

Toxoplasma Centennial Congress (Toxo100) "From Discovery to Public Health Management"

Rio de Janeiro, Brazílie, 20.-24. září 2008

V letošním roce si připomínáme 100. výročí významného objevu. V roce 1908 Francouzi Charles Nicolle a Louis Hubert Manceaux pracující v Pasteurově institutu v Tunisu objevili v tkáních hlodavce *Ctenodactylus gundi* parazitického prvoka, kterého popsali jako *Toxoplasma gondii*. Nemohli vědět, že téhož roku stejný organismus popsal z tkání králíka i italský lékař Alfonso Splendore, který pracoval v São Paulu v Brazílii. A tak při zahájení mezinárodního kongresu, který se na oslavu tohoto výročí konal v letovisku Búzios (asi 180 km východně od Ria de Janeira), zazněly celkem čtyři státní hymny: francouzská, italská, tuniská a brazilská.

Zahájení kongresu bylo skutečně slavnostní. U příležitosti stých narozenin toxoplasmy bylo vyznamenáno 7 významných badatelů, kteří jubilujícímu patogenu zasvětili celý život: Američané Elmer Pfefferkorn, Jack Frenkel, Jitender P. Dubey a Jack S. Remington, Francouzi Pierre Ambroise-Thomas a Georges Desmonts († VII. 2008) a také Brazilec Mário Endzfeld Camargo. Monotematický kongres přesáhl limity „malé“ konference a snad i očekávání pořadatelů: sál se zaplnil možná více než 400 účastníky, mezi nimiž převažovali domácí Brazilci; hojně zastoupeny však byly i USA a Francie, o něco méně hojně Velká Británie, Kolumbie, Argentina, Čína, Mexiko, Holandsko, Dánsko, Německo, Itálie, Norsko, Srbsko, Slovinsko, Polsko a Česká Republika. Bylo přihlášeno více než 270 odborných sdělení, z větší části prezentovaných formou posteru a tak se organizátoři (s výjimkou jediného zasedání) vyhnuli jednání ve vícerych paralelních sekcích. Jelikož někteří Brazilci přednášeli či diskutovali ve své mateřštině a protože ne všichni domácí posluchači dostatečně ovládají angličtinu, byl celý program simultánně tlumočen do sluchátek a účastníci tak mohli sledovat všechny přednášky i diskusní příspěvky jak v anglické tak v portugalské verzi.

Hlavním tématem, které přitahovalo pozornost účastníků kongresu, byla populační biologie a genetická variabilita *Toxoplasma gondii* a význam genotypu pro průběh onemocnění působeného tím kterým kmenem. **J.P. Dubey** je přesvědčen, že klíčovou roli jak v populační biologii, tak v šíření a udržování toxoplasmózy hraje kočka. Dokazuje, že oocysty jsou infekční především pro býložravce, zatímco kočka se mnohem snadněji nakazí tkáňovými cystami v mase. J. P. Dubey se svými spolupracovníky shromažďuje kmeny z mnoha zemí různých kontinentů izolované z volně

pobíhajících kuřat, která sezobou oocysty kontaminující prostředí. Testuje jejich virulenci na myších – mortalita infikovaných myší se výrazně liší podle jednotlivých isolátů i zemí původu; přesto však tento dnes již legendární badatel nevěří, že existuje přímý vztah mezi virulencí toxoplasmového kmene u myší a klinickými příznaky, které kmen působí při infekci člověka. Rovněž **D. Ajzenberg** zdůrazňuje, že průběh toxoplasmózy u člověka záleží do značné míry na hostitelských faktorech, zejména na imunitním stavu a také na infekční dávce, takže genotyp infikujícího kmene nemusí být rozhodující. Kmeny genotypu II působí ve Francii jak asymptomatické tak i ty nejzávažnější případy toxoplasmózy. Pozoruhodné však je, jak odlišný je výskyt toxoplasmových genotypů na jednotlivých kontinentech. Zatímco v Evropě a Severní Americe většina isolátů spadá do „klasických“ klonálních linií I, II a III – je Jižní Amerika velice heterogenní. V Brazílii nebyl genotyp II vůbec zjištěn, značná část izolátů je zcela atypická a nedá se dle klasického schématu charakterizovat. Téměř stoprocentní genetickou monotónnost kontinentálně-francouzských toxoplasm (jak u zvířat tak u kongenitálních toxoplasmóz tam naprosto převládá genotyp II) kompenzují kmeny cirkulující ve Francouzské Guayaně, které jsou zcela atypické a pro člověka silně virulentní. Mohou i u imunokompetentních osob působit onemocnění, které se zásadně liší od převážně benigní euroamerické toxoplasmózy: jsou zde běžné případy disseminované toxoplasmózy s život ohrožujícím poškozením dýchacího traktu, které musí být řešeny na ARO. Jelikož těžký průběh toxoplasmózy byl zaznamenán u osob žijících v těsném kontaktu s amazonským pralesem, je nasnadě, že se jedná o kmeny s pro nás netradičním spektrem mezihostitelů (kapybara, aguti, pásovec...) i definitivních hostitelů (jaguár, jaguarundi, ocelot a další pralesní kočky). Atypické kmeny jsou běžné i v Kolumbii i Brazílii. Nelze vyloučit, že některé z těchto kmenů mohou mít zvýšenou tendenci působit oční toxoplasmózu (srovnání prevalence oční toxoplasmózy: USA - 0,6%, Kolumbie – 6%, jižní Brazílie – 17,7%), která mívá např. v Brazílii těžší průběh i následky (včetně slepoty), některé zase snáze pronikají přes lidskou placentu a působí kongenitální toxoplasmózu. Samozřejmě však není možné jednoznačně určit, do jaké míry se na odlišném průběhu toxoplasmózy podílejí i možné rozdíly v dalších faktorech – například genotypu hostitele nebo způsobu infekce. Netypizovatelné kmeny však kupodivu převažovaly i mezi kmeny z případů oční toxoplasmózy léčených v nemocnici Charité v Berlíně (**O. Liesenfeld**), zatímco kmeny z „neočních“ toxoplasmóz ve stejné oblasti nevybočovaly z evropského stereotypu. **M. Grigg** považuje genotyp X z pacifického pobřeží Kalifornie za křížence dvou avirulentních kmenů, u kterého došlo v důsledku přeorganizování alel k posunu k vysoké virulenci (toxoplasmy jsou haploidní). **D. Sibley** řadí jihoamerické genotypy do skupin IV a V. Důležité je zjistit, co způsobuje virulenci některých kmenů. Zdá se, že rozhodující je schopnost invaze hostitelské buňky. Klíčová je například exprese rhoptriové

kinázy ROP-18 – mezi virulentními kmeny genotypu I a virulentními kmeny skupiny III je rozdíl o čtyři řády (rhoptriové peptidy se podílejí na formování parazitoformní vakuoly). Multicentrická studie EMSCOT (**J. Blackwell**) však prokázala, že na průběh toxoplasmózy má vliv i genotyp člověka (při kongenitální toxoplasmóze jak matky tak dítěte) a že existují jednak alely skýtající jistou ochranu před toxoplasmózou, jednak alely působící vyšší vnímavost a citlivost k infekci. Například alela ABCA4 je spojena s mozkovou a oční toxoplasmózou, nebo alela COL2A1 souvisí s postižením oka při kongenitální toxoplasmóze.

Velká pozornost byla věnována molekulárním interakcím toxoplasem s hostitelskými buňkami, charakterizaci různých toxoplasmových peptidů, zejména rhoptriovým proteinům (ROP a RON) a jejich roli v invazi hostitelské buňky, jakož i jejich významu pro virulenci kmene a jejich použití v typizaci kmene a diagnostice. Proteomické a genomové záležitosti lze dnes snadno studovat „*in silico*“ s použitím údajů databáze toxoDB.org (**J.M. Dybas**). Stranou nezůstala ani imunologie význam slizniční imunity, kde se uplatňují i mechanismy vrozené imunity jako cryptidin (**Buzoni-Gatel**), drastické změny střevní flóry (**O. Lisenfeld**), neapoptotické usmrcování infikovaných makrofágů řízené chromozomálním lokusem nazvaným Toxo1, které má za následek úplnou eliminaci toxoplasem u laboratorních potkanů kmene Lewis (**C. Bisanz**), ani velice účinný obranný systém hlodavců (u člověka bohužel není) indukovaný IFN- γ založený na GTPázách IRG, schopných velice rychle narušit parazitoformní vakuolu a zničit intracelulárního parazita (**I.C. Howard**).

V otázkách, které většinu přítomných zajímaly nejvíce, tedy diagnostice, terapii a vývoji vakcíny proti *Toxoplasma gondii*, však prozatím, bohužel, k žádným přelomovým objevům nedošlo. Opakovaně se ozývalo volání po novém účinném léku proti toxoplasmóze, pokud možno takovém, který by byl schopen usmrcovat i bradyzoity. A že pracovníci vyvíjející nová chemoterapeutika nemají lehký život, demonstroval **E. Maréchal**, který pracuje na preparátu cílenému proti apicoplastu; jenž by měl narušit lipidový metabolismus prvoků kmene Apicomplexa. Přednáška začínala u špenátu, z jehož listů výzkumník izoluje chloroplasty, které v určité fázi vývoje zastupují právě apicoplasty. Testované substance se mohou rekrutovat z řad herbicidů. Výsledek je nejistý, výzkum probíhá mnoho let „neveřejně“ bez grantů a publikací; zájem farmaceutických firem je přitom minimální. Naděje vkládané do účinku stávajících klasických antitoxoplasmických preparátů na dobu trvání, závažnost a počet rekurencí oční toxoplasmózy se nepotvrdily, i když se můžeme utěšovat, že „absence of evidence is not the evidence of absence“ (**M. Stanford**). **R. Belfort** v Brazílii, kde případy slepoty způsobené

