

# Karakteristike Toxoplasma gondii infekcije u trudnica i novorođenčadi

---

Ljubenković, Ana-Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:960428>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

**Ana-Marija Ljubenković**

**Karakteristike *Toxoplasma gondii* infekcije u  
trudnica i novorođenčadi**

**DIPLOMSKI RAD**



Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo, Služba za mikrobiologiju i parazitologiju, Rockefellerova 2/4 pod vodstvom doc. dr. sc. Maria Svibena i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2017./2018.

Mentor rada: doc. dr. sc. Mario Sviben

Popis kratica korištenih u pisanju rada:

**AIDS** sindrom stečene imunodeficijencije

**SŽS** središnji živčani sustav

**GABA** gama-aminobutirična kiselina

**HLA** ljudski leukocitni antigen

**HIV** virus humane imunodeficijencije

**CMV** citomegalovirus

**PCR** polimerazna lančana reakcija

**DNA** deoksiribonukleinska kiselina

**ELISA** imunoenzimski test

**IFA** metoda indirektno imunofluorescencije

**IgG** imunoglobulini klase G

**IgM** imunoglobulini klase M

**ISAGA** „IgM-immunosorbent” aglutinacijski test

**IgA** imunoglobulini klase A

**IgG** imunoglobulini klase G

**IgE** imunoglobulini klase E

**GGT** gama-glutamiltransferaza

**CT** kompjuterizirana tomografija

**IQ** kvocijent inteligencije

## SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| 1. SAŽETAK.....   |    |
| 2. SUMMARY .....  |    |
| 3. UVOD.....  | 1  |
| 4. EPIDEMIOLOGIJA I PRIJENOS.....                               | 2  |
| 5. ETIOLOGIJA .....   | 4  |
| 6. PATOGENEZA I IMUNOLOGIJA.....                                | 6  |
| 7. GENETIKA .....   | 8  |
| 8. PATOLOGIJA.....  | 9  |
| 9. KLINIČKA SLIKA.....  | 10 |
| 9.1. Toksoplazmoza u trudnoći.....                              | 10 |
| 9.2. Kongenitalna toksoplazmoza.....                            | 10 |
| 10. DIJAGNOSTIKA.....   | 13 |
| 10.1. Direktne metode .....                                     | 14 |
| 10.2. Metode izolacije.....                                     | 14 |
| 10.3. Serologija.....   | 15 |
| 10.4. Radiološka dijagnostika.....                              | 17 |
| 10.5. Dijagnostika u trudnica .....                             | 18 |
| 10.6. Dijagnostika u novorođenčeta .....                        | 19 |
| 11. DIFERENCIJALNA DIJAGNOSTIKA .....                           | 20 |
| 12. LIJEČENJE .....   | 21 |
| 12.1. Specifičnosti liječenja akutne infekcije u trudnica ..... | 22 |
| 12.2. Terapija kongenitalne toksoplazmoze .....                 | 22 |
| 13. PREVENCIJA.....   | 24 |
| 14. SEROLOŠKI PROBIR.....                                       | 25 |
| 15. ZAHVALE .....   | 26 |
| 16. LITERATURA.....   | 27 |
| 17. ŽIVOTOPIS .....   | 28 |

## 1. SAŽETAK

### **Karakteristike *Toxoplasma gondii* infekcije u trudnica i novorođenčadi**

Ana-Marija Ljubenković

Toksoplazmoza se smatra jednom od najraširenijih infekcija na svijetu. Do kongenitalne toksoplazmoze dolazi u slučaju akutne infekcije majke tijekom trudnoće, a njezine posljedice mogu biti oštećenja središnjeg živčanog sustava, oka i srca te razne anomalije. Serološko testiranje treba biti dostupno svima pod rizikom za akutnu *Toxoplasma gondii* infekciju tijekom trudnoće, imunokompromitiranim pacijentima, HIV-pozitivnim osobama i pacijentima na dugotrajnoj kortikosteroidnoj terapiji. Pirimetamin sa sulfadiazinom te folnom kiselinom preporučuje se u slučaju sumnje na fetalnu infekciju ili potvrđene infekcije. Edukacijske mjere su važne za prevenciju akutne toksoplazmoze u trudnica, a uključuju izbjegavanje kontakta s mačjim fecesom, nekonzumiranje sirovog ili nedovoljno termički obrađenog mesa i temeljito pranje svježeg voća i povrća prije konzumacije.

**Ključne riječi:** kongenitalna toksoplazmoza, trudnoća, prevencija

## **2. SUMMARY**

### **Characteristics of *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy and newborn**

Ana-Marija Ljubenković

Toxoplasmosis is considered to be one of the most common infections in the world. Congenital toxoplasmosis occurs if the mother acquires an acute infection during pregnancy, and it can cause neurological disorder, ocular and heart problems and different types of anomalies. Serologic screening must to be proposed to those thought to be at risk for primary *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy as well as to those who are immunosuppressed, HIV-positive, or on long-term corticosteroid therapy. Pyrimethamine with sulfadiazine and folinic acid is recommended when fetal infection has been suspected or infection has been confirmed. Prenatal care must include education about prevention of toxoplasmosis, which includes avoiding cat feces as well as avoiding raw or undercooked meat and washing raw fruit and vegetables well before eating.

**Keywords:** congenital toxoplasmosis, pregnancy, prevention

### 3. UVOD

Jedna od najčešćih infekcija na svijetu prema serološkim istraživanjima je toksoplazmoza koju uzrokuje parazit *Toxoplasma gondii*. U imunokompetentnih osoba infekcija je najčešće asimptomatska dok se rjeđe može očitovati korioretinitisom, limfadenitisom te miokarditisom i polimiozitisom. Simptomatska toksoplazmoza se najčešće javlja u imunokompromitiranih osoba s poremećajem stanične imunosti, pacijenata koji primaju kortikosteroidnu terapiju ili terapiju citotoksičnim lijekovima, hematoloških bolesnika, pacijentima nakon transplantacije organa te oboljelih od sindroma stečene imunodeficijencije (AIDS). Ako se žena zarazi s *T. gondii* tijekom trudnoće može doći do prijenosa parazita na fetus i kongenitalne toksoplazmoze. Usprkos napretku u razumijevanju ove bolesti još uvijek su prisutna brojna pitanja i nedoumice vezane uz prevenciju i liječenje toksoplazmoze u imunokompromitiranih, trudnica i novorođenčadi (1).



#### 4. EPIDEMIOLOGIJA I PRIJENOS

Toksoplazmoza je jedna od najraširenijih infekcija na svijetu prema podacima o seroprevalenciji na *T. gondii* (2). Zemlje Južne Amerike, istočne i središnje Europe, Srednjeg istoka, jugoistočne Azije i Afrike imaju najveću prevalenciju toksoplazmoze u svijetu (3).

Infekcija je učestalija u dijelovima svijeta gdje prevladavaju topli klimatski uvjeti i na nižim nadmorskim visinama zbog boljeg preživljenja oocista. Varijacije prevalencije ovise i o dobi tako da seropozitivitet raste s godinama života (2).

Djeca izložena mačkama, za razliku od onih izloženih mačkama tek u odrasloj dobi, češće imaju prisutna *Toxoplasma* specifičnih protutijela. Oni prilikom igre u pijesku ili na zemlji lako dođu u kontakt s ovim parazitom između ostalog i zbog učestale defekacije mačaka u javne pješčanike (3).

Ljudi se mogu zaraziti ingestijom nedovoljno termički obrađenog mesa kontaminiranog oocistama *T. gondii*, ingestijom oocisti preko ruku, hrane, tla ili vode kontaminirane mačjim fecesom, transplantacijom organa, transfuzijom krvi, transplacentalnim prijenosom s majke na fetus te slučajnom inokulacijom tahizoita. Najvažniji načini prijenosa su oralni i kongenitalni.

Nakon ingestije tkivne ciste ili oociste, dolazi do rupture ciste i otpuštanja parazita koji se preko intestinalnog epitela prošire tijelom te umnožavaju intracelularno. Stanice domaćina unutar kojih dolazi do umnažanja parazita pucaju što dovodi do otpuštanja tahizoita koji invadiraju druge stanice i proces se ponavlja. Imunološki odgovor domaćina dovede do prelaska tahizoita u

bradizoite i formacije tkivnih cista. One se najčešće formiraju u skeletnim mišićima, miokardu i mozgu gdje ostaju prisutne doživotno (2).

## 5. ETIOLOGIJA

Početak 20. stoljeća Charles Nicolle i Louis Manceaux za vrijeme istraživanja na sjeveru Afrike i Alfonso Splendore iz Brazila u isto vrijeme otkrivaju ovog parazita. Zbog centralno položene srpaste jezgre (grč. toxon) i pogrešno prevedenog naziva glodavca u čijem tkivu je otkriven (*Ctenodactylus gundi*), Nicolle i Manceaux daju mu ime vrste *Toxoplasma gondii*. Vrsta pripada redu *Eimeriida*, razredu *Coccidea* i koljenu *Sporozoa* (3). Riječ je o obligatnom unutarstaničnom parazitu koji uzrokuje infekciju u velikom broju toplokrvnih organizama uključujući i u čovjeka. Rezervoar infekcije su pripadnici mačje obitelji *Felidae* kao jedini poznati definitivni domaćini spolne faze životnog ciklusa *T. gondii*. Životni ciklus ovog parazita uključuje tri faze. Tahizoita koji se brzo umnožavaju i uništavaju inficirane stanice tijekom akutne infekcije, bradizoita koji se sporo umnažaju unutar tkivnih cista i sporozoita koji se nalaze u oocistama. Tahizoite i bradizoite nalazimo u tkivima dok su oociste u mačjem fecesu. Mačka se zarazi nakon ingestije tkivnih cista ili oocisti prehranom zaraženim mesom ili kontaktom s tlom. Nakon ingestije dolazi do otpuštanja parazita i invazije epitelnih stanica tankog crijeva, gdje prolaze nespolnu, a potom i spolnu fazu životnog ciklusa te formiraju oociste koje se izlučuju fecesom. Oociste postaju infektivne nakon jednog do pet dana od ekskrecije što potvrđuje važnost učestalog čišćenja mačjeg pijeska i fecesa. Mačke fecesom izlučuju oociste tijekom jednog do dva tjedna u vrlo velikom broju, otprilike preko 100 000 oocista po gramu fecesa. Oociste mogu preživjeti u okolišu i nekoliko mjeseci do više od godinu dana ovisno o uvjetima. Izrazito su otporne na dezinficijense, zagrijavanje

i sušenje (2). Genetskom analizom na području Europe i Sjeverne Amerike većinu *T. gondii* izolata iz ljudi i životinja možemo svrstati u tri klonalna genotipa (tip I-III). Tip III najčešće uzrokuje infekcije u životinja, dok tip II najčešće uzrokuje infekcije u ljudi. Tip II je najčešće povezan s reaktivacijom kronične toksoplazmoze i najčešće izoliran kod pacijenata koji boluju od AIDS-a. Tip I i II su povezani s nastankom kongenitalne toksoplazmoze novorođenčeta, a tipovi II i III do danas nisu povezani s težom očnom toksoplazmozom u imunokompetentnih pacijenata. Važno je naglasiti postojanje atipičnih i rekombiniranih genotipova *T. gondii* koje povezujemo s težom kliničkom u imunokompetentnih pojedinaca (1).

## 6. PATOGENEZA I IMUNOLOGIJA

Nakon invazije i umnažanja parazita (najčešće u probavnom sustavu) dolazi do njihova širenja u mezenterijalne limfne čvorove, a potom i u udaljene organe putem limfe i krvi gdje *T. gondii* inficira praktički sve vrste stanica. Aktivacijom stanične i humoralne imunosti dolazi do smanjenja broja tahizoita u svim tkivima, a preživljavaju samo oni paraziti koji se nalaze unutar stanica ili unutar tkivnih cista. U prvom tjednu infekcije dolazi do stvaranja tkivnih cista u brojnim organima i tkivima. Iako se tkivne ciste mogu izolirati iz moždanog tkiva kronično oboljelih veoma rijetko se mogu i prikazati u histološkim preparatima. Tkivne ciste su odgovorne za nastanak kronične ili latentne infekcije, a najčešće su lokalizirane u mozgu, skeletnim mišićima, miokardu i oku (1). Procjenjuje se da su tkivne ciste prisutne u oko 25% svinjskog i janjećeg mesa (3). U imunokompetentnih osoba nakon početne infekcije nastupa latentna ili kronična infekcija najčešće bez manifestne kliničke slike. U imunokompromitiranih osoba toksoplazmoza je češće posljedica reaktivacije latentne infekcije kada dolazi do ruptur tkivnih cista u parenhimu organa ili na udaljenim mjestima te može doći do oštećenja mozga, očiju, srca, pluća, skeletnih mišića, gastrointestinalnog sustava i gušterače (1). U središnjem živčanom sustavu (SŽS) *T. gondii* može povećati razinu dopamina za 14% u kronično zaraženih miševa, uzrokuje promjene u funkcioniranju gama-aminobutirične kiseline (GABA), utječe nepovoljno na metabolizam triptofana te posljedično i na sintezu serotonina i povezuje se s porastom koncentracije testosterona u muškaraca.

Toksoplazmoza se danas sve više povezuje sa shizofrenijom, opsesivno-kompulzivnim poremećajem, poremećajima raspoloženja, bipolarnim poremećajem te depresivnim epizodama (3).

Infekcija *T. gondii* pokreće i humoralnu i staničnu imunost, a njihova koordinacija i odgovor zaslužni su za rani nestanak parazita iz periferne krvi, limitaciju nakupljanja parazita u organima te doživotnu imunost.

T stanice, makrofazi, citokini (posebno interleukin 12), dendritičke stanice i neutrofili važni su u obrani organizma od *T. gondii* (1).

## **7. GENETIKA**

Ljudski leukocitni antigeni DQ3 (HLA-DQ3) povezuje se s nastankom hidrocefalusa u sklopu kongenitalne toksoplazmoze i nastankom encefalitisa u bijelaca američke populacije zaraženih virusom humane imunodeficijencije (HIV). Za razliku od HLA-DQ3, HLA-DQ1 se smatra marginalno protektivnim (1).

## 8. PATOLOGIJA

Patohistološkom analizom limfnih čvorova nalazi se tipična trijada nepravilnih nakupina epiteloidnih histiocita na marginama germinativnih centara, fokalna distenzija sinusa s monocitima te reaktivna folikularna hiperplazija.

U SŽS-u, nekroza je glavno histološko obilježje infekcije *T. gondii*. U

kongenitalnoj toksoplazmozi nekroza mozga je najizraženija u korteksu, bazalnim ganglijima te ponekad u periventrikularnom području. Kalcificirana područja nekroze mogu ukazivati na toksoplazmozu, no ona nisu patognomonična te je stoga potrebna daljnja dijagnostika.

U izrazito imunodeficijentnih i pacijenata s AIDS-om karakterističan je nalaz brojnih apscesa mozga s predilekcijom u bazalnim ganglijima. Histološki se uočava centralna avaskularna zona oko koje je hiperemično područje ispunjeno upalnim infiltratom te periferna zona koja sadrži tkivne ciste *T. gondii*.

Pneumonitis s fibroznim ili fibropurulentnim eksudatom, tahizoitima u alveocitima i alveolarnim makrofazima ukazuje na plućni oblik toksoplazmoze.

Okularna toksoplazmoza u imunokompetentnih osoba očituje se akutnim korioretinitisom karakteriziranim jakim upalom i nekrozom dok u pacijenata oboljelih od AIDS-a nalazimo segmentalni panoftalmitis s koagulacijskom nekrozom.

Miokarditis uzrokovan *T. gondii* karakterizira fokalna nekroza, edem, upalni infiltrat te mišićne stanice srca ispunjene tahizoitima i česti je nalaz pri obdukciji osoba oboljelih od HIV-a (1).



## **9. KLINIČKA SLIKA**

Toksoplazmozu najčešće klasificiramo u pet kategorija: toksoplazmoza u imunokompetentnih pacijenata, u imunodeficijentnih, okularna, u trudnoći te kongenitalna toksoplazmoza. U ovom radu opisana je klinička slika toksoplazmoze u trudnoći te kongenitalna toksoplazmoza. Važno je naglasiti da niti u jednoj kategoriji klinička slika nije specifična za toksoplazmozu te je potrebno uzeti u obzir široku diferencijalnu dijagnozu (1).

### **9.1. Toksoplazmoza u trudnoći**

Akutna infekcija *T. gondii* u trudnoći najčešće je asimptomatska ili mogu biti prisutni regionalni limfadenitis, opća slabost, mialgije, glavobolja, subfebrilitet te rjeđe hepatosplenomegalija, osip i ostali simptomi (3). Majčina klinička slika akutne infekcije u trudnoći ne utječe na povećanje ili smanjenje rizika prijenosa na fetus. U zdravih žena koje su akutnu toksoplazmozu preboljele prije trudnoće neće doći do prijenosa na fetus iako su opisani rijetki slučajevi gdje je došlo do transmisije toksoplazmoze na fetus kada je akutna infekcija nastupila tri mjeseca prije začeća. Do prijenosa na fetus rijetko dolazi i kod imunokompromitiranih žena s kroničnom tj. reaktiviranom toksoplazmozom te oboljelih od sistemskog lupusa eritematozusa na terapiji kortikosteroidima (1).

### **9.2. Kongenitalna toksoplazmoza**

*T. gondii* je važan biološki teratogen i dio akronima TORCH koji uključuje toksoplazmozu, ostale uzročnike, rubelu, citomegalovirus (CMV) i herpes simpleks virus (4).

Kongenitalna toksoplazmoza je posljedica prijenosa *T. gondii* na fetus od strane majke s akutnom infekcijom toksoplazmom tijekom trudnoće. Prezentira se u pet osnovnih oblika: neonatalna bolest, kao blaži ili teži oblik bolesti koja se očituje u prvim mjesecima života, relapsi prethodno nedijagnosticirane toksoplazmoze u novorođenačkoj dobi, djetinjstvu ili adolescenciji, u obliku supkliničke infekcije te kao ultrazvučne abnormalnosti konzistentne s toksoplazmozom ili pozitivni nalaz lančane reakcije polimerazom (PCR) u uzorku amnionske tekućine.

Incidencija i težina kliničke slike kongenitalne toksoplazmoze ovisi o tromjesečju trudnoće u kojemu je nastupila akutna infekcija trudnice. Klinička slike novorođenčadi kod kojih je majčina akutna infekcija nastupila u prvom i drugom tromjesečju trudnoće češće je teža kongenitalna toksoplazmoza za razliku od novorođenčadi kod čijih majki je do infekcije došlo u trećem tromjesečju trudnoće i kod kojih je učestaliji supklinički oblik bolesti. Osim gestacijske dobi u vrijeme akutne infekcije trudnice te soja parazita na ishod za fetus i kliničku sliku utječe i pravovremeno liječenje spiramicinom ili pirimetaminom-sulfadiazinom. Akutna infekcija majke u vrijeme začeća i prva dva tjedna gestacije ukoliko je tretirana spiramicinom smanjuje prijenos *T. gondii* na fetus te stoga smanjuje i mogućnost nastanka kongenitalne toksoplazmoze. Zbog velike vjerojatnosti prijenosa u drugom i trećem tromjesečju trudnoće svim trudnicama kod kojih se sumnja ili je potvrđena akutna toksoplazmoza preporučuje se terapija pirimetamin-sulfadiazinom.

Klinička slika i simptomi kongenitalne toksoplazmoze su raznoliki, a uključuju korioretinitis, strabizam, sljepoću, epilepsiju, psihomotornu ili mentalnu

retardaciju, anemiju, žuticu, petehije kao posljedica trombocitopenije, encefalitis, pneumonitis, mikrocefaliju, hidrocefalus, intrakranijske kalcifikacije, hipotermiju te ostale nespecifične simptome. Zbog nespecifičnosti simptoma diferencijalna dijagnoza kongenitalne toksoplazmoze treba biti opširna i uključivati herpes simpleks virus, CMV i virus rubele. U novorođenčadi rođene u terminu javlja se nešto blaži oblik bolesti sa hepatosplenomegalijom i limfadenopatijom unutar prva dva mjeseca života, simptomi oštećenja CNS-a se javljaju nešto kasnije dok se oftalmološka prezentacija toksoplazmoze javlja mjesecima ili godinama kasnije. Klinička slika kongenitalne toksoplazmoze će se razviti u većine novorođenčadi rođene u terminu sa supkliničkom infekcijom pri porodu. Za razliku od novorođenčadi rođene u terminu infekcija u prematurusa se prezentira simptomima od strane SŽS-a te očnim simptomima unutar prva tri mjeseca života.

U rijetkim slučajevima HIV-pozitivnih trudnica latentna infekcija *T. gondii* može se reaktivirati i dovesti do prijenosa parazita na fetus. Važno je naglasiti da se klinička slika kongenitalne toksoplazmoze u HIV-pozitivne novorođenčadi razvija mnogo brže i izraženija je od kliničke slika kongenitalne toksoplazmoze u HIV-negativne novorođenčadi. Karakteriziraju je multiorganska zahvaćenost koja uključuje SŽS, srce i pluća te zaostatak u rastu, vrućicu, hepatosplenomegaliju, korioretinitis te ostale simptome kongenitalne toksoplazmoze.

Akutna infekcija *T. gondii* u trudnica povezuje se sa spontanom pobačajem i prijevremenim porođajem (1).

## 10. DIJAGNOSTIKA

Laboratorijska dijagnostika toksoplazmoze dijeli se na direktne i indirektne metode. Direktne metode uključuju kultivaciju, detekciju antigena, mikroskopiju te detekciju nukleinskih kiselina. Indirektne metode se temelje na specifičnim protutijelima.

Za razliku od cerebrospinalnog likvora, očne vodice i amnionske tekućine uzorak krvi treba se prikupiti s antikoagulansom za testiranje metodama otkrivanja parazitske DNA, a uzorak čuvamo na 4°C do testiranja.

Krv za serološko testiranje prikuplja se bez antikoagulansa te nakon što se zgruša, uzorak je potrebno centrifugirati i serum poslati u mikrobiološki laboratorij. Serum i cerebrospinalni likvor mogu se pohraniti do nekoliko dana na 4°C ili zamrznuti radi dulje pohrane. Uzorci malih volumena kao što su uzorci očne vodice zamrzavaju se zbog izbjegavanja mogućeg isparavanja. Ukoliko se želi provjeriti imunološki status dovoljan je jedan uzorak seruma, no ako nam je potreban vremenski okvir unutar kojeg je do infekcije došlo jedan uzorak nam nije dovoljan. U većini slučajeva detekcija porasta IgG ili IgM nije moguća jer oni već dosegnu svoj plato u vrijeme uzimanja uzorka. Ako testiramo dva uzorka takvo testiranje mora biti obavljeno istodobno i u istim uvjetima. Rezultate testiranja u različito vrijeme, u različitim laboratorijima ili različitim metodama ne smijemo međusobno uspoređivati kvantitativno već isključivo kvalitativno (2).

### **10.1. Direktne metode**

Direktne metode otkrivanja *T. gondii* u uzorcima uključuju mikroskopiju, detekciju antigena, tehnike detekcije nukleinskih kiselina te detekciju odgovora stanične imunosti.

Vrlo rijetko se tekući uzorci poput heparinizirane krvi ili cerebrospinalnog likvora centrifugiraju te se potom promatraju mikroskopom na predmetnom stakalcu.

Uzorak se prethodno osuši na zraku, fiksira metanolom i oboja Giemsa bojanjem.

U tako pripremljenom preparatu tahizoite možemo uočiti kao slobodne ili unutar stanica domaćina kao što su leukociti.

Detekcija antigena *T. gondii* u tkivu ili tkivnim kulturama je moguća pomoću imunoglobulina označenih fluorescein-izotiocijanatom ili peroksidazom.

PCR tehnologija detekcije nukleinske kiseline *T. gondii* značajna je za prenatalnu dijagnostiku kongenitalne toksoplazmoze u uzorku amnionske tekućine.

Najznačajniji markeri za PCR su 18S ribosomska DNA te B1 i AF146257 geni.

Metode odgovora stanične imunosti uključuju test otpuštanja interferona-gama u kongenitalno zaražene novorođenčadi (2).

### **10.2. Metode izolacije**

Nakon obrade tkivo ili uzorak inokuliramo intraperitonealno u miša ili direktno u staničnu kulturu. Ukoliko je parazit virulentan za miša prisutnost parazita se može dokazati u peritonealnoj tekućini pet do deset dana od inokulacije, a miša je potrebno monitorirati četiri do šest tjedana od inokulacije. Najčešće parazit nije virulentan za miša stoga se nakon šest tjedana prikuplja uzorak krvi miša za

serološko testiranje. U slučaju pozitivne serologije na *T. gondii* mozak miša se uzorkuje i pregleda na prisustvo cista *T. gondii*.

Izolacija *T. gondii* inokulacijom u staničnu kulturu brža je metoda od inokulacije u miša jer se citopatski učinak parazita uočava direktnim metodama već nakon 24-96 sati od inokulacije. Giemsa bojanje može pokazati strukturu parazita, no stanice s parazitima se teško uočavaju zbog čega koristimo metode imunofluorescencije.

Obje metode izolacije *T. gondii* u mišu i u staničnoj kulturi su korisne za dijagnostiku kongenitalne toksoplazmoze (2).

### **10.3. Serologija**

Serološke metode smatraju se primarnom dijagnostike toksoplazmoze. Da bismo mogli ustanoviti je li infekcija akutna ili kronična potrebno je najčešće koristiti više različitih seroloških testova, a sam odabir testova ovisi o karakteristikama pacijenta (imunokompetentni ili imunodeficijentni, sumnja na okularnu toksoplazmozu, trudnice i novorođenčad) te o vremenskom periodu od kontakta s uzročnikom.

Titar imunoglobulina klase G (IgG) pojavljuje se unutar prva dva tjedna od infekcije s vrhuncem između prvog i drugoga mjeseca od početka infekcije.

Nakon navedenog perioda titar opada i u većini slučajeva ostaje doživotno u niskim koncentracijama. Najčešće korišteni testovi za detekciju IgG su Sabin-Feldman „dye test”, imunoenzimni test (engl. „Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”; ELISA), metoda indirektna imunofluorescencije (engl. Indirect Immunofluorescence; IFA) i test modificirane indirektna aglutinacije.

Sabin-Feldman „dye test” osjetljiv je i specifičan test neutralizacije koja mjeri primarna IgG protutijela koja se pojavljuju unutar prva dva tjedna od infekcije s vrhuncem između šestog i osmog tjedna. Negativni nalazi ovog testa praktički isključuju kontakt s *T. gondii* osim u pacijenata koji su se zarazili nedavno (unutar tjedan dana) i izrazito imunokompromitiranima.

IFA mjeri ista protutijela kao i prethodno spomenuti test.

Test aglutinacije sadrži cijele tahizoite u formalinu, a mjeri titar IgG protutijela i imunoglobuline klase M (IgM). Metoda je precizna, jeftina i jednostavna za korištenje što je čini pogodnom i praktičnom za probirno testiranje osoba pod rizikom.

Najčešće korištena metoda je IgG-ELISA, a važno je naglasiti da na temelju jednog titra ne možemo odgovoriti na pitanje kada je infekcija nastupila.

Metoda aviditeta IgG protutijela se temelji na činjenici da se tijekom akutne infekcije specifična IgG protutijela vežu slabije za antigen za razliku od kroničnih infekcija pri kojima je ta veza protutijelo-antigen puno čvršća. Vremensko razdoblje u kojemu je došlo do promjene jačine vezanja je individualno, no kada su detektirana protutijela visokog aviditeta smatramo da je do infekcije došlo najmanje tri do pet mjeseci ranije. Ovaj test se koristi kao dodatna potvrda i samo na temelju njega nikada se ne bi trebale donositi odluke.

Veoma korisna u dijagnostici akutne infekcije trudnica su IgM protutijela koja se pojavljuju ranije od IgG protutijela i brže opadaju od titra istog.

„Double-sandwich” IgM-ELISA jedna je od najčešće korištenih metoda u detekciji *Toxoplasma* IgM specifičnih protutijela u fetusa, novorođenčadi i odraslih.

Problematika vezana uz postojanje pozitivnog titra čak i godinama nakon akutne infekcije smatra se glavnom preprekom u interpretaciji rezultata testiranja ovom metodom.

„IgM-immunosorbent” aglutinacijski test (ISAGA) je izrazito osjetljivi test u kojemu se IgM protutijela iz seruma vežu za čvrstu podlogu na mrtve tahizoite te na taj način dolazi do detekcije specifična protutijela. Ova metoda se smatra najosjetljivijom i najpouzdanijom za dijagnostiku kongenitalne toksoplazmoze u novorođenčadi stare šest mjeseci ili mlađe. Pozitivni test unutar prvih deset dana života treba ponoviti nakon sljedećih deset dana da bi se izbjegla moguća lažna dijagnoza zbog detekcije majčinih protutijela.

Imunoglobulini klase A (IgA) korisni su u dijagnostici kongenitalne toksoplazmoze, a mogu se detektirati ELISA ili ISAGA metodama. U slučaju pozitivnog testa unutar prvih deset dana života testiranje moramo ponoviti nakon sljedećih deset dana da bismo mogli isključiti moguća majčina protutijela.

Za razliku od IgM i IgA imunoglobulini klase E (IgE) su kraće prisutni u serumu i stoga su korisniji i pouzdaniji u detekciji akutne infekcije. Pozitivna su u akutno inficiranih odraslih osoba i u kongenitalno zaražene novorođenčadi. Za dijagnostiku kongenitalne toksoplazmoze titar IgE je manje osjetljiv od titrova IgM i IgA (1).

#### **10.4. Radiološka dijagnostika**

Radiološke metode neizostavan su dio dijagnostike toksoplazmoze SŽS-a.

Prisustvo kalcifikacija u mozgu novorođenčeta uz unilateralno ili češće bilateralno



i simetrično proširenje moždanih komora ukazuje nam na moguću kongenitalnu toksoplazmozu (1).

### **10.5. Dijagnostika u trudnica**

Žene kod kojih su prije začeća bila prisutna *Toxoplasma* specifična IgG protutijela i uz to su imunokompetentne smatramo imunima. U toj populaciji postoji veoma mali rizik prijenosa infekcije na fetus iako postoje slučajevi infekcije drugim genotipom i posljedično kongenitalne toksoplazmoze. U žena koje testiramo nakon začeća s prisustvom IgG specifičnih protutijela potrebno je učiniti još i test aviditeta IgM i IgG da bismo mogli utvrditi kada je do infekcije došlo. Visoki aviditet unutar prvih dvanaest tjedana trudnoće praktički isključuje mogućnost akutne infekcije tijekom gestacije. Rezultat niskog aviditeta ne pomaže nam u dijagnostici zbog toga što niski aviditet može postojati i mjesecima nakon infekcije. Ako s više različitih testova potvrdimo da je do akutne infekcije došlo tijekom trudnoće indiciran je spiramicin, a preporučuje se uzeti uzorke amnijske tekućine i fetalne krvi između dvadesetog i dvadesetšestog tjedna trudnoće. PCR *T. gondii* iz amnijske tekućine je test izbora od osamnaestog tjedna trudnoće ili kasnije. Fetalni ultrazvuk je indiciran svakih dva do četiri tjedna do porođaja da bi se na vrijeme uočili znakovi kongenitalne toksoplazmoze kao što su moždane ili hepatične kalcifikacije, hidrocefalus, hepatomegalija ili ascites. Ako nam je dostupna fetalna krv testiramo ju na *Toxoplasma* specifična IgG, IgM i IgA protutijela, a zgrušanu krv možemo inokulirati u miša ili staničnu kulturu da bismo parazite dokazali direktnim metodama. Laboratorijska analiza fetalne krvi uključuje leukocite, eozinofile,

trombocite, ukupni IgM, gama-glutamilttransferazu (GGT) i laktat dehidrogenazu kao nespecifične parametre upale. Većina fetusa će imati povećani ukupni IgM ili povišene vrijednosti GGT, a konačnu dijagnozu fetalne infekcije donosimo na temelju nalaza *Toxoplasma* specifičnih IgM ili IgA protutijela iz seruma fetusa (2).

### **10.6. Dijagnostika u novorođenčeta**

Dijagnostika u novorođenčeta se temelji na kombinaciji seroloških metoda, izolacije parazita i ostalih nespecifičnih nalaza koji upućuju na kongenitalnu toksoplazmozu. Serum novorođenčeta testiramo na ukupna IgG i IgM protutijela te na *Toxoplasma* specifična IgG, IgM i IgA protutijela. U analizi cerebrospinalnog likvora potrebne su nam informacije o prisustvu stanica, glukoze, proteina, ukupni IgG i *Toxoplasma* specifična IgM i IgG protutijela te prisustvo *T. gondii* tahizoita (2).

Majčina IgG protutijela u krvi novorođenčeta mogu biti posljedica prošle ili nedavne infekcije majke stoga se u dijagnostici češće služimo nalazima IgM protutijela i nešto osjetljivijim nalazima IgA protutijela. U slučaju pozitivnog nalaza IgG specifičnih protutijela i negativnog nalaza IgM i IgA specifičnih protutijela i neuspješne izolacije *T. gondii* moramo ponovno serološki testirati novorođenče. Kombinacija „Western blot” tehnike s konvencionalnim serološkim testiranjem smatra se najosjetljivijom za dijagnostiku kongenitalne toksoplazmoze unutar prvih tri mjeseca života (1). Novorođenče kod kojeg se sumnja na kongenitalnu toksoplazmozu potrebno je uputiti na pregled oftalmologu i neurologu te na kompjutersku tomografiju (CT) mozga (2).

## **11. DIFERENCIJALNA DIJAGNOSTIKA**

Diferencijalna dijagnoza kongenitalne toksoplazmoze mora uključivati infekciju virusom rubele, CMV, herpes simpleks virusom, humanim herpesvirusom 6, parvovirusom B19, sifilis, listeriozu, ostale infektivne encefalopatije, sepsu i fetalnu eritroblastozu. CMV i virus rubele povezani su s pojavom mikrocefalije, hidrocefalusa i cerebralnih kalcifikacija. Važno je osvrnuti se na herpes simplex virus, CMV, virus rubele i sifilis koji također uzrokuju korioretinitis u novorođenčeta (1).

## 12. LIJEČENJE

Terapija toksoplazmoze zasniva se na pirimetaminu sa sulfadiazinom ili klindamicinom, a primarno djeluje na tahizooite *T. gondii*. Pirimetamin je antagonist folne kiseline i smatra se trenutno najučinkovitijom terapijom toksoplazmoze (1). On je selektivan inhibitor dihidrofolat reduktaze (5). Zbog mehanizma djelovanja potrebna je nadoknada folne kiseline 5-10 mg oralno ili u HIV-pozitivnih pacijenata do 50 mg/dan oralno da bi se izbjegla supresija koštane srži. Hematološki parametri moraju se redovno kontrolirati u svih pacijenata na pirimetaminu u početku dva puta tjedno, a kasnije svaka dva do četiri tjedna. Ako je moguće monoterapija pirimetaminom se izbjegavate mu se dodaju ili sulfadiazin ili klindamicin. Sulfadiazin djeluje sinergistički s pirimetaminom, no važno je pravovremeno uočiti novonastale osipe na koži i kontrolirati bubrežnu funkciju zbog njegove nefrotoksičnosti. Pogoršanje encefalopatije, halucinacije ili novonastali psihijatrijski simptomi u pacijenata s AIDS-om mogu biti povezani s terapijom sulfadiazina (1).

Klindamicin je alternativan dodatak pirimetaminu u pacijenata koji ne podnose terapiju sulfadiazinom (2). Ovaj derivat linkomicina interferira sa stvaranjem inicijalnog kompleksa sprječavajući sintezu proteina. Štetni učinci uključuju proljev, mučninu i kožne osipe (5).

Važan lijek u prevenciji kongenitalne toksoplazmoze je spiramicin koji smanjuje rizik prijenosa na fetus te samim time i nastanak kongenitalne toksoplazmoze (1).

### **12.1. Specifičnosti liječenja akutne infekcije u trudnica**

Potpuna eliminacija rizika transmisije *T. gondii* s akutno zaražene majke na fetus trenutno nije moguća no spiramicin u dozi od 1 grama svakih 8 sati smanjuje rizik prijenosa za otprilike 60%. Sumnja ili potvrđena akutna infekcija trudnice prije osamnaestog tjedna trudnoće je indikacija za spiramicin, a najbolji rezultati se ostvaruju ako se s njime započne unutar prvih osam tjedana od serokonverzije. Terapija spiramicinom se nastavlja sve do porođaja. Sumnja ili potvrđena akutna infekcija trudnice u osamnaestom tjednu trudnoće ili kasnije indikacija je za kombiniranu terapiju sulfadiazinom (početna doza 75 mg/kg, pratiti s 50 mg/kg svakih 12 sati, pirimetaminom (50 mg svakih 12 sati prva dva dana, a kasnije 50 mg/dan) i folnom kiselinom (10-20 mg/dan tijekom i jedan tjedan nakon terapije pirimetaminom). Terapija pirimetaminom se izbjegava unutar prvih dvanaest ili četrnaest tjedana trudnoće zbog mogućeg teratogenog učinka (1).

### **12.2. Terapija kongenitalne toksoplazmoze**

Terapijski pristup u kongenitalnoj toksoplazmozi traje minimalno dvanaest mjeseci, a uključuje kontinuirano sulfadiazin (50 mg/kg svakih 12 sati), pirimetamin (1 mg/kg svakih 12 sati prva dva dana, zatim od trećeg dana 1 mg/kg/danu sljedećih dva do šest mjeseci, te potom ista doza tri puta tjedno) i folnu kiselinu (10 mg tri puta tjedno tijekom terapije i tjedan dana nakon ukidanja pirimetamina. Ishod liječenja je povoljniji u većine pacijenata liječenih dvanaest mjeseci od neonatalnog razdoblja i uključuje poboljšanje intelektualnih

sposobnosti, regresiju lezija retine, smanjuje potrebu za antikonvulzivnom terapijom te dovodi do smanjenja ili nestanka cerebralnih kalcifikacija (1).

### 13. PREVENCIJA

Svaku trudnicu trebalo bi educirati o mjerama prevencije toksoplazmoze kao prvi korak u sprječavanju kongenitalne toksoplazmoze.

Prevencija infekcije *T. gondii* uključuje izbjegavanje sirove ili nedovoljno pečene svinjetine, janjetine, govedine, mljevenog mesa, kamenica, dagnji, divljači, čišćenja mačjeg pijeska i kontakta s fecesom mačaka i mačića, rada u vrtu i ostalog kontakta sa zemljom te izbjegavanje konzumacije sirovog ili neoprano voća i povrća.

Daske za rezanje, noževe, pribor za jelo, ruke i sve što je bilo u kontaktu sa sirovim mesom, peradi, morskim plodovima te neopranim voćem i povrćem potrebno je oprati sapunicom i toplom vodom. U slučaju kontakta sa zemljom prilikom vrtlarstva ili neke druge aktivnosti uporaba gumenih rukavica i naknadno pranje ruku smatra se važnom mjerom prevencije. Trudnice bi trebale izbjegavati čišćenje mačjeg pijeska ako je moguće, a ako nije trebaju nositi rukavice i naknadno detaljno oprati ruke. Potrebno je naglasiti da oociste *T. gondii* postaju infektivne nakon jednog dana stoga je svakodnevno čišćenje mačjeg pijeska od fecesa važna mjera prevencije toksoplazmoze. Mačke bi trebale boraviti u kući da bi se izbjegao lov na glodavce i jesti konzerviranu ili suhu mačju hranu. Trudnicama se ne preporučuje kontakt s novim mačkama za vrijeme trudnoće. Voda za piće treba biti sanitarno ispravna da bi se izbjegla kontaminacija oocistama *T. gondii*. Zamrzavanje mesa nekoliko dana na temperature ispod nule uvelike smanjuje rizik od infekcije (2).

## **14. SEROLOŠKI PROBIR**

Prenatalni probir i serološka dijagnostika uvelike smanjuju incidenciju teže kliničke slike kongenitalne toksoplazmoze. Serološki bi trebalo testirati IgM specifična protutijela svim trudnicama s pozitivnim IgG antitijelima. U slučaju pozitivnog nalaza IgM protutijela uzorak treba poslati u referentni laboratorij. U slučaju negativnog IgM protutijela u prvom tromjesečju trudnoće daljnje testiranje nije potrebno zbog male vjerojatnosti akutne infekcije trudnice. U slučaju negativnog nalaza IgM protutijela u drugom tromjesečju trudnoće također isključujemo mogućnost akutne infekcije trudnice (1).



## **15. ZAHVALE**

Posebnu zahvalnost dugujem mentoru doc. dr. sc. Mariu Svibenu na savjetima, pomoći i ukazanom povjerenju.

Hvala mojoj obitelji i prijateljima na podršci koju mi pružaju cijeli život.

## 16. LITERATURA

1. Mandell G, Bennett J, Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7. izd. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2009.
2. Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DV, ur. Manual of Clinical Microbiology. 11. izd. Washington, DC: ASM Press; 2015.
3. Šandrak E, Šagud M, Vlatković S, Sviben M. *Toxoplasma gondii* u psihijatrijskim poremećajima. Soc. psihijat. 2016;44:152-172
4. Damjanov I, Seiwert S, Jukić S, Nola M, ur. Patologija. 4. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2014.
5. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Temeljna i klinička farmakologija. 11. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2012.

## **17. ŽIVOTOPIS**

**Ana-Marija Ljubenković**

**Datum i mjesto rođenja:** 1. travanj 1993. god., Sisak

### **Obrazovanje:**

2000.-2008.: Osnovna škola Viktorovac

2008.-2012.: Prirodoslovno-matematička gimnazija Sisak

2012.-2018.: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet

### **Tečajevi:**

Hrvatsko društvo za reanimatologiju HLZ – BLS i ILS

**Profesionalni interesi:** mikrobiologija, patologija, radiologija, onkologija