

DIJAGNOSTIKA TOKSOPLAZMOZE

Mr.sc. Oktavija Đaković Rode
Klinika za infektivne bolesti
"Dr. Fran Mihaljević"
Zagreb

Toxoplasma gondii

- Protist
- Razred kokcidija, koljeno *Apicomplexa*
- Obvezno unutarstanični parazit

Toxoplasma gondii

➤ 3 RAZVOJNA STADIJA

1. **Tahizoit** (trofozoit) – akutni stadij
2. **Bradizoit** – tkivna cista
3. **Sporozoit** – oocista

Toxoplasma gondii

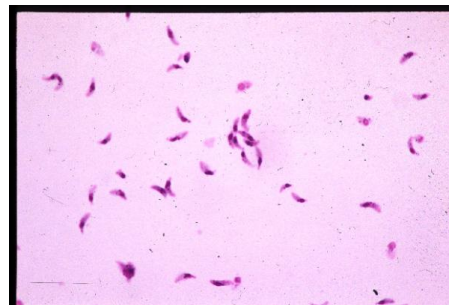
- TAHIZOITI I BRADIZOITI SE ANTIGENO RAZLIKUJU
- **SVI RAZVOJNI OBLICI SU INFEKTIVNI!!**

Građa i biološka svojstva *T.gondii*

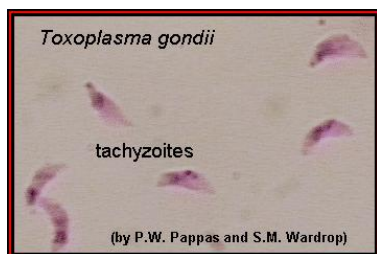
1. TAHIZOITI ili TROFOZOITI

- u tkivu u **akutnom stadiju** infekcije
- napadaju mišiće, srce, jetru, slezenu, limfne čvorove, središnji živčani sustav
- brzo se razmnožavaju u napadnutim stanicama, razaraju ih i ulaze u druge dok ne encistiraju u **TKIVNU CISTU**

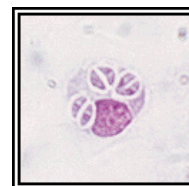
Tahizoiti



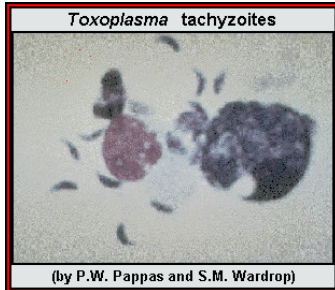
Tahizoiti



Unutarstanični tahizoiti



Tahizoiti

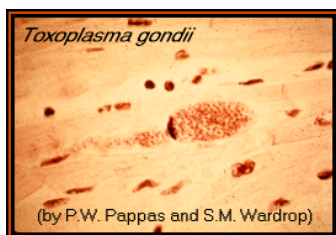


2. BRADIZOITI - tkivna cista

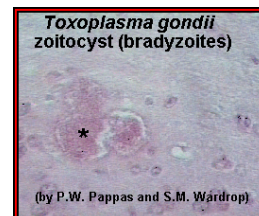
- **TKIVNA CISTA**
 - okruglasta s nekoliko desetaka do stotina bradizoita
- Osjetljiva na povišenu temperaturu i smrzavanje
 - Ugiba:
 - na -7°C nakon 4 dana
 - na $+58^{\circ}\text{C}$ nakon 15 minuta
 - smrzavanje na -20°C / 24 sata

- **LATENTNA INFEKCIJA**

Tkivna cista (zoitocista) u srčanom mišiću ispunjena bradizoitima



Bradizoiti u mozgu eksperimentalno inficiranog miša



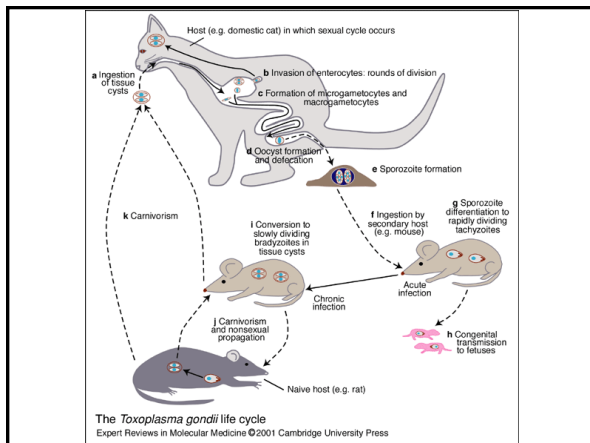
3. OOCISTA – mačka

• OOCISTA

- Okrugla s dvostrukom ovojnicom
- Izlučuje se u fecesu **mačke** – **neinfektivna**
- **Postaje infektivna nakon sporulacije u tlu**
- **OTPORNA** na sušenje, smrzavanje i dezinficijense
- Može preživjeti do godinu dana u vanjskoj sredini

MAČKA - jedini konačni nosilac

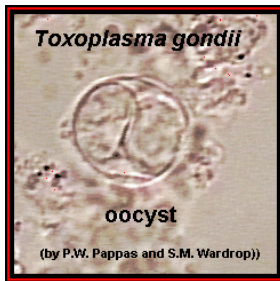
- Zarazi se najčešće nakon ingestije male životinje (miša ili ptice) u kojoj se nalaze tkivne ciste ili ingestijom infektivne oociste s tla
- Crijevo → oslobađanje bradizoita → ulaz u epitelne stanice → nekoliko ciklusa nespolne diobe (shizogonija) → diferenciranje u spolne stanice (mikro i makro gamete) – GAMETOGONIJA
- spajanjem spolnih stanica nastaje **NESPORULIRANA NEINFektivna OOCISTA** koja se izlučuje u stolici



TLO - ZEMLJA

- Sporulacija oociste traje 1-5 dana
- ✓ Oocista postaje **infektivna**

Sporulirana infektivna oocista
s 2 sporociste s po 4 sporozoita



PRIJELAZNI NOSITELJI

✓ ČOVJEK

✓ SVE TOPLOKRVNE ŽIVOTINJE

TOKSOPLAZMOZA nastaje:

- ✓ Konzumiranjem nedovoljno termički obrađenog mesa zaraženih životinja s tkivnim cistama
- ✓ Gutanjem oocista zaraženom hranom ili vodom
 - kuhinjskim priborom (nož, daščica, sude) koji dolazi u dodir sa sirovim mesom, nedovoljno se pere, a potom opet koristi

- ✓ Transplacentarno
- ✓ Transplantacijom organa
- ✓ Transfuzijom krvi



Prijelazni nositelji

- Ingestija zaraženog mesa → oslobađanje bradizoita iz tkivnih cista → prijelaz u tahizoite → ulaz u krvotok → širenje po organizmu → razmnožavanje
- Najčešći ciljani organi bez tkivnih oštećenja:
 - mišići, srce, jetra, slezena, limfni čvorovi, središnji živčani sustav
- Imuni odgovor nosioca → kontrola parazita → stvaranje **tkivne ciste koja ostaje doživotno**
- **LATENTNA INFEKCIJA**

Klinička slika

• INFEKCIJE ŽIVOTINJA

- Najčešće neopaženo, bez simptoma
- Mladunčad, fetus – pobačaj ovaca, koza
- Mačka asimptomatski, ali može kao smrtonosna upala pluća

Klinička slika

• INFEKCIJE LJUDI

1. **Stečene u imunokompetentnih osoba**
 - Najčešće asimptomatski
 - Kao gripa ili limfadenitis – povećanje limfnih čvorova traje nekoliko mjeseci i do godinu dana – prolazi spontano
2. **Stečene ili reaktivirane u imunokompromitiranih osoba**
 - Oportunistička infekcija
 - primarna infekcija
 - reaktivacija zbog pada staničnog imuniteta
 - oslobađanje bradizoita iz tkivnih cista; brzo razmnožavanje – nekroza tkiva – upala – MOZAK - apscesi

3. Konatalne infekcije

- Tijekom **primarne** infekcije u trudnoći
 - prijelaz toksoplazmi kroz placentu i infekcija ploda
- Posljedice i težina oštećenja ovise o gestacijskoj dobi:
 - u **kasnoj trudnoći** (posljednji mjeseci) - lakši prijenos
 - nema vidljivih oštećenja pri porodu; djeca izgledaju zdravo
 - posljedice intrauterine infekcije vidljive kasnije - čak do 10. i 20. godine – korioretinitis, oštećenje vida, sljepoća
 - u **ranoj trudnoći** (prvi mjeseci) - teže posljedice za plod
 - smrt ploda s pobačajem, teška oštećenja mozga, jetre, oka

Transplacentarni prijenos u trudnoći

Gestacijska dob u vrijeme serokonverzije u majke (tjedni)	Transplacentarni prijenos (%)	Rizik razvoja kliničkih simptoma prije 3.godine u odnosu prema gestacijskoj dobi serokonverzije u majke (%)
12	6	75
16	15	55
20	18	40
24	30	33
28	45	21
32	60	18
36	70	15
40	80	12

*Dijagnoza fetalne infekcije temeljena na kordocentezi ili amniocentezi 4 tjedna nakon serokonverzije u majke – prema Dunn et al. Lancet 1999.

Prenatalni postupak u konatalnoj toksoplazmozi

- Otkriti akutnu toksoplazmozu u majke
 - “Testirati” fetus na *T.gondii*
 - kultivacija / serologija / PCR
 - Potvrditi zahvaćanje središnjeg živčanog sustava
 - UZV
- Ako se postavi dijagnoza - **terapijom** obavezno treba prevenirati razvoj bolesti u **novorođenčeta!**

Dijagnoza toksoplazmoze

- **Morfološka**
 - Mikroskop – krv, likvor, tkiva
 - tahizoiti u cirkulirajućim leukocitima, koštanoj srži, plućima, jetri, mozgu (?); tkivne ciste
 - Histopatološki ili EM pretraga
 - UZV, CT
 - **Kultivacija** – iz tkiva i tjelesnih tekućina
 - stanična kultura ili inokulacija u pokusnu životinju
 - **PCR** – iz tjelesnih tekućina (plodne vode, likvora)
- **SEROLOGIJA**

Serološka dijagnostika

- Osnovna i najpouzdanija uz pravilnu interpretaciju!
- Neizravna dijagnostika – detekcija protutijela
- **IMUNI ODGOVOR**

Toxoplasma gondii IgM

- Javljanju se rano - unutar jednog tjedna nakon početka infekcije
- Obično nestaju unutar 6-9 mjeseci nakon infekcije
- Mogu perzistirati više od 18 mjeseci
- Perzistiraju predugo (godinama) da bi bili dobar indikator recentne infekcije
- IgM u novorođenčadi **retestirati** nakon 7-10 dana
 - prijelaz od majke pri porodu !?
 - poluvrijeme života IgM = 3-5 dana

Toxoplasma gondii IgG

- Javljaju se kasnije, postepeno rastu
- Vrh oko 2-5 mjeseci nakon početka kliničkih simptoma
- Pokazatelj imunosti
- **Praćenje dinamike protutijela** pomaže u određivanju vremena infekcije
- **TESTOVI AVIDNOSTI IgG**
 - promjena niske avidnosti u visoku unutar 6 mjeseci!

Toxoplasma gondii IgA

- Pojava oko 5 dana nakon IgM
- Nestaju kad IgG počinje padati, nešto ranije nego IgM
- Obično nestaju nakon 6-12 mjeseci
- Perzistira mjesecima (do više od 1 godine)
 - kontroverze je li IgA pouzdaniji indikator konatalne infekcije nego IgM (?)

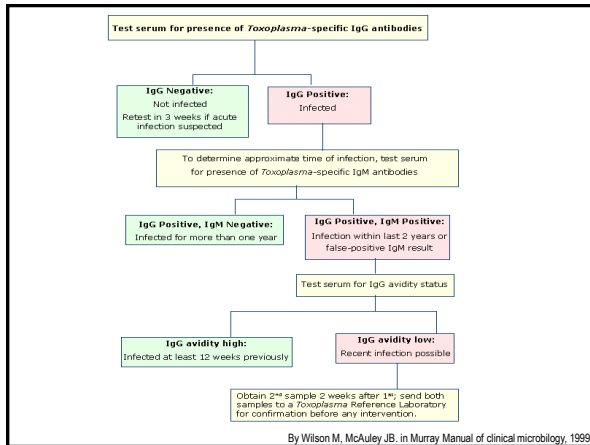
SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA - I

- Određivanje protutijela IgM, IgG, IgA, (IgE)
- **Metode:**
 - Enzimski imunotest (EIA, ELISA)
 - Imunosorbentni aglutinacijski test (ISAGA)
 - Imunofluorescencija (IFA)
- Izražavanje testova – jedinice:
 - titar, internacionalne jedinice, indeks, vrijednost optičke gustoće

□ **TEST AVIDNOSTI PROTUTIJELA IgG**

SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA - II

- Sabin – Feldmanov *dye* test
 - test bojanja tahizoita metilenom
 - Tahizoiti izgube afinitet za metilensko modrilo u prisutnosti protutijela IgG
- Indirektna hemaglutinacija (IHA)
- RVK



Serološka dijagnostika

- Negativan IgM i/ili IgG isključuje **akutnu** toksoplazmozu
 - U akutnoj infekciji oba moraju biti prisutna!
- Ako je screening IgG pozitivan treba napraviti IgM
- Kod sumnje na akutnu infekciju uzorke poslati u **referentni centar** za dijagnostiku toksoplazmoze
 - IgA (IgE), test avidnosti protutijela

ODREĐIVANJE STAROSTI INFEKCIJE

- praćenje titra protutijela u parnim serumima
- testovi avidnosti IgG
 - **AVIDNOST** = čvrstoća veze antigena i protutijela
 - protutijela **veće** avidnosti javljaju se **kasnije** tijekom infekcije

UZORCI ZA SEROLOGIJU

PARNI SERUMI

- **prvi ili akutni serum**
 - uzeti što ranije u početku bolesti
- **drugi ili rekonvalescentni serum**
 - uzeti oko 3 tjedna kasnije

KVALITETA UZORKA ZNAČAJNO UTJEČE NA REZULTATE TESTIRANJA!

ODREĐIVANJE PROTUTIJELA U DRUGIM TJELESNIM TEKUĆINAMA

LIKVOR, OČNA VODICA

PROBLEM PORIJEKLA PROTUTIJELA

ODREĐIVANJE AI (ANTIBODY INDEX)

- Uz tekućinu iz koje se žele odrediti protutijela obavezno je **ISTOVREMENO UZETI SERUM!**
- Iz istovremeno oduzetih **istih** uzoraka, npr. **likvora i seruma**, potrebno je uz određivanje specifičnih protutijela, odrediti **ukupne imunoglobuline i/ili albumin i/ili "surogat protutijela"**

TUMAČENJE SEROLOŠKOG NALAZA

KLINIČAR ↔ MIKROBIOLOG

Interpretacija nalaza seroloških testova za *T.gondii* I-III

IgG	IgM	Nalaz i/ili interpretacija
Negativno	Negativno	Nema serološke potvrde infekcije s toksoplazmom.
Negativno	Granično	Moguće rana faza akutne infekcije ili lažno pozitivno. Uzeti novi serum – ako je drugi serum opet isti vjerojatno nema infekcije s toksoplazmom.
Negativno	Pozitivno	Moguće akutna infekcija ili lažno pozitivno. Uzeti novi serum – ako je drugi serum opet isti vjerojatno lažno-pozitivno.

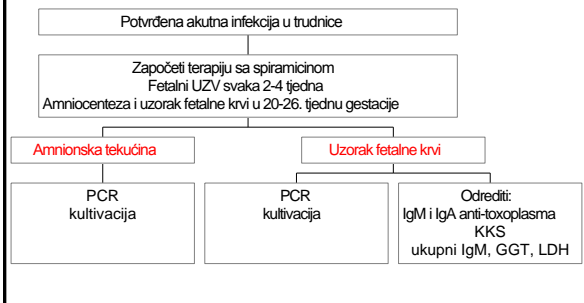
Interpretacija nalaza seroloških testova za *T.gondii* II-III

IgG	IgM	Nalaz i/ili interpretacija
Granično	Negativno	Neodređeno. Uzeti novi serum za testiranje ili retestirati prvi na IgG s drugim tipom testa.
Granično	Granično	Neodređeno. Uzeti novi serum za testiranje IgM i IgG.
Granično	Pozitivno	Moguće akutna infekcija s toksoplazmozom. Uzeti novi serum za testiranje IgM i IgG. Ako je rezultat drugog seruma isti ili IgG postane pozitivan, poslati oba seruma u referentni laboratorij na dodatna testiranja.

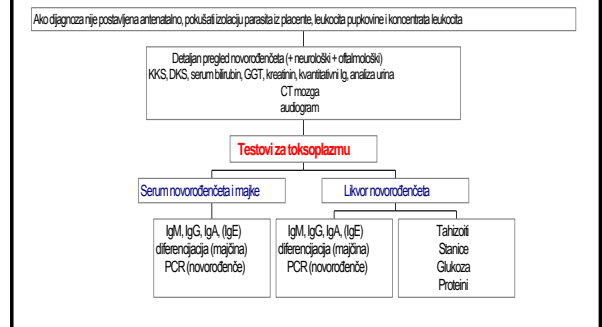
Interpretacija nalaza seroloških testova za *T.gondii* III-III

IgG	IgM	Nalaz i/ili interpretacija
Pozitivno	Negativno	Infekcija s toksoplazmozom prije više od godinu dana.
Pozitivno	Granično	Infekcija toksoplazmozom vjerojatno prije više od godinu dana ili lažno pozitivna reakcija IgM. Uzeti novi serum za testiranje IgM. Ako je rezultat drugog seruma isti, oba seruma treba poslati referentni laboratorij na dodatna testiranja.
Pozitivno	Pozitivno	Moguće nedavna infekcija unutar zadnjih 12 mjeseci ili lažno pozitivna reakcija IgM. Poslati uzorak u referentni laboratorij na dodatna testiranja.

PRENATALNA DIJAGNOSTIKA KONATALNE TOKSOPLAZMOZE



NEONATALNA DIJAGNOSTIKA KONATALNE TOKSOPLAZMOZE



DOKAZ KONATALNE INFEKCIJE

- IgM u fetalnoj krvi
 - Potvrditi nalaz u novom uzorku nakon 10 dana
- IgG prolaze transplacentarno!!!
 - IgM i IgA ne prolaze
- U 20-30% inficiranih fetusa **ne mogu** se dokazati IgM, ni IgA
- Kontrola UZV
 - rane promjene mozga (hidrocefalus, kalcifikati), jetre (povećanje, kalcifikati, ascites)

RAZLIKOVANJE AKUTNE OD LATENTNE TOKSOPLAZMOZE

- **Nije moguće iz jednog uzorka seruma!**
- Praćenje dinamike titra protutijela
- Test avidnosti IgG
- Direktna dijagnostika – PCR, kultivacija uzročnika

