



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**  
**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**  
**ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ**  
**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ & ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Δ. ΛΩΛΗΣ**  
**ΚΑΙ**  
**ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΚΑΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΤΟΜΕΑΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ. ΑΝΤΩΝΙΔΗΣ**

**ΚΑΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**

**ΣΥΓΓΕΝΟΥΣ ΤΟΠΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ**

**ΕΠΗΜΕΤΡΙΣ ΚΟΥΤΣΟΓΙΑΝΝΗΣ**  
**ΜΑΙΕΥΤΡΙΑΣ - ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



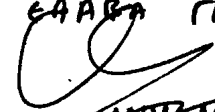
026000118444

41

252/2002



ΑΔ  
610  
ΚΟΧ  
1999

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΓΝΩΣΗ  
  
~~ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΔΙΠΛ. ΛΟΛΗΣ~~





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ & ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Δ. ΛΩΛΗΣ  
ΚΑΙ  
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ. ΑΝΤΩΝΙΑΔΗΣ

**ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**  
**ΣΥΓΓΕΝΟΥΣ ΤΟΞΟΠΛΑΣΜΩΣΕΩΣ**

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΚΟΥΤΣΟΓΙΑΝΝΗΣ  
ΜΑΙΕΥΤΗΡΑΣ - ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 1999



"Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή, δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα"  
(Νόμος 5343/32, άρθρο 202, παρ. 2)



**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ****Δ. ΛΩΛΗΣ****ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ****ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ****ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ****Γ. ΑΝΤΩΝΙΑΔΗΣ****ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ****ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ****ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ****Ν. ΔΑΛΚΑΛΙΤΣΗΣ****ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ****ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ****ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ****Δ. ΛΩΛΗΣ**

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**Γ. ΑΝΤΩΝΙΑΔΗΣ**

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**Ν. ΑΓΝΑΝΤΗ**

ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**Ν. ΔΑΛΚΑΛΙΤΣΗΣ**

ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**Θ. ΣΤΕΦΟΣ**

ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**Ε. ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΪΔΗΣ**

ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**Ι. ΓΕΩΡΓΙΟΥ**

ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



**Στη μνήμη του πατέρα μου**





## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Επιστήμονες - ερευνητές και οικονομολόγοι αναγνώρισαν τη σημαντική θέση της τοξοπλάσμωσης σαν ανθρωποζωνόσο<sup>1</sup>. Το "πανταχού παρόν" τοξόπλασμα gondii είναι αιτία μιας ποικιλίας εκδηλώσεων που παλαιότερα θεωρούνταν αποτέλεσμα άλλων μικροοργανισμών ή άγνωστης αιτιολογίας.

Περίπου 3.000 από 3.000.000 νεογέννητα στις Η.Π.Α. έχουν συγγενή τοξοπλάσμωση. Ένας απολογισμός του κόστους νοσηλείας αποκαλύπτει: Κόστος για τα νεογνά που θα πεθάνουν κάθε χρόνο 300.000 \$. Αυτά με βαριά εγκεφαλική και οφθαλμική βλάβη, που θα χρειαστούν ειδικά ιδρύματα για αρκετά χρόνια, θα απαιτήσουν περίπου 900.000 \$ για ειδική εκπαίδευση και 9.000.000 \$ για σχολές τυφλών. Δηλαδή ο απολογισμός του κόστους νοσηλείας και εκπαίδευσης για τα παιδιά με τοξόπλασμα κάθε χρόνο ανέρχεται στα 30 έως 40 εκατομμύρια δολάρια μόνο στις ΗΠΑ<sup>2</sup>.

Παρόλο που το ελληνόσχημο αυτό παράσιτο απασχολεί τους ερευνητές από το 1908<sup>3</sup> και έχουν καταναλωθεί αρκετά κιλά μελάνι για χάρη του, το γεγονός της "πανταχού παρουσίας του" σε σχέση με την ανθεκτικότητά του σε όλες σχεδόν τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τις δραματικές επιπτώσεις της συγγενούς λοίμωξης, καθιστούν την παραπέρα διερεύνησή του, ακόμα και στις μέρες μας επίκαιρη. Αν ληφθεί δε υπ' όψιν η εμφάνιση εύχρηστων και αξιόπιστων διαγνωστικών μεθόδων τα τελευταία χρόνια αλλά και η εμφάνιση της τοξοπλάσμωσης σαν βαρύτατης ευκαιριακής ενδογενούς ή εξωγενούς λοίμωξης επί ενηλίκων προσβεβλημένων από τον ιό της ανοσοανεπάρκειας (HIV)<sup>4</sup>, γίνεται φανερή η ανάγκη και η δυνατότητα διερεύνησης της τοξοπλάσμωσης τόσο σαν συγγενούς<sup>5</sup> όσο και σαν ευκαιριακής λοίμωξης.

Στα πλαίσια ενός ευρύτερου προγράμματος μελέτης των συγγενών λοιμώξεων μου ανατέθηκε, από τον καθηγητή της Μαιευτικής και Γυναικολογίας κ. Δημήτριο





**ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

	σελ.
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	11
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
ΙΣΤΟΡΙΑ	16
ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ – ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ	18
ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ	22
ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΗ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ	24
ΜΕΤΑΔΟΣΗ	26
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	34
ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ	39
ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ	43
ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ	46
ΔΙΑΓΝΩΣΗ	51
ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ	59
ΘΕΡΑΠΕΙΑ	61
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
ΣΚΟΠΟΣ	68
ΥΛΙΚΟ	69
ΜΕΘΟΔΟΣ	70
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	79
ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	96
ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	102
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	113
SUMMARY	115
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	117



**ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## ΙΣΤΟΡΙΑ

Αρχίζει το 1908 όταν οι Nicolle και Manseaux<sup>3</sup> παρατήρησαν ένα παράσιτο στα μονοκύτταρα του σπλήνα και του ήπατος σε ένα τρωκτικό της Β. Αφρικής, τον Κτενοδάκτυλο gondii.

Το παράσιτο αυτό έμοιαζε με λειψμάνια και αρχικά το ονόμασαν Leishmania gondii. Τον επόμενο όμως χρόνο αποφάσισαν με μορφολογικά κριτήρια ότι δεν ήταν λειψμάνια και πρότειναν το ελληνικό όνομα Τοξόπλασμα<sup>6</sup>.

Ταυτόχρονα και ανεξάρτητα ο Splendore το απομόνωσε στη Βραζιλία σε ένα κουνέλι που πέθανε από γενικευμένη παράλυση<sup>7</sup>.

Το 1923 ο Janku ένας οφθαλμίατρος από την Πράγα, περιέγραψε την πρώτη περίπτωση τοξοπλάσμωσης σε άνθρωπο. Ο ερευνητής αυτός βρήκε παρασιτικές κύστες στον αμφιβληστροειδή ενός εντεκάμηνου παιδιού με συγγενή υδροκέφαλο<sup>8</sup>.

Οι κύστες αυτές αναγνωρίστηκαν σαν τοξόπλασμα τō 1928 από τον Levaditi ο οποίος και πιθανολόγησε σχέση μεταξύ συγγενούς υδροκεφάλου και τοξοπλάσμωσης<sup>9</sup>.

Το 1937, οι Wolf και Cowen ανακοίνωσαν ένα περιστατικό νεογνού με κοκκιωματώδη εγκεφαλίτιδα που πίστευαν ότι προήλθε από παράσιτο<sup>10</sup>. Ο Sabin με εμπειρία στο τοξόπλασμα έβαλε τη σωστή διάγνωση<sup>11</sup>. Ο Wolf και οι συνεργάτες του αργότερα ταξινόμησαν τα περιστατικά των Torres (1926) και Richter (1936) σαν συγγενείς λοιμώξεις<sup>12</sup>.

Το 1940 οι Pinkerton και Weinman περιέγραψαν μια γενικευμένη θανατηφόρα νόσο σε νεαρό άνδρα. Το 1941 οι Pinkerton και Henderson περιέγραψαν δύο θανατηφόρες περιπτώσεις οξείας εμπύρετης εξανθηματικής νόσου σε ενήλικες και την ίδια χρονιά ο Sabin περιέγραψε περιπτώσεις τοξοπλασματικής εγκεφαλίτιδας σε παιδιά<sup>13,14</sup>.



Το 1948 οι Sabin και Feldman διαμόρφωσαν ένα ορολογικό test, το Dye test που επέτρεψε την κλινική και επιδημιολογική μελέτη της τοξοπλάσμωσης<sup>13</sup>.

Το 1969, εξήντα χρόνια μετά την πρώτη περιγραφή του παρασίτου, αποδείχθηκε τελικά ότι το τοξόπλασμα είναι ένα κοκκίδιο (σπορόζωο) και έχει σαν τελικό ξενιστή τη γάτα<sup>15</sup>.



## ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ - ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Το τοξόπλασμα *gondii* είναι σπορόζωο και συναντάται σε τρεις εξελικτικές μορφές<sup>16</sup>.

1. Τροφοζωΐτης ή παραγωγική μορφή: Αποτελεί τη βλαστική μορφή του τοξοπλάσματος. Αναπτύσσεται και πολλαπλασιάζεται πάντα ενδοκυττάρια. Έχει σχήμα ημισελήνου μήκους 5 ως 8 μm και πλάτους 2 ως 5 μm<sup>17,18</sup>. Κινείται χωρίς βλεφαρίδες ή ψευδοπόδια με ολίσθηση ή κάμψη του σώματος, σπειροειδώς ή και με εκτινάξεις<sup>19,21</sup>.

Χρωματίζεται καλά με Wright και Giemsa, και χρησιμοποιείται για την παρασκευή αντιγόνου για τις ορολογικές αντιδράσεις<sup>20,23</sup>.

Είναι η πιο ευαίσθητη μορφή του πρωτοζώου. Δεν επιζεί σε συνθήκες αποξήρανσης, ψύξης ή υπερβολικής θερμοκρασίας στο εξωτερικό περιβάλλον<sup>24</sup>. Καταστρέφεται σε μερικά λεπτά στο περιβάλλον των γαστρικών υγρών αλλά επιζεί από 3 έως και 6 ώρες σε περιβάλλον θρυψίνης<sup>20</sup>.

Αναπαράγεται στο εργαστήριο, στην περιτοναϊκή κοιλότητα ποντικών, σε καλλιέργειες κυττάρων θηλαστικών ή σε γονιμοποιημένα ωά όρνιθας. Ο βαθμός τοξικότητας σχετίζεται θετικά με τη διεισδυτικότητα<sup>21</sup> και με το ρυθμό πολλαπλασιασμού του σε κυτταροκαλλιέργειες<sup>19</sup>.

2. Κύστη: Δημιουργείται μέσα στο κύτταρο ξενιστή και το μέγεθός της ποικίλλει από 15 ως 200 μm με περιεκτικότητα σε μικροοργανισμούς ανάλογα με το μέγεθος της από πολύ λίγους έως 3.000. Το τοίχωμά της είναι εντόνως αργυρόφιλο και ασθενώς PAS θετικό. Η ενδοκυστική μορφή του παρασίτου σε αντίθεση με τον τροφοζωΐτη είναι πλουσιότερη σε κοκκία παραγλυκογόνου και πολλαπλασιάζεται βραδύτερα, γι' αυτό καλείται και βραδυζωΐτης<sup>17,18,22</sup>.

Οι κύστεις αυτές παρουσιάζονται την 8<sup>η</sup> ημέρα της φλεγμονής και δυνητικά παραμένουν εφ' όρου ζωής. Αν και μπορεί να βρίσκονται σε κάθε όργανο, ο



εγκέφαλος, οι σκελετικοί και καρδιακοί μύες φαίνεται να είναι οι πιο κοινοί στόχοι προσβολής<sup>23</sup>.

Το τοίχωμα της κύστης ρήγνυται σε περιβάλλον πεψίνης ή θρυψίνης και τα απελευθερούμενα παράσιτα παραμένουν στη ζωή για 2 ώρες σε περιβάλλον πεψίνης - HCL οξέος και 6 ώρες σε περιβάλλον θρυψίνης<sup>24,16,20</sup>. Αυτή η ανθεκτικότητα τους επιτρέπει να επιβιώνουν κατά τη δίοδο μέσω της φυσιολογικής πεπτικής οδού στομάχου - δωδεκαδακτύλου. Κατάψυξη και αποξήρανση, θερμοκρασία πάνω από 66° C ή αφυδάτωση καταστρέφουν τις κύστες. Παρ' όλα αυτά οι οργανισμοί μπορεί να επιζήσουν περίπου 2 μήνες στους 4° C<sup>24,20</sup>.

Έχει αποδειχθεί ότι οι κύστες στους ιστούς μπορεί να καταστραφούν αν εκτεθούν σε θερμοκρασία -9° C ή -20° C για 3 ως 4 ώρες<sup>25,26</sup>.

Αναφορικά με την προέλευση και το σχηματισμό του τοιχώματος της κύστης υποστηρίζεται ότι είναι προϊόν του παρασίτου, με συμμετοχή όμως και του ιστού μέσα στον οποίο αναπτύσσεται<sup>27</sup>. Σαν παράγοντας σχηματισμού της κύστης αναφέρεται η ανοσία που αναπτύσσεται στον ξενιστή με την εξέλιξη της λοίμωξης, χωρίς όμως να θεωρείται και ο μοναδικός, αφού σχηματισμός κύστης παρατηρείται και σε ιστούς μη προσιτούς σε αντισώματα, όπως ο νευρικός ιστός και ο αμφιβληστροειδής χιτώνας<sup>16,23</sup>.

3. Ωοκύστη : Είναι αποτέλεσμα του εντεροεπιθηλιακού κύκλου και εμφανίζεται αποκλειστικά στα αιλουροειδή<sup>28</sup>. Αποτελείται από κάψα με παχιά τοιχώματα που περιβάλλουν το ζυγάτη. Αποβάλλεται με τα κόπρανα του τελικού ξενιστή που είναι κυρίως η γάτα σαν άωρη ωοκύστη. Ο ρυθμός αποβολής από την 7<sup>η</sup>-20<sup>η</sup> ημέρα είναι 1.000.000 ωοκύστες ανά ημέρα. Στο περιβάλλον γίνεται η σπορογονία όπου ο ζυγάτης διαιρείται σε δύο σποροβλάστες που σχηματίζουν την σποροκύστη η οποία με τη σειρά της υφίσταται 2 διαιρέσεις δημιουργώντας 4 σποροζωίτες για κάθε σποροκύστη και 8 συνολικά ανά ωοκύστη.





Οι διαστάσεις της ώριμης ωοκύστης, που παίρνει την τελική της μορφή μετά τη σπορογονία είναι 11-14 μμ επί 9-11 μμ, των σποροκύστεων 8,5 μμ επί 6 μμ και των σποροζωϊτών 8 μμ επί 2 μμ. Η σπορογονία ολοκληρώνεται ανάλογα με τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος σε 2-3 ημέρες στους 24° C, σε 5-8 ημέρες στους 15° C, και σε 21 ημέρες στους 11° C<sup>28,29</sup>.

Οι ωοκύστες αποτελούν την ανθεκτικότερη μορφή του πρωτοζώου. Ανθίστανται περισσότερο στη δράση του παγκρεατικού υγρού από το τοίχωμα της κύστης. Η ανθεκτικότητά τους ελέγχθηκε πειραματικά και διαπιστώθηκε ότι μπορεί να επιβιώσουν στο έδαφος με θερμοκρασία αέρα από -6,5° C ως 37,5° C για 334 ημέρες<sup>26</sup>. Επίσης μελετήθηκε η μολυσματικότητά τους στο νερό και διαπιστώθηκε ότι αυτή διατηρείται επί 17 μήνες στο εργαστήριο και 410 ημέρες στο εξωτερικό περιβάλλον. Οι άωρες κύστες είναι περισσότερο ευαίσθητες στην επίδραση της θερμότητας και της κατάψυξης από τις ώριμες και καταστρέφονται στους 55° C σε 10' και στους 37° C σε 24 ώρες, ενώ οι ώριμες ωοκύστες παραμένουν λοιμογόνες στους 37° C για 306 ημέρες<sup>29</sup>.

Οι άωρες ωοκύστες αδρανοποιούνται επίσης μετά 24 ώρες στους -21° C και μετά 14 ημέρες στους -60° C, ενώ οι ώριμες επιζούν στους -21° C για 28 ημέρες. Έχει αποδειχθεί ότι η έκθεση σε καυτό νερό καταστρέφει πλήρως τις ωοκύστες, ενώ χημικές ουσίες που αναστέλλουν την ανάπτυξη βακτηρίων και μυκήτων, επιτρέπουν αυξημένη σπορογονία αλλά και αύξηση της λοιμογόνου ικανότητας των ωοκύστεων<sup>29,16</sup>.

Διαπιστώθηκε ότι 1-2% θειικό οξύ και 2,5% διχρωμικό κάλιο αποτελούν τα καλύτερα συντηρητικά για την σπορογονία και την ανάπτυξη της λοιμογόνου δράσης των ωοκύστεων. Διαλύματα 0,3% φορμαλίνης, 1% υγρής αμμωνίας ή 1% ιωδίου σε



20% αιθανόλη, αναστέλλουν τη σπορογονία και την λοιμογόνο δύναμη, έτσι ώστε να μπορούν σε υψηλότερες πυκνότητες, να χρησιμοποιηθούν για χημική απολύμανση<sup>26</sup>.

Επιπλέον διαπιστώθηκε πειραματικά (και είναι πολύ σημαντικό αυτό για την προφύλαξη) η αποτελεσματικότητα της αμμωνίας του εμπορίου για οικιακή χρήση.

Έτσι σε 10' έκθεσης σε περιβάλλον αμμωνίας ο αριθμός των ωοκύστεων ελαττώνεται στο 1/10 του αρχικού, σε 1 ώρα στο 1/500 και σε 3 ώρες έχουν καταστραφεί όλες οι ωοκύστες<sup>26,29,16</sup>.



## ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Ο βιολογικός κύκλος του τοξοπλάσματος διευκρινίσθηκε πλήρως 60 χρόνια μετά την πρώτη περιγραφή του. Σήμερα είναι πλέον γνωστό ότι διακρίνεται σε δύο κύκλους.

Ένα βλαστικό που λαμβάνει χώρα στον ενδιάμεσο ξενιστή, δηλαδή πτηνά και θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου. Και ένα αναπαραγωγικό (εντεροεπιθηλιακός κύκλος) που λαμβάνει χώρα στο πεπτικό σύστημα του τελικού ξενιστή, δηλαδή την γάτα<sup>22,23</sup>.

### Εξέλιξη του βιολογικού κύκλου στον ενδιάμεσο ξενιστή

Η μόλυνση γίνεται με ωκύστεις στα φυτοφάγα και με κύστεις στα σαρκοφάγα. Μόλυνση με τροφοζωΐτες είναι σπάνια και αφορά κυρίως αιματογενή ή κάθετη μόλυνση.

Το τοίχωμα των σποροφόρων ωκύστεων ή κύστεων διαλύεται από τα υγρά του στομάχου και απελευθερώνονται σποροζωΐτες ή κυστοζωΐτες αντίστοιχα. Αυτοί διαμέσου του πεπτικού βλεννογόνου εισέρχονται στην αιματική και λεμφική κυκλοφορία και φαγοκυτταρώνονται από τα μακροφάγα ή εισδύουν<sup>30,31</sup> σε άλλα κύτταρα και μεταφέρονται στα διάφορα όργανα και τους ιστούς. Οι σποροζωΐτες ή κυστοζωΐτες αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται ενδοκυττάρια με ενδοδουγένεση μεταμορφούμενοι σε τροφοζωΐτες (ταχυζωΐτες) μέχρι να προκληθεί ρήξη του κυττάρου ξενιστή. Οι απελευθερούμενοι ταχυζωΐτες διεισδύουν σε άλλα κύτταρα, όπου επαναλαμβάνεται η διαδικασία της ενδοδουγένεσης. Στο στάδιο αυτό, που χαρακτηρίζεται και ως οξύ στάδιο της λοίμωξης, αρχίζει η παραγωγή αντισωμάτων από τον ξενιστή, τα οποία επιβραδύνουν ή αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των ταχυζωΐτων και οδηγούν στον σχηματισμό των κύστεων. Σε ορισμένους όμως ιστούς, πτωχούς σε αντισώματα, όπως ο νευρικός ιστός και ο αμφιβληστροειδής χιτώνας, ο πολλαπλασιασμός συνεχίζεται για



μεγαλύτερο χρονικό διάστημα με βραδύτερο ρυθμό. Οι δημιουργούμενες κύστει, ειδικότερα στο νευρικό και μυϊκό ιστό του ξενιστή, διατηρούνται για χρόνια<sup>30,31</sup>.

### Εξέλιξη του βιολογικού κύκλου στον τελικό ξενιστή

#### ΣΧΙΖΟΓΟΝΙΑ

Η γάτα μολύνεται με τη βρώση μικρών θηλαστικών ή πτηνών, στους ιστούς των οποίων βρίσκονται κύστει του τοξοπλάσματος. Όταν η γάτα μολυνθεί η ρήξη των κύστεων στο πεπτικό της σύστημα απελευθερώνει τροφοζώιτες (κυστοζώιτες), που υφίστανται σχιζογονικό πολλαπλασιασμό στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου<sup>32</sup>.

#### ΓΑΜΕΤΟΓΕΝΕΣΗ

Μετά την ολοκλήρωση της προηγούμενης φάσης, οι τροφοζώιτες διαφοροποιούνται σε μικρογαμέτες (άρρεν) και μακρογαμέτες (θήλυ), των οποίων η συνένωση προκαλεί την δημιουργία των ωοκύστεων, οι οποίες τελικά και αποβάλλονται με τα κόπρανα, σαν άωρες ωοκύστεις που ωριμάζουν στο περιβάλλον με την διαδικασία της σπορογονίας<sup>33,34</sup>.



## ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ

Αυτή είναι εξαιρετικά πολύπλοκη. Χαρακτηρίζεται από "μωσαϊκό" αντιγόνων μερικά από τα οποία είναι πολύ διαδεδομένα και αναγνωρίζονται ακόμη και από μη ειδικά έναντι του τοξοπλάσματος αντισώματα.

Καθαρά αντιγόνα, προϋποθέτουν υλικό απαλλαγμένο από κύτταρα ή άλλα στοιχεία του ξενιστή, πράγμα το οποίο δεν κατέστη δυνατό λόγω της αποκλειστικά ενδοκυτταρικής ανάπτυξης του πρωτοζώου<sup>36,37</sup>.

Αντιγονικά παρασκευάσματα, τα οποία λαμβάνονται με διάφορες φυσικοχημικές μεθόδους από το τοξόπλασμα, χαρακτηρίζονται από μεγάλη ανομοιογένεια, στην οποία και αποδίδεται η διαφορετική ικανότητα διαπίστωσης αντισωμάτων με τις διάφορες ορολογικές μεθόδους<sup>38</sup>.

Η χρησιμοποίηση μονοκλωνικών αντισωμάτων κατά τα τελευταία χρόνια επέτρεψε την πληρέστερη μελέτη της αντιγονικής σύστασης του πρωτοζώου<sup>16</sup>.

Με τα αντισώματα αυτά διαπιστώθηκαν διάφοροι τύποι αντιγόνων, που εντοπίζονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη ή στο κυτταρόπλασμα των τροφοζωϊτών. Τα αντιγόνα αυτά είναι κυρίως πολυπεπίδια, τα οποία χαρακτηρίζονται ανάλογα με το μοριακό βάρος τους σε μείζονα και ελάσσονα<sup>40</sup>.

Απαραίτητη για την αποφυγή διασταυρούμενων αντιδράσεων, λόγω κοινών αντιγόνων στα διάφορα κοκκίδια, είναι η χρήση, ως αντιγόνων, πολυπεπτιδίων τα οποία συναντώνται μόνο σε ένα είδος<sup>38</sup>.