toxoplasmózou nejsou vzácností (kumulativní incidence: 2,5%), vidí jako alespoň částečně efektivní řešení podávání clindamycinu a dexamethazonu injekčně přímo do oka. A účinnost léčby těhotných žen na základě studie SYROCOT již na několika toxoplasmových kongresech zpochybnila **R. Gilbert**. Bohužel, provést randomizovanou studii s dostatečným počtem léčených i kontrolních (neléčených) žen s prokázanou primoinfekcí v graviditě, která by splňovala všechny podmínky epidemiologické průkaznosti, je krajně obtížné. Francouzští lékaři jsou o efektivitě prenatalního screeningu na toxoplasmózu naprosto přesvědčeni – když porovnájí dnešní data o incidenci a projevech kongenitální toxoplasmózy s historickými údaji, jeví se současná toxoplasmóza jako úplně jiná nemoc (**F. Peyron**). O zavedení screeningu se pokoušejí i některé oblasti Brazílie, kde má toxoplasmóza velice silný dopad na zdraví obyvatelstva. Ovšem v zemi, kde je situace kardinálně odlišná od té francouzské- značná část obyvatelstva žije v odlehlých oblastech a ve špatných hygienických podmínkách, přičemž zde není dostatek zkušených odborníků a referenčních laboratoří pro kontrolu diagnostiky (E.G.Lago)- jsou francouzské zkušenosti využitelné jen zčásti.

Výsledky sérotypizace kmene – ELISA testu na stanovení protilátek proti GRA 5 a GRA 6, nám pomohou v některých případech určit, kterým genotypem *Toxoplasma gondii* je pacient infikován, zpravidla však nekorelují s klinickými příznaky (**F. Peyron**). Navíc, sérotypizace mívá občas své technické problémy a tak může skutečnou genetickou typizaci kmene, v praxi zpravidla těžko proveditelnou, nahradit jen zčásti.

Problematika „food safety“ je na pořadu dne především v Evropské unii - alespoň podle direktivy evropského parlamentu ze 17. listopadu 2003 by se mělo dbát o to, aby na trh přicházely masné výrobky bez toxoplasmu, a toxoplasmóza by měla být v každém státě monitorována (**A. Tenter**). A dle složitého algoritmu by mělo být stanoveno kvantitativní riziko (**F. Derouin**). Zajímavé bylo porovnání prevalence toxoplasmózy v různých zemích: absolutně největší prevalence je v asi v Jižní Americe – světový rekord kolem 90% zatím drží brazilské město Erechim. Vysoké prevalence jsou zřejmě i v některých afrických zemích; naopak v různých provinciích Číny uváděl **X.-G Chen** pouhých 0,55-15,5%. V evropských státech prevalence trochu narůstá od severu k jihu a ani ve Francii už není co bývala – namísto všude tradovaných 80% dnes platí něco kolem 45 %.

Při vývoji vakcíny se u myši nedaří ani aplikací imunogenních toxoplasmových peptidů, ani na bázi DNA vakcín navodit ochranu, která by byla považována za dostatečnou – což není např. 89% snížení počtu

mozkových cyst; u prasat se podařilo zabránit infekci 2/3 jedinců (**E. Petersen**). Dobré výsledky jsou s živou vakcínou - atenuovanými kmeny, které lze použít k ochraně např. ovcí nebo koček. Ozvaly se hlasy volající po masovější vakcinaci koček, což by mohlo výrazně snížit kontaminaci prostředí a tím i riziko nákazy člověka. Nelze však předpokládat, že vpravování živých toxoplasem bylo povoleno i u lidí.

Toxoplasmóza je ve světě stále závažným problémem, kterému je ve vyspělých zemích věnována značná pozornost. Ukazuje se, že v některých exotických zemích, kde byla vždy v pozadí za tropickými chorobami, je toxoplasmóza mnohem větším problémem než se čekalo. Určitě se můžeme dočkat dalších překvapení.

Opakovaně byl zdůrazňován význam referenčních laboratoří pro kvalitní diagnostickou praxi, zejména při konfirmaci suspektních kongenitálních toxoplasmóz a dalších závažných případů.

Příští kongres při příležitosti stoletého výročí toxoplasmózy by se měl konat v roce 2022 (objev) nebo 2023 (publikace) v Praze na počest prvního případu kongenitální a oční toxoplasmózy popsaného profesorem Janků – pokud se v naší zemi bude v té době ještě někdo touto „typicky českou“ parazitózou ještě zabývat.

Dr. Petr Kodym
člen ČPS