

Grzegorz Karczewski¹, Elżbieta Gołąb²**PROBLEMY DIAGNOSTYKI TOKSOPLAZMOZY WRODZONEJ**

DIAGNOSTIC PROBLEMS WITH CONGENITAL TOXOPLASMOSIS

¹Grupa Lux Med, ²Zakład Parazytologii Lekarskiej
Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego- Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

STRESZCZENIE

Wrodzona toksoplazmoza jest wynikiem pierwotnego zarażenia pierwotniakiem *Toxoplasma gondii* w trakcie trwania ciąży. Im późniejsza ciąża, tym ryzyko zarażenia płodu jest większe, chociaż nasilenie zmian chorobowych jest dużo mniejsze lub są to zarażenia bezobjawowe w okresie noworodkowym. Jednak skutkiem inwazji nierozpoznanej w okresie okołourodzeniowym jest rozwój zmian chorobowych, które ujawniają się w późniejszych okresach życia w postaci zaburzeń wzroku, słuchu, objawów neurologicznych, czy opóźnienia psychomotorycznego. Systematyczne, częste, badania serologiczne ciężarnych umożliwiają wczesne wykrycie zarażenia pierwotnego i wdrożenie leczenia, które ogranicza postęp choroby u dzieci zarażonych wewnątrzmacicznie. Obniża to w konsekwencji nakłady, jakie muszą być przeznaczane przez państwo na długotrwałą opiekę nad osobami ze znacznym stopniem niepełnosprawności.

Słowa kluczowe: *Toxoplasma gondii*, toksoplazmoza wrodzona, diagnostyka laboratoryjna

ABSTRACT

Congenital toxoplasmosis results from the primary infection with *Toxoplasma gondii* during the pregnancy. The more advanced pregnancy the higher risk of foetus infection, however the symptoms might be mild or the infection can be asymptomatic. However, undiagnosed infection in a new born baby results in further development of the disease in early childhood reflecting in sight and hearing impairment, neurological symptoms or mental retardation. Systematic and frequent serologic tests performed during the pregnancy can lead to the early diagnosis of primary infection and help to implement the treatment which slows down the disease progression in children with intrauterine infection. It also reduces the costs of long-term medical care required for the significantly disabled patients

Key words: *Toxoplasma gondii*, congenital toxoplasmosis, diagnostics

WSTĘP

Czynnikiem etiologicznym toksoplazmozy jest wewnątrzkomórkowy pierwotniak *Toxoplasma gondii* należący do *Apicomplexa*. Wykazano, że większość izolowanych szczepów pasożyta (powyżej 94%) należy do jednej z trzech linii klonalnych różniących się wieloma cechami fenotypowymi oraz wirulencją. W cyklu życiowym *T. gondii* występuje kilka form rozwojowych, które pozwalają mu krążyć wśród żywicieli. Jedną z nich to oocysta, niezwykle odporna na działanie czynników fizycznych oraz powszechnie stosowanych dezynfektantów, może pozostać żywotna w środowisku zewnętrznym przez wiele miesięcy. Oocysty powstają w przewodzie pokarmowym żywicieli ostatecznych *Toxoplasma*, którymi są kotowate, w naszym regionie geograficznym są to głównie koty domowe. Wykazano, że przy zarażeniu pierwotnym kot domowy może

wydać do miliona oocyst dziennie przez okres 1 do 3 tygodni (1). Zarażenie żywiciela pośredniego, którym dla *T. gondii* jest również człowiek, następuje w wyniku przypadkowego spożycia znajdujących się w środowisku zewnętrznym oocyst bądź spożycia formy tkankowej pasożyta, cysty, znajdującej się w mięsie. Rzadziej przyczyną inwazji są tachyzoity, formy wewnątrzkomórkowe, które mogą zostać przeniesione wraz z krwią lub zarażonymi tkankami; są one przyczyną zarażeń wewnątrzmacicznych. Tachyzoity aktywnie wnikają do komórek jądrzastych krwi i wraz z nimi docierają do wielu tkanek i narządów, gdzie formują cysty, wewnątrz których pasożyt może pozostać żywotny do końca życia swojego żywiciela (2).

