

Válasz Prof. Dr. Oláh Éva opponensi bírálatára

Hálásan és őszintén köszönöm, hogy Professzor Asszony vállalta értekezésem bírálatát. Megtisztelő számomra, hogy nemcsak értékelte a munkámat, hanem klinikusi szemmel azt továbbgondolta, és újabb, értékes javaslatokat tett.

Toxoplasma kimutatásával kapcsolatos kérdések, felvetések:

1. „*A szerző adatai szerint hazánkban évente 1-2 toxoplazmózis eset fordul elő. Hogyan sikerült 58 IgM pozitív várandós összegyűjtése? Mi volt a toxoplazma szerológiai vizsgálat indikációja? (expozíció, tünetek: nyirokcsomó duzzanat stb.?)* „

Hazánkban jelenleg a szerológiai szűrés nem tartozik a rutin terhesgondozási vizsgálatok közé, míg Ausztriában, Franciaországban, Olaszországban és Portugáliában ez annak a része. Magyarországon a magzati infekció gyanúját a rutin ultrahangvizsgálat vetheti fel. A magzati ventriculomegalia, cerebralis calcificatio, microcephalia, a máj és a belek echodenzitása, a méhlepény cisztikus felritkulása és megvastagodása indokolják a szerológiai vizsgálat elvégzését. Klinikánkon évente kb. 120 várandósnál végeznek ultrahang vizsgálati jelek alapján szerológiai vizsgálatot, közülük kb. 20% mutat IgM pozitivitást, ők kerülnek molekuláris vizsgálatra. Klinikánkról részletes tanulmány jelent meg a toxoplazma szerológia és ultrahangeltérésekről (*Beke és mtsai, 2013*). Disszertációmban csak a Clinica Chimica Acta-ban (2006) közölt adatokat mutatom be, négy molekuláris alapú kimutatási módszert hasonlítok össze a bemutatott csoporton, de ennél természetesen nagyobb anyaggal rendelkezünk.

A SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis) kutatócsoport által közölt adatok szerint Magyarországon 1987 és 1994 között 10 várandósnál mutattak ki toxoplazmózist, és 4 fertőzött újszülött született meg. Az Országos Epidemiológiai Központ adatai szerint az elmúlt 10 évben csak 3 esetben fordult elő congenitalis toxoplazmózis.

Ausztriában minden várandósnál végeznek szerológiai vizsgálatot, az általuk közölt adatok állnak közelebb az igazsághoz. Az 1992-2008 közötti időszakban 1 387 680 szülés volt, 2147 szeropozitív esetet találtak, közülük 974 (45,4%) a terhessége előtt fertőződött meg. Megállapították, hogy 8,5/10.000 várandósnál fordult elő toxoplazmózis és 1/10.000 a congenitalis toxoplazmózis előfordulása (*Prusa és mtsai, 2015*). A transzmissziós ráta 13%. Ezek az adatok a saját eredményeimet támasztják alá.

2. *„Az öt pozitívnak bizonyult anya esetében több olyan kérdés merül fel, amely a fertőződés ideje, az IgM titer, a kórokozó kópiaszáma, az antibiotikum kezelés indikációja, a fertőződés klinikai következménye összefüggésére vonatkozott:”*

2.a. *„Mi volt a konkrét anamnézise az öt pozitív várandósoknak?”*

Emelkedett IgM titer és *Toxoplasma gondii* fertőzésre utaló ultrahangjelek. A négy emelkedett IgM értéket mutató várandós magzatvizéből izolált DNS minta pozitív volt molekuláris genetikai vizsgálattal. A várandós nőt vidékről küldték be klinikánkra emelkedett toxoplazma IgM értékek miatt.

2.b. *„Mi volt az ultrahangeltérés az 5. anyánál? Specifikus volt-e a toxoplazmózisra, hiszen esetében sem IgG sem IgM nem volt kimutatható.”*

Az 5. várandósnál megnövekedett placentavastagság, fokozottan echodens lepény, microcephalia, echodenz máj, egyéb agyi eltérés mutatkozott az ultrahangvizsgálat során, de nem történt nála szerológiai vizsgálat.