Ενώ αρχικά ήταν πιστευτό ότι δεν υπάρχουν αντιγονικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων μορφών τοξοπλάσματος, τελευταία επετεύχθη, με διάφορες ανοσολογικές μεθόδους, ο διαχωρισμός ειδικών αντιγόνων, όπως το μείζον αντιγόνο P 30 της μεμβράνης των ταχυζωϊτών και το P 22 που δεν ανευρίσκονται στους εγκυστωμένους



βραδυζωΐτες. Οι σποροζωΐτες επίσης χαρακτηρίζονται από τα αντιγόνα P 25 και P 67, τα οποία δεν ανευρίσκονται στους ταχυζωΐτες<sup>41,42</sup>.

Πρόσφατα διαπιστώθηκε ελεύθερο αντιγόνο με ενζυμική δραστηριότητα (NTPάση). Το ένζυμο αυτό αποτελεί μία από τις βασικές πρωτεΐνες του ταχυζωΐτη<sup>43,42</sup>.

Η παρουσία ελεύθερου αντιγόνου διαπιστώθηκε επίσης από πολλούς ερευνητές και στον ορό πειραματόζων και ανθρώπων στο στάδιο της οξείας λοίμωξης. Η διαπίστωση του ελεύθερου αντιγόνου (cAg) ή ειδικών αντισωμάτων υπόσχεται να επιλύσει μελλοντικά το πρόβλημα της έγκαιρης εργαστηριακής διάγνωσης πρόσφατης μόλυνσης με τοξόπλασμα<sup>44,45</sup>. Επίσης η χρησιμοποίηση αυτού του αντιγόνου προσφέρεται για τη διάγνωση ενεργού τοξοπλάσμωσης σε ανοσοκατασταλμένα άτομα των οποίων η ανοσολογική απάντηση έχει διαταραχθεί<sup>46,47</sup>.

Κεκαθαρμένα αντιγονικά εκχυλίσματα, όπως και αντιγονικά σκευάσματα, τα οποία περιέχουν τη μείζονα πρωτεΐνη P 30 της μεμβράνης των ταχυζωΐτων, έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την αναγνώριση της πρόσφατης επίκτητης λοίμωξης καθώς και την έγκαιρη διάγνωση της συγγενούς τοξοπλάσμωσης<sup>48,49</sup>.



## ΜΕΤΑΔΟΣΗ

Ο άνθρωπος, σαν ενδιάμεσος ξενιστής, μολύνεται κατά τη διάρκεια της ζωής του κυρίως μέσω του πεπτικού από κύστεις ή ώριμες ωοκύστεις, εκτός από την εμβρυϊκή του ζωή και άλλες σπάνιες περιπτώσεις, όπου η μετάδοση γίνεται με τροφοζωΐτες<sup>50,51</sup>.

### A. ΣΥΓΓΕΝΗΣ Ή ΚΑΘΕΤΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ

#### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τις προηγούμενες δεκαετίες έχουν εφαρμοστεί εκατοντάδες πειραματικά μοντέλα για να διαπιστωθεί ο τρόπος αυτός μετάδοσης<sup>50</sup>. Παρ' όλο που η αντιστοιχία ανθρώπου ζώου, ιδιαίτερα σε πειραματικό επίπεδο, δεν αξιολογείται, η ομοιότης της κλινικής εικόνας σε ζώα και ανθρώπους μετά από προσβολή με τοξόπλασμα δείχνει ότι σε πολλές περιπτώσεις αποτελέσματα μπορεί να είναι συγκρίσιμα. Οι μεγάλες σειρές πειραμάτων σε πειραματόζωα<sup>52</sup> έδειξαν ότι η συχνότητα της συγγενούς λοίμωξης κυρίως εξαρτάται:

- α) από την αντίσταση του ξενιστή
- β) από τον απόλυτο αριθμό του παρασίτου και
- γ) από την τοξικότητα του στελέχους των παρασίτων (Strain).

Επίσης αποτελέσματα κατά την διάρκεια οξείας ή χρόνιας λανθάνουσας λοίμωξης σε έγκυα ζώα αποδεικνύουν την σημασία του πλακουντιακού φραγμού<sup>55</sup>.

#### ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

##### α) Απομόνωση του τοξοπλάσματος από πλακούντες

Οι Garcia<sup>53</sup>, Glasser και Delta<sup>54</sup>, Beckett και Flynn<sup>55</sup>, και Nechme και συν.<sup>56</sup> απομόνωσαν το τοξόπλασμα από ανθρώπινους πλακούντες.



Ο Remington και οι συνεργάτες του<sup>57</sup> στην Καλιφόρνια παρουσίασαν μελέτη για την απομόνωση του παρασίτου από πλακούντες γυναικών με σταθερό τίτλο αντισωμάτων. Από τους συνολικά μελετηθέντες 499 πλακούντες οι 122 (22%) αφορούσαν σε γυναίκες με θετικό Dye test. Σε καμία από τις παραπάνω περιπτώσεις δεν απομονώθηκε τοξόπλασμα. Αντίθετα τοξόπλασμα απομονώθηκε με σχετική ευκολία από εγκεφάλους ενηλίκων, σκελετικούς μύες και παρασκευάσματα μήτρας. Εδώ πρέπει να τονισθεί ότι χρησιμοποιούνται μόνο 150g πλακούντα που ενοφθαλμίζονται σε 20 ποντίκια, αφήνοντας την πιθανότητα το παράσιτο να βρισκόταν σε άλλο τμήμα του υπολοίπου πλακούντα. Σε αντίστοιχη εργασία στην Κόστα Ρίκα ο Ruiz και συν.<sup>58</sup> παράλο που έπαιρναν μικρότερη ποσότητα πλακούντα πέτυχαν απομόνωση σε μία επί 100 συνολικά εξετασθέντων περιπτώσεων. Σ' αυτή την περίπτωση ο τίτλος αντισωμάτων στην μητέρα ήταν 1/1024. Δεν υπήρχε κλινική η ορολογική ένδειξη λοίμωξης στο νεογνό. Οι συγγραφείς επισημαίνουν ότι στην άμεση μικροσκόπηση του πλακούντα δεν βρέθηκε τοξόπλασμα. Οι Boume και συν.<sup>59</sup> δεν απομόνωσαν το παράσιτο σε κανένα από 677 πλακούντες που προήρχοντο από γεννήσεις ζώντων νεογνών των οποίων οι μητέρες είχαν χαμηλό τίτλο.

Οι Desmonts και Courneur<sup>60</sup> διαπίστωσαν θετική σχέση μεταξύ θετικών απομονώσεων και ορολογικής διαπίστωσης συγγενούς λοίμωξης στα νεογνά. Μόνο σε 3 περιπτώσεις συγγενούς λοίμωξης δεν απομονώθηκε το τοξόπλασμα από τους αντίστοιχους πλακούντες<sup>60</sup>.

#### β) Προσβολή του εμβρύου σε περίπτωση πρωτογενούς μόλυνσης κατά την κύηση

Κατά γενικό κανόνα συγγενής μετάδοση παρατηρείται επί πρωτοπαθούς μόλυνσης της εγκύου. Η άποψη αυτή ενισχύεται από τις εργασίες των Desmonts και Courneur<sup>61</sup>, Feldman και Miller<sup>62</sup>, Eichenwald<sup>63</sup>, Stanton και Pinkerton<sup>64</sup>.





Οι Desmonts και Courveur μελέτησαν 800 περιπτώσεις οροθετικών εγκύων οι οποίες είχαν μολυνθεί πριν από την κύηση χωρίς σε καμία από αυτές να διαπιστώσουν συγγενή λοίμωξη του νεογνού.

Δεδομένα που υποστηρίζουν την συγγενή μετάδοση κατά την διάρκεια οξείας πρωτοπαθούς λοίμωξης προκύπτουν από προοπτικές μελέτες όπως αυτές των Desmonds και Courveur<sup>61</sup>, Kraubig<sup>65</sup>, και Kimball και συν.<sup>66</sup>. Οι Desmonds και Courveur<sup>61</sup> σε πληθυσμό 30.000 γυναικών στο Παρίσι διαπίστωσαν ότι 16% των εγκύων γυναικών ήταν οροαρνητικές, αυτή η μικρή ομάδα υψηλού κινδύνου εύκολα ελέγχεται σε αντίθεση π.χ. με τις Η.Π.Α. όπου το ποσοστό των οροαρνητικών γυναικών ήταν περίπου 70-80% και το ποσοστό οξείας λοίμωξης σ' αυτή την ομάδα ήταν περίπου 7%. Τα 180 περιστατικά επίκτητης τοξοπλάσμωσης που διαπιστώθηκαν λίγο πριν ή κατά την εγκυμοσύνη, στην προηγούμενη εργασία<sup>61</sup> αναλύθηκαν προσεκτικά για να προσδιορισθεί ο κίνδυνος μετάδοσης της νόσου στο έμβρυο και διαπιστώθηκε ότι το 36% των γυναικών γέννησαν προσβεβλημένα νεογνά. Στη Γερμανία επί μόνο 18 περιστατικών το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 44%<sup>66</sup>.

Το πιο σημαντικό συμπέρασμα που προκύπτει από αυτές τις μελέτες είναι ότι πρωτογενής μόλυνση κατά την εγκυμοσύνη μεταδίδεται συγγενώς σε ποσοστό μικρότερο από 50%, αλλά και όταν γίνει η μετάδοση, η νόσος στο νεογνό είναι τις περισσότερες φορές υποκλινική. Ειρωνικά σχόλια έχει προκαλέσει η άποψη ότι μητρική μόλυνση πριν τον τρίτο μήνα της εγκυμοσύνης δε προκαλεί συγγενή τοξοπλάσμωση, αλλά αυτό οφείλεται αφ' ενός μεν στο ότι τα περιστατικά αυτά διαγνώστηκαν σε μεταγενέστερα τρίμηνα<sup>66</sup> και αφ' ετέρου στο ότι δεν ήταν ακόμη τότε γνωστή η μεγάλη συχνότητα της ασυμπτωματικής συγγενούς τοξοπλάσμωσης κατά την πρώτη νεογνική ηλικία.

Στη μελέτη των Desmonds και Courveur<sup>61</sup> προσδιορίζεται ακριβώς ο χρόνος της μητρικής λοίμωξης σε 66 από 180 περιπτώσεις βαριά συγγενής λοίμωξη του νεογνού



παρατηρήθηκε σε 2 από 11 περιπτώσεις μόλυνσης κατά το πρώτο τρίμηνο (17%). Σε 18 περιπτώσεις, μόλυνσης της μητέρας το δεύτερο τρίμηνο, συγγενής λοίμωξη του νεογνού παρατηρήθηκε σε 6 (33,3%). Σε 37 περιπτώσεις μόλυνσης κατά το τρίτο τρίμηνο διαπιστώθηκαν μόνο 2 (3%) περιπτώσεις βαριάς συγγενούς τοξοπλάσμωσης και 22 (59%) περιπτώσεις με υποκλινική μορφή της νόσου. Έτσι το 62% των νεογνών τα οποία γεννήθηκαν από μητέρες που μολύνθηκαν το τελευταίο τρίμηνο ήταν συμπτωματικά κατά την γέννηση. Το ποσοστό αυτό διαφέρει σημαντικά από το 17% και το 33% των παιδιών με συγγενή τοξοπλάσμωση, που γεννήθηκαν από μητέρες, που μολύνθηκαν στο πρώτο και δεύτερο τρίμηνο αντίστοιχα.

Από αυτές τις πληροφορίες εξάγεται το συμπέρασμα ότι ο κίνδυνος για το έμβρυο έχει σχέση με την χρονική περίοδο μόλυνσης της μητέρας. Αν η μητέρα μολυνθεί τους τελευταίους μήνες της κύησης, το πρωτόζωο πιο συχνά μεταφέρεται στο έμβρυο αλλά η λοίμωξη είναι υποκλινική στο νεογνό. Αν η μητέρα προσβληθεί νωρίτερα, το παράσιτο μεταδίδεται στο έμβρυο δυσκολότερα, αλλά η λοίμωξη είναι πολύ βαρύτερη.

Η ακριβής αιτιολογία της παρατηρηθείσας διαφοράς δεν έχει διευκρινισθεί ακόμη επαρκώς τα δεδομένα όμως δείχνουν, ότι ο πλακούντας λειτουργεί σαν φραγμός στην μεταφορά των παρασίτων, και είναι πιο αποτελεσματικός στους πρώτους μήνες της εγκυμοσύνης (80% προστασία) παρά στο τέλος (40%). Άλλοι παράγοντες μπορεί να είναι η διαφορετική ικανότητα των εμβρυϊκών κυττάρων, ανάλογα με την ηλικία, να ανθίσταται στην διείσδυση του τοξοπλάσματος και στην ενδοκυττάρια αναπαραγωγή του, όπως και η αυξημένη ανοσοπροστασία στην μήτρα με την πάροδο του χρόνου.

Μεγάλος αριθμός μελετών έδειξε ότι ενώ το τοξόπλασμα βρίσκεται στον πλακούντα η μετάδοσή του στο έμβρυο καθυστερεί. Αυτός ο χρόνος ορίστηκε από τον Thalhammer<sup>67</sup> σαν "προγεννητικός χρόνος επώασης".



Υπάρχουν 5 υποθέσεις που βασίστηκαν σε πλήθος παρατηρήσεων και προσπαθούν να εξηγήσουν την μεταφορά του παρασίτου μέσω του πλακούντα στο έμβρυο.

1. Από την μόλυνση της μητέρας και μέχρι τον τοκετό το παράσιτο βρίσκεται στον πλακούντα συνεχώς. Ο πλακούντας επομένως είναι ανά πάσα στιγμή δυνητικά επικίνδυνος για συγγενή μετάδοση, πολύ αργότερα από τη φάση της παρασιταϊμίας στη μητέρα<sup>66</sup>.
2. Η μεγαλύτερη συχνότητα προσβολής του εμβρύου παρατηρείται όταν η μητρική προσβολή γίνει στο τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, πιθανόν λόγω ελάττωσης του πλακουντιακού φραγμού.
3. Προσπάθειες να απομονωθεί το παράσιτο σε προσβεβλημένα νεογνά έδωσαν πολύ υψηλά ποσοστά. Αντίθετα παρασιταϊμία δεν παρατηρείται μετά τον πρώτο μήνα ζωής ακόμα και σε περιστατικά με βαριά κλινική μορφή της νόσου. Αυτό δείχνει ότι η παρασιταϊμία δεν σχετίζεται με την βαρύτητα της νόσου αλλά εξαρτάται από τη χρονική στιγμή που γίνεται προσπάθεια ανίχνευσης του παρασίτου μετά τον τοκετό.
4. Υπάρχει πιθανότητα επανειλημμένων μεταφορών και επαναλοιμώξεων του εμβρύου στην ίδια κύηση.
5. Η καθυστερημένη εμφάνιση της νόσου που συνίσταται σε ίκτερο και ηπατοσπληνομεγαλία εμφανίζεται μερικές φορές αρκετές εβδομάδες μετά τον τοκετό. Αυτό εύκολα εξηγείται αν η μετάδοση της νόσου θεωρηθεί ότι έγινε αργά, προς το τέλος της κύησης ή κατά τον τοκετό.

Σε δίδυμες κύσεις και τα δύο έμβρυα προσβάλλονται συνήθως, εφόσον πρόκειται για μονοωγενή δίδυμα<sup>68</sup>. Σε διογενή δίδυμα υπάρχει μεγάλη διαφορά στην ανταπόκριση<sup>63,54</sup>.



γ) Προσβολή του εμβρύου σε περίπτωση χρόνιας τοξοπλάσμωσης της μητέρας

Η σημασία του τοξοπλάσματος στις αυτόματες εκτρώσεις και στην πρόωπη περιγεννητική θνησιμότητα έγινε αντικείμενο μελέτης από πολλούς ερευνητές σ' όλο τον κόσμο. Πολλοί ισχυρίζονται ότι η συχνότητα εμβρυϊκών θανάτων είναι αυξημένη μεταξύ γυναικών που έχουν προσβληθεί από τοξόπλασμα, ενώ άλλοι ερευνητές δεν βρίσκουν σημαντική αιτιολογική σχέση.

Οι συχνότερες αναφορές για συγγενή μετάδοση επί χρόνιας τοξοπλάσμωσης γίνονται από τους Thalhammer<sup>67</sup> και Frenkel<sup>69</sup>.

Αν και δεν έχει τεκμηριωθεί η ύπαρξη επιμένουσας παρασιταϊμίας στον άνθρωπο όπως στα ζώα, αναφέρεται μία περίπτωση παρασιταϊμίας σε 19χρονη ασυμπτωματική πρωτοτόκο που διήρκεσε 14 μήνες μετά τον τοκετό θνησιγενούς προσβεβλημένου νεογνού. Η παρασιταϊμία επέμενε παρόλη τη θεραπεία με πυριμεθαμίνη και σουλφαδιαζόλη. Κατά την διάρκεια του χρόνου παρασιταϊμίας επετεύχθη νέα εγκυμοσύνη, με αποτέλεσμα υγιές νεογνό, χωρίς καμία ένδειξη, κλινική ή εργαστηριακή, συγγενούς τοξοπλάσμωσης<sup>70</sup>.

Τοξόπλασμα απομονώθηκε σε 4 (12%) από 32 μήτρες γυναικών με Dye test θετικό. Αυτές οι γυναίκες είχαν χαμηλό τίτλο αντισωμάτων που δείχνει μικρή ανοσολογική αντίδραση στη χρόνια λοίμωξη<sup>66</sup>. Λόγω της μεθόδου απομόνωσης είναι δυνατόν να μην εντοπίστηκαν όλες οι θετικές περιπτώσεις. Παρόλα αυτά από την εργασία αυτή δεν προκύπτει κανένα συμπέρασμα όσον αφορά τη σχέση μεταξύ θετικής απομόνωσης και συγγενούς μετάδοσης. Δυστυχώς πολλοί συγγραφείς εξέλαβαν αυτά τα στοιχεία σαν άμεση απόδειξη ότι εντόπιση του τοξοπλάσματος στη μήτρα αποτελεί αιτία καθ' ἑξιν εκτρώσεων, θνησιγενών εμβρύων ή διάφορων συγγενών ανωμαλιών. Απ' ότι φαίνεται όμως η άποψη αυτή παραμένει ακόμη αδιευκρίνιστη και μάλλον δεν ευσταθεί<sup>71,72,73</sup>.



Υπάρχει πιθανότητα το έμβρυο να μολύνεται κατά την δίοδο του από τον πνευλογεννητικό σωλήνα. Ο Machado και συν.<sup>74</sup> από την Βραζιλία, ανακοίνωσαν ότι απομόνωσαν τοξόπλασμα από κοιλικές εκκρίσεις γυναικών που ήταν ασυμπτωματικές. Κάθε μία είχε θετική δερμοαντίδραση, που δείχνει ότι έπασχε από χρόνια λοίμωξη. Δεν υπάρχουν όμως στοιχεία για τα αποτελέσματα των κυήσεων.

Ο Langer<sup>75</sup> στη Γερμανία ανακοίνωσε επιτυχή απομόνωση του τοξοπλάσματος από έμβρυα γυναικών με χρόνια λοίμωξη. Τοξόπλασμα επίσης έχει απομονωθεί από γάλα, υλικό E.P., πλακούντα, λόχεια, αμνιακό υγρό γυναικών με ιστορικό καθ' έξιν εκτρώσεων πρόωρων τοκετών ή τοκετό θνησιγενών εμβρύων, καθώς και από τον εγκέφαλο αυτών των εμβρύων. Ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση ότι ορισμένες από τις μητέρες αυτές είχαν αρνητικό Dye test.

Σε μία μελέτη από την Καλιφόρνια, μελετήθηκαν ιστοί εκτρώσεων από 272 γυναίκες<sup>76</sup> από τις οποίες 79 (29%) είχαν θετικό Dye test. Από αυτές 18 είχαν στο ιστορικό τους μία αυτόματη έκτρωση και 8 ανέφεραν 2 ή περισσότερες. Τοξόπλασμα απομονώθηκε σε δύο περιπτώσεις από δείγματα φθαρτού μετά από απόξεση που ακολούθησε αυτόματη έκτρωση και εμβρυϊκού ιστού αντίστοιχα. Η χρόνια λοίμωξη σε αυτές τις γυναίκες διαπιστώθηκε από σταθερό τίτλο Dye test και αιμοσυγκολιτινοαντίδρασης, που ήταν χαμηλότερο από τους παρατηρούμενους σε περιπτώσεις οξείας τοξοπλάσμωσης, καθώς και με θετική δερμοαντίδραση. Προσπάθειες απομόνωσης του τοξοπλάσματος από στοιχεία του ενδομητρίου ή αίματος της E.P. απέβησαν αρνητικές.

## **B. ΟΡΙΖΟΝΤΙΑ ΜΕΤΑΔΟΣΗ**

Τρόφιμα που περιέχουν κύστεις ή είναι μολυσμένα με ώριμες ωοκύστεις, αποτελούν την κυριότερη πηγή μόλυνσης του ανθρώπου. Η κατανάλωση ωμού ή ατελώς ψημένου κρέατος που περιέχει κύστεις, όπως και ωμών λαχανικών και



φρούτων μολυσμένων με ωοκύστεις που αποβάλλονται από τον τελικό ξενιστή, είναι ο πλέον συνήθης τρόπος μετάδοσης.

Τοξόπλασμα έχει επίσης απομονωθεί από φρέσκο γάλα και αυγά κότας. Μελέτες των Talice<sup>77</sup> και Vasina<sup>78</sup> το 1957 και το 1960 αντίστοιχα, έδειξαν ότι το τοξόπλασμα επιζεί σε κτηρικό αίμα στους 4° C περισσότερο από 50 ημέρες. Αυτό δεν αποκλείει την δυνητική μετάδοσή του με τη μετάγγιση. Έχει περιγραφεί επίσης μετάδοση μετά από μεταμόσχευση οργάνων, στους δέκτες<sup>79</sup>.

Επιπλέον έχουν περιγραφεί και εργαστηριακές μολύνσεις σε προσωπικό που ασχολείται με μολυσμένα πειραματόζωα ή χειρίζεται μολυσμένες βελόνες ή γυάλινα σκεύη. Τέλος έχει αναφερθεί μόλυνση από τοξόπλασμα μετά από νεκροτομή. Η υπόθεση για τη μετάδοση του τοξοπλάσματος με αιματοφάγα αρθρόποδα δεν έχει επιβεβαιωθεί μέχρι σήμερα.



## ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η τοξοπλάσμωση είναι μια ευρύτατα διαδεδομένη νόσος. Υπολογίζεται ότι κατά μέσο όρο 20-75% του πληθυσμού της γης έχει μολυνθεί με το τοξόπλασμα<sup>80,81</sup>. Λόγω της ποικιλίας των συμπτωμάτων της νόσου και της ηπιότητας με την οποία διαδράμει τις περισσότερες φορές, μοναδικός τρόπος επιδημιολογικής προσέγγισης είναι οι ορολογικές μελέτες<sup>82</sup>. Έχει παρατηρηθεί ότι η συχνότητα οροθετικών ατόμων που είναι απόδειξη προηγθείσας λοίμωξης αυξάνει με την ηλικία<sup>83,84,85</sup>.

### ΠΙΝΑΚΑΣ Ι

<u>Χώρα / Πόλη</u>	<u>% οροθετικοί ενήλικες</u>
Αυστρία <sup>81,65</sup>	62%
Βέλγιο <sup>80,86</sup>	50%
Κόστα Ρίκα <sup>87,58</sup>	75%
Φινλανδία <sup>88</sup>	35%
Γαλλία <sup>85,90,89</sup>	50-60%
Παρίσι <sup>85,91,61</sup>	87%
Ολλανδία <sup>80</sup>	58%
Ισραήλ <sup>80</sup>	30%
Ιταλία <sup>92</sup>	60%
Ιαπωνία <sup>82</sup>	25%
Τυνησία <sup>82</sup>	50%
ΗΠΑ <sup>83,93,72</sup>	30 - 40%
Αγγλία <sup>80</sup>	25%
Ελλάδα <sup>94,84</sup>	40 - 50%



Έγιναν πολλές προσπάθειες να εξηγηθεί η μεγάλη ποικιλομορφία στην κατανομή της νόσου ανά την υφήλιο<sup>83</sup>.

Σε περιοχές με αναπτυγμένη πτηνοτροφία και διατηρούνται οικόσιτες γάτες, το υγειονομικό επίπεδο είναι χαμηλό ή το κλίμα ήπιο και υγρό, το ποσοστό οροθετικότητας είναι συγκριτικά υψηλό<sup>87,80</sup>. Σε αστικές πάλι περιοχές, όπου συνηθίζεται η κατανάλωση ωμού ή ατελώς ψημένου κρέατος, παρατηρείται συγκριτικά υψηλή συχνότητα αντισωμάτων<sup>80,95</sup>.

Γενικά προκύπτει ότι δεν μπορεί να ενοχοποιηθεί ένας συγκεκριμένος παράγοντας για την εξάπλωση της νόσου, αλλά αυτή οφείλεται στη συνέργεια πολλών παραγόντων, οι περισσότεροι από τους οποίους δεν έχουν διευκρινισθεί με βεβαιότητα και αποτελούν ακόμα και σήμερα αντικείμενο περαιτέρω έρευνας.

#### ΣΥΧΝΟΤΗΣ ΤΗΣ ΣΥΓΓΕΝΟΥΣ ΤΟΞΟΠΛΑΣΜΩΣΗΣ

Η πραγματική συχνότητα της συγγενούς τοξοπλάσμωσης είναι εξίσου ποικιλόμορφη όπως και τα ποσοστά οροθετικότητας από χώρα σε χώρα και όλες οι διαθέσιμες πληροφορίες πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν με σκεπτικισμό<sup>90,96,97</sup>.

Από παλαιότερες μελέτες προκύπτουν οι εξής αριθμοί περιστατικών συγγενούς τοξοπλάσμωσης ανά 1.000 ζώντα νεογνά: Ολλανδία 6, 5<sup>97</sup>, Ν. Υόρκη 1, 3<sup>93,83,98</sup>, Παρίσι 3<sup>98,89,61</sup>, Gottingen 5<sup>97</sup>, Βιέννη 6-7<sup>100</sup>, Μεξικό 2<sup>101</sup>. Οι μελετητές αυτών των πληροφοριών προτείνουν αυτά τα ποσοστά να θεωρηθούν ότι αντιπροσωπεύουν τα κατώτερα όρια των λόγω των προβλημάτων στον προσδιορισμό IgM στον ομφάλιο λώρο εκείνες τις εποχές.

Όλες όμως αυτές οι επιδημιολογικές μελέτες αντιμετώπιζαν και αντιμετωπίζουν μεγάλες δυσκολίες σε όλα τα στάδια της διάγνωσης αυτών των περιστατικών<sup>102,103,104</sup>.

Προτάθηκαν λοιπόν θεωρητικά μοντέλα που στηρίζονται στον ρυθμό οροαναστροφής



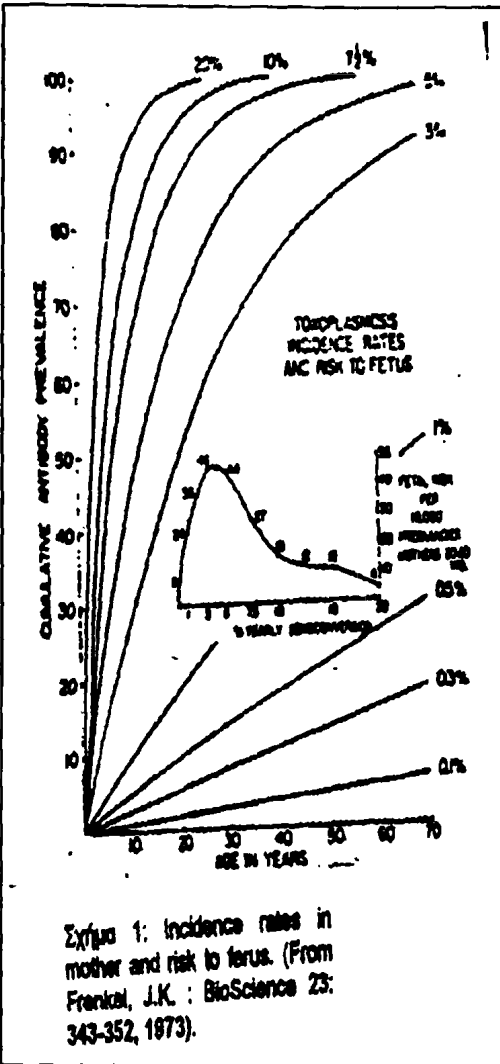


σε συγκεκριμένο πληθυσμό, ώστε προβλέποντας θεωρητικά τα περιστατικά της οξείας τοξοπλάσμωσης κατά την κύηση και λαμβάνοντας υπ' όψιν το ποσοστό της κάθετης μετάδοσης να προσδιορίζεται έμμεσα η συχνότητα της συγγενούς νόσου<sup>95</sup>.

Το σχήμα Ι παριστά γραφικά την συχνότητα αντισωμάτων ανά 10ετία και τον αντίστοιχο κίνδυνο για το έμβρυο.

Σ' αυτό το διάγραμμα έχει υπολογισθεί σε μαθηματική βάση ο ρυθμός εμφάνισης αντισωμάτων με δεδομένο κατ' έτος ποσοστό πρωτολοίμωξης (από 0,1% ως 20%). Ο κίνδυνος στο έμβρυο υπολογίζεται λαμβάνοντας υπ' όψιν το ποσοστό 40% των Desmonts και Cougneur που αντιπροσωπεύει θεωρητικά τον κίνδυνο κάθετης μετάδοσης.

Παράδειγμα. Σε ρυθμό λοίμωξης 3% / έτος, ο κίνδυνος υπολογίζεται ως εξής: Ανατρέχουμε στις καμπύλες των 10ετιών ηλικίας στην αντίστοιχη των 20-30 που έχει σαν ακραίες τιμές συχνότητας αντισωμάτων 49,5% και 64,8%



αντίστοιχα. Η διαφορά τους διαιρείται δια 10 που δίνει συχνότητα 1,53% και για τους 9 μήνες που διαρκεί η κύηση  $9/12 \times 1,53$  δηλαδή 1,13. Αυτό το ποσοστό πολλαπλασιαζόμενο με το 40% δίνει τον αναμενόμενο κίνδυνο μόλυνσης του εμβρύου 0,46%.

Κάποια συμπεράσματα από τις πολυάριθμες επιδημιολογικές μελέτες που ευσταθούν<sup>97,105,106</sup>, είναι ότι η συχνότητα των πρωτομολύνσεων σε ένα πληθυσμό εξαρτάται: α) από τον κίνδυνο μόλυνσης για την συγκεκριμένη περιοχή β) από την αναλογία των οροαρνητικών στον συγκεκριμένο πληθυσμό γ) από τις υγιεινολογικές συνήθειες του ανωτέρω πληθυσμού και δ) από τις διαιτητικές τους συνήθειες.



## ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ

### Παράγοντες που επιδρούν στην οξεία φάση της τοξοπλάσμωσης

#### 1. Κύτταρα και αντισώματα

Το βασικό χαρακτηριστικό του τροφοζωίτη είναι ότι ζει και πολλαπλασιάζεται ενδοκυττάρια, καταστρέφοντας το κύτταρο ξενιστή για να εισβάλλει είτε με διείσδυση (ενεργητική κίνηση), είτε με φαγοκυττάρωση σε νέα κύτταρα προκαλώντας τον ίδιο κύκλο καταστροφής<sup>21,30</sup>.

Η Huldt<sup>111</sup> παρατήρησε προσβεβλημένα μακροφάγα και λεμφοκύτταρα σε λεμφαδένες, διατυπώνοντας έτσι την υπόθεση ότι μέσω αυτών γίνεται δια της αιματικής ή λεμφικής κυκλοφορίας η διασπορά σε απομακρυσμένα όργανα, ενώ ταυτόχρονα το ενδοκυττάριο παράσιτο δεν καταστρέφεται από τη χυμική ανοσία του ξενιστή. Έτσι μπορεί να εξηγηθεί η ύπαρξη περιστατικών παρατεταμένης παρασιταμίας<sup>112</sup>.

Οι τροφοζωίτες εισβάλλουν σε όλα τα όργανα και τους ιστούς εκτός των απύρηνων ερυθρών αιμοσφαιρίων, αν και υπάρχουν αποδείξεις και για το αντίθετο, αλλά μόνον σε ποντίκια<sup>113</sup>.

Παρατεινόμενη κατά συνέπεια κυτταρική καταστροφή παρατηρείται σε ιστούς (ΚΝΣ, οφθαλμός) που δεν είναι προσιτοί στα αντισώματα<sup>23</sup>.

Το ανοσολογικό σύστημα του οργανισμού είναι σε θέση να εξουδετερώσει τα κυκλοφορούντα εξωκυττάρια παράσιτα, ενώ ταυτόχρονα η παρουσία αντισωμάτων και συμπληρώματος, έχει παρατηρηθεί, ότι προκαλεί παράταση και επιβράδυνση του ενδοκυττάριου πολλαπλασιασμού και σχηματισμό κύστεων, περίπου 8 ημέρες μετά την οξεία προσβολή. Οι κύστες αυτές παραμένουν μετά την εγκατάσταση ανοσίας, πιθανώς για την υπόλοιπη ζωή<sup>16,29</sup>.



Ειδικότερα για τις κυοφορούσες, η ικανότητά τους να ελέγξουν την εξέλιξη της τοξοπλάσμωσης εξαρτάται από την σύνθεση ειδικών αντισωμάτων αλλά και από το χρόνο εμφάνισης της κυτταρικής ανοσίας σε σχέση με την ανοσοκαταστολή που συνοδεύει αυτήν καθ' αυτήν την κύηση<sup>114</sup>.

## 2. Ηλικία

Στοιχεία που υποστηρίζουν ότι η ωριμότητα είναι παράγοντας αυξημένης αντίστασης στο τοξόπλασμα, προκύπτουν όχι μόνο από πειράματα αλλά και από παρατηρήσεις στον άνθρωπο<sup>95</sup>. Η λοίμωξη στη μητέρα είναι τις περισσότερες φορές υποκλινική, ενώ αν προσβληθεί το νεογνό η εικόνα είναι βαρύτερη. Αλλά και στην ενδομήτρια ζωή η βαρύτητα της νόσου εξαρτάται από την ανοσολογική ωριμότητα του εμβρύου, που εγκαθίσταται από τον 5<sup>ο</sup> μήνα της κύησης<sup>114</sup>.

## 3. Τοξοτοξίνη

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που υποστηρίζουν την ύπαρξη εξωτοξίνης<sup>115,116</sup>.

## 4. Αναμόλυνση

Αν και η οξεία προσβολή καταλείπει μόνιμη ανοσία, αντιδρώντας σε κάθε νέα προσβολή στη φύση τα πάντα είναι σχετικά. Υπάρχει μεγάλος αριθμός ερευνητών που υποστηρίζει ότι η έναντι του τοξοπλάσματος ανοσία προστατεύει αλλά όχι κατ' ανάγκη αποτρέπει την αναμόλυνση<sup>117,115,118</sup>.

### *Παράγοντες που επιδρούν κατά την φάση της χρόνιας φλεγμονής*

#### 1. Ρήξη των κύστεων

Η Huldt χρησιμοποιώντας την μέθοδο έμμεσου ανοσοφθορισμού παρατήρησε "διαρροή" αντιγόνου από τις κύστες. Το ότι το αντιγόνο αυτό δεν προκαλεί κυτταρική αντίδραση, εξηγείται από την έλλειψη κυττάρων γύρω από τις κύστες. Κάτω από ορισμένες όμως συνθήκες, δημιουργείται εικόνα τοπικής φλεγμονής με αποτέλεσμα τη ρήξη της κύστης και την απελευθέρωση του παράσιτου<sup>112</sup>.



Ο Werner και συν.<sup>118</sup> υπέθεσαν ότι κατά την διάρκεια χρόνιας φλεγμονής, είναι δυνατή η είσδυση του παράσιτου στον πλακούντα όταν το χόριο προκαλέσει ρήξη των κύστεων που προϋπήρχαν στο ενδομήτριο και απελευθέρωση του τοξοπλάσματος. Τότε οι απελευθερούμενοι τροφοζωίτες μπορούν να εισβάλλουν στη συγκυτιοτροφοβλάστη.

Η εμμένουσα παρασιταμία έχει παρατηρηθεί τόσο σε πειραματόζωα<sup>112</sup>, όσο και στον άνθρωπο<sup>119</sup>. Έχει προταθεί δε ότι η μεταφορά του παράσιτου γίνεται από τα ίδια τα λεμφοκύτταρα<sup>120</sup>.

Άλλη παρατήρηση που ενισχύει τη χρόνια ενεργό λοίμωξη είναι ότι σε πειράματα όπου χρησιμοποιήθηκαν ποντίκια με χρόνια λοίμωξη παρά τα υψηλά επίπεδα αντισωμάτων<sup>120</sup>, αυτά μπορούσαν να μεταδώσουν "συγγενώς" τη νόσο στους απογόνους τους<sup>121,112</sup>.

## 2. Ανοσολογική δέσμευση

Η άποψη ότι η παρουσία μητρικών IgG περιορίζει ή αποτρέπει την παραγωγή εμβρυϊκών IgM υποστηρίχθηκε από τους Agranjo και Remington<sup>122,123</sup>. Το σημαντικό δε είναι ότι η κατάσταση αυτή συνεχίζεται και μετά την εξαφάνιση των μητρικών IgG<sup>123</sup>.

Η υπόθεση αυτή χρήζει ιδιαίτερης μελέτης.

## 3. Ανοσοκαταστολή

Παρατηρήσεις σε πειραματόζωα<sup>123</sup>, έδειξαν ότι η μόλυνση με τοξόπλασμα προκαλεί ανοσοκαταστολή ιδιαίτερα την παραγωγή ανοσοσφαιρινών της σειράς M. Η Huldtt παρατήρησε ότι η νεογνική λοίμωξη σε ποντικούς επηρεάζει και την ανατομία και την λειτουργία του θύμου<sup>124</sup>. Η επίδραση αυτή στον άνθρωπο δεν έχει τεκμηριωθεί. Το διαπιστωμένο όμως είναι ότι έχει παρατηρηθεί "αποτυχία" των λεμφοκυττάρων να αναγνωρίσουν το τοξόπλασμα σαν αντιγόνο, σε περιπτώσεις οξείας επίκτητης τοξοπλάσμωσης<sup>116,125</sup>.



#### 4. Διασταυρούμενη αντίσταση

Μελέτες σε ζώα απέδειξαν ότι κατά τη χρόνια μόλυνση με τοξόπλασμα, αναπτύσσεται σημαντική αντίσταση σε άσχετους μεταξύ τους παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως κρυπτόκοκκους<sup>126</sup>, σαλμονέλα, λιστέρια, βρουκέλλα<sup>126</sup>, ιό μηνιγγίτιδας<sup>126</sup>, καθώς και σημαντική αντίσταση στην εμφάνιση αυτοχθόνων ή μεταστατικών όγκων.



## ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η θέση των νεκρωτικών εστιών και βλαβών γενικά αποδεικνύουν ότι το παράσιτο φτάνει στα διάφορα όργανα μέσω του κυκλοφορικού συστήματος<sup>124</sup>.

Η κλινική εντόπιση των βλαβών στο Κ.Ν.Σ. και στον αμφιβληστροειδή έχει ιδιαίτερη σημασία λόγω της απουσίας αναγεννητικής ικανότητας των ιστών αυτών<sup>125</sup>.

### Πλακούς

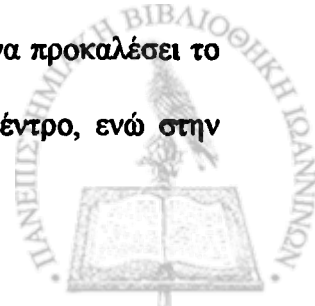
Η ιστολογική εικόνα του προσβεβλημένου πλακούντα συνίσταται σε αντιδράσεις χρόνιας φλεγμονής στον θυλακοειδή φθαυτό με εστιακές βλάβες στις λάχνες<sup>130</sup>. Λεμφοκύτταρα και άλλα μονοπύρηνα, σπάνια πλασματοκύτταρα, διηθούν τη λάχνη, ενώ ο φθατός διηθείται κατ' εξοχήν από λεμφοκύτταρα.

Το τοξόπλασμα βασικά εμφανίζεται με τη μορφή κύστεων στον συνδετικό ιστό των αμνιακών μεμβρανών, των χοριακών μεμβρανών και της βαρθονείου πηκτής καθώς και στο φθατό<sup>131</sup>.

### Κ.Ν.Σ.

Η χοριοειδής και αραχνοειδής μήνιγγα, που επικάθεται στον προσβεβλημένο εγκεφαλικό φλοιό ή περιβάλλει τις βλάβες στο νωτιαίο μυελό δίνει εικόνα συμφόρησης των αγγείων και διήθησης από μεγάλο αριθμό λεμφοκυττάρων, πλασματοκυττάρων, μακροφάγων και ηωσινοφίλων. Οι αλλοιώσεις αυτές γίνονται αντιληπτές γύρω από μικρά αρτηριόλια και τριχοειδή. Μπορεί να παρατηρηθεί πλήρης εξάλειψη ελίκων και αυλάκων. Τα παράσιτα ανευρίσκονται στα κύτταρα του έσω χιτώνα των μικρών αγγείων<sup>128</sup>.

Η πιο χαρακτηριστική μεταβολή είναι η εκτεταμένη νέκρωση του εγκεφαλικού παρεγχύματος. Οι βλάβες αυτές εντοπίζονται συνήθως στο φλοιό και στα βασικά γάγγλια, καθώς και στις περικοιλιακές περιοχές. Η νέκρωση μπορεί να προκαλέσει το σχηματισμό κύστεων με ομογενές ηωσινοφιλικό περιεχόμενο στο κέντρο, ενώ στην



περιφέρεια μπορεί να εμφανισθούν εστίες αποτιάνωσης<sup>132,133</sup>. Η έκταση των αποτιανώσεων εξαρτάται από τη βαρύτητα και τη διάρκεια της λοίμωξης<sup>128</sup>.

Ο βαθμός επίδρασης της συγγενούς μόλυνσης στο νωτιαίο μυελό ποικίλει από τοπική διήθηση με λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα μέχρι πλήρη καταστροφή της αρχιτεκτονικής δομής που συνίσταται σε μεταβολή της λευκής και φαιάς ουσίας σε μάζα νεκρωτικού κοκκιωμάτωσης ιστού.

### Οφθαλμός

Η εικόνα της προσβολής του οφθαλμού παρέχεται από την κλασική θέση του Hogan<sup>134</sup>.

Η πρωταρχική και βασική βλάβη αφορά τον αμφιβληστροειδή και χοριοειδή χιτώνα. Δευτερογενείς αλλαγές όπως ιριδοκυκλίτις και καταρράκτης<sup>135,136</sup>, θεωρούνται επιπλοκές της χοριοαμφιβληστροειδίτιδας. Ενδοφθάλμια φλεγμονή μπορεί να προκαλέσει μικροφθalmία και δευτεροπαθή ατροφία.

Η φλεγμονή του αμφιβληστροειδούς προκαλεί εξίδρωμα στο υαλοειδές σώμα με αποτέλεσμα τη σημαντική θόλωσή του. Η σύγχρονη προσβολή του χοριοειδούς χιτώνα προκαλεί περαιτέρω επιδείνωση. Μετά την οξεία φάση οι βλάβες είναι ατροφικές και ωχρές, με ποικίλου βαθμού μελάχρωση των ορίων τους<sup>137</sup>.

Ο μικροοργανισμός ανευρίσκεται αρχικά στα τριχοειδή των έσω στοιβάδων του αμφιβληστροειδούς, εισβάλλει στο ενδοθήλιο και στους παρακείμενους ιστούς, με αποτέλεσμα εικόνα εστιακής φλεγμονής με οίδημα και διήθηση από πολυμορφοπύρρηνα, λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα, μονοπύρρηνα και σπάνια ηωσινόφιλα. Ο οπτικός δίσκος μπορεί να εμφανίσει φλεγμονή της οπτικής θηλής ή και οίδημα δευτεροπαθώς από την φλεγμονή του παρακείμενου αμφιβληστροειδούς ή από την παρουσία υδροκέφαλου.



Άλλες εντοπίσεις

Η εντόπιση του τοξοπλάσματος σε όλα σχεδόν τα όργανα και τους ιστούς, όπως: έσω ους<sup>124</sup>, πνεύμονες<sup>124,128</sup>, καρδιά<sup>128,124</sup>, σπλην<sup>133</sup>, ήπαρ<sup>132</sup>, νεφροί<sup>125,128</sup>, ενδοκρινείς αδένες<sup>128</sup>, έξω και έσω γεννητικά όργανα<sup>128,124,132</sup>, σκελετικοί μύες<sup>129</sup> κ.ο.κ, δίνει την ίδια περίπου ιστοπαθολογική εικόνα, με ποικίλουσα βαρύτητα που καθορίζει και την κλινική εικόνα της συγγενούς τοξοπλάσμωσης που αναπτύσσεται αμέσως μετά.





## ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

### Η ΛΟΙΜΩΣΗ ΣΤΗΝ ΜΗΤΕΡΑ

#### Ασυμπτωματική επίκτητη τοξοπλάσμωση

Είναι η συνηθέστερη μορφή στις έγκυες γυναίκες και συνήθως διαπιστώνεται μόνο με ορολογικό έλεγχο<sup>140</sup>.

#### Συμπτωματική επίκτητη τοξοπλάσμωση

Αυτή διαδράμει με ήπια ή βαριά μορφή. Οι βαριές κλινικές μορφές αποτελούν σχεδόν πάντα επακόλουθο προσβολής ανοσοκατασταλμένων ατόμων. Οι ήπιες μορφές που απαντώνται συνηθέστερα σε υγιή άτομα όπως οι γυναίκες κατά την κύηση, κυρίως υποδύονται την κλινική εικόνα λοιμώδους μονοπυρήνωσης και συνοδεύονται από μια συμπτωματική τριάδα, που περιλαμβάνει πυρετό, διόγκωση λεμφαδένων και κακουχία<sup>79,141,142</sup>. Ο πυρετός δεν υπερβαίνει τους  $38^{\circ}\text{C} - 38,5^{\circ}\text{C}$ , παραμένει μερικές εβδομάδες και συνήθως υποχωρεί αυτόματα. Οι διογκωμένοι λεμφαδένες δεν υπερβαίνουν το μέγεθος αμυγδάλου είναι κινητοί και ελαφρώς επώδυνοι, χωρίς περιαδενίτιδα ή συμφύσεις<sup>142,114,97</sup>. Οι συνηθέστερα προσβαλλόμενοι λεμφαδένες είναι οι τραχηλικοί, συνήθως ένας πρόσθιος, αλλά αναφέρεται και συμμετοχή πολλών άλλων ομάδων<sup>143</sup>, όπως μασχάλαιοι, βουβωνικοί, ακόμα και εν τω βάθει όπως διαφραγματικοί ή κοιλιακοί που σχετίζονται με την εντερική πύλη εισόδου του πρωτόζωου. Η συμπτωματική τριάδα συμπληρώνεται με την κακουχία που συνίσταται από κεφαλαλγία, ναυτία, μυαλγίες, ρίγος κ.ο.κ..

Ο σπλην<sup>144</sup> και το ήπαρ<sup>146</sup> μπορεί να είναι ελαφρώς ψηλαφητοί. Στο περιφερικό αίμα μπορεί να αναγνωρισθούν άτυπα λεμφοκύτταρα όπως αυτά της λοιμώδους μονοπυρήνωσης. Σε μερικούς ασθενείς η λεμφαδενοπάθεια μπορεί να διαρκέσει μέχρι και 6 μήνες<sup>79</sup>. Αναφέρεται επίσης και η παρουσία ήπιου εξανθήματος<sup>145,79</sup>.



## Η ΛΟΙΜΩΣΗ ΣΤΟ ΝΕΟΓΝΟ

Περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Janku<sup>8</sup> 1923 και επιβεβαιώθηκε από τον Levaditi 1928<sup>97,9</sup>.

Όπως αποδέχονται οι περισσότεροι ερευνητές, απαραίτητη προϋπόθεση για την προσβολή του κήματος αποτελεί η πρωτοζωαιμία στην έγκυο, η οποία κατά κανόνα αναπτύσσεται κατά την πρωτογενή μόλυνση λίγο πριν ή μετά την σύλληψη<sup>97</sup>. Λανθάνουσες λοιμώξεις στη μητέρα μόνο σε σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσουν σε ενδομήτρια μόλυνση του κήματος<sup>146,97,114</sup>. Η μόλυνση του εμβρύου επιτελείται διαπλακουντιακά κατά την βραχεία φάση της πρωτοζωαιμίας της μητέρας (7-10 ημέρες). Ο ακέραιος πλακούντας ανθίσταται φυσιολογικά στην δίοδο του τοξοπλάσματος. Ο κίνδυνος προσβολής του εμβρύου και οι επιπτώσεις εξαρτώνται από το στάδιο της εγκυμοσύνης κατά το οποίο μολύνθηκε η μητέρα<sup>146,147</sup>.

Κατά τους τέσσερις πρώτους μήνες της εγκυμοσύνης ο πλακούντας είναι πολύ μικρού μεγέθους και σπάνια επιτρέπει τη διέλευση του τοξοπλάσματος. Αν η μητέρα μολυνθεί κατ' αυτή την περίοδο, ο κίνδυνος μεταβίβασης της μόλυνσης στο έμβρυο είναι ελάχιστος. Αντίθετα μετά τον τέταρτο μήνα της εγκυμοσύνης, ο πλακουντιακός φραγμός είναι λιγότερο αποτελεσματικός και η μητρική μόλυνση έχει περισσότερες πιθανότητες να μεταδοθεί στο έμβρυο. Οι επιπτώσεις στο κήμα είναι χρονικά αντίστροφες με τις πιθανότητες μόλυνσής του. Οι πιο σοβαρές επιπτώσεις αφορούν τα έμβρυα, που μολύνονται κατά το πρώτο τετράμηνο. Αντίθετα στη μεταγενέστερη μόλυνση, που παρατηρείται με μεγαλύτερη συχνότητα, οι επιπτώσεις είναι ελαφρότερες μέχρι αφανείς κατά την γέννηση (λανθάνουσα λοίμωξη). Αυτό εξηγείται με τη σύγχρονη μεταβίβαση τοξοπλάσματος και ειδικών IgG - αντισωμάτων, που επιτελείται κατά τα αψότερα στάδια της κύησης. Τα αντισώματα αυτά περιορίζουν



πολύ γρήγορα τη διασπορά του τοξοπλάσματος και αναχαιτίζουν τη δημιουργία βλαβών στα διάφορα όργανα.

Αν η προσβολή του εμβρύου δεν οδηγήσει σε αυτόματη έκτρωση, εξελίσσεται σαν ασυμπτωματική ή συμπτωματική. Οι ασυμπτωματικές ή υποκλινικές μορφές, οι οποίες και αφορούν το μεγαλύτερο τμήμα της συγγενούς τοξοπλάσωσης, αναγνωρίζονται σχεδόν αποκλειστικά με ορολογική διερεύνηση. Η πρόωμη ορολογική διάγνωση σε αυτές τις περιπτώσεις έχει μεγάλη σημασία, γιατί με την κατάλληλη θεραπεία δεν θα μεταπέσουν σε ατελείς ή καθυστερημένες κλινικές μορφές της νόσου με δυσάρεστες μελλοντικές επιπτώσεις. Οι ασυμπτωματικές μορφές της συγγενούς τοξοπλάσωσης αντιπροσωπεύουν το 80% περίπου των περιστατικών ενδομήτριας προσβολής του κυήματος. Η βαρύτητα των συμπτωματικών μορφών εξαρτάται από την ηλικία προσβολής και την εντόπιση των βλαβών. Η ποικιλία των κλινικών εκδηλώσεων είναι τεράστια. Για σχηματικούς καθαρά λόγους στη συγγενή τοξοπλάσωση διακρίνουμε τη μείζονα μορφή που αντιπροσωπεύεται από την τοξοπλάσματική εγκεφαλομηνιγγομυελίτιδα, τις σπλαχνικές μορφές και τις ατελείς ή καθυστερημένες μορφές<sup>148,142</sup>.

### **I. Τοξοπλάσματική εγκεφαλο - μηνιγγομυελίτιδα**

Αποτελεί την κλασική μορφή της συγγενούς τοξοπλάσωσης, η οποία συναντάται όλο και πιο σπάνια. Διαπιστώνεται αμέσως μετά τη γέννηση και οφείλεται σε μετάδοση του τοξοπλάσματος στο έμβρυο κατά την αρχή της εγκυμοσύνης. Χαρακτηρίζεται από τη συμπτωματική τετράδα:

α) Κρανιακές βλάβες: Μακροκεφαλία με εξωτερική υδροκεφαλία, διόγκωση των πηγών και διάσταση των ραφών του κρανίου, η οποία κατά την γέννηση είναι μεγαλύτερη του κανονικού και αυξάνεται μετέπειτα με ταχύτερο ρυθμό<sup>147</sup>.

β) Νευρολογικές εκδηλώσεις που ποικίλουν ή κυριαρχούν: Γενικευμένοι σπασμοί που ποικίλουν όσον αφορά τη στιγμή της εμφάνισης και της εξέλιξης των,



διαταραχές του μυϊκού τόνου, που εκδηλώνονται είτε ως υπερτονία και συσπάσεις που προκαλούν ασύμμετρη σωματική στάση, είτε αντίθετα ως υποτονία, που μπορεί να προσδώσει στο σώμα την εικόνα "υφασμάτινης κούκλας", μεταβολή των αντανακλαστικών, τα οποία αυξάνονται ή καταργούνται και διαταραχές του φυτικού νευρικού συστήματος, όπως δυσφαγία, αναπνευστικές ανωμαλίες και απορύθμιση της θερμοστατικής ισορροπίας<sup>110</sup>.

γ) Ενδοκρανιακές ασβεστώσεις: Σχεδόν παθολογικές για τη νόσο. Είναι πολλές φορές οζώδεις, μονήρεις ή ομαδοποιημένες στον έναν εγκεφαλικό λοβό. Σε άλλες περιπτώσεις είναι ωοειδείς περικοιλιακές.

δ) Οφθαλμολογική συμπτωματολογία: Μικροφθalmία, στραβισμός και νυσταγμός που διαπιστώνονται με την παρατήρηση του προσώπου<sup>150</sup>. Κυρίως όμως μακροκηνιδώδης χοριοαμφιβληστροειδίτιδα, η οποία ανακαλύπτεται κατά τη βυθοσκόπηση<sup>151</sup>. Μπορεί να είναι μονο- ή αμφοτερόπλευρη συνοδευόμενη από πρόσφατες εκδηλώσεις και ίχνη οργανοποιημένων εστιών.

Γενικά η έκβαση της μείζονος μορφής είναι βαριά. Συνήθως οδηγεί στο θάνατο τις πρώτες εβδομάδες ή τους πρώτους μήνες μετά την γέννηση. Εάν το παιδί επιζήσει εξελίσσεται προοδευτικά σε χρόνια μορφή, με αποτέλεσμα μεταξύ άλλων βαριά ψυχοκινητική καθυστέρηση.

## 2. Σπλαχνικές μορφές

Ανταποκρίνονται σε μεταγενέστερες μολύνσεις. Χαρακτηρίζονται από νεογνικό ίκτερο με σπληνομεγαλία και βλεννογονικές αιμορραγίες του τύπου της οισοφαγίτιδας ή της ελκοαιμορραγικής κολίτιδας. Η εξέλιξη και αυτών των μορφών είναι συνήθως βαρύτατη<sup>152</sup>.



### 3. Ατελείς ή καθυστερημένες μορφές

Ακολουθούν μια ακόμη χρονικά βραδύτερη ενδομήτρια μόλυνση. Αναγνωρίζονται είτε αμέσως μετά τη γέννηση ή δεν διαπιστώνονται παρά μετά από μερικά χρόνια και χαρακτηρίζονται από ένα από τα παρακάτω συμπτώματα: Ψυχοκινητική καθυστέρηση, ταχύτερη από το κανονικό αύξηση της περιμέτρου του κρανίου, σπαστικές κρίσεις και καθυστερημένη εμφάνιση μιας τουλάχιστο εστίας κηλιδώδους χοριοαμφιβληστροειδήτιδας με υποτροπιάζουσα τάση<sup>110</sup>.



## ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η οξεία τοξοπλάσμωση όπως περιγράφηκε στο κεφάλαιο της κλινικής εικόνας διαδράμει κατ' εξοχήν ασυμπτωματικά και η διάγνωση στηρίζεται ουσιαστικά στις ορολογικές εξετάσεις. Ειδική μνεία γίνεται από πολλούς συγγραφείς για την διαγνωστική αξία "των ψηλαφητών λεμφαδένων" κατά την κύηση<sup>142,143</sup>.

Η προγεννητική διάγνωση της συγγενούς Τοξοπλάσμωσης στηρίζεται εξ ολοκλήρου σε εργαστηριακές μεθόδους με την αρωγή του υπερηχογραφικού ελέγχου. Τελευταία η απομόνωση του παρασίτου από εμβρυϊκούς ιστούς που πάρθηκαν με αμνιοκέντηση την 20-24 εβδομάδα μαζί με ευαίσθητη μέθοδο προσδιορισμού της ειδικής IgM για το τοξόπλασμα και συνεχή υπερηχογραφικό έλεγχο για τον προσδιορισμό μη ειδικών ανωμαλιών στον εγκέφαλο έδωσαν ικανοποιητικό αποτελέσματα<sup>153</sup>.

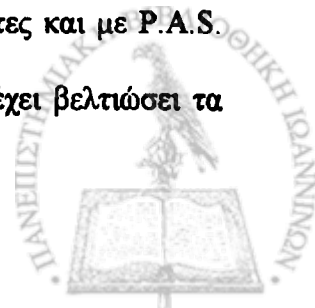
## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η εργαστηριακή διάγνωση<sup>154</sup> της τοξοπλάσμωσης βασίζεται:

1. Στη μικροσκοπική εξέταση ιστολογικών παρασκευασμάτων ή επιχρισμάτων οργάνων ή βιολογικών υγρών για άμεση παρατήρηση μορφών του πρωτοζώου.
2. Στην απομόνωση του πρωτοζώου από τα ανωτέρω υλικά.
3. Στον προσδιορισμό ειδικών αντισωμάτων με ορολογικές μεθόδους.

### Μικροσκοπική εξέταση

Η άμεση παρατήρηση τροφοζωϊτών σε ιστολογικά παρασκευάσματα ή επιχρίσματα (εγκεφάλου, σπληνός, λεμφαδένων, μυελού των οστών, E.N.Y., αμνιακού υγρού) χρησιμοποιήθηκε για την εργαστηριακή διάγνωση της τοξοπλάσμωσης. Τα παρασκευάσματα χρώνονται με Giemsa ή Wright για τους τροφοζωϊτες και με P.A.S. για τις κυστικές μορφές. Η χρησιμοποίηση φθορίζουσών τεχνικών έχει βελτιώσει τα



αποτελέσματα της μικροσκοπικής εξέτασης που παρ' όλα αυτά παραμένει μια δύσκολη τεχνική με περιορισμένη πλέον πρακτική σημασία<sup>155</sup>.

### Απομόνωση του τοξοπλάσματος

Τμήματα ιστών ή βιολογικά υγρά ενίενται ενδοπεριτοναϊκά σε νεαρά λευκά ποντίκια, ελεύθερα από τοξόπλασμα<sup>156,153</sup>. Μετά από 7-10 ημέρες αυτά θυσιάζονται και επίχρισμα περιτοναϊκού υγρού καθώς και διάφορα όργανα εξετάζονται μικροσκοπικά για τροφοζώιτες. Εξετάζεται επίσης και ο ορός των πειραματόζων για την παρουσία ειδικών αντισωμάτων έναντι του τοξοπλάσματος.

Η μέθοδος χαρακτηρίζεται από μεγάλη ευαισθησία, αλλά μειονεκτεί στο ότι απαιτεί συντήρηση πειραματόζων, χειρισμούς με λοιμογόνες μορφές και δεν επιτρέπει την διάκριση μεταξύ οξείας και χρόνιας λοίμωξης αν εξετάζονται μόνο ιστοί. Σε περίπτωση αρνητικού αποτελέσματος γίνεται εμβολιασμός εγκεφαλικής ουσίας σε άλλα πειραματόζωα πράγμα που αυξάνει ακόμη περισσότερο την ευαισθησία της μεθόδου. Χρησιμοποιείται κυρίως στην πειραματική διερεύνηση, ενώ στην πράξη, έχει μικρή αξία για την έγκαιρη διάγνωση της τοξοπλάσμωσης, λόγω του μεγάλου χρόνου που μεσολαβεί.

Αναφέρονται απομονώσεις και καλλιέργειες τοξοπλάσματος σε εμβρυοφόρα αυγά όρνιθας και σε κυτταροκαλλιέργειες<sup>155</sup>. Έχουν χρησιμοποιηθεί καρκινικά κύτταρα μυός<sup>153</sup> εμβρυϊκοί ινδοβλάστες<sup>158</sup> καθώς και κυτταρικές σειρές RK-13<sup>159</sup> και HER-2<sup>169</sup> κυρίως για ερευνητικούς σκοπούς και για την παρασκευή αντιγόνου για ορολογικές εξετάσεις.

### Ορολογικές δοκιμασίες

Αποτελούν τη μέθοδο εκλογής στη καθ' ημέρα πράξη.

#### 1. Δοκιμασία χρώσης: Dye test

Περιγράφηκε το 1943 από τους Sabin και Feldman<sup>13</sup>.



Λόγω της μεγάλης ευαισθησίας και ειδικότητας της εξακολουθεί και σήμερα να αποτελεί την μέθοδο αναφοράς.

Η μέθοδος βασίζεται στο ότι, όταν ζωντανοί τροφοζωίτες από περιτοναϊκό εξίδρωμα μολυσμένων ποντικών επωασθούν με ορό για μία ώρα στους 37° C χρωματίζονται έντονα με αλκαλικό διάλυμα κυανού του μεθυλενίου. Αντίθετα τροφοζωίτες που εκτίθενται υπό τις ίδιες συνθήκες στην επίδραση ορού που περιέχει ειδικά αντισώματα, υφίστανται παρουσία συμπληρώματος, λύση και δεν χρωματίζονται. Σαν αντιγόνο χρησιμοποιείται εναιώρημα τροφοζωϊτών, το οποίο προστίθεται σε διαδοχικές αραιώσεις των προς εξέταση ορών. Ακολουθεί η προσθήκη συμπληρώματος και επώαση στους 37° C. Εν συνεχεία προστίθεται αλκαλικό διάλυμα κυανού του μεθυλενίου. Η εκτίμηση γίνεται με κοινό μικροσκόπιο. Ως τίτλος λαμβάνεται η υψηλότερη αραιώση του ορού, στην οποία το 50% των τροφοζωϊτών δεν έχει ακόμη χρωσθεί ή λυθεί.

Η παράλληλη εξέταση ενός πρότυπου ορού της Π.Ο.Υ. επιτρέπει την έκφραση των αποτελεσμάτων σε IU/ml. Η εκτίμηση είναι δυνατή και με μικροσκόπιο αντιθέτου φάσεως.

Με τη δοκιμασία αυτή διαπιστώνονται κυρίως IgG αντισώματα, τα οποία εμφανίζονται στην πρώιμη φάση της μόλυνσης που συμπίπτει με το στάδιο αναπαραγωγής των τροφοζωϊτών και αντιδρούν με αντιγόνα της μεμβράνης. Τα αντισώματα αυτά εμφανίζονται 8-20 ημέρες μετά την μόλυνση, ο τίτλος τους φθάνει το μέγιστο σε 1-2 μήνες μετά ακολουθεί βαθμιαία πτώση του, αλλά διατηρείται δια βίου σε ανιχνεύσιμα επίπεδα. Παρά τη μεγάλη ευαισθησία και αξιοπιστία της η μέθοδος αυτή δεν χρησιμοποιείται συχνά στην καθ' ημέρα πράξη κυρίως διότι το χρησιμοποιούμενο ως αντιγόνο εναιώρημα τροφοζωϊτών είναι λοιμογόνο και πρέπει να παρασκευάζεται πάντοτε πρόσφατα.





## 2. Αντίδραση σύνδεσης του συμπληρώματος (CF)

Είναι από τις παλαιότερες δοκιμασίες<sup>161</sup>.

Ανιχνεύονται IgG και IgM αντισώματα, τα οποία συνδέουν το συμπλήρωμα. Αυτά εμφανίζονται αργότερα από αυτά που ανιχνεύονται με τη δοκιμασία χρώσης (DT) και τις άλλες ορολογικές δοκιμασίες. Λόγω της διαφοράς αυτής είναι δυνατόν με τη μέθοδο αυτή να διαπιστωθεί ορομεταβολή όταν οι τίτλοι με τη δοκιμασία χρώσης (DT) είναι ήδη υψηλοί και αμετάβλητοι. Η οροαναστροφή στη συγκεκριμένη μέθοδο αποτελεί κριτήριο για τη διάγνωση οξείας λοίμωξης και σε βραδύτερο στάδιο λόγω της καθυστέρησης της οροαναστροφής.

Η μέθοδος εξακολουθεί να χρησιμοποιείται παράλληλα με άλλες ορολογικές δοκιμασίες για τη διαπίστωση πρόσφατης λοίμωξης<sup>162</sup>.

## 3. Δοκιμασία έμμεσης αιμοσυγκόλλησης (I.H.A)

Χρησιμοποιήθηκε το 1957. Βασίζεται στην αρχή χρησιμοποίησης επεξεργασμένων με τανίνη ερυθρών για την καθήλωση τοξοπλασματικών αντιγόνων<sup>154</sup>.

Με τη δοκιμασία ανιχνεύονται IgG αντισώματα και έμμεσα IgM μετά από επεξεργασία των ορών με 2-μερκαπτοαιθανόλη.

Η ευαισθησία και η ειδικότητα της μεθόδου εξαρτώνται από τον τύπο του αντιγόνου. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρήση κυτταροπλασματικού αντιγόνου, που βοηθά στη διαπίστωση πρόσφατης λοίμωξης σε βραδύτερο στάδιο.

Οι τίτλοι ανέρχονται βραδύτερα από το DT φθάνουν στα ίδια ή και υψηλότερα επίπεδα και παραμένουν σ' αυτά επί μακρότερο χρόνο.

Έχει παρατηρηθεί ασυμφωνία μεταξύ I.H.A και DT που οφείλεται μάλλον στην ανίχνευση διαφορετικών αντισωμάτων<sup>165</sup>.



#### 4. Δοκιμασία έμμεσου ανοσοφθορισμού (IFA)

Η κλασική αυτή δοκιμασία περιγράφηκε από τους Kelen και συν. το 1962<sup>164</sup>, και Garin και συν. 1963 και Stadtsbaeder και συν. το 1964<sup>166</sup>.

Η μέθοδος βασίζεται στην αντίδραση των αντισωμάτων με το προσηλωμένο σε αντικειμενοφόρο πλάκα αντιγόνο (νεκρό τοξόπλασμα). Μετά την επώαση ακολουθεί έκπλυση του παρασκευάσματος και προσθήκη συζεύγματος (αντιανθρώπιος αντισφαιρινικός ορός σεσημασμένος με φθορίζουσα χρωστική). Η εκτίμηση του αποτελέσματος γίνεται με μικροσκόπηση με μικροσκόπιο με λυχνία υπεριώδους ακτινοβολίας. Σε θετική αντίδραση διαπιστώνεται κιτρινοπράσινος φθορισμός των προσηλωμένων τοξοπλασμάτων. Ανιχνεύονται ολικά αντισώματα ή IgG ή IgM ανάλογα με το είδος του χρησιμοποιούμενου αντιορού. Οι τίτλοι και η πορεία τους συμβαδίζουν με το DT.

Οι περισσότεροι ερευνητές θεωρούν τα αποτελέσματα της IFA ισότιμα με του DT. Ψευδείς θετικές αντιδράσεις παρατηρούνται σε παρουσία πυρηνικών αντισωμάτων<sup>163</sup>.

Λόγω της μεγάλης ευαισθησίας της επαναληψιμότητας και της απλότητάς της η μέθοδος αυτή έχει υιοθετηθεί από τα περισσότερα εργαστήρια. Το μεγάλο της πλεονέκτημα είναι ότι επιτρέπει με τη χρήση κατάλληλων αντιορών τη διάγνωση της πρόσφατης όσο και της συγγενούς λοίμωξης με την ανίχνευση ειδικών IgG ή IgM αντισωμάτων<sup>153</sup>.

#### 5. Δοκιμασία άμεσης συγκόλλησης (HT)

Η συγκολλητινοαντίδραση χρησιμοποιήθηκε αρχικά από τους Fulton και Turk το 1959<sup>166</sup>. Ως αντιγόνο χρησιμοποιούνται ακέραια τοξοπλάσματα επεξεργασμένα με φορμαλίνη. Ανιχνεύονται κυρίως ολικά αντισώματα έναντι αντιγόνων της κυτταροπλασματικής μεμβράνης<sup>167</sup>.



Λόγω της απλότητας της η μέθοδος αυτή συνίσταται για προκαταρκτικό έλεγχο Screening μεγάλων πληθυσμών<sup>168</sup>.

#### 6. Ανοσοενζυμικές δοκιμασίες (ΕΙΑ)

Χρησιμοποιήθηκαν από το 1976 (Voller και συν. 1976, Vanknapen και Panggabean 1977, Walls και συν. 1977), Camargo και συν. 1978, Duermeier και συν. 1980<sup>171</sup>.

Οι ενζυμικές δοκιμασίες χρησιμοποιούν διαλυτά αντιγόνα παρόμοια με αυτά της ΙΗΑ, τα οποία συνίστανται από κυτταροπλασματικά αντιγονικά στοιχεία και διάφορες εκάστοτε ποσότητες αντιγονικών στοιχείων της μεμβράνης<sup>169</sup>.

Η δοκιμασία βασίζεται στην καθήλωση τοξοπλασμικού αντιγόνου σε ένα στερεό υποδοχέα (βυθίσματα πλακών μικροτιτλοποίησης ή σφαιρίδια πολυστερίνης) με το οποίο αντιδρούν και συνδέονται τα αντισώματα. Στο καθηλωμένο στη στερεά φάση αντιγόνο προστίθεται αραιωμένο δείγμα του προς εξέταση ορού. Μετά από επώαση και έκλυση, προστίθεται αντιανθρώπιος αντισφαιρινικός ορός (ολικά αντισώματα, IgG ή IgM αντισώματα) σεσημασμένος με ένζυμο. Μετά νέα επώαση και έκλυση προστίθεται το κατάλληλο ενζυμικό υπόστρωμα. Εάν η αντίδραση ενζύμου-υποστρώματος δεν συνοδεύεται αυτόματα από αλλαγή χρώματος, τότε προστίθεται χρωμογόνο. Ακολουθεί πάλι επώαση και η ενζυματική αντίδραση διακόπτεται ύστερα από ορισμένο χρόνο με όξινο ή αλκαλικό διάλυμα ηλεκτρολύτου.

Τα αποτελέσματα αναγιγνώσκονται με τη βοήθεια φωτομέτρου.

Ως θετικά αξιολογούνται εκείνα τα δείγματα των ορών, των οποίων η τιμή της οπτικής πυκνότητας είναι μεγαλύτερη από αυτή που έχει οριστεί σαν ουδός. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει τόσο την ποιοτική όσο και την ποσοτική αξιολόγηση του αποτελέσματος. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων με το αποτέλεσμα ενός πρότυπου ορού, επιτρέπει την έκφρασή τους σε IU/mL.



Με την δοκιμασία αυτή ανιχνεύονται IgG αντισώματα που εμφανίζονται βραδύτερα από αυτά του (DT). Η ευαισθησία της μεθόδου βελτιώθηκε με τη χρησιμοποίηση κεκαθαρμένων αντιγόνων της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, με τα οποία ανιχνεύονται αντισώματα σε πρωιμότερο στάδιο μετά την μόλυνση<sup>172</sup>.

Η μέθοδος είναι πολύ ευαίσθητη και επιτρέπει την ανίχνευση IgM αντισωμάτων πολύ γρήγορα μετά την μόλυνση.

Συγκριτικές έρευνες απέδειξαν ότι η δοκιμασία αυτή υπερέχει σε ευαισθησία από το DT και IFA, χωρίς να υστερεί σε ειδικότητα<sup>172,173</sup>.

Η προσφορά έτοιμων τυποποιημένων αντιδραστηρίων και η δυνατότητα αυτοματοποίησης της τεχνικής, συνετέλεσαν στην ευρύτατη χρήση της στην καθ' ημέρα πράξη. Η δυνατότητα εξέταση μεγάλου αριθμού δειγμάτων και η συγκρισιμότητα των αποτελεσμάτων διαφόρων εργαστηρίων, την καθιστούν κατάλληλη για την διενέργεια οροεπιδημιολογικών ερευνών<sup>174</sup>.

Η μέθοδος αυτή επελέγη για τον προσδιορισμό αντισωμάτων και στην παρούσα μελέτη.

### 7. Άλλες τεχνικές

α) Η ιζηματινοαντίδραση με διπλή ανοσοδιάχυση σε άγαρ κατά Ouchterlony, χρησιμοποιήθηκε από ορισμένους ερευνητές για τη διάγνωση της οφθαλμικής τοξοπλάσμωσης<sup>154</sup> και της ενεργούς τοξοπλάσμωσης σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς. Τελευταία έχουν περιγραφεί δύο νεότερες τεχνικές (Isaga και Elifa)<sup>175,174</sup>. Τα αποτελέσματά τους δεν έχουν αξιολογηθεί ακόμη επαρκώς, ώστε να καθιερωθούν στην πράξη.

β) Για τη διαπίστωση της κυτταρικής ανοσίας χρησιμοποιείται η δερμοαντίδραση με τοξοπλάσμινη<sup>176,177</sup>.



γ) Πολύς λόγος γίνεται για την ανίχνευση αλληλουχιών του DNA με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR)<sup>178,4</sup> η οποία μέχρι στιγμής έχει δώσει ικανοποιητικότερα αποτελέσματα<sup>179</sup>. Παρ' όλα αυτά ακόμη χρησιμοποιείται σε περιορισμένη κλίμακα και δεν έχει απόλυτα ελεγχθεί η αξιοπιστία της<sup>180</sup>.

Την τελευταία διετία γίνονται προσπάθειες ορολογικής διάγνωσης με πιο ειδικές και ευαίσθητες μεθόδους, όπως η χρησιμοποίηση του κλάσματος C<sub>4</sub> του συμπληρώματος με βελτιωμένη αντίδραση συμπληρώματος<sup>162</sup> και η ανίχνευση ειδικών για το τοξόπλάσμα IgA, με άμεση αιμοσυγκόλληση<sup>181,175</sup> ή με ανοσοενζυμική μέθοδο<sup>181,175,182</sup>.

Τα αποτελέσματα είναι ιδιαίτερα ικανοποιητικά αλλά όπως και για την PCR απαιτείται χρόνος για να ελεγχθούν.



## ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ

Οι δύο ομάδες που είναι εκτεθειμένες σε υψηλότερο κίνδυνο μόλυνσης και στις οποίες είναι ιδιαίτερα σημαντική η ανάγκη προφύλαξης από λοίμωξη με τοξόπλασμα είναι οι οροαρνητικές έγκυες γυναίκες και οι για οποιονδήποτε λόγο ανοσοκατασταλμένοι ασθενείς.

Τα προφυλακτικά μέτρα συνοψίζονται στον περιορισμό των μολύνσεων δια της πεπτικής κυρίως οδού, οι οποίες πραγματοποιούνται με την κατάποση είτε ιστικών κύστεων ή ωρίμων ωοκύστεων.

1) Η ιστική κύστη αδρανοποιείται με έκθεση του κρέατος σε θερμοκρασία πάνω από τους  $66^{\circ}\text{C}$  ή με "κάπνισμα" ή πάστωμα<sup>21,183</sup>, ενώ η κατάψυξη δεν είναι αποτελεσματική μέθοδος<sup>21,26,180</sup>.

Για να ελαχιστοποιηθούν οι πιθανότητες μόλυνσης από ωμό κρέας πρέπει μετά την επαφή να ακολουθεί καλό πλύσιμο των χεριών με ζεστό νερό και σαπούνι και να αποφεύγεται η επαφή με τους βλεννογόνους του στόματος και τον επιτεφυκότα πριν το πλύσιμο. Επίσης απαγορεύεται η κατανάλωση ωμών αυγών.

2) Για να αποφευχθεί η μόλυνση με ωοκύστες πρέπει τα κόπρανα της γάτας να απομακρύνονται καθημερινά και το δοχείο που χρησιμοποιείται να εκτίθεται σε βραστό νερό για 5'<sup>184</sup> Διάλυμα αμμωνίας 7% για 3' καταστρέφει τις ωοκύστες. Τα άλλα απολυμαντικά δεν προσφέρουν ικανοποιητική απολύμανση<sup>28</sup>.

Για τις έγκυες και τους ανοσοκατασταλμένους ασθενείς συνιστάται να αποφεύγουν κάθε επαφή με γάτες.

Οι μύγες και διάφορα κοπροφάγα έντομα πρέπει να καταπολεμούνται γιατί λειτουργούν σαν μεταφορείς<sup>180</sup>. Τα φρούτα και τα λαχανικά μπορεί να έχουν ωοκύστες στην επιφάνεια τους και γι' αυτό πρέπει να πλένονται καλά. Για τις οικόσιτες γάτες η προσπάθεια πρέπει να επικεντρωθεί στο να μη μολυνθούν άρα να τρέφονται μόνο με



μαγειρεμένα φαγητά. Ειδικά μέτρα πρέπει να λαμβάνουν οι κτηνίατροι και το προσωπικό που ασχολείται σε καθημερινή βάση με γάτες<sup>184</sup>.



## ΘΕΡΑΠΕΙΑ

### Πυριμεθαμίνη και σουλφοναμίδες

Η πυριμεθαμίνη (Daraprim), ένα ανθελονοσιακό φάρμακο που δρα ανταγωνιστικά στο φυλικό οξύ έδωσε όχι μόνο παράταση της επιβίωσης αλλά και πλήρη ίαση σε πειραματόζωα που μολύνθηκαν με τοξόπλασμα. Ο χρόνος ημιζωής της πυριμεθαμίνης στο πλάσμα είναι περίπου 100 ώρες<sup>185,186</sup>. Για το νεογνό δεν υπάρχουν σαφείς πληροφορίες. Λόγω του υψηλού αυτού χρόνου ημιζωής, μερικοί ερευνητές συνέστησαν για τα νεογνά<sup>187</sup>, χορήγηση ανά 3-4 ημέρες. Η συγκέντρωση του φαρμάκου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ήταν 10-25% αυτής του πλάσματος σε μελέτη ασθενών που θεραπευόταν για λευχαιμία<sup>186</sup>. Η προτεινόμενη δόση πυριμεθαμίνης σε ενήλικες και παιδιά είναι 1 mg/kg βάρους σώματος/24ωρο κατανεμημένο σε δύο δόσεις με μέγιστη δοσολογία 25 mg/ημέρα. Έχει χρησιμοποιηθεί και διπλάσια δόση σε ενήλικες, αλλά με τοξικά αποτελέσματα. Η διπλάσια δόση χρησιμοποιείται συνήθως τις πρώτες δύο ημέρες για να επιτευχθούν γρήγορα ικανοποιητικά επίπεδα του φαρμάκου στην κυκλοφορία. Στα νεογνά χρησιμοποιήθηκε i.v. χορήγηση σε ίδια όπως και από το στόμα δοσολογία. Η πυριμεθαμίνη και η σουλφαδιαζίνη λειτουργούν συνεργικά και σε συνδυασμένη χορήγηση, οκτώ φορές ισχυρότερα απ' ό,τι αν δρούσαν μεμονωμένα<sup>152</sup>. Πειράματα έδειξαν ότι η σουλφαπυραζίνη, η σουλφαμεθαζίνη και η σουλφαμεραζίνη είναι το ίδιο περίπου δραστικές<sup>152</sup>, ενώ οι άλλες σουλφοναμίδες είναι πολύ λίγο δραστικές.

Η συνήθης δοσολογία της σουλφαδιαζίνης ή του τριπλού σχήματος είναι 100-150 mg/kg βάρους σώματος την ημέρα, μοιρασμένη σε 4 ίσες δόσεις από το στόμα μαζί με την πυριμεθαμίνη. Οι προαναφερθέντες όμως παράγοντες είναι δυνητικά τοξικοί. Οι σουλφοναμίδες προκαλούν κρυσταλουρία, αιματοουρία και υπερευαισθησία. Η πυριμεθαμίνη προκαλεί καταστολή του μυελού των οστών<sup>145</sup> με δοσοεξαρτώμενη





δράση. Βαριάς μορφής θρομβοπενία με επακόλουθο αιμορραγίες είναι το βασικό σύμπτωμα, ενώ ακολουθούν λευκοπενία και αναιμία. Γι' αυτό απαιτείται τουλάχιστον δύο φορές την εβδομάδα έλεγχος του περιφερικού αίματος και των αιμοπεταλίων. Έχει χρησιμοποιηθεί φυλικό οξύ με λευκοβορικό ασβέστιο για την αποκατάσταση της λευκοπενίας<sup>187</sup>. Σε πειραματόζωα αναφέρεται τερατογόνος δράση μετά χορήγηση πυριμεθαμίνης σε δόσεις 2,5- 50 mg/kg βάρους στη φάση της οργανογένεσης. Με τα στοιχεία αυτά δεν είναι δυνατόν να ειπωθεί με βεβαιότητα ότι θα προκληθούν βλάβες στο ανθρώπινο έμβρυο, αλλά ούτε και το αντίθετο.

### Σπειραμυκίνη

Η σπειραμυκίνη (Rovamycin) είναι μακρολίδιο αρκετά δραστικό κατά του τοξοπλάσματος<sup>188,182</sup>. Χορηγείται από του στόματος σε δόση 2-4 g τέσσερις φορές την ημέρα<sup>188</sup>. Υπάρχουν μελέτες για τις συγκεντρώσεις που επιτυγχάνονται στον ορό της μητέρας, στον ομφάλιο λώρο και στον πλακούντα. Με δόση 2 g/ημέρα παρατηρήθηκαν αντίστοιχα: 1,19-0,63-2,75 μg/ml και με δόση 3 g/ημέρα: 1,69-0,78-6,2 μg/ml. Δηλαδή στον πλακούντα οι συγκεντρώσεις ήταν σαφώς θεραπευτικές, ενώ αυτές στον ομφάλιο αμφισβητούνται<sup>190</sup>. Η δράση της σπειραμυκίνης στην συγγενή τοξοπλάσμωση δεν έχει διευκρινισθεί απόλυτα<sup>182</sup>. Δεν υπάρχει καμία μελέτη που να ενοχοποιεί την σπειραμυκίνη για τερατογόνο δράση.

### Άλλα φάρμακα

Τριμεθοπρίμη και Σουλφαμεθοξαζόλη<sup>142,191</sup> Έχει πολύ μικρή θεραπευτική αξία.

Κλινδαμυκίνη<sup>190</sup> Δεν εφαρμόζεται πλέον λόγω του κινδύνου της ψευδομεμβρανώδους εντεροκολίτιδας.

Τετρακυκλίνες Έχουν δοκιμασθεί μόνο σε ζώα και σε πολύ υψηλές δόσεις.



Οι ήπιες μορφές της επίκτητης τοξοπλάσμωσης ιώνται αυτόματα και δεν απαιτούν συνήθως φαρμακευτική αντιμετώπιση.

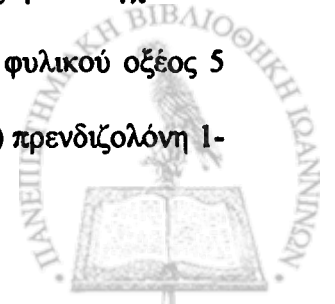
Οι συμπτωματικές μορφές της επίκτητης τοξοπλάσμωσης αντιμετωπίζονται με το συνδυασμό σουλφαθειαζίνης (50-100 mg/kg σωματικού βάρους ημερησίως) και πυριμεθαμίνης (0,51-1 mg/kg σωματικού βάρους ημερησίως) για 21 ημέρες<sup>192</sup>.

Εναλλακτικά μπορεί να χορηγηθεί το ίδιοσκεύασμα Fansidar (0,5 g σουλφαδοξίνης και 0,025 g πυριμεθαμίνης).

Ο συνδυασμός αυτών των δύο φαρμάκων επιβάλλει αιματολογικό έλεγχο. Για την πρόληψη παρενεργειών από το αιμοποιητικό σύστημα, συνιστάται η ενδομυϊκή χορήγηση 5 mg φυλικού οξέος κάθε 3 ημέρες<sup>192</sup>.

Οι βαριές μορφές της επίκτητης τοξοπλάσμωσης και κυρίως η εγκεφαλική, οι οποίες αφορούν κατά κανόνα ανοσοκατασταλμένα άτομα, μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονται και ασθενείς που πάσχουν από AIDS, αντιμετωπίζονται με τη συνδυασμένη χορήγηση πυριμεθαμίνης (50 mg ημερησίως), με σουλφοθειαζίνη (4 g ημερησίως) και ασβεστούχου λευκοβορίνης (5-10 mg ημερησίως)<sup>187</sup>. Εναλλακτικά μπορεί να χορηγηθεί ο συνδυασμός πυριμεθαμίνης (75 mg ημερησίως) με ενδοφλέβια χορήγηση 1.200 mg κλινταμυκίνης ημερησίως. Η θεραπεία αυτή συνεχίζεται για 6-8 εβδομάδες. Κατόπιν χορηγούνται για συντήρηση 50 mg πυριμεθαμίνης εβδομαδιαίως με σουλφοθειαζίνη 4 g ημερησίως ή πυριμεθαμίνη 50 mg εβδομαδιαίως με 300 mg κλινταμυκίνη<sup>190</sup>.

Η υποτροπιάζουσα οφθαλμική τοξοπλάσμωση, συγγενής ή επίκτητη, αντιμετωπίζεται με τη χορήγηση τον πρώτο μήνα: 1) Rovamycin 100 mg/kg σωματικού βάρους ημερησίως στα παιδιά και 50 mg/kg σωματικού βάρους ημερησίως στους ενήλικες, 2) Fansidar 1 δισκίο / 20 kg βάρους κάθε 10 ημέρες με έλεγχο του αιμοδιαγράμματος δύο φορές το μήνα και παράλληλη χορήγηση 3) φυλικού οξέος 5 mg ημερησίως στα παιδιά και 50 mg ημερησίως στους ενήλικες και 4) πρενδιζολόνη 1-



2 mg/kg σωματικού βάρους ημερησίως μέχρι και εξάλειψης της φλεγμονώδους αντίδρασης. Εν συνεχεία χορηγείται 1 δισκίο / 20 kg σωματικού βάρους ημερησίως ανά 15ήμερο για 6 μήνες με έλεγχο του αιμοδιαγράμματος και παράλληλη χορήγηση φυλικού οξέος όταν κριθεί απαραίτητο<sup>192</sup>.

Η συγγενής τοξοπλάσωση αντιμετωπίζεται με τη χορήγηση επί 1 μήνα σπειραμυκίνης (Rovamycin) 50-100 mg/kg σωματικού βάρους ημερησίως και 0,5 g σουλφοδοξίνης με 0,025 g πυριμεθαμίνης (Fansidar)/kg σωματικού βάρους άπαξ ανά 15ήμερο με παράλληλη χορήγηση δια του στόματος 5 mg ημερησίως φυλικού οξέος στα νεογνά και 50 mg ημερησίως στους ενήλικες. Εν συνεχεία, ανάλογα με τα επιτευχθέντα αποτελέσματα, η θεραπεία συνεχίζεται με Fansidar ή Rovamycin<sup>193</sup>.

Θεραπεία κατά την κύηση γίνεται σαν προσπάθεια να μειωθεί τόσο η συχνότητα όσο και η βαρύτητα της συγγενούς λοίμωξης.

Έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς συνδυασμοί σουλφοναμιδών και πυριμεθαμίνης<sup>192,193</sup>, αλλά λόγω της δυνητικής τερατογένεσης δεν χρησιμοποιούνται πλέον τουλάχιστον τις πρώτες 12 ή 14 εβδομάδες της κύησης. Με την χορήγηση της θεραπείας παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συχνότητας της νόσου στο 5% σε σχέση με το 16,6% χωρίς θεραπεία<sup>194,195</sup>. Με επίκεντρο τη Γαλλία χρησιμοποιείται πλέον ευρέως σπειραμυκίνη 2-3g ημερησίως σε 4 δόσεις για 3-4 εβδομάδες και σε μερικές περιπτώσεις το σχήμα επαναλαμβάνεται με μεσοδιάστημα 2 εβδομάδων καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης με πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Συμπερασματικά αν και δεν έχει προκύψει ακόμα ατράνταχτη απόδειξη για την αναγκαιότητα της θεραπείας κατά την κύηση τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα δίνουν ισχυρότατες ενδείξεις για την αποτελεσματικότητά της<sup>196</sup>.

Αμφιλεγόμενες παρατηρήσεις για συγγενή μετάδοση, καθ' έξιν εκτρώσεις και αυξημένη περιγεννητική θνησιμότητα κατά την χρόνια φάση της τοξοπλάσωσης συζητήθηκαν και στο κεφάλαιο της μετάδοσης.



Σε μια προσπάθεια να ελεγχθούν η συχνότητα εμφάνισης χαμηλού βάρους κατά την γέννηση, οι καθ' ἑξιν αποβολές και οι πρόωροι τοκετοί, μεγάλες σειρές γυναικών με τέτοιο ιστορικό μπήκαν σε αγωγή με πυριμεθαμίνη ή σουλφοναμίδες<sup>197,198</sup> με αποτέλεσμα την πτώση όλων των πιο πάνω δεικτών, καταδεικνύοντας σαν αίτιο αυτομάτων εκτρώσεων, πρόωρων τοκετών ή γέννηση θνησιγενών νεογνών τη χρόνια τοξοπλάσμωση. Ο τρόπος διενέργειας όμως αυτών των μελετών δεν ήταν απόλυτα ορθός ιδιαίτερα όσον αφορά τις ομάδες ελέγχου.

Ο Kimball και συν.<sup>199</sup> σε μια απόλυτα τεκμηριωμένη μελέτη υποστήριξαν ότι τελικά δεν υπάρχει ισχυρή απόδειξη ότι η χορήγηση προληπτικής θεραπείας για τοξοπλάσμα σε γυναίκες με αυξημένο τίτλο αντισωμάτων προφυλάσσει από τις αυτόματες εκτρώσεις<sup>200,201,202</sup>.

Θεραπευτική διακοπή της κήσεως συνίσταται μόνο με την προϋπόθεση ότι με τις διαγνωστικές μεθόδους εξασφαλίζεται ότι η οξεία φάση της λοίμωξης έλαβε μέρος κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης και το έμβρυο είναι αποδεδειγμένα προσβεβλημένο.



**ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## ΣΚΟΠΟΣ

Το *T. gondii* συγκαταλέγεται ως γνωστόν μεταξύ των μικροοργανισμών οι οποίοι δύνανται να προκαλέσουν ενδομητρική μόλυνση του εμβρύου με επακόλουθα αυτόματη έκτρωση, βαριές διαταραχές περί την διάπλαση ή βλάβες διαφόρων οργάνων οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν είτε σε ενδομητρικό θάνατο και αποβολή είτε στη γέννηση νεογνών με συγγενή τοξοπλάσμωση η οποία ανάλογα με τη βαρύτητά της θα γίνει αντιληπτή αμέσως μετά τον τοκετό ή αργότερα.

Σήμερα είναι διεθνώς αποδεκτό ότι εκτός των περιπτώσεων ανοσοκαταστολής ή ανοσοανεπάρκειας της εγκύου, μόνο η πρωτοπαθής μόλυνση με *T. gondii* κατά την κύηση μπορεί να οδηγήσει σε ενδομητρική μόλυνση του εμβρύου με τα αναφερθέντα δυσάρεστα επακόλουθα.

Σκοπός αυτής της εργασίας υπήρξε η εργαστηριακή διερεύνηση του κινδύνου πρωτοπαθών μολύνσεων με *T. gondii* κατά την κύηση σε έγκυες της περιοχής Ηλείου.



## ΥΛΙΚΟ

Το υλικό της παρούσας εργασίας αποτέλεσαν 914 δείγματα ορών αίματος από ισάριθμες έγκυες γυναίκες που παρακολούθηθηκαν στην Πανεπιστημιακή Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική του Νοσοκομείου Ιωαννίνων κατά το χρονικό διάστημα: Φεβρουάριος 1988 έως Απρίλιος 1989.

Κατά την διαδικασία επιλογής των δειγμάτων αποκλείστηκαν όσα ελήφθησαν από:

1. Οι έγκυες που δεν κατοικούσαν στην Ήπειρο (Νομοί: Ιωαννίνων, Πρεβέζης, Θεσπρωτίας, Άρτας).
2. Οι έγκυες που για οποιονδήποτε λόγο τερμάτισαν την κύησή τους πρόωμα.
3. Οι έγκυες οι οποίες συνέχισαν την παρακολούθησή τους και τον τερματισμό της κύησης στην Πανεπιστημιακή Μαιευτική Κλινική.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

Κατά την πρώτη επίσκεψη ανεξαρτήτως εβδομάδας κύησης γίνονταν αιμοληψία 5-10 ml και προσδιορισμός αντισωμάτων IgG και IgM κατά του τοξοπλάσματος. Ο ορός καταψύχονταν και φυλάσσονταν στους  $-20^{\circ}\text{C}$ . Ανεξαρτήτως από το αποτέλεσμα μετά 2 εβδομάδες γινόταν νέα αιμοληψία και προσδιορισμός στο δείγμα IgG αντισωμάτων ταυτόχρονα με αυτό της προηγούμενης λήψης καθώς και νέος προσδιορισμός IgM αντισωμάτων. Ακολούθως στις έγκυες με IgG θετικά αποτελέσματα δεν γινόταν καμία άλλη λήψη, ενώ στις IgG οροαρνητικές έγκυες έγινε κάθε 4-6 εβδομάδες επανάληψη του προσδιορισμού IgG και IgM.

Οι ανωτέρω προσδιορισμοί έγιναν στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Στους αναλυτικούς πίνακες των αποτελεσμάτων για μεν τα θετικά δείγματα αναφέρεται το αποτέλεσμα της πρώτης εξέτασης για δε τα αρνητικά της τελευταίας.



**ΜΕΘΟΔΟΣ****A. Ποσοτικός προσδιορισμός IgG αντισωμάτων έναντι του τοξοπλάσματος****1. Αντιδραστήρια**

Χρησιμοποιήθηκε η σειρά έτοιμων τυποποιημένων αντιδραστηρίων (Abbott - Τοχο-G EIA), σύμφωνα με τις ένθετες οδηγίες.

Το κάθε Kit περιέχει τα εξής αντιδραστήρια:

- 200 ml αραιωτικό ρυθμιστικό διάλυμα: Διάλυμα Tris με σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και αντιμικροβιακές ουσίες (αντιδραστήριο 6).
- 0,25 ml πρότυπου ορού (12 IU /ml): Ανθρώπιος ορός με 0,1% αζίδιο του Na (αντιδραστήριο 7).
- 0,25 ml ασθενώς θετικού μάρτυρα (25 IU /ml): Ανθρώπιος ορός με 0,1% αζίδιο του Na ως συντηρητικό (αντιδραστήριο 5).
- 0,25 ml ισχυρώς θετικού μάρτυρα (300 IU /ml): Ανθρώπιος ορός με 0,1% αζίδιο του Na ως συντηρητικό (αντιδραστήριο 3).
- 0,25 αρνητικού μάρτυρα: Ανθρώπινος ορός με το πιο πάνω συντηρητικό (αντιδραστήριο 4).
- 100 σφαιρίδια Τοχο-G: Σφαιρίδια πολυστερίνης με καθηλωμένο στην επιφάνειά τους αντιγόνο *T. gondii* (αντιδραστήριο 1).
- 20 ml ενζυμικού συζεύγματος. Ρυθμιστικό διάλυμα TRIS, με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και αντιμικροβιακές ουσίες, που περιέχει αντισώματα αιγός έναντι ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης G σε ελάχιστη συγκέντρωση 0,01 mg/ml συνδεδεμένα με υπεροξειδάση (αντιδραστήριο 2).
- 55 ml διαλυτικού για τα δισκία OPD: Κιτρικό φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει 0,2% υπεροξειδίου του υδρογόνου (αντιδραστήριο 10).





- 10 δισκία OPD (ορθο-φαινυλενοδιαμίνη. 2 HCL): δισκία με 12,8 mg OPD/δισκίο (αντιδραστήριο 9).

Επί πλέον χρησιμοποιήθηκε για την αναστολή της ενζυμικής αντίδρασης κανονικό διάλυμα θεικού οξέος 1N (αντιδραστήριο 11).

## 2. Υλικό και όργανα

Με κάθε Kit αντιδραστηρίων παρέχεται το παρακάτω αναλώσιμο υλικό.

- 2 πλαστικές πλάκες αντίδρασης των 60 βυθισμάτων κατά πλάκα.
- Αυτοκόλλητα καλύμματα για τις πλάκες.
- Σωληνάρια πολυστερίνης 12 επί 75 χιλιοστά σε ειδική συσκευασία.

Εκτός από το παραπάνω υλικό χρησιμοποιήθηκαν επιπλέον:

- Πλαστικά σωληνάρια των 3 ml για την προαραίωση των ορών.
- Πλαστικά στατώ των 50 θέσεων.
- Αυτόματες πιπέτες ρυθμιζόμενου όγκου varipette (10-100 μl και 100-1.000 μl).
- Πλαστικά ρύγχι μιας χρήσεως, κίτρινα (10-100 μl) και μπλε (100-1000 μl).
- Αυτόματη πιπέτα πολλαπλής διανομής αντιδραστηρίων multipette με σύριγγες combitips των 2.5, 5.0 και 50 ml.
- Διανεμητής σφαιριδίων (No 6155-20) για την διανομή των σφαιριδίων στα βυθίσματα των πλακών αντίδρασης.
- Αναδευτήρας τύπου Vortex.
- Υδατόλουτρο με θερμοστάτη για την επώαση των πλακών αντίδρασης σε θερμοκρασία 37° C.
- Χειροκίνητο σύστημα έκπλυσης των σφαιριδίων στα βυθίσματα των πλακών αντίδρασης Pentawash, που αποτελείται από:
  - Αντλία κενού.
  - Αντλία νερού.



- Πενταθέσιο βραχίονα και δύο φιάλες κενού των 2 λίτρων.
- Διχρωματικό φωτόμετρο Abbott Quantum II για τη μέτρηση της οπτικής πυκνότητας σε μήκη κύματος 492-600 nm με ενσωματωμένο υπολογιστή και εκτυπωτή, που τυπώνει απ' ευθείας τα αποτελέσματα σε IU/ml.
- Χρησιμοποιήθηκαν επίσης ψυγεία των 4° C και καταψύκτες των -20° C, φυγόκεντροι, χρονόμετρα, συσκευές παροχής απεσταγμένου και απιονισμένου ύδατος, σιφόνια, ογκομετρικοί κύλινδροι και άλλα γυάλινα σκεύη.

### 3. Αρχή της μεθόδου

Η ανοσοενζυμική μέθοδος προσδιορισμού IgG αντισωμάτων έναντι του τοξοπλάσματος με τη σειρά έτοιμων τυποποιημένων αντιδραστηρίων του οίκου Abbott είναι του τύπου στερεάς φάσης και βασίζεται στην παρακάτω αρχή.

Σφαιρίδια πολυστερίνης, στην επιφάνεια των οποίων έχει καθηλωθεί αντιγόνο τοξοπλάσματος, επωάζονται με προαραιωμένα δείγματα ορών και κατάλληλους μάρτυρες. Κατά την επώαση τυχόν υπάρχοντα αντισώματα έναντι του τοξοπλάσματος αντιδρούν με το καθηλωμένο στην επιφάνεια των σφαιριδίων αντιγόνο και προσηλώνονται σ' αυτά.

Ακολουθεί νέα επώαση με ενζυμικό σύζευγμα, που συνίσταται από ιχνοθετημένα με υπεροξειδάση, αντισώματα αιγός έναντι ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης IgG.

Το ενζυμικό σύζευγμα παρουσία αντισωμάτων στην επιφάνεια των σφαιριδίων προσηλώνεται σε αυτά. Στη συνέχεια προστίθεται διάλυμα που περιέχει υπόστρωμα του ενζύμου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) και χρωμογόνο (ορθοφαινυλενοδιαμίνη). Ακολουθεί επώαση όπου λαμβάνει χώρα ενζυμική διάσπαση του υποστρώματος, που συνοδεύεται από την εμφάνιση κιτρινοπορτοκαλί χρώματος. Η ένταση του χρώματος εξαρτάται από την ποσότητα των IgG αντισωμάτων έναντι του τοξοπλάσματος.



Η ενζυμική αντίδραση σταματά ύστερα από 30' με προσθήκη 1,0N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Οι τιμές οπτικής πυκνότητας μετρούνται σε μήκος κύματος 492 nm, τα αποτελέσματα δε των μετρήσεων εκφράζονται μετά από υπολογισμό σε διεθνείς μονάδες ανά χλιοστόλιτρο IU/ml.

#### 4. Τεχνική εκτέλεσης των προσδιορισμών

Πριν από κάθε εξέταση συμπληρώνεται ειδικό πρωτόκολλο στο οποίο περιλαμβάνονται με σειρά, το πρότυπο, οι θετικοί μάρτυρες, ο αρνητικός μάρτυρας και τα προς εξέταση δείγματα.

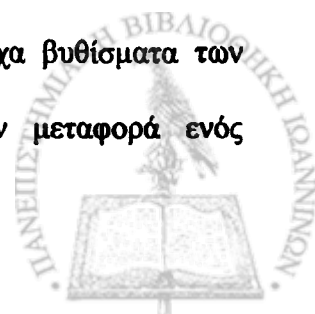
Σύμφωνα με αυτό το πρωτόκολλο η εξέταση του πρότυπου των θετικών μαρτύρων και του αρνητικού μάρτυρα γίνεται εις διπλούν.

Μετά την συμπλήρωση του πρωτοκόλλου τα διατηρούμενα σε κατάψυξη -20° C δείγματα ορών, φέρονται σε θερμοκρασία δωματίου και αποψύχονται. Παράλληλα τα διατηρούμενα σε ψυγείο 4° C αντιδραστήρια 1, 3, 4, 5, 6 και 7 φέρονται και αυτά σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι εξομοίωσης της θερμοκρασίας τους με αυτή του περιβάλλοντος.

Ακολουθεί η προαραίωση του πρότυπου ορού, των θετικών μαρτύρων, του αρνητικού μάρτυρα και των προς εξέταση ορών στον απαραίτητο για την εξέτασή του αριθμό σωληναρίων.

Με την βοήθεια της multipette με σύριγγα compitips των 50 ml διανέμεται σε όλα τα σωληνάκια ανά 2 ml αντιδραστηρίου 6. Με την varipette (10-100 ml) και αλλάζοντας κάθε φορά ρύγχος, προστίθενται 20 ml από τα αντιδραστήρια 7, 5, 3, 4 όπως και από τους προς εξέταση ορούς στα αντίστοιχα σωληνάκια. Ακολουθεί ανάδευση σε Vortex.

Με την varipette (100-1.000 ml) και αλλάζοντας κάθε φορά ρύγχος, μεταφέρονται σύμφωνα με το πρωτόκολλο 200 μl στα αντίστοιχα βυθίσματα των πλακών αντίδρασης. Ακολουθεί με τον διανεμητή σφαιριδίων μεταφορά ενός



σφαιριδίου σε κάθε βύθισμα. Μετά ελαφρά ανακίνηση οι πλάκες αντίδρασης επωάζονται σε υδατόλουτρο 37° C για 1 ώρα (1<sup>η</sup> επώαση).

Μετά το τέλος της πρώτης επώασης ακολουθεί έκπλυση κάθε σφαιριδίου με 5 ml απιονισμένου ύδατος.

Με την multipette και comritips των 5 ml προστίθενται 200 ml ενζυμικού συζεύγματος (αντιδραστήριο 2) σε όλα τα βυθίσματα που περιέχουν σφαιρίδιο και οι πλάκες αντίδρασης επωάζονται εκ νέου σε υδατόλουτρο 37° C για 1 ώρα (2<sup>η</sup> επώαση). Παράλληλα φέρεται σε θερμοκρασία δωματίου το αντιδραστήριο 10 και δέκα λεπτά πριν το τέλος της επώασης το αντιδραστήριο 9 και παρασκευάζεται η απαραίτητη για τους προσδιορισμούς ποσότητα χρωμογόνου ενζυμικού υποστρώματος.

Μετά το τέλος της δεύτερης επώασης ακολουθεί εκ νέου έκπλυση των σφαιριδίων και μεταφορά τους στα ειδικά συσκευασμένα και αριθμημένα σωληνάρια.

Με την multipette και comritips 5 ml διανέμονται 300 μl διαλύματος χρωμογόνου - υποστρώματος σε όλα τα σωληνάρια που περιέχουν σφαιρίδια και σε δύο κενά, που χρησιμοποιούνται για την ρύθμιση της τιμής 0 του φωτόμετρου. Ακολουθεί παραμονή επί 30' σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό θάλαμο.

Μετά 30' προστίθεται με την multipette και comritips 50 ml ανά 1ml 1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> σε όλα τα σωληνάρια και αναδεύονται. Ακολουθεί μέσα σε 30' το αργότερο από την προσθήκη του H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> η μέτρηση των τιμών της οπτικής πυκνότητας στο φωτόμετρο Quantum II.

##### 5. Μέτρηση και αξιολόγηση της τιμής της οπτικής πυκνότητας

Οι μετρήσεις των τιμών οπτικής πυκνότητας γίνονται στο φωτόμετρο Abbott Quantum II (Mem. Modul B-Mode 1, 15).

Η αξιολόγηση των μετρήσεων γίνεται από τον ενσωματωμένο μικροϋπολογιστή του οποίου ο εκτυπωτής τυπώνει απ' ευθείας τα επί μέρους αποτελέσματα σε IU/ml.



## **B. Ποιοτικός προσδιορισμός IgM αντισωμάτων έναντι του τοξοπλάσματος**

### **1. Αντιδραστήρια**

Χρησιμοποιήθηκε η σειρά έτοιμων τυποποιημένων αντιδραστηρίων (Abbott-Toxo-M-EIA) σύμφωνα με τις ένθετες οδηγίες.

Το κάθε Kit περιέχει τα εξής αντιδραστήρια:

- 200 ml αραιωτικό ρυθμιστικό διάλυμα, Tpis με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και αντιμικροβιακές ουσίες (Αντιδραστήριο 6).
- 0,20 ml ασθενώς θετικού μάρτυρα: Επανασβεστωθέν πλάσμα ανθρώπου θετικό για IgM αντισώματα με 0,16% αζίδιο του Νατρίου ως συντηρητικό (Αντιδραστήριο 5).
- 0,20 ml ισχυρώς θετικού μάρτυρα: Επανασβεστωθέν πλάσμα ανθρώπου θετικό για IgM αντισώματα με 0,16% αζίδιο του Νατρίου ως συντηρητικό (Αντιδραστήριο 3).
- 0,20 ml αρνητικού μάρτυρα: Επανασβεστωθέν πλάσμα ανθρώπου αρνητικό για IgM αντισώματα με 0,16% αζίδιο του Νατρίου ως συντηρητικό (Αντιδραστήριο 4).
- 100 σφαιρίδια Τοχο-Μ: Σφαιρίδια πολυστερίνης με καθηλωμένα στην επιφάνειά τους αντισώματα αιγός έναντι IgM ανθρώπου (Αντιδραστήριο 1).
- 20 ml ενζυμικού συζεύγματος: Φυσιολογικό διάλυμα NaCl με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και αντιμικροβιακές ουσίες που περιέχει ανοσοσύμπλεγμα, αποτελούμενο από αντιγόνο τοξοπλάσματος και αντισώματα κονίκλου έναντι του τοξοπλάσματος, συνδεδεμένο με υπεροξειδάση σε ελάχιστη συγκέντρωση 0,1  $\mu\text{g/ml}$  (Αντιδραστήριο 2).
- 10 δισκία OPD (ορθο-φαινυλενοδιαμίνη. 2HCL) με περιεκτικότητα 12,8 mg/δισκίο (Αντιδραστήριο 10).
- 1N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  για την αναστολή της ενζυμικής αντίδρασης.



## 2. Υλικό και όργανα

Χρησιμοποιούνται τα ίδια υλικά και όργανα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των IgG αντισωμάτων.

## 3. Αρχή της μεθόδου

Η ανοσοενζυμική μέθοδος προσδιορισμού IgM αντισωμάτων έναντι του τοξοπλάσματος με τη σειρά έτοιμων τυποποιημένων αντιδραστηρίων του οίκου Abbott είναι του τύπου στερεάς φάσης και βασίζεται στην παρακάτω αρχή.

Σφαιρίδια πολυστερίνης στην επιφάνεια των οποίων έχουν καθηλωθεί αντισώματα αιγός έναντι της ανοσοσφαιρίνης Μ του ανθρώπου, επώάζονται με προαραιωμένα δείγματα ορών και κατάλληλους μάρτυρες.

Κατά την διάρκεια της επώασης οι ανοσοσφαιρίνες IgM των δειγμάτων αντιδρούν με τα καθηλωμένα στην επιφάνεια του σφαιριδίου αντι-IgM αντισώματα αιγός, έναντι των οποίων συμπεριφέρονται ως αντιγόνο και προσηλώνονται σε αυτά. Μετά την αναρρόφηση του μη προσηλωθέντος υλικού και έκπλυση των σφαιριδίων προστίθεται για τη διαπίστωση ειδικών IgM αντισωμάτων έναντι του *T. gondii* ένα ιχνοθετημένο με υπεροξειδάση ανοσοσύμπλεγμα, που αποτελείται από αντιγόνο *T. gondii* και αντισώματα IgG κονίκλου έναντι *T. gondii*.

Ακολουθεί δεύτερη επώαση κατά την οποία, αν μεταξύ των προσηλωθέντων στα σφαιρίδια ανοσοσφαιρινών IgM των δειγμάτων υπάρχουν ειδικά IgM αντισώματα έναντι *T. gondii*, το αντιγόνο (*T. gondii*) του ανοσοσυμπλέγματος θα αντιδράσει με αυτά, με αποτέλεσμα την προσήλωση του με υπεροξειδάση ιχνοθετημένου ανοσοσυμπλέγματος στα σφαιρίδια.

Ακολουθεί αναρρόφηση του μη προσηλωθέντος υλικού και έκπλυση των σφαιριδίων.

Εν συνεχεία προστίθεται στα σφαιρίδια διάλυμα, που περιέχει υπόστρωμα του ενζύμου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) και χρωμογόνο (ορθο-φαινυλενοδιαμίνη).



Μετά από επώαση και εφόσον στα σφαιρίδια έχει προσηλωθεί επί θετικής αντίδρασης το ιχνοθετημένο ανοσοσύμπλεγμα, ακολουθεί ενζυμική διάσπαση του υποστρώματος, η οποία συνοδεύεται από την εμφάνιση κίτρινο-πορτοκαλί χρώματος. Η ένταση του χρώματος εξαρτάται από το ποσό των IgM αντισωμάτων των αντίστοιχων δειγμάτων.

Η ενζυμική αντίδραση σταματά ύστερα από 30' λεπτά με προσθήκη κανονικού διαλύματος θειικού οξέος.

Οι τιμές οπτικής πυκνότητας μετρούνται σε μήκος κύματος 492 νανόμετρα. Η μέση τιμή των εξετασθέντων δειγμάτων συγκρίνεται με τη μέση τιμή οπτικής πυκνότητας του εις τριπλούν εξετασθέντος ασθενώς θετικού μάρτυρα. Δείγματα με μέση τιμή οπτικής πυκνότητας μεγαλύτερης από το 0,5 της μέσης τιμής του ασθενώς θετικού μάρτυρα χαρακτηρίζονται σαν θετικά.

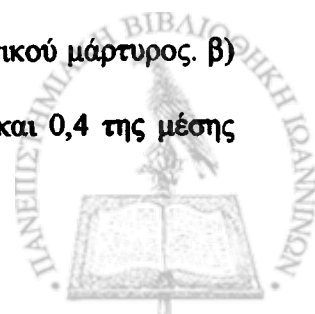
#### 4. Τεχνική εκτέλεσης των προσδιορισμών

Πριν από κάθε εξέταση συμπληρώνεται ειδικό πρωτόκολλο, στο οποίο περιλαμβάνονται οι δύο θετικοί μάρτυρες, ο αρνητικός μάρτυρας και τα προς έλεγχο δείγματα. Ακολουθείται η ίδια τεχνική με αυτή του προσδιορισμού των IgG αντισωμάτων με μόνη διαφορά τον χρόνο της πρώτης επώασης που είναι 120' αντί 60'.

#### 5. Μέτρηση και αξιολόγηση των τιμών οπτικής πυκνότητας

Η μέτρηση γίνεται στο φωτόμετρο Abbott Quantum II με το ειδικό για Τοχο-M πρόγραμμα (Module 3 No 404552 Mode 1, 4) αφού αυτό τροποποιηθεί (Mode 1/5) σύμφωνα με τις οδηγίες του οίκου.

Η αξιολόγηση γίνεται από τον ενσωματωμένο μικροϋπολογιστή του οποίου ο εκτυπωτής τυπώνει: α) την ένδειξη POS (θετικά) για εκείνα τα δείγματα που η οπτική τους πυκνότητα υπερβαίνει το 0,5 της μέσης τιμής του ασθενούς θετικού μάρτυρος. β) Την ένδειξη (\*\*) όταν η οπτική πυκνότητα βρίσκεται μεταξύ 0,5 και 0,4 της μέσης



τιμής του ασθενώς θετικού μάρτυρος. Το αποτέλεσμα εδώ είναι αμφίβολο και πρέπει να επαναληφθεί και γ) καμία ένδειξη (αρνητικό) για τιμές οπτικής πυκνότητας μικρότερες του 0.4 της μέσης τιμής του ασθενώς θετικού μάρτυρα.





## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αναλυτικά αποτελέσματα της εξέτασης 914 δειγμάτων ορών για την διαπίστωση αντισωμάτων IgG και IgM έναντι του τοξοπλάσματος, κατανεμημένα ανά έτος ηλικίας αναγράφονται στον Πίνακα III.

Στον Πίνακα IV παρατίθενται τα αποτελέσματα προσδιορισμού IgG αντισωμάτων έναντι του Τοξοπλάσματος ανά πενταετία ηλικίας.

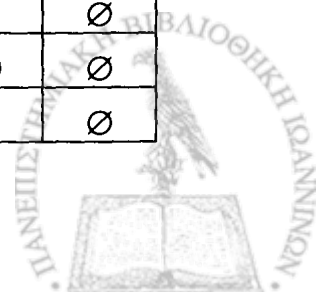


## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
1	16 ετών	∅	∅	31	"	∅	∅
2	"	∅	∅	32	"	∅	∅
3	"	∅	∅	33	"	∅	∅
4	"	35	∅	34	"	∅	∅
5	"	66	∅	35	"	∅	∅
6	"	∅	∅	36	"	∅	∅
7	"	∅	∅	37	"	∅	∅
8	"	∅	∅	38	"	∅	∅
9	"	∅	∅	39	"	15	∅
10	"	112	∅	40	"	70	∅
11	17 ετών	191	∅	41	"	∅	∅
12	"	∅	∅	42	18 ετών	105	∅
13	"	41	∅	43	"	∅	∅
14	"	∅	∅	44	"	∅	∅
15	"	62	∅	45	"	∅	∅
16	"	∅	∅	46	"	∅	∅
17	"	∅	∅	47	"	∅	∅
18	"	165	∅	48	"	∅	∅
19	"	∅	∅	49	"	∅	∅
20	"	∅	∅	50	"	∅	∅
21	"	∅	∅	51	"	30	∅
22	"	12,7	∅	52	"	∅	∅
23	"	13,4	∅	53	"	∅	∅
24	"	33,2	∅	54	19 ετών	∅	∅
25	"	∅	∅	55	"	∅	∅
26	"	191	∅	56	"	∅	∅
27	18 ετών	40	∅	57	"	∅	∅
28	"	∅	∅	58	"	∅	∅
29	"	∅	∅	59	"	30	∅
30	"	53	∅	60	"	∅	∅

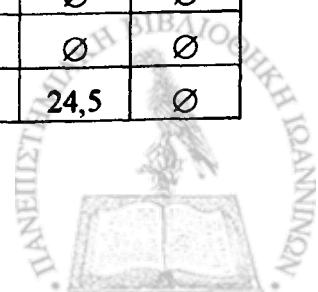


## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
61	19 ετών	∅	∅	91	"	∅	∅
62	"	40	∅	92	"	∅	∅
63	"	∅	∅	93	19 ετών	53,5	∅
64	"	∅	∅	94	"	∅	∅
65	"	∅	∅	95	"	65,2	∅
66	"	∅	∅	96	"	∅	∅
67	"	∅	∅	97	"	∅	∅
68	"	76	∅	98	"	∅	∅
69	"	∅	∅	99	"	175	∅
70	"	∅	∅	100	"	∅	∅
71	"	∅	∅	101	20 ετών	111	∅
72	"	53	∅	102	"	∅	∅
73	"	∅	∅	103	"	∅	∅
74	"	∅	∅	104	"	33	∅
75	"	∅	∅	105	"	∅	∅
76	"	70	∅	106	"	73	∅
77	"	∅	∅	107	"	∅	∅
78	"	∅	∅	108	"	77	∅
79	19 ετών	∅	∅	109	"	∅	∅
80	"	∅	∅	110	"	∅	∅
81	"	75	∅	111	"	∅	∅
82	"	∅	∅	112	"	∅	∅
83	"	∅	∅	113	"	∅	∅
84	"	∅	∅	114	"	300	∅
85	"	∅	∅	115	"	∅	∅
86	"	∅	∅	116	"	∅	∅
87	"	∅	∅	117	"	∅	∅
88	"	16,1	∅	118	"	∅	∅
89	"	244	∅	119	"	∅	∅
90	"	∅	∅	120	"	24,5	∅

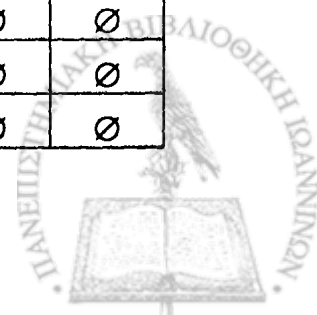


## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
121	20 ετών	17,2	∅	151	20 ετών	37	∅
122	"	∅	∅	152	"	∅	∅
123	"	62,3	∅	153	"	∅	∅
124	"	∅	∅	154	"	∅	∅
125	"	70	∅	155	"	30	∅
126	"	∅	∅	156	"	∅	∅
127	"	64	∅	157	"	∅	∅
128	"	∅	∅	158	"	70	∅
129	"	∅	∅	159	"	45	∅
130	"	∅	∅	160	"	∅	∅
131	"	39	∅	161	"	∅	∅
132	"	∅	∅	162	"	∅	∅
133	"	170	∅	163	"	72	∅
134	"	∅	∅	164	"	∅	∅
135	"	160	∅	165	"	∅	∅
136	"	263	∅	166	"	∅	∅
137	"	∅	∅	167	"	71	∅
138	"	∅	∅	168	"	∅	∅
139	"	∅	∅	169	"	∅	∅
140	"	∅	∅	170	"	∅	∅
141	"	∅	∅	171	21 ετών	∅	∅
142	"	∅	∅	172	"	∅	∅
143	"	∅	∅	173	"	∅	∅
144	"	∅	∅	174	"	15	∅
145	"	∅	∅	175	"	∅	∅
146	"	∅	∅	176	"	∅	∅
147	"	34,8	∅	177	"	∅	∅
148	"	∅	∅	178	"	∅	∅
149	"	52	∅	179	"	∅	∅
150	"	∅	∅	180	"	∅	∅

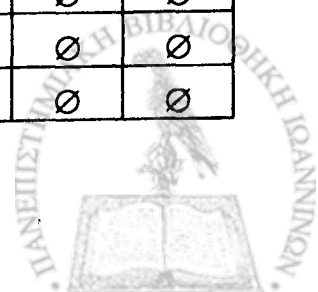


## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
181	21 ετών	∅	∅	211	21 ετών	∅	∅
182	"	∅	∅	212	"	∅	∅
183	"	64	∅	213	"	∅	∅
184	"	∅	∅	214	"	∅	∅
185	"	17	∅	215	"	∅	∅
186	"	19,2	∅	216	"	∅	∅
187	"	∅	∅	217	"	∅	∅
188	"	16,4	∅	218	"	∅	∅
189	"	∅	∅	219	"	∅	∅
190	"	∅	∅	220	"	∅	∅
191	"	∅	∅	221	"	∅	∅
192	"	∅	∅	222	"	75	∅
193	"	64	∅	223	"	∅	∅
194	"	∅	∅	224	"	20	∅
195	"	160	∅	225	"	∅	∅
196	"	∅	∅	226	"	32	∅
197	"	24	∅	227	"	∅	∅
198	"	∅	∅	228	"	47	∅
199	"	∅	∅	229	"	70	∅
200	"	48	∅	230	"	∅	∅
201	"	150	∅	231	"	∅	∅
202	"	70	∅	232	"	∅	∅
203	"	∅	∅	233	"	∅	∅
204	"	∅	∅	234	"	∅	∅
205	"	∅	∅	235	"	∅	∅
206	"	∅	∅	236	"	∅	∅
207	"	110	∅	237	"	∅	∅
208	"	35	∅	238	"	∅	∅
209	"	51	∅	239	"	∅	∅
210	"	45	∅	240	"	∅	∅

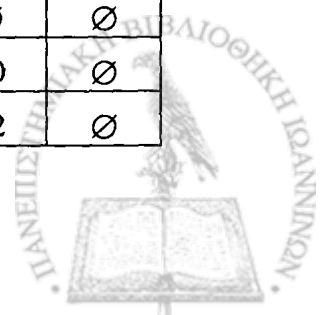


## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
241	21 ετών	∅	∅	271	22 ετών	32	∅
242	"	∅	∅	272	"	∅	∅
243	"	150	∅	273	"	∅	∅
244	"	∅	∅	274	"	300	∅
245	"	105	∅	275	"	∅	∅
246	22 ετών	∅	∅	276	"	∅	∅
247	"	∅	∅	277	"	∅	∅
248	"	∅	∅	278	"	90	∅
249	"	16	∅	279	"	132	∅
250	"	525	∅	280	"	∅	∅
251	"	∅	∅	281	"	∅	∅
252	"	∅	∅	282	"	170	∅
253	"	∅	∅	283	"	∅	∅
254	"	∅	∅	284	"	∅	∅
255	"	42	∅	285	"	∅	∅
256	"	∅	∅	286	"	106	∅
257	"	∅	∅	287	"	∅	∅
258	"	45	∅	288	"	∅	∅
259	"	78,2	∅	289	"	30	∅
260	"	∅	∅	290	"	∅	∅
261	"	∅	∅	291	"	60	∅
262	"	∅	∅	292	"	∅	∅
263	"	∅	∅	293	"	35	∅
264	"	17,2	∅	294	"	∅	∅
265	"	∅	∅	295	"	45	∅
266	"	14,7	∅	296	"	∅	∅
267	"	∅	∅	297	"	46	∅
268	"	290	∅	298	"	∅	∅
269	"	∅	∅	299	"	50	∅
270	"	160	∅	300	"	72	∅

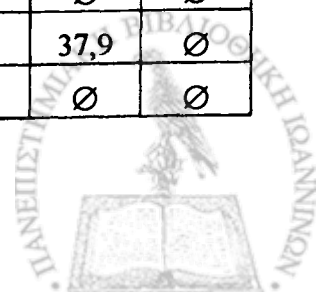


## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι T. gondii

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
301	22 ετών	∅	∅	331	23 ετών	53,5	∅
302	"	75	∅	332	"	∅	∅
303	"	20	∅	333	"	∅	∅
304	"	∅	∅	334	"	∅	∅
305	"	∅	∅	335	"	∅	∅
306	"	107	∅	336	"	∅	∅
307	"	∅	∅	337	"	185	∅
308	"	46	∅	338	"	∅	∅
309	"	∅	∅	339	"	282	∅
310	"	53	∅	340	"	∅	∅
311	"	∅	∅	341	"	∅	∅
312	"	∅	∅	342	"	∅	∅
313	"	∅	∅	343	"	∅	∅
314	"	76	∅	344	"	∅	∅
315	"	170	∅	345	"	∅	∅
316	"	∅	∅	346	"	16,6	∅
317	"	∅	∅	347	"	30,9	∅
318	23 ετών	∅	∅	348	"	46,7	∅
319	"	∅	∅	349	"	29,2	∅
320	"	∅	∅	350	"	27,2	∅
321	"	∅	∅	351	"	36,3	∅
322	"	∅	∅	352	"	24,1	∅
323	"	∅	∅	353	"	∅	∅
324	"	∅	∅	354	"	∅	∅
325	"	32	∅	355	"	∅	∅
326	"	72	∅	356	"	25	∅
327	"	∅	∅	357	"	∅	∅
328	"	∅	∅	358	"	∅	∅
329	"	∅	∅	359	"	37,9	∅
330	"	∅	∅	360	"	∅	∅

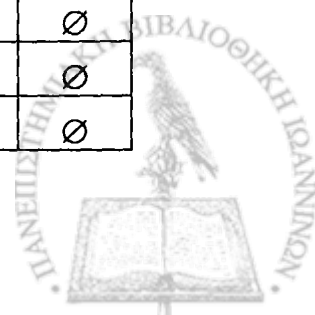


## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
361	23 ετών	∅	∅	391	23 ετών	∅	∅
362	"	∅	∅	392	"	∅	∅
363	"	∅	∅	393	"	61	∅
364	"	∅	∅	394	"	∅	∅
365	"	∅	∅	395	"	∅	∅
366	"	∅	∅	396	"	∅	∅
367	"	∅	∅	397	"	∅	∅
368	"	∅	∅	398	"	∅	∅
369	"	∅	∅	399	"	∅	∅
370	"	35	∅	400	"	101	∅
371	"	52	∅	401	"	∅	∅
372	"	∅	∅	402	"	20	∅
373	"	∅	∅	403	"	∅	∅
374	"	∅	∅	404	"	∅	∅
375	"	70	∅	405	"	∅	∅
376	"	∅	∅	406	"	97	∅
377	"	20	∅	407	"	∅	∅
378	"	∅	∅	408	"	∅	∅
379	"	∅	∅	409	"	20	∅
380	"	∅	∅	410	"	∅	∅
381	"	∅	∅	411	"	∅	∅
382	"	∅	∅	412	"	75	∅
383	"	∅	∅	413	24 ετών	∅	∅
384	"	145	∅	414	"	124	∅
385	"	∅	∅	415	"	∅	∅
386	"	∅	∅	416	"	32	∅
387	"	∅	∅	417	"	∅	∅
388	"	∅	∅	418	"	∅	∅
389	"	25	∅	419	"	∅	∅
390	"	∅	∅	420	"	16,8	∅





## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
421	24 ετών	16,6	∅	451	24 ετών	∅	∅
422	"	144,9	∅	452	"	24	∅
423	"	71,5	∅	453	"	58	∅
424	"	28,2	∅	454	"	∅	∅
425	"	∅	∅	455	"	∅	∅
426	"	∅	∅	456	"	∅	∅
427	"	300	∅	457	"	∅	∅
428	"	∅	∅	458	"	∅	∅
429	"	∅	∅	459	"	∅	∅
430	"	∅	∅	460	"	40	∅
431	"	22	∅	461	"	30	∅
432	"	∅	∅	462	"	∅	∅
433	"	∅	∅	463	"	∅	∅
434	"	45	∅	464	"	∅	∅
435	"	29	∅	465	"	∅	∅
436	"	∅	∅	466	"	∅	∅
437	"	64	∅	467	"	∅	∅
438	"	75	∅	468	"	∅	∅
439	"	170	∅	469	"	110	∅
440	"	∅	∅	470	"	∅	∅
441	"	45	∅	471	"	270	∅
442	"	∅	∅	472	"	∅	∅
443	"	∅	∅	473	"	20	∅
444	"	∅	∅	474	"	∅	∅
445	"	∅	∅	475	"	∅	∅
446	"	∅	∅	476	"	∅	∅
447	"	∅	∅	477	"	97	∅
448	"	∅	∅	478	"	75	∅
449	"	∅	∅	479	"	∅	∅
450	"	∅	∅	480	"	∅	∅

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

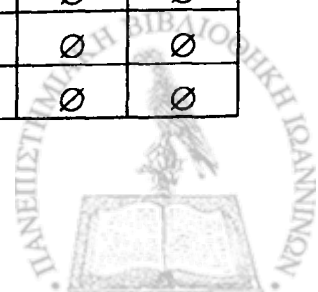
α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
481	24 ετών	∅	∅	511	25 ετών	∅	∅
482	"	∅	∅	512	"	20	∅
483	"	97	∅	513	"	∅	∅
484	"	21	∅	514	"	∅	∅
485	"	∅	∅	515	"	∅	∅
486	"	280	∅	516	"	52	∅
487	"	∅	∅	517	"	59	∅
488	25 ετών	87	∅	518	"	79	∅
489	"	54	∅	519	"	∅	∅
490	"	∅	∅	520	"	∅	∅
491	"	∅	∅	521	"	∅	∅
492	"	91	∅	522	"	∅	∅
493	"	∅	∅	523	"	∅	∅
494	"	∅	∅	524	"	45	∅
495	"	300	∅	525	"	∅	∅
496	"	∅	∅	526	"	∅	∅
497	"	∅	∅	527	"	60	∅
498	"	∅	∅	528	"	55	∅
499	"	300	∅	529	"	35	∅
500	"	∅	∅	530	"	∅	∅
501	"	52	∅	531	"	260	∅
502	"	∅	∅	532	"	75	∅
503	"	∅	∅	533	"	66	∅
504	"	72,2	∅	534	"	∅	∅
505	"	24,2	∅	535	"	∅	∅
506	"	33,5	∅	536	"	∅	∅
507	"	17,5	∅	537	"	∅	∅
508	"	∅	∅	538	"	∅	∅
509	"	∅	∅	539	"	∅	∅
510	"	∅	∅	540	"	27	∅

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
541	25 ετών	∅	∅	571	26 ετών	∅	∅
542	"	75	∅	572	"	∅	∅
543	"	∅	∅	573	"	124	∅
544	"	122	∅	574	"	300	∅
545	"	100	∅	575	"	62	∅
546	"	∅	∅	576	"	14	∅
547	"	∅	∅	577	"	18,5	∅
548	"	∅	∅	578	"	14,1	∅
549	"	∅	∅	579	"	40,2	∅
550	"	∅	∅	580	"	32,3	∅
551	"	120	∅	581	"	∅	∅
552	"	52	∅	582	"	∅	∅
553	"	∅	∅	583	"	∅	∅
554	"	47	∅	584	"	∅	∅
555	"	90	∅	585	"	∅	∅
556	"	120	∅	586	"	∅	∅
557	"	∅	∅	587	"	38	∅
558	"	∅	∅	588	"	32	∅
559	"	∅	∅	589	"	∅	∅
560	"	∅	∅	590	"	68	∅
561	"	20	∅	591	"	∅	∅
562	"	∅	∅	592	"	62	∅
563	"	75	∅	593	"	45	∅
564	"	∅	∅	594	"	32	∅
565	"	∅	∅	595	"	∅	∅
566	"	∅	∅	596	"	∅	∅
567	"	∅	∅	597	"	∅	∅
568	26 ετών	80	∅	598	"	∅	∅
569	"	∅	∅	599	"	∅	∅
570	"	42	∅	600	"	∅	∅

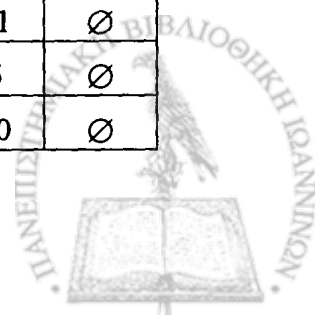


## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
601	26 ετών	70	∅	631	27 ετών	32	∅
602	"	∅	∅	632	"	∅	∅
603	"	40	∅	633	"	∅	∅
604	"	∅	∅	634	"	183	∅
605	"	∅	∅	635	"	68	∅
606	"	41	∅	636	"	48	∅
607	"	∅	∅	637	"	20	∅
608	"	75	∅	638	"	∅	∅
609	"	∅	∅	639	"	70	∅
610	"	∅	∅	640	"	40	∅
611	"	18	∅	641	"	∅	∅
612	"	∅	∅	642	"	∅	∅
613	"	∅	∅	643	"	∅	∅
614	"	∅	∅	644	"	41	∅
615	"	∅	∅	645	"	23	∅
616	"	∅	∅	646	"	∅	∅
617	"	∅	∅	647	"	∅	∅
618	"	∅	∅	648	"	129	∅
619	"	∅	∅	649	"	∅	∅
620	"	∅	∅	650	"	∅	∅
621	"	130	∅	651	"	∅	∅
622	"	45	∅	652	"	∅	∅
623	"	∅	∅	653	"	∅	∅
624	"	106	∅	654	"	25	∅
625	"	∅	∅	655	"	∅	∅
626	"	∅	∅	656	"	∅	∅
627	"	80	∅	657	"	63	∅
628	"	∅	∅	658	"	111	∅
629	27 ετών	∅	∅	659	"	75	∅
630	"	31	∅	660	"	110	∅

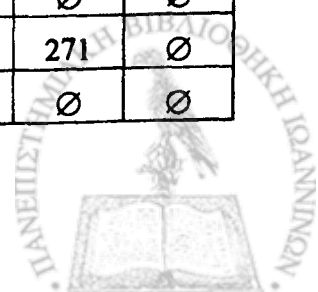


## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
661	27 ετών	∅	∅	691	28 ετών	∅	∅
662	"	∅	∅	692	"	∅	∅
663	"	∅	∅	693	"	∅	∅
664	"	∅	∅	694	"	∅	∅
665	"	54	∅	695	"	162	∅
666	"	∅	∅	696	"	∅	∅
667	"	∅	∅	697	"	29	∅
668	"	∅	∅	698	"	∅	∅
669	"	∅	∅	699	"	∅	∅
670	"	∅	∅	700	"	54	∅
671	"	45	∅	701	"	∅	∅
672	"	∅	∅	702	"	∅	∅
673	"	∅	∅	703	"	37	∅
674	"	∅	∅	704	"	∅	∅
675	"	100	∅	705	"	∅	∅
676	"	∅	∅	706	"	∅	∅
677	28 ετών	∅	∅	707	"	∅	∅
678	"	∅	∅	708	"	∅	∅
679	"	76	∅	709	"	∅	∅
680	"	105,4	∅	710	"	∅	∅
681	"	∅	∅	711	"	∅	∅
682	"	17,6	∅	712	"	75	∅
683	"	28,8	∅	713	"	∅	∅
684	"	11,9	∅	714	"	∅	∅
685	"	17,6	∅	715	"	25	∅
686	"	∅	∅	716	"	∅	∅
687	"	65	∅	717	29 ετών	∅	∅
688	"	∅	∅	718	"	∅	∅
689	"	97,7	∅	719	"	271	∅
690	"	17	∅	720	"	∅	∅

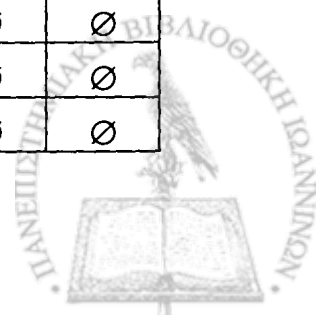


## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
721	29 ετών	∅	∅	751	30 ετών	∅	∅
722	"	15,1	∅	752	"	∅	∅
723	"	36,2	∅	753	"	∅	∅
724	"	∅	∅	754	"	158	∅
725	"	∅	∅	755	"	63	∅
726	"	∅	∅	756	"	∅	∅
727	"	22	∅	757	"	30,5	∅
728	"	∅	∅	758	"	17,5	∅
729	"	15	∅	759	"	24,9	∅
730	"	95	∅	760	"	∅	∅
731	"	∅	∅	761	"	∅	∅
732	"	100	∅	762	"	∅	∅
733	"	290	∅	763	"	∅	∅
734	"	∅	∅	764	"	37	∅
735	"	128	∅	765	"	∅	∅
736	"	70	∅	766	"	12	∅
737	"	∅	∅	767	"	72	∅
738	"	32	∅	768	"	∅	∅
739	"	105	∅	769	"	135	∅
740	"	∅	∅	770	"	40	∅
741	"	50	∅	771	"	∅	∅
742	"	32	∅	772	"	90	∅
743	"	∅	∅	773	"	∅	∅
744	"	∅	∅	774	"	26	∅
745	"	∅	∅	775	"	64	∅
746	"	75	∅	776	"	∅	∅
747	"	∅	∅	777	"	∅	∅
748	"	∅	∅	778	"	∅	∅
749	"	∅	∅	779	"	∅	∅
750	"	∅	∅	780	"	∅	∅



## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

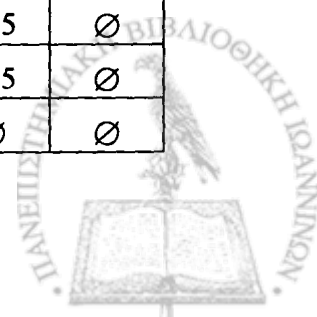
α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
781	30 ετών	280	∅	811	31 ετών	32	∅
782	"	∅	∅	812	"	∅	∅
783	"	100	∅	813	"	77	∅
784	"	∅	∅	814	"	153	∅
785	"	75	∅	815	"	∅	∅
786	"	∅	∅	816	"	∅	∅
787	"	∅	∅	817	"	∅	∅
788	"	∅	∅	818	"	75	∅
789	"	30	∅	819	32 ετών	21	∅
790	"	40	∅	820	"	∅	∅
791	"	∅	∅	821	"	122	∅
792	"	∅	∅	822	"	∅	∅
793	31 ετών	∅	∅	823	"	∅	∅
794	"	∅	∅	824	"	19,5	∅
795	"	∅	∅	825	"	∅	∅
796	"	∅	∅	826	"	107	∅
797	"	40,2	∅	827	"	16,7	∅
798	"	18,3	∅	828	"	12	∅
799	"	∅	∅	829	"	80	∅
800	"	21	∅	830	"	80	∅
801	"	∅	∅	831	"	64	∅
802	"	∅	∅	832	"	∅	∅
803	"	∅	∅	833	"	170	∅
804	"	∅	∅	834	"	∅	∅
805	"	130	∅	835	"	135	∅
806	"	70	∅	836	"	75	∅
807	"	45	∅	837	"	76	∅
808	"	∅	∅	838	"	∅	∅
809	"	∅	∅	839	"	75	∅
810	"	∅	∅	840	"	35	∅

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM	α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM
841	32 ετών	∅	∅	871	34 ετών	∅	∅
842	"	∅	∅	872	"	105	∅
843	"	∅	∅	873	"	∅	∅
844	"	130	∅	874	"	20	∅
845	"	∅	∅	875	"	75	∅
846	33 ετών	34	∅	876	35 ετών	∅	∅
847	"	72	∅	877	"	∅	∅
848	"	∅	∅	878	"	86,5	∅
849	"	∅	∅	879	"	16,7	∅
850	"	19,5	∅	880	"	∅	∅
851	"	∅	∅	881	"	75	∅
852	"	∅	∅	882	"	∅	∅
853	"	∅	∅	883	"	∅	∅
854	"	∅	∅	884	"	∅	∅
855	"	135	∅	885	"	17,7	∅
856	"	∅	∅	886	"	90	∅
857	34 ετών	∅	∅	887	"	75	∅
858	"	∅	∅	888	"	70	∅
859	"	31,1	∅	889	"	62	∅
860	"	∅	∅	890	"	∅	∅
861	"	30	∅	891	"	∅	∅
862	"	∅	∅	892	"	∅	∅
863	"	∅	∅	893	"	75	∅
864	"	258	∅	894	36 ετών	113	∅
865	"	∅	∅	895	"	11,4	∅
866	"	∅	∅	896	"	∅	∅
867	"	18	∅	897	"	75	∅
868	"	70	∅	898	"	135	∅
869	"	75	∅	899	"	115	∅
870	"	∅	∅	900	"	∅	∅





## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ (Συνέχεια)

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG και IgM αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ηλικίας 16-37 ετών

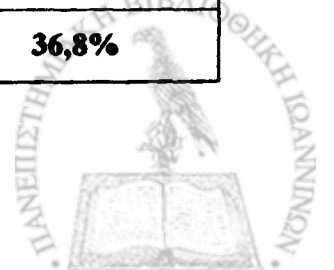
α/α	ηλικία	IgG IU/ml	IgM				
901	36 ετών	70	∅				
902	"	∅	∅				
903	"	∅	∅				
904	"	∅	∅				
905	"	∅	∅				
906	"	∅	∅				
907	"	120	∅				
908	"	130	∅				
909	"	∅	∅				
910	37 ετών	∅	∅				
911	"	121	∅				
912	"	115,9	∅				
913	"	20,5	∅				
914	"	58	∅				

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΙV

Αποτελέσματα προσδιορισμού IgG αντισωμάτων έναντι *T. gondii*

σε έγκυες γυναίκες ανά πενταετία ηλικίας

Ηλικία	IgG Θετικά		
	n	n <sub>p</sub>	%
16 - 20	170	50	29,4%
21 - 26	397	135	34,0%
26 - 30	225	91	40,4%
31 - 35	101	48	47,5%
36 - 37	21	12	57,0%
<b>Σύνολο</b>	<b>914</b>	<b>663</b>	<b>36,8%</b>



## ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η περαιτέρω επεξεργασία των αποτελεσμάτων βασίστηκε σ' ένα θεωρητικό μαθηματικό μοντέλο που δημοσιεύτηκε το 1986 στο American Journal of Epidemiology, από τους Laure Papoz, Francois Simondon, William Saurin και Hala Sarmini, με τίτλο: A simple model relevant to Toxoplasmosis applied to epidemiology results in France<sup>99</sup>.

Το μοντέλο στηρίζεται στην ακόλουθη απλή υπόθεση. Κάθε άτομο, σε δεδομένο πληθυσμό υπόκειται σε κίνδυνο  $r$  που είναι η πιθανότητα επαφής με το τοξόπλασμα κατά την διάρκεια ενός έτους. Ο κίνδυνος σχετίζεται μόνο με το περιβάλλον και έτσι είναι ίδιος για όλα τα άτομα της ίδιας περιοχής και χαρακτηριστικός για κάθε χρόνο ζωής από τη γέννηση ως το θάνατο. Η κύρια ένδειξη επαφής είναι η οροαναστροφή. Έτσι λοιπόν ο κίνδυνος  $r$  ανταποκρίνεται στον ρυθμό οροαναστροφής.

Αν  $P_x$  είναι η πιθανότητα να είναι ένα άτομο οροθετικό σε ηλικία  $X$  και  $Q_x = 1 - P_x$  είναι η αντίστοιχη πιθανότητα να είναι οροαρνητικό στην ίδια ηλικία του ίδιου πληθυσμού, τότε:

$$P_x = \sum_{i=1}^x r (1-r)^{i-1} \quad (1) \quad \text{και} \quad Q_x = (1-r)^x \quad (2)$$

Οι βασικές αυτές εξισώσεις και η συνδεδεμένη υπόθεση βρίσκονται στο εγχειρίδιο επιδημιολογίας του Lilienfeld<sup>203</sup>. Φαίνεται λοιπόν ότι το  $r$  μπορεί θεωρητικά να προσδιοριστεί αν γνωρίζουμε την κατανομή των αντισωμάτων έναντι του τοξοπλάσματος σε ένα δεδομένο πληθυσμό που γεννήθηκε την ίδια χρονιά και ζει στην ίδια χώρα από τη γέννησή του.



Όπως προκύπτει από την εξίσωση (2) ο κίνδυνος οξείας λοίμωξης κατά την διάρκεια της κύησης για χρονικό διάστημα  $X$  μέχρι  $X'$  είναι:

$$R_{x,x'} = 0.75 (1-r)^x \sum_{i=x+1}^{x'} r (1-r)^{i-x-1} g_i \quad (3)$$

όπου  $g_j$  είναι η πιθανότητα μιας γυναίκας να μείνει έγκυος στη διάρκεια ενός έτους σε ηλικία  $j$ , μεταξύ του συνόλου του πληθυσμού των γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας και το 0.75 είναι η χρονική διάρκεια μιας κύησης μέσα σε ένα έτος: 9 μήνες ( $9/12=0.75$ ).

Προσδιορισμός σημείων. Με βάση την εξίσωση (2) έγιναν μια σειρά από 22 ανεξάρτητους προσδιορισμούς του  $r$  για κάθε έτος ηλικίας από τα 16 έως τα 37, με βάση το ποσοστό  $q_x$  των οροαρνητικών γυναικών στην κάθε ηλικία  $x$  που βρέθηκε στο υλικό της παρούσας διατριβής, σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\hat{r}_x = 1 - \exp(\log_e q_x / x) \quad (4)$$

και η δειγματική διασπορά  $\hat{s}_x^2$  υπολογίστηκε με την  $\delta$  (δέλτα) μέθοδο σύμφωνα με την εξίσωση :

$$\hat{s}_x^2 = \frac{P_x (r_x - 1)}{n_x x^2 q_x} \quad (5)$$

όπου  $P_x$  είναι το ποσοστό των οροθετικών,  $q_x$  το ποσοστό των οροαρνητικών και  $n_x$  ο πληθυσμός στην αντίστοιχη ηλικία  $x$ .



Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών  $\hat{r}_x$  όπως φαίνονται στον πίνακα V κυμάνθηκαν από 0,0138 μέχρι 0,0399. Ο συντελεστής συσχέτισης  $a_1$  υπολογίστηκε από τον τύπο<sup>204</sup>:

$$a_1 = \frac{\sum (x-\bar{x})(r-\bar{r})}{\sqrt{\sum (x-\bar{x})^2 \cdot \sum (r-\bar{r})^2}} = 0.0000007 \quad (6)$$

Επειδή τείνει στο 0 δεν φαίνεται να υπάρχει σχέση μεταξύ ηλικίας και ρυθμού οροαναστροφής<sup>204</sup> συνεπώς έχουμε την δυνατότητα να θεωρήσουμε το  $r$  σταθερό.

Ακολούθησε ο προσδιορισμός της μέσης τιμής  $r$  με αναστροφή των τιμών της δειγματικής διασποράς, σύμφωνα με τον τύπο:

$$r = \frac{\sum r / S^2_{rx}}{\sum 1 / S^2_{rx}} = 0,0181 \quad (7)$$

Η τιμή αυτή στην πράξη εκφράζει τον ρυθμό οροαναστροφής για την περιοχή της Ηπείρου που είναι 1,81%.

Χρησιμοποιώντας το  $r$  υπολογίστηκε με τον τύπο (1) η αναμενόμενη συχνότητα των οροαρνητικών και έγινε έλεγχος με το  $\chi^2$  για καλή προσαρμογή σύμφωνα με την στατιστική συνάρτηση:

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^k \frac{(x_j - np_j)^2}{np_j} \quad (8)$$



όπου  $\chi_j$  είναι η παρατηρηθείσα συχνότητα οροαρνητικών σε κάθε ηλικία  $j$  από 16 έως 37 (Πίνακας V) και  $np_j$  η αντίστοιχη αναμενόμενη συχνότητα με τη χρήση του  $r$ . Η εξίσωση (6) έδωσε:  $\chi^2 = 27$  που αντιστοιχεί σε  $p \approx 25\%$  ώστε να καθιστά άκυρη την μηδενική υπόθεση  $H_0$  <sup>205</sup> αποδεικνύοντας ότι το μοντέλο είναι στατιστικά αποδεκτό.

Σύμφωνα με την εξίσωση (3) έγιναν 22 προσδιορισμοί του κινδύνου οξείας λοίμωξης για κάθε έτος ηλικίας αφού προηγουμένως υπολογίσθηκε η  $g_j$  για τις αντίστοιχες ηλικίες σύμφωνα με τα απογραφικά στοιχεία που διαθέτουμε (Πίνακας V).



## ΠΙΝΑΚΑΣ V

Αποτελέσματα που προέκυψαν από την εφαρμογή του μαθηματικού μοντέλου διερεύνησης της συχνότητας πρωτοπαθών μολύνσεων με *T. gondii* κατά την κύηση

Ηλικία	n	q <sub>x</sub> (%)	r	S <sub>rx</sub>	x <sub>j</sub>	n <sub>pi</sub>	g <sub>i</sub>	P (%)	n <sub>sr</sub>	(%) <sub>nsr</sub>
16	10	70	0,0220	160,1	7	7,46	7,62	1,03	0,48	1,27
17	16	50	0,0399	199,3	8	11,7	12,19	1,01	0,76	2
18	27	81,5	0,0113	253,6	22	19,4	20,57	1,00	1,27	3,36
19	47	74,45	0,0153	19,5	35	33,2	35,8	0,98	2,17	5,7
20	70	67	0,0198	11,3	47	48,5	53,34	0,96	3,16	8,3
21	75	70,6	0,0164	12,1	53	48,3	57,15	0,94	3,32	8,8
22	72	62,5	0,0211	16,4	45	48,1	54,86	0,92	3,12	8,2
23	95	72,6	0,0138	7,3	69	62,4	72,39	0,90	4,02	10,6
24	75	63,5	0,0187	12,9	47	47,7	56,34	0,89	3,10	8,2
25	80	60	0,0202	12,8	48	50,6	60,96	0,87	3,27	8,7
26	61	59	0,0200	16,1	36	37,9	46,5	0,85	2,44	6,5
27	48	62,5	0,0172	16,5	30	29,3	36,57	0,84	1,90	5
28	40	62,5	0,0166	13,1	25	23,9	30,48	0,82	1,54	4
29	34	55,5	0,0200	13,6	19	20	26	0,81	1,30	3,4
30	42	57,1	0,0185	18,7	24	24,28	32	0,80	1,60	4,2
31	26	65	0,0138	20,9	17	14,75	19,80	0,78	0,95	2,5
32	27	37	0,0305	57,8	10	15,04	20,57	0,77	0,98	2,6
33	11	63	0,0139	47,6	7	6,02	8,40	0,76	0,39	1
34	19	52	0,0190	40,4	10	10,02	14,47	0,74	0,66	1,7
35	18	50	0,0196	65,3	6	6,3	13,70	0,73	0,61	1,6
36	12	50	0,0190	30,9	12	12,4	9,14	0,72	0,40	1
37	9	33,3	0,0272	122,6	7	5,08	6,85	0,70	0,30	0,8
	<b>914</b>	<b>63,2</b>	<b>0,0181</b>				<b>695,8</b>	<b>0,85</b>	<b>37,74</b>	



Όπου:

- $n$  : πλήθος γυναικών ανά έτος ηλικίας
- $q_k$  : το εκατοστιαίο ποσοστό οροαρνητικών
- $r$  : ο ανά έτος ρυθμός οροαναστροφής
- $S_{π}$  : η δειγματική διασπορά
- $x_j$  : ο παρατηρηθείς αριθμός οροαρνητικών
- $np_j$  : ο προβλεπόμενος αριθμός οροαρνητικών με χρήση κοινού ρυθμού οροαναστροφής 0,0181
- $g_i$  : πλήθος εγκύων γυναικών σε ηλικία  $X$  ανά 10.000 γυναίκες στην αναπαραγωγική ηλικία για την περιοχή της Ηπείρου.
- $n_{π}$  : αριθμός οροαναστροφών στην αντίστοιχη ηλικία για την περιοχή της Ηπείρου
- $(\%)n_{π}$  : ποσοστιαία κατανομή των οροαναστροφών



**ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Όπως προκύπτει από τα αναλυτικά αποτελέσματα της εξέτασης 914 εγκύων ηλικίας 16-40 ετών (Πίνακας III) και τα συνοπτικά αποτελέσματα του πίνακα IV, IgG αντισώματα έναντι *T. gondii* διαπιστώθηκαν σε 336 (36,8%). Αντίθετα σε καμία από τις 914 έγκυες δεν διαπιστώθηκαν IgM αντισώματα έναντι του *T. gondii*. Αυτό σημαίνει ότι το 36,8% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας της περιοχής Ηπείρου έχει ήδη ανοσοποιηθεί κατόπιν προγενεστέρας μόλυνσης με το παράσιτο και δεν διατρέχει τον κίνδυνο πρωτοπαθούς μόλυνσης κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης.

Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με αυτά προγενεστέρων ερευνών που έγιναν στην περιοχή Ηπείρου (Τσιλφίδης<sup>84,208</sup>) με την ίδια μέθοδο κατά τις οποίες διαπιστώθηκαν ποσοστά οροθετικότητας σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας (16-40 ετών) 38,4% και 30% αντίστοιχα.

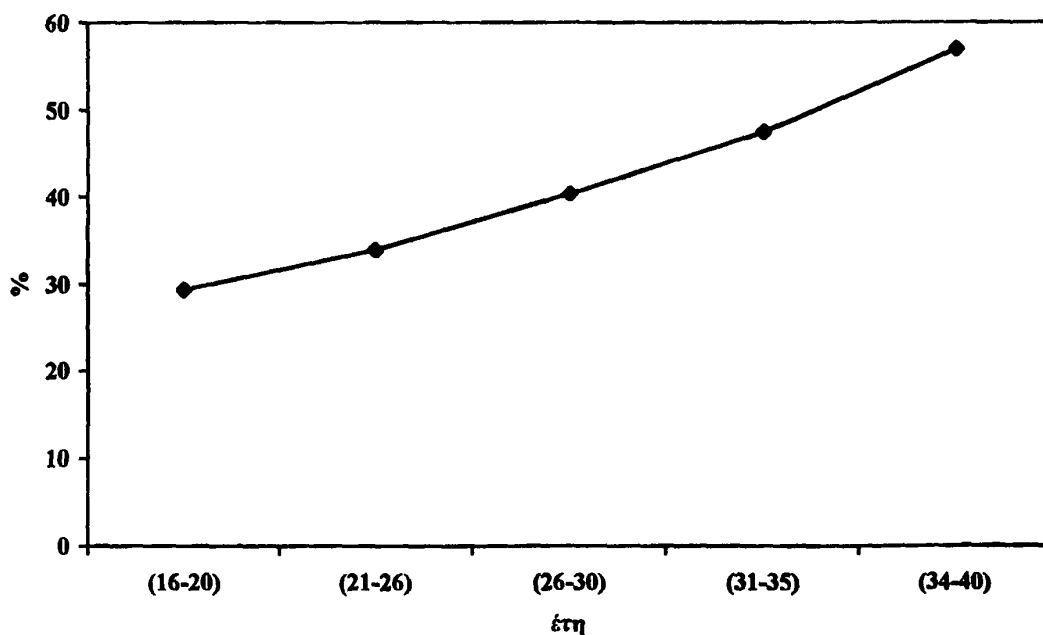
Παρόμοιες έρευνες στον Ελλαδικό χώρο με διαφορετική μεθοδολογία και σύνθεση του δείγματος των εξετασθέντων ατόμων, αναφέρουν ποσοστά οροθετικότητας που κυμαίνονται μεταξύ 37% και 60%.

Με την μέθοδο έμμεσου ανοσοφθορισμού οι Κατσάνης και συν<sup>217</sup> στα πλαίσια προγεννητικού ελέγχου διαπίστωσαν συχνότητα IgG αντισωμάτων 53% σε σύνολο 4.692 γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας. Ενώ η Αλεξάνδρου - Ηλιάδη και συν<sup>210</sup> αναφέρουν συχνότητα διαπίστωσης IgG αντισωμάτων 60,8% σε σύνολο 2.200 γυναικών ηλικίας 20-35 ετών και η Δίζα - Ματαυτσή και συν<sup>209</sup> επίσης με την ίδια μέθοδο διαπίστωσαν ποσοστό οροθετικότητας 37% σε 1.014 άτομα ηλικίας 0 έως και άνω των 60 ετών. Τέλος η Κακλαμάνη και συν<sup>94</sup> χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία άμεσης συγκόλλησης (DA) διαπίστωσαν σε 546 άτομα συχνότητα αντισωμάτων 46,6%.





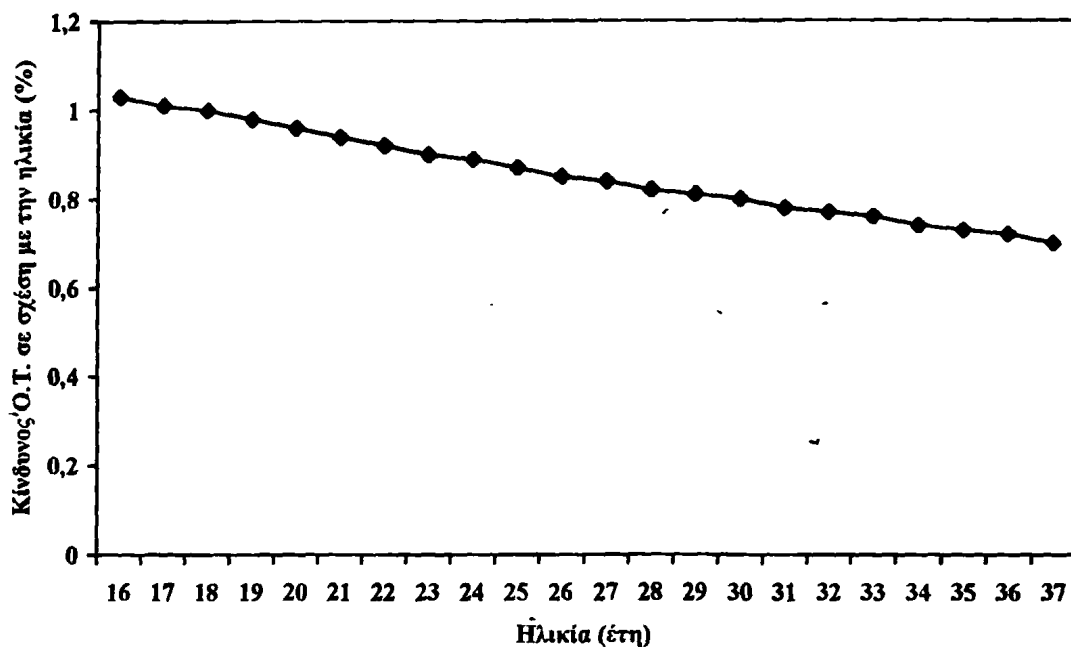
Από τον πίνακα IV φαίνεται ότι η αναλογία οροθετικών εγκύων αυξάνει με την πάροδο της ηλικίας από 29,4% για γυναίκες 16-20 ετών σε 57% για γυναίκες 36-40 ετών. Αυτό σημαίνει ότι ο κίνδυνος πρωτοπαθούς μόλυνσης με *T. gondii* κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης είναι μεγαλύτερος σε νεαρές γυναίκες. Αν επεξεργαστούμε μαθηματικά τα αποτελέσματα του πίνακα IV εφαρμόζοντας τον τύπο (6) ο παραμετρικός συντελεστής συσχέτισης μεταξύ πενταετίας ηλικίας και συχνότητας οροθετικών αποτελεσμάτων προσεγγίζει την μονάδα. Αυτό σημαίνει ότι η σχέση αυτή είναι γραμμική (Σχήμα 2) και ότι το ποσοστό οροθετικότητας εξαρτάται μόνο από το χρόνο έκθεσης σε δυνατότητα μόλυνσης με *T. gondii* χωρίς να υπεισέρχονται άλλοι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τη συχνότητα μολύνσεων σε ορισμένες περιόδους της αναπαραγωγικής ηλικίας. Αυτή η διαπίστωση μας επέτρεψε να χρησιμοποιήσουμε για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων αυτών, προκειμένου να εκτιμήσουμε τον κίνδυνο πρωτοπαθούς μόλυνσης με *T. gondii* κατά την κύηση, το θεωρητικό μαθηματικό μοντέλο, που αναφέρεται εκτενώς στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων.



Σχήμα 2. Συχνότητα IgG αντισωμάτων έναντι *T. gondii* ανά πενταετία αναπαραγωγικής ηλικίας στην περιοχή της Ηλείου.



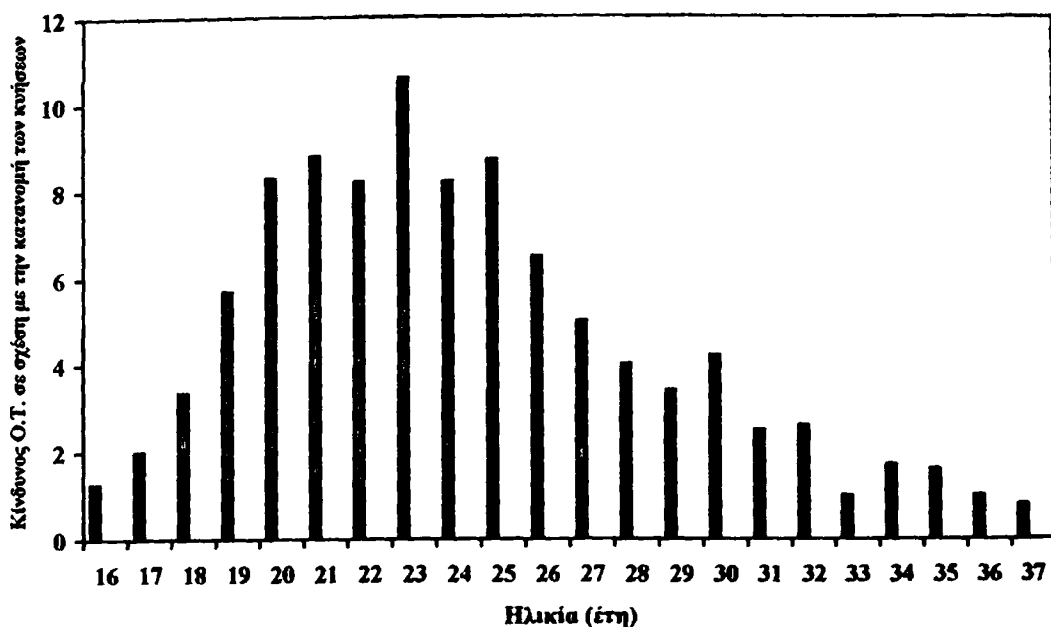
Σύμφωνα με αυτούς τους υπολογισμούς ο κίνδυνος για πρωτοπαθή μόλυνση κατά την κύηση είναι 1,03% για γυναίκες ηλικίας 16 ετών και μειώνεται γραμμικά σε 0,7% για γυναίκες ηλικίας 37 ετών (πίνακας V και σχήμα 3). Αυτό σημαίνει ότι με την πάροδο της ηλικίας η πιθανότητα μόλυνσης από τοξόπλασμα μειώνεται εφ' όσον περιορίζεται ο αριθμός των οροαρνητικών.



**Σχήμα 3.** Αναμενόμενος κίνδυνος οξείας τοξοπλάσμωσης κατά την κύηση για ηλικίες 16 ως 37 ετών στην περιοχή της Ηπείρου.

Αν όμως τον κίνδυνο αυτό τον εξετάσουμε σε σχέση με την κατανομή των εγκυμοσύνων ανάλογα με τις αντίστοιχες ηλικίες των γυναικών, προκύπτει μια καμπύλη (σχήμα 4) της οποίας η κορυφή συμπίπτει με την ηλικία των 23 ετών. Έτσι ενώ μια γυναίκα 23 ετών έχει πιθανότητα 0,9% να νοσήσει πρωτοπαθώς από τοξοπλάσμωση και μια γυναίκα 16 ετών 1,03%, κατά την κύηση μόνο το 1,27% των γυναικών θα είναι στην ηλικία των 16 ετών, ενώ οκταπλάσιο ποσοστό (10,6%) θα είναι στην ηλικία των 23 ετών.





**Σχήμα 4.** Αναμενόμενος κίνδυνος οξείας τοξοπλάσμωσης για ηλικίες 16 ως 37 ετών σε σχέση με την κατανομή των κύσεων σε αυτές τις ηλικίες για την περιοχή της Ηπείρου.

Όπως προκύπτει από την μαθηματική επεξεργασία των αποτελεσμάτων προσδιορισμού IgG αντισωμάτων κατά αυτή την έρευνα ο κίνδυνος πρωτοπαθούς μόλυνσης κατά την κύηση στο γυναικείο πληθυσμό αναπαραγωγικής ηλικίας της περιοχής Ηπείρου ανέρχεται σε 6,7 επί 1.000 κύσεων. Αυτό σημαίνει ότι σύμφωνα με τα στατιστικά στοιχεία που αφορούν το σύνολο του γυναικείου πληθυσμού αναπαραγωγικής ηλικίας της περιοχής της Ηπείρου και τον κατ' έτος αριθμό κύσεων αυτού του πληθυσμού ο αναμενόμενος αριθμός γυναικών που θα μολυνθεί πρωτοπαθώς κατά την κύηση με *T. gondii* στην Ήπειρο ανέρχεται σε 37 κατ' έτος. Αντίστοιχες μελέτες σε άλλες χώρες κατά τις οποίες όμως χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές τεχνικές προσδιορισμού αντισωμάