impact of the host on Toxoplasma stage differentiation. *Microbial Cell*. 2017, **4**(7), 203-211.
37. MALLAMPATI, Divya, Rachel L MACLEAN, Roger SHAPIRO, et al. Optimal breastfeeding durations for HIV-exposed infants: the impact of maternal ART use, infant mortality and replacement feeding risk. *Journal of the International AIDS Society*. 2018, **21**(4), 1-8
38. MARSICO, Concetta, David W. KIMBERLIN. Congenital Cytomegalovirus infection: advances and challenges in diagnosis, prevention and treatment. *Italian Journal of Pediatrics*. 2017, **43**(1): 38
39. MESTECKY, Jiri. *Mucosal Immunology*. Amsterdam: Elsevier, 2015, 2540 s. ISBN 9780124158474.
40. MILLIGAN, Caitlin a Julie OVERBAUGH. The Role of Cell-Associated Virus in Mother-to-Child HIV Transmission. *Journal of Infectious Diseases*. 2014, **210**(suppl 3), S631-S640.
41. MITCHELL, Caroline a Malavika PRABHU. Pelvic Inflammatory Disease. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2013, **27**(4), 793-809.
42. MORGAN John A., Danielle B. COOPER. Group B Streptococcus And Pregnancy. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*; [online] 2020. [cit. 2020-04-02]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482443/>
43. NAIF, Hassan M. Pathogenesis of HIV infection. *Infectious Disease Reports*. 2013, **5**(1S), 26-29
44. NATIONAL INSTITUTE OF ALLERGY AND INFECTIOUS DISEASES (NIAID). HIV Infection in Women [online]. 2001. [cit. 2020-03-14] Dostupné z: <https://aidsinfo.nih.gov/news/82/hiv-infection-in-women>
45. O'BYRNE, Patrick a Paul MACPHERSON. Syphilis. *BMJ* [online]. 2019. [cit. 2020-04-04]. Dostupné z: <http://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.l4159>
46. ODHIAMBO, Collins, Clement ZEH, Pascale ONDOA, et al. Anemia and Red Blood Cell Abnormalities in HIV-Infected and HIV-Exposed Breastfed Infants: A Secondary Analysis of the Kisumu Breastfeeding Study. *PLOS ONE*. [online] 2015, **10**(11):e0141599. [cit. 2020-03-22]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141599>

47. PASS, Robert F., Ravit ARAV-BOGER. Maternal and fetal cytomegalovirus infection: diagnosis, management, and prevention. *F1000Research*. [online]. 2018, **7**. [cit. 2020-02-22]. Dostupné z: <https://doi.org/10.12688/f1000research.12517.1>
48. PEREIRA, Lenore. Congenital Viral Infection: Traversing the Uterine-Placental Interface. *Annual Review of Virology*. 2018, **5**(1), 273-299.
49. PHISKE, MeghanaMadhukar. Current trends in congenital syphilis. *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS*. 2014, **35**(1), 12-20
50. POMARES, Christelle, Jose G. MONTOYA a C. S. KRAFT. Laboratory Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. 2016, **54**(10), 2448-2454
51. POPOOLA, Temidayo & AWODELE, Olufunsho. Interplay between antiretroviral therapy and oxidative stress in HIV seropositive patients. *African journal of medicine and medical sciences*. 2016, **45**, 5-21.
52. PRINCE, Harry E., Mary LAPÉ-NIXON a C. J. PAPASIAN. Role of Cytomegalovirus (CMV) IgG Avidity Testing in Diagnosing Primary CMV Infection during Pregnancy. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2014, **21**(10), 1377-1384.
53. ROSA-FRAILE, Manuel, Barbara SPELLERBERG a Colleen Suzanne KRAFT. Reliable Detection of Group B Streptococcus in the Clinical Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*. 2017, **55**(9), 2590-2598.
54. ROSS, S., Z. NOVAK, S. PATI a S. B. BOPPANA. Overview of the Diagnosis of Cytomegalovirus Infection. *Infectious Disorders - Drug Targets*. 2011, **11**(5), 466-474.
55. ROWE, Christine R., Desi M. NEWBERRY a Amy J. JNAH. Congenital Syphilis. *Advances in Neonatal Care*. 2018, **18**(6), 438-445
56. SARKARI, Bahador a Samaneh ABDOLAHI KHABISI. Severe Congenital Toxoplasmosis: A Case Report and Strain Characterization. *Case Reports in Infectious Diseases*. 2015, **2015**, 1-3
57. SEDLÁČEK Dalibor, ŠUBRT Ivan a Jiří DORT. Kongenitální infekce – současný stav. *Pediatric pro praxi* [online]. 2007, **2**: 72-76. Dostupné z: https://www.pediatricpropraxi.cz/artkey/ped-200702-0002_Kongenitalni_infekce-soucasny_stav.php
58. SIEMIENIUK, Reed A C, Lyubov LYTVYN, Jinell MAH MING, et al. Antiretroviral therapy in pregnant women living with HIV: a clinical practice guideline. *BMJ*. [online].

- 2017, 7: e019022 [cit. 2020-04-08]. Dostupné z: <https://bmjopen.bmj.com/content/bmjopen/7/9/e019022.full.pdf>
59. SILBERNAGL, Stefan a Agamemnon DESPOPOULOS. *Atlas fyziologie člověka*. Vyd. 3. české. Přeložil: Eliana TRÁVNÍČKOVÁ. Praha: Grada Publishing, 2004. 435 s. ISBN 80-247-0630-X
60. SINGH, Ameeta, Jutta PREIKSAITIS a Barbara ROMANOWSKI. The Laboratory Diagnosis of Herpes Simplex Virus Infections. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2005, **16**(2), 92-98
61. STOLTEY, Juliet E. a Stephanie E. COHEN. Syphilis transmission: a review of the current evidence. *Sexual Health*. 2015, **12**(2), 103-109
62. SÜTÇÜ, Murat, Manolya ACAR, Hacer AKTÜRK, Selda HANÇERLI TORUN, Hayati BEKA, Ali AĞAÇFIDAN, Nuran SALMAN a Ayper SOMER. Clinical Findings of Pediatric HIV Infection in a Tertiary Center in Turkey. *Balkan Medical Journal*. 2017, **34**(3), 239-245
63. SZÚ. Zarděnyky – základní informace [online]. 2019. [cit. 2020-02-07]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/Epidemiologie/Infekce_zakladni_informace/Zardenky_zakl_informace.pdf
64. TAEUSCH, H. William, Roberta A. BALLARD a Christine A. GLEASON. *Avery's Diseases of the Newborn*. Philadelphia: Elsevier, 2005. 1664 s. ISBN 9780721693477.
65. TAKEI, Tomoaki, Naoko CHIBA, Hisayo FUJITA, et al. Late-Onset Invasive Group B Streptococcal Infection with Serotype VIII in a Neonate Having Congenital Biliary Atresia. *Pediatrics & Neonatology*. 2013, **54**(1), 63-66
66. TANKESHWAR Acharya. *Sabin-Feldman dye test* [online]. 2019. [cit. 2020-05-10]. Dostupné z: <https://microbeonline.com/sabin-feldman-dye-test/>
67. UDUAK S. Akpan; Leela Sharath PILLARISSETTY. Congenital Cytomegalovirus Infection (Congenital CMV Infection), *In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; [online]. 2019. [cit. 2020-02-17]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541003/>*
68. VAILLANT Angel Justiz. HIV Disease – StatPearls – NCBI Bookshelf. *National Center for Biotechnology Information* [online]. 2019, [cit. 2020-3-13] Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534860/>
69. VAN ZUYLEN, Wendy J, Stuart T HAMILTON, Zin NAING, Beverly HALL, Antonia SHAND a William D RAWLINSON. Congenital cytomegalovirus infection: Clinical

- presentation, epidemiology, diagnosis and prevention. *Obstetric Medicine*. 2014, **7**(4), 140-146
70. VELEMÍNSKÝ, Miloš, Petr ŠVIHOVEC a Miloš VELEMÍNSKÝ jr.. *Infekce plodu a novorozence*. V Praze: Triton, 2005. ISBN 80-7254-614-7.
71. VERGNANO, Stefania, Anna C. SEALE, Elizabeth J.A. FITCHETT, Mike SHARLAND a Paul T. HEATH. Serious bacterial infections in neonates: improving reporting and case definitions. *International Health*. 2017, **9**(3), 148-155
72. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 9788090289666.
73. WHO. Manual on Paediatric HIV Care and Treatment for District Hospitals: Addendum to the Pocket Book of Hospital Care of Children. [online]. 2011. [cit. 2020-03-18]. Dostupné z: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44511/9789241501026_eng.pdf;jsessionid=CDD74CE93C5915AC1C80103E91A667ED?sequence=1
74. WHO. *Antiretroviral Therapy for HIV Infection in Infants and Children: Towards Universal Access: Recommendations for a Public Health Approach: 2010 Revision*, Geneva, ©2010. ISBN: 978-92-4-159980-1. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138598/>
75. WHO | World Health Organization. HIV/AIDS. [online]. 2020. [cit. 2020-03-18] Dostupné z: https://www.who.int/health-topics/hiv-aids/#tab=tab_1
76. WICHER, Victoria a Konrad WICHER. Pathogenesis of Maternal-Fetal Syphilis Revisited. *Clinical Infectious Diseases*. 2001, **33**(3), 354-363
77. ZÁKOUCKÁ H. Syfilis - tradiční choroba, současný problém II. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2007; **16**(10-11): 493 – 497.
78. ZHU, Z., W. XU, E. S. ABERNATHY, et al. Comparison of Four Methods Using Throat Swabs To Confirm Rubella Virus Infection. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007, **45**(9), 2847-2852

SEZNAM ELEKTRONICKÝCH ZDROJŮ

1. MAREŠOVÁ Martina. Vrozený zarděnkový syndrom [online]. 2012 [cit. 2020-06-05] Dostupné z: <https://www.yumpu.com/xx/document/read/25399681/vrozeny-zardenkovy-syndrom-kazuistika>