2.c. *„Volt-e különbség az IgM titerben a pozitív mintájú anyák között? A pozitív esetekben kimutatható-e összefüggés a kórokozó kópiaszáma és az IgM értéke, illetve a kópiaszám és a fertőződés klinikai következménye között? „*

A klinikára szerte az országból érkeznek a várandósok. A különböző laboratóriumok leletei nem egységesek. Van, ahol százalékban adják meg az eredményt, van ahol nemzetközi egységben, van ahol csak „pozitív” vagy „negatív” szerepel. Így ezeket nehéz összehasonlítani, pedig nagyon hasznos lenne, hiszen igényes és tudományosan értékelhető összefüggéseket csak egységes módon nyert adatokkal lehetne nyerni. Mi az eseteket önkényesen csak magas, közepes és gyengén pozitív csoportba tudtuk besorolni a szerológiai eredmények alapján. Azok, akik PCR vizsgálattal kimutatható congenitalis toxoplazmózisban szenvedtek, mind magas titerrel rendelkeztek.

2.d. *„Mi lett a sorsa az említett terhességeknek? Kaptak az anyák antibiotikumot? Az antibiotikum adást követően csökkent-e a kórokozó kópiaszáma? Van-e adat a megszületett gyermekek klinikai státuszáról?”*

A várandósokat tanáccsal és antibiotikum kezelési javaslattal láttuk el. Országos intézet lévén az esetek zömében nem térnek vissza a klinikára a beutalt betegek, így a sorsukat nem sikerült követni.

A kópiaszámokat nem határoztuk meg a kezeléseket követően. Ezt csak invazív módon vett mintákból lehet elvégezni, minden egyes beavatkozás vetelési kockázattal jár, és így mérlegelendő a nyert információ haszna. Az ultrahangvizsgálattal való nyomon követés elegendőnek tűnik ezekben az esetekben.

3. *„Mennyiben tekinthető a vizsgálat szenzitívnek és megbízhatónak, ha 54 IgM pozitív esetben a teszt negatív eredményt adott. Mi a magyarázata a többi IgM pozitív várandós anya negatív magzatvíz leletének, hiszen az IgM egyértelműen friss fertőzésre utal (antibiotikum adása, placenta kisebb átjárhatósága, túl rövid vagy túl hosszú idő a fertőződés és az amniocentézis között).”*

Hasonló adatokat közöltek *Thalib és mtsai* (2005), 593 esetből 64 *Toxoplasma gondii* PCR pozitívat találtak. Ők 9 európai központból gyűjtötték össze a mintákat 1996 és 2000 között. A szerológiai vizsgálatok eredményeit trimeszterenként lebontották, lényeges különbségeket találtak a szenzitivitásban és specificitásban. A második trimeszterben végzett vizsgálatok a legmegbízhatóbbak. *Thalib és mtsai* (2005) adatai az osztrákokéval is egyeznek.

A szerológiai vizsgálat szenzitivitására és specificitására, valamint a congenitális toxoplazmózis PCR módszerrel történő kimutathatóságára nem lehet közvetlenül következtetni. A szerológiai vizsgálat eredménye az anyára, a magzatvízből végzett molekuláris vizsgálat a magzatra vonatkozik. A primer-próbás vizsgálat szenzitivitása 92,2%, a specificitása 100% (*Olfert Landt, TibMolbiol, Berlin, adatai*). Az első és második trimeszterben, amikor az ultrahangvizsgálatokat végzik, még kisebb mértékű a *Toxoplasma gondii* átjutása a placentán, továbbá az is befolyásolja az eredményeket és nehezíti az összehasonlítást, hogy a szülések azonnal megkezdik az antibiotikum terápiát, és mire az amniocentézisre kerül, addigra már eltelik egy-két hét.

4. *„A jelölt megállapítja, hogy a magzatvízben lévő parazitaszám és a fertőzés súlyossága összefüggést mutat, eseteiben azonban - az alkalmazott módszer érzékenysége ellenére - nem tér ki erre az összefüggésre. Van-e kimutatható korreláció a protozoon kópiaszáma és a tünetek súlyossága között? Egyáltalán a szerológiai pozitivitáson túl volt a várandósoknak tünete? „*

Robert-Gangneux és Dardé (2012) közöl adatokat a *Toxoplasma gondii* genotípusai virulenciájáról. A I-es típus a legvirulensebb, ezt követi a II-es és a III-as. Míg az elsónél, elég 10-nél kevesebb tachyzoita az egerek megfertőzéséhez, addig a másik két genotípusból ezernél több szükséges (*Darde, 2008*). Európában a II-es genotípus a gyakori, de a ritkán előfordulhat az I-es is. Humán adatokkal nem rendelkezünk a parazitaszám és a fertőzés súlyossága közötti összefüggés megállapítására, csak feltételezéseink vannak, ilyen jellegű vizsgálatot más nemzetközi csoportok sem végeztek. Bonyolítja az összefüggések feltárását, hogy nagy a genetikai diverzitás az egyes genotípusok között. Megjelent egy nagyobb átfogó tanulmány a SYROCOT (SYstematic Review on COngenital Toxoplasmosis, 2007) 26 európai és Egyesült Államok-beli központ adatait foglalta össze 2007-ben. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a szerokonverzióhoz képest három héten belül megkezdett kezelés csökkenti a vertikális átvitel esélyét.

Gras és mtsai (2005) arról számoltak be, hogy a prenatális antibiotikum kezelésnek klinikai adatokkal bizonyítható kedvező hatásai vannak, csökkennek az intracranialis léziók és a gyermekkori szövődmények.

Konkrét panaszai a várandós nőknek nincsenek.

*5.”A PCR pozitív és negatív esetekben kimutatható volt-e a kórokozó az anyai vérből is?
Érdekes lenne a vér-, és a magzatvíz-kópiaszám összehasonlítása.”*

Nagyon jó a felvetés, de sajnos nem történtek anyai vérvételek PCR vizsgálatra, így ilyen összefüggésről nem tudok nyilatkozni. Rendkívül hasznos lenne egy ilyen jellegű vizsgálat, a terveink között szerepel.

A további megjegyzésekre a válaszok

Munkám a congenitalis toxoplazmózis kimutatására alkalmazott molekuláris biológiai módszerek összehasonlítására irányult, nem a klinikai adatok összevetésére. A megfelelő módszer kiválasztása alapfeltétele a jó klinikai összehasonlító vizsgálatoknak. A laboratórium részéről felkészültünk, a klinikusok feladata, hogy a beteganyagot megfelelően kiválasszák, és a felmerülő klinikai kérdéseket megválaszolják. Az anyák szerológiai vizsgálatának a pozitivitása az anyák fertőzöttségét, nem a magzatét mutatja.

- A vertikális átvitelt csökkenti a megkezdett antibiotikum-kezelés, ezt irodalmi adatok és a klinikai adatok is alátámasztják. Nem lehet megfogalmazni olyan ajánlást, hogy nincs szükség az antibiotikumkezelés folytatására a magzatvíz toxoplazma PCR negatív eredménye esetén (*Gras és mtsai, 2005*).
- *Mérlegelendő a terhesség befejezése*. Súlyosan károsodott magzat esetén igen.
- Természetesen a vizsgálatokat célszerű lenne más centrumokban is bevezetni, a várandós nőket nem kellene utaztatni. *Filisetti és mtsai* nyolc központ adatait hasonlították össze 2015-ben, és megállapították, hogy a valós idejű PCR eljárásokon alapuló módszerek szenzitivitása 86%, specificitása 100%. Nem találtak lényeges különbséget a „házi” készítésű és a kereskedelmi forgalomban lévő kitek között. Minőségbiztosítási okok és a vizsgálatok egységesítése céljából az *CE-IVD* jelzéssel ellátott kiteket kellene alkalmazni.

Egynukleotidos polimorfizmus

21. kromoszóma triszómiája

- *„Nem világos számomra, miért látta a disszertáns olyan fontosnak a két SNP-eredményeinek bemutatását.”*

A koncepcióm része volt, hogy olyan lehetőséget is bemutassak, amellyel a számbeli kromoszóma rendellenességek is diagnosztizálhatók. Mivel a szakirodalomban másodikként közöltünk le ilyen eredményeket, akkor még nem lehetett tudni, hogy jó úton járunk-e. A nem-invazív prenatalis diagnosztika (NIPD) során az egyik gyártó, a Natera Panorama Prenatal Test nevű terméke SNP markereket használ az újgenerációs szekvenálással. Tehát lehet alkalmazni az SNP alapú meghatározást is, csak más elven működő meghatározási módszerrel.

- *„Hogyan alkalmazzák a szerző laboratóriumában a G-sávok karyotipizálását és az F-PCR-t? Minden esetben párhuzamosan elvégzik mindkét módszert? Sikertelen karyotipizálás esetén hogyan adják ki a leletet a családnak?”*

A módszer bevezetése után néhány évig párhuzamosan végeztük a vizsgálatokat a F-PCR és DNS fragmens analízis megbízhatóságának a megállapítására. A későbbiekben olyan esetekre javasoltuk, ahol sikertelen volt a tenyésztés, vagy kevés volt a nyert mitózisok száma, fertőzött volt a minta, illetve a várandós már betöltötte a 20. terhességi hetet, és a 24.

terhességi hétig nem készült volna el a citogenetikai eredmény. A kariotipizálás továbbra is az „arany standard” módszer.

Lelet kiadásakor minden esetben feltüntetik, hogy a F-PCR csak a leggyakoribb számbeli kromoszóma rendellenességek kimutatására alkalmas. A genetikai tanácsadás során a házaspárok megfelelő tájékoztatást kapnak, aláírásukkal igazolják az ott elhangzottak tudomásul vételét.

- „Mi a véleménye arról, hogy a korszerű módszer ismeretében van-e napjainkban létjogosultsága az F-PCR-nek a triszómiák kimutatásában? „

Természetesen a leggyakoribb számbeli kromoszóma rendellenességek kimutatásában a F-PCR módszernek van létjogosultsága. *Prof. Howard Cuckle* az International Society of Prenatal Diagnosis elnöke a csehországi Olomoucban megrendezett „2nd Central-Eastern European Symposium on Free Nucleic Acids in Non-Invasive Prenatal Diagnosis” rendezvényen „ezüst standard” módszernek nevezte el (*Cuckle, 2012*). A kimutatás egyszerű, automatizálható, gyors, a minta nem igényel tenyésztést, az egyes laboratóriumok eredményei összevethetők, az eredmények kiértékelése objektív. Már vannak *IVD-CE* jelzéssel ellátott F-PCR kitek, ezek bevizsgáltak, használatuk magas fokú specificitást, szenzitivitást és folyamatos minőséget biztosít.

A F-PCR és DNS fragmens analízis létjogosultságát bizonyítja, hogy számos laboratórium alkalmazza.

VEGFA SNP kimutatása HELLP szindrómában

Olyan *VEGFA* SNP-ket választottam ki, amelyek összefüggést mutatnak a *VEGFA* termelődésével. Ebben az esetben is egy korszerűbb kimutatási módszert használtam nagyobb betegcsoporton. A hosszadalmasabb PCR-RFLP módszert egy megbízhatóbb, gyorsabb, olcsóbb és egyszerűbben kiértékelhető eljárással cseréltem le. Elsőként alkalmaztam a valósidejű PCR-t ezen *VEGFA* SNP-k kimutatására, így sikerült az eredményeket nemzetközi folyóiratban leközölni (*Nagy és mtsai, 2008*). Újdonságnak számított a módszer, és a HELLP szindróma genetikai okainak felderítése során ezen SNP-k vizsgálata. A HELLP szindróma kialakulása természetesen multifaktoriális, de próbálunk olyan mutációkat, SNP-ket találni, amelyek előfordulása felhívhatja a figyelmet a fokozott kockázatra. A *VEGFA* expressziója összefüggésbe hozható a placenta kóros fejlődésével. Ismert, hogy a *VEGFA* a placentáris növekedési faktor (*PGF*) antagonistája, Megváltozott expressziója endoteliális diszfunkciót

okoz, prokoaguláns fehérjék (von Willebrand faktor, endotelin, fibronektin, trombomodulin) termelődését idézi elő.