Toxoplasma gondii jest patogenem oportunistycznym, który rzadko doprowadza do śmierci żywiciela, ponieważ zwykle prowadzi ona także do śmierci pasożyta. Dlatego u osób z poprawnie działającym ukła-

dem odpornościowym zarażenie *T. gondii* przebiega zazwyczaj bezobjawowo. Pasożyt namnażający się intensywnie w ostrej fazie inwazji indukuje powstawanie odporności swoistej, która w okresie późniejszym pobudzana jest dawkami przypominającymi antygeny uwalnianego z pękających cyst tkankowych. Negatywne następstwa związane z pękaniem cyst obserwowane są w przypadku ulokowania się pasożyta w gałce ocznej, gdzie niewielkiemu zniszczeniu tkanki odpowiadać może istotny ubytek widzenia (3).

Swoista odporność ogranicza liczebność pasożyta w organizmie i chroni osobę zarażoną przed powtórną inwazją. Odporność toksoplazmowa nie jest jednak doskonała. Stwierdzono bowiem, że istnieje możliwość przełamania bariery immunologicznej, przez szczepy *Toxoplasma* które mają wyższą wirulencję, chociaż takie przypadki opisywane są raczej rzadko (1).

Do zaburzenia równowagi *T. gondii* – żywicieli dochodzi w okolicznościach dramatycznego obniżenia odporności organizmu żywicielskiego. Następuje wówczas niekontrolowane uaktywnienie inwazji prowadzące do rozwoju zmian chorobowych, które skupiają się głównie w mózgu, który traci zdolności obronne w pierwszej kolejności w warunkach obniżającej się odporności (4).

ZARAŻENIA WRODZONE

Pierwotna inwazja *T. gondii* nie stwarza zagrożenia zdrowotnego dla kobiety ciężarnej z prawidłowo funkcjonującym układem odpornościowym, wiąże się jednak z poważnymi konsekwencjami dla płodu, który nie posiada pełnej kompetencji immunologicznej. Brak swoistej odporności powoduje, że możliwe staje się przeniknięcie tachyzoitów *Toxoplasma* przez łożysko do płodu. W takiej sytuacji początkowo dochodzi do uogólnionej inwazji, którą sukcesywnie ograniczają przeciwciała wytwarzane przez matkę. Najdłużej pasożyt pozostaje aktywny w narządach, które najpóźniej nabywają swoistą odporność, to jest w mózgu i w gałce ocznej, wywołując tam przewlekły stan zapalny. Dlatego charakterystyczne dla toksoplazmozy wrodzonej są zmiany chorobowe w obrębie właśnie tych narządów (5). Im wcześniejszy jest wiek ciąży, w którym nastąpi zarażenie matki, tym mniejsze jest ryzyko zarażenia płodu, ale objawy tego zarażenia są bardziej wyrażone. Ryzyko transmisji pierwotniaka przy zarażeniu ciężarnej bezpośrednio prekonceptyjnie lub w I trymestrze nie przekracza 10%, jednak może doprowadzić do poronienia lub obumarcia płodu. Jeśli do zarażenia dojdzie w II trymestrze, ryzyko transmisji wertykalnej wzrasta do około 40% i jego konsekwencją są poważne zmiany narządowe: małogłowie, wodogłowie, małowocze, zwapnienia wewnątrzczaszkowe, powiększenie

wątroby i śledziony, wodobrzusze. W III trymestrze ryzyko zarażenia płodu wynosi 65-100%, ale 90% stanowią infekcje bezobjawowe przy urodzeniu (6). U dzieci z nierozpoznaną toksoplazmozą wrodzoną, które bezpośrednio po urodzeniu nie wykazują objawów w badaniu przedmiotowym, dochodzi często do rozwoju zmian w obrębie ośrodkowego układu nerwowego i dna oka, które uwidaczniają się w późniejszych okresach życia. Są to zaburzenia wzroku ze ślepotą włącznie, zaburzenia słuchu, opóźnienie psychomotoryczne, objawy neurologiczne (7).

W Polsce brak jest dokładnych danych epidemiologicznych o częstości występowania toksoplazmozy wrodzonej. Na podstawie badań przeprowadzonych w grupie ponad 45 000 noworodków w Wielkopolsce w latach 1996-2006 określono, że częstość występowania zarażeń wrodzonych wynosi około 2 przypadki na 1 000 żywych urodzeń (8). Dla porównania zapadalność na 10 000 żywych urodzeń w innych krajach wynosiła: Francja - 2.9, Dania - 2.1, Szwajcaria - 4.3, Szwecja - 0.73 (9). W Stanach Zjednoczonych każdego roku rodzi się od 500 to 5000 dzieci z toksoplazmozą wrodzoną (10).

METODY ROZPOZNAWANIA

Zdolność *Toxoplasma gondii* do silnego pobudzenia układu odpornościowego żywiciela sprawia, że przy diagnostyce zarażenia wysoce efektywne są badania serologiczne. W odpowiedzi na stymulację antygenową w okresie pierwszych 2-3 tygodni inwazji pojawiają się przeciwciała toksoplazmowe klasy IgM, a następnie z niewielkim opóźnieniem IgA i w końcu IgG. Miano swoistych przeciwciał IgG na poziomie wartości niskich utrzymuje się nawet do końca życia, natomiast przeciwciała IgM i IgA zwykle zanikają w ciągu 3 miesięcy od zarażenia (11). Dostyc często zdarzają się przypadki utrzymywania się przeciwciał klasy IgM nawet przez kilkanaście miesięcy od zarażenia (12).

W przypadku podejrzenia przypadku toksoplazmozy wrodzonej w okresie prenatalnym należy pozyskać dowody wskazujące na inwazję w stanie ostrym. Ogólną zasadą postępowania diagnostycznego jest rozpoczęcie badań od testów przesiewowych, a następnie wykonywanie testów potwierdzających na wyselekcjonowanym materiale. Oznaką serologiczną zarażenia ostrego jest: obecność w badanej próbce przeciwciał klasy IgM, IgA i niskiego odsetka przeciwciał klasy IgG o wysokiej awidności (<20%). Do pewnego rozpoznania toksoplazmozy pierwotnej upoważnia zmiana wyniku ujemnego na dodatni w badaniach serologicznych wykonanych w trakcie ciąży. Zarażenie określa się jako prawdopodobne gdy: stwierdzono serokonwersję porównując wyniki badań przeprowadzonych przed i po zajściu

w ciąży; w przypadkach znamiennego przyrostu miana przeciwciał klasy G do wartości wysokich (około 300 j.m./ml) między badaniami wykonanymi w odstępie 3 tygodni; w przypadku obecności niskiego odsetka przeciwciał klasy G o wysokiej awidności oraz przy obecności przeciwciał klasy IgM i IgA (11).

Zarażenie płodu można potwierdzić wykryciem *T. gondii* lub jego DNA w płynie owodniowym (13).

W pierwszym półroczu życia dziecka rozpoznanie toksoplazmozy wrodzonej można postawić na podstawie: stwierdzenia obecności *Toxoplasma* lub jego DNA w tkankach lub płynach ustrojowych lub wykrycia w surowicy krwi swoistych przeciwciał, które nie przechodzą przez łożysko, to jest przeciwciał klasy IgA i IgM. O zarażeniu świadczy również utrzymywanie się swoistych przeciwciał toksoplazmowych klasy IgG przez jeden rok życia, ponieważ przeciwciała nabyte od matki w sposób bierny zanikają przed upływem roku.

W badaniach postnatalnych rutynowo wykorzystuje się testy na obecność swoistych przeciwciał IgM i IgA noworodka w surowicy krwi pobranej zaraz po porodzie. Jednak u 15-30% zarażonych dzieci te przeciwciała nie występują. Ponadto zaobserwowano przypadki fałszywie ujemnych wyników badania dziecka, gdy matka w trzecim trymestrze ciąży była leczona przeciw pierwotniakowo oraz wyników fałszywie dodatnich spowodowanych przenikaniem matczynych przeciwciał w trakcie porodu. Od 10 do 20% zbadanych próbek krwi pępowinowej zawiera krew matczyną, dlatego dodatnie wyniki badań próbek pobranych do trzech dni po porodzie powinny być potwierdzone wynikami badań wykonanych około 10 dnia po urodzeniu (14).

Przetrwiała obecność lub wzrost poziomu przeciwciał IgG w ciągu pierwszego roku życia może w pełni potwierdzić rozpoznanie toksoplazmozy wrodzonej, ale jest to proces bardzo czasochłonny, uniemożliwiający wczesne rozpoczęcie leczenia zarażonych noworodków. Możliwość stwierdzenia, czy wykryte u noworodka przeciwciała klasy G są pochodzenia matczynego czy własne stwarza badanie swoistej odpowiedzi przeciw pojedynczym frakcjom białkowym *T. gondii* metodą Western Blot (LDBio Diagnostics, Lyon, France) (15). Jest to test jakościowy, w którym porównywane są profile odpowiedzi immunologicznych klas przeciwciał IgG i IgM w surowicy krwi matki oraz krwi pępowinowej dziecka lub porównany jest profil krwi pępowinowej z próbkami surowicy krwi dziecka pobranymi w kolejnych miesiącach życia. Badanie to może być jednak przeprowadzone tylko do trzeciego miesiąca życia dziecka.

ZALECENIA DIAGNOSTYCZNE

Nowe rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 września 2010 r. przewiduje wykonywanie badań na obecność przeciwciał przeciwko toksoplazmozie klas IgM i IgG dwa razy: pierwsze badanie do 10 tyg. ciąży i drugie dla kobiet, u których nie stwierdzono wcześniej obecności przeciwciał w 21-26 tygodniu ciąży (16). Zbyt długie odstępy pomiędzy kolejnymi badaniami u kobiet seronegatywnych, a szczególnie zaniechanie wykonywania badań w trzecim trymestrze, w którym ryzyko zarażenia płodu jest największe, może doprowadzić do znaczącego wzrostu liczby ciężkich przypadków toksoplazmozy wrodzonej z powodu braku leczenia ograniczającego postępy choroby. Skutki takiego postępowania mogą mieć nie tylko konsekwencje medyczne, ale także ekonomiczne, gdyż w przyszłości zaistnieje konieczność podniesienia nakładów przeznaczanych przez państwo na długotrwałe leczenie i opiekę nad osobami ze znacznym stopniem niepełnosprawności.

Zalecenia dotyczące badań serologicznych kobiet ciężarnych w kierunku toksoplazmozy wrodzonej obowiązują również w kilku innych krajach Unii Europejskiej. Badania wykonywane są na przykład w: Austrii - co 3 miesiące, Włoszech - co 1 miesiąc (jedynie na terenie Kampanii), na Litwie - 2 razy w ciąży i 1 raz po porodzie oraz na Słowenii - co 3 miesiące w ciąży (17).

We Francji od 1978 r. istnieje narodowy program zwalczania toksoplazmozy wrodzonej, a od 1992 r. jest ustawowy obowiązek wykonywania co miesiąc badań na obecność przeciwciał IgG i IgM u wszystkich seronegatywnych kobiet ciężarnych przez cały czas trwania ciąży. W ramach programu wykonywane są także badania specjalistyczne obejmujące: badanie płynu owodniowego metodą PCR, próbę biologiczną, hodowle komórkowe pasożyta oraz badania serologiczne noworodka na obecność przeciwciał klas IgM i IgA, a także ocenę dynamiki przeciwciał IgG w pierwszym roku życia dziecka (18,19).

PODSUMOWANIE

Wrodzona toksoplazmoza jest wynikiem pierwotnego zarażenia *Toxoplasma gondii* w trakcie trwania ciąży. Korelacja między prawdopodobieństwem zarażenia płodu a zmianami klinicznymi jest odwrotnie proporcjonalna - im wcześniejszy jest wiek ciążowy, tym mniejsze jest ryzyko zarażenia płodu, ale objawy tego zarażenia są bardziej wyrażone, im późniejsza ciąża tym ryzyko zarażenia płodu większe, ale nasilenie zmian chorobowych jest dużo mniejsze lub są to zarażenia bezobjawowe w okresie noworodkowym. Systematyczne, częste, badania serologiczne kobiet ciężarnych

umożliwiają wczesne wykrycie zarażenia *Toxoplasma gondii* i wdrożenie leczenia, które ogranicza postęp choroby u dzieci zarażonych wewnątrzmacicznie.

PIŚMIENNICTWO

- Sibley DL, Khan A, Ajioka JW, Rosenthal BM. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals and humans. *Phil Trans R Soc B* 2009; 364: 2749-61.
- Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *The Lancet* 2004; 363: 1965-76.
- Dzbeński TH. Intrygujące aspekty odporności i zapobiegania w toksoplazmozie. *Przeegl Epidemiol* 2003; 57: 571-77.
- Frenkel JK. Toxoplasmosis. W: Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA, red. *Pathology of Infectious Diseases vol. II*. Stanford: Appleton & Lange; 1997: 1261-77.
- Dzbeński TH. Patogeneza i zmiany histopatologiczne w toksoplazmozie. W: Milewska-Bobula B., red. *Toksoplazmoza*. Warszawa: Biuro Gamma Chris-Comp; 1999: 24-30.
- Niezgoda A, Dobrzańska A, Toksoplazmoza wrodzona – rozpoznawanie i leczenie. *Przew Lek* 2008; 2: 44-50.
- Boyer K.M., Holfels EN, Roizen N, i in. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis: Implications for prenatal management and screening. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192: 564-71.
- Paul M. Toksoplazmoza groźna choroba pasożytnicza kobiet ciężarnych i pacjentów z osłabioną funkcją układu odpornościowego. *Kosmos Problemy Nauk Biologicznych* 2005; 54: 77-88.
- Villena I, Ancelle T, Delmas C, i in. Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system. *Euro Surveill* 2010; 15 (25).
- Montoya JG, Remington J.S. Management of *Toxoplasma gondii* Infection during Pregnancy. *Acta Paediatrica* 2008; 97: 1298-300
- Dzbeński TH. Zasady diagnostyki laboratoryjnej toksoplazmozy. W Milewska-Bobula B., red. *Toksoplazmoza*. Warszawa: Biuro Gamma Chris-Comp; 1999; 31-39.
- Basiak W, Żarnowska H, Dziubek Z, Kajfasz P. Przydatność odczynów serologicznych w rozpoznawaniu wczesnej fazy zarażenia *Toxoplasma gondii*. *Przeegl Epidemiol* 2001; 55: 475-82.
- Remington, J S, Thulliez, P, Montoya J G. Recent Developments for Diagnosis of Toxoplasmosis *J Clin Microbiol* 2004; 42:941-45.
- Machado, AS, Andrade GMQ, Januário JN i in. IgG and IgM western blot assay for diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2010; 105:757-61.
- Franck J, Garin Y. J.F, Dumon, H. LDBio-Toxo II Immunoglobulin G Western Blot Confirmatory Test for Anti-Toxoplasma antibody detection. *J Clin Microbiol* 2008; 46:2334-38.
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 września 2010 r. w sprawie standardów postępowania oraz procedur medycznych przy udzielaniu świadczeń zdrowotnych z zakresu opieki okołoporodowej sprawowanej nad kobietą w okresie fizjologicznej ciąży, fizjologicznego porodu, położu oraz opieki nad noworodkiem. *Dz. U. nr. 187, poz. 1259*.
- Leroy V, Raeber PA, Petersen E i in. Full report, Version 5 December 12th, 2005. EUROTOXO European TOXO PREVENTION Project Prevention of Congenital Toxoplasmosis: A European initiative on the state-of-science National public health policies and routine programs to prevent
- Villard O, Jung-Étienne J., Cimon B i in. Sérodiagnostic de la toxoplasmose en 2010 : conduite à tenir et interpretation en fonction des profils sérologiques obtenus par les méthodes de dépistage. *Feuillets de Biologie* 2011; 52 (298).
- Flori P, Chene G, Varlet MN, Tran Manh Sung R. Sérologie de la toxoplasmose chez la femme enceinte: caractéristiques et pièges. *Ann Biol Clin* 2009; 67: 125-33.

Otrzymano : 27.05.2011 r.

Zaakceptowano do druku: 20.06.2011 r.

Adres do korespondencji :

Lek. med. Grzegorz Karczewski

Specjalista chorób zakaźnych

LUX MED Sp. z o.o.

ul. Postępu 21C, 02-676 Warszawa

Tel. 0 604858474

e- mail: grzegorz.karczewski@gmail.com