F508del kimutatásával kapcsolatos kérdések

1. *„Nincsenek adatok arról, hogy a vizsgált 116 személy milyen okból kereste fel a genetikai tanácsadást: már volt beteg gyermekük? Volt a családban CF-es gyermek? „*

A genetikai tanácsadást felkeresők a családban előforduló cisztás fibrózis megbetegedés miatt jelentkeznek. Régebben (10-15 éve) több volt a kivizsgálatlan eset, most már legtöbbször molekuláris genetikai eredmény birtokában érkeznek.

2. *„Nem derül ki, milyen esetben végeztek vizsgálatot perifériás vérből és mi volt az indikációja a prenatalis (chorion vagy magzatvíz) vizsgálatnak? „*

A vizsgálatok a kimutatási módszerek összehasonlítására irányultak, nem a klinikai adatok kiértékelésére. Perifériás vérből olyan várandósoknál végeztünk vizsgálatokat, ahol a családban kimutatták a F508del-t, de a testvérnél, vagy a rokonnál nem történt meg a meghatározás. Ha egyéb mutációra derül fény a családban, akkor társintézetekkel végezzük a vizsgálatot. Klinikánkon nem folyik cisztás fibrózisban szenvedő családok elsődleges molekuláris kivizsgálása. A megfelelő centrumok rendelkeznek olyan kitekkel, vagy szekvenálási módszerekkel, amelyek a ritkán előforduló mutációkat, vagy eltéréseket kimutatják. Amniocentesist, vagy chorionboholy mintavételt csak indokolt esetekben végzünk, amikor nagy a beteg magzat megszületésének kockázata.

3. *„Az öt homozigóta eredmény a minta szerinti részletezésben hat: két perifériás vér, három chorionboholy és egy magzatvíz mintából – a hatodik a F508C). Két esetben a perifériás vérből végzett vizsgálat során igazolták a homozigóta mutációt: a betegség súlyos prognózisának ismeretében (e betegek rendszerint kb. 30 éves korig élnek) meglepő, hogy a homozigóta állapotot terhes anyákon diagnosztizálták. „*

Nem terheseken is végeztünk vizsgálatokat az 1990-es években, amikor még csak a klinikánkon volt ilyen kivizsgálási lehetőség, napjainkban csak várandósokat vizsgálunk.

4. *„Mi lett a terhesség sorsa a 11 heterozigóta F508del és a 4 homozigóta prenatalis diagnózis esetében? Különösen fontos lenne ismerni a heterozigóta magzatok sorsának*

alakulását: hiszen nem tudhatjuk, nem társult-e mutációjuk egy másik mutációval kettős heterozigótást és betegséget eredményezve. „

A *F508del* heterozigóta magzatokat viselő terhességeket megtartották a családok. A megszületett gyermekek egészségeseknek bizonyultak. A *F508del* heterozigótáság esetén nagyon kicsi a valószínűsége egy *de novo* mutációnak. Homozigóta *F508del* magzati diagnózis esetén a terhesség megszakítását választották a házaspárok.

CD24 expresszió vizsgálatok placentából nyert szövetkorongokból, prosztataraákából és benignus prostata hyperplasiás szövetből izolált mRNS alkalmazásával.

Köszönöm Professzor Asszony véleményét és az ezen a területen végzett munka elismerését. Érdekes lenne bevezetni a klinikumba ezt a meghatározást, vagy olyan módszert kifejleszteni, amellyel nem-invazív módon szabad nukleinsavak felhasználásával lehetne a kimutatást elvégezni.

Szabad nukleinsav meghatározásokkal kapcsolatos kérdések

1. *„Milyen indikációval került sor e vizsgálatokra? A módszer megbízhatóságának ellenőrzése, tapasztalatszerzés, vagy X-kromoszómához kötött recesszív betegség fokozott kockázata indokolta a vizsgálat elvégzését? Ha az utóbbiról is szó volt, ismert volt az anya hordozó volta? Milyen betegségek esetében került sor a nem-meghatározásra és mi lett a terhesség sorsa?”*

A nem-meghatározást és az *RhD* meghatározásokat az anyai szérumból izolált DNS mintákból a módszer beállítására és megbízhatóságának ellenőrzésére vezettük be. A részvétel önkéntes alapon, részletes tájékoztatást követően és a bejegyző nyilatkozat birtokában történt. A mintavételt nemzetközileg elfogadott módon végeztük a Brown University protokollja alapján (*Palomaki és mtsai, 2011*). Az anyai vérből végzett magzati *RhD* meghatározásokkal kapcsolatban együttműködtünk az Országos Vérellátó Szolgálat Molekuláris Diagnosztikai Laboratóriumával (Dr. Tordai Attila, laborvezető).

A nem-, és az *RhD* meghatározások a tapasztalatszerzésre, a valósidejű PCR módszer kifejlesztésére és esetleges későbbi klinikai bevezetésére irányultak.

2. „Az anyai vérből nyert „szabad” DNS vizsgálatával két RhD negatív apa és anya magzatának RhD negativitását erősítették meg. Ez azt jelenti, hogy a 80 terhességből 38 esetben igazolt fiúmagzatok közül egy esetben sem volt az anya Rh negatív? A szerző szerint a kaukázusi populáció 80%-a RhD pozitív. Hogy lehet, hogy csupán két RhD negatív szülő esetében kaptak értékelhető eredményt.”

Valóban, a 80 vizsgált várandósnál két esetben (2,5%) fordult elő, hogy az anya és az apa RhD is negatív volt. RhD negativitás gyakorisága alapján a számított érték 2,25%. Az eredmények értékelhetők voltak mind a 80 várandós nőnél a magzat nemére-, és az RhD genotípusára irányuló meghatározások esetében. Az izolált minták DNS tartalmát mennyiségileg és minőségileg fotometriás mérésekkel ellenőriztük és a szülések után egyeztetettük az eredményeket, amelyek minden esetben értékelhetőek voltak.

3. „A magzat Rh genotípusának meghatározása ma már néhány országban az Rh negatív terhesek gondozásában rutinszerűen ajánlott. Az anti-D immunprofilaxisra vonatkozó hazai ajánlás azonban valamelyest eltér ezen országok gyakorlatától. Hazánkban ugyanis a harmadik trimeszterben nincs rutinszerű immunprofilaxis. Van-e a szerzőnek adata arra vonatkozóan, hogy Magyarországon is költséghatékony lenne-e elvégezni anyai vérből a magzati RhD genotípus meghatározását minden Rh negatív anyánál? (persze, ha az apa RhD pozitív) Amennyiben ennek ismeretében kimondható, hogy nálunk a módszer nem lenne költséghatékony, van-e a jelölt szerint a vizsgálatnak egyéb indikációs területe a terhes gondozásban, mint az Rh negatív anya szérumában az antiD titer emelkedés, ami a szenzibilizált terheseknél gyakran akkor is jelentkezik, ha a magzat Rh negatív?”

Lengyelországban már 2000 óta végzik rutinszerűen a magzat RhD genotipizálását az Institute of Hematology and Transfusion Medicine-ben (Varsó, Lengyelország) Prof. Ewa Brojer vezetésével, hogy egy közeli országot hozzak föl példaként (Orzinska és mtsai, 2012). Hollandiában (Sanquin) is minden várandósnál meghatározzák a magzat vércsoportját. Mivel ez utóbbi demográfiai adatai nagyon hasonlóak, véleményem szerint a vizsgálatnak Magyarországon is van létjogosultsága.

A szűrési protokoll RhD negatív várandósoknál négy alkalommal, szeropozitív esetekben havonta ír elő titermeghatározást. Költséghatékony lenne a meghatározás bevezetése, jelentős megtakarítást jelentene a gondozást és a profilaxist végző intézeteknek, még akkor is, ha Magyarországon nem tartozik a protokollba a terhesség 28. hetét követő anti-D profilaxis.

Az RhD-negatív várandósok mintegy harmada RhD-negatív magzatot visel, így kb. 15 %-ban fölösleges az ellenanyag beadása.

Ugyanakkor a laborteszt bevezetését akadályozza, hogy a megtakarítás nem a laboroknál jelentkezik, hanem a betegellátó szervezeti egységeknél.

Az immunprofilaxis bevezetése előtt az újszülöttek mintegy 1%-át érintette az újszülöttkori haemolyticus betegség. A magzati vörösvérsejtek kisebb mennyisége az első, a második és a harmadik trimeszterben lévő terhesek 3, 12, illetve 46%-ában fordul elő (*Lázár és mtsai, 2007*). Ezeket normál esetben a reticuloendotheliális rendszer eliminálja, ezért az anyai immunizáció nem alakul ki. Amennyiben alloimmunizáció jön létre, ez magzati anaemiahoz vezethet. Ezt ultrahang-diagnosztikai módszerrel is lehet monitorozni, pl. hydrops esetén jellegzetes eltérések mutatkoznak, de ultrahang-áramlásméréssel az anaemia mértéke is megítélhető.

Ennek a kérdésnek van még egy aspektusa, ha egy terhes korábban immunizálódott RhD antigénnel, de most RhD-negatív magzata van, és mégis emelkedik az anti-D titere. Nem tudjuk, hogy ez mennyire gyakori. Amennyiben RhD negatív a magzat, és leány a neme, akkor további markerek vizsgálatával lehet meggyőződni arról, hogy nem álnegatív-e a minta.

„A jelölt megítélése szerint megközelítően milyen összegből lehetne egy magzati Rh genotípus vizsgálatot elvégezni, ha nagyobb tételben történnének a vizsgálatok?”

Egy több markert tartalmazó módszer 8-10 ezer Ft-ba kerülhet.

Végezetül még egyszer köszönöm a bírálatot, és köszönöm Professzor Asszonynak, hogy sikeres véde és a kérdések adekvát megválaszolását követően a doktori cím odaítélését javasolja.

Budapest, 2015. március 16.

Nagy Bálint

Irodalom

Beke A, Dudnyikova A, Latkóczy K, és mtsai. A terhesség második trimeszterében észlelt magzati ultrahangeltérések kapcsán végzett anyai toxoplasma és cytomegalovirus szerológiai vizsgálatok tapasztalatai. *Gyermekgyógyászat* 2013;64:280-286.

Cukle H, Role of established aneuploidy screening in the NIPT era. *2nd Central-Eastern European Symposium on Free Nucleic Acids in Non-Invasive Prenatal Diagnosis, 25-26 Oct, 2012. Olomouc*
Biomedical Papers 2012;156:S101

Darde ML, *Toxoplasma gondii*, „new” genotypes and virulence. *Parasite* 2008;15:366-371

Gras L, Wallon W, Pollak A. és mtsai, Association between prenatal treatment and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis in infancy: A cohort study in 13 European centres. *Acta Paediatrica* 2005;94:1721-1731.

Nagy B, Bán Z, Beke A, és mtsai, Detection of *Toxoplasma gondii* from amniotic fluid, a comparison of four different molecular biological methods. *Clin Chim Acta.* 2006;368:131-137.

Nagy B, Savli H, Molvarec A, és mtsai, Vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphisms in HELLP syndrome patients determined by quantitative real-time PCR and melting curve analyses. *Clin Chim Acta* 2008;389:126-31.

Orzinska A, Gruz K, Brojer E, Optimization of non-invasive fetal RhD genotyping. *2nd Central-Eastern European Symposium on Free Nucleic Acids in Non-Invasive Prenatal Diagnosis, 25-26 Oct, 2012. Olomouc*
Biomedical Papers 2012;156:S110

Palomaki EG, Kloza ME, Lambert-Messerlian MG, és mtsai, DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: An international clinical validation study. *Genetics in Medicine* 2011;13:913–920.

Prusa AR, Kasper DC, Pollak A, és mtsai, The Austrian Toxoplasmosis Register, 1992-2008. *Clin Infect Dis* 2015;60:e4-10.

Robet-Gangneux F, Dardé ML, Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Reviews*, 2012;25:264-296.

SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis) study group, Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. *The Lancet*, 2007;369:115-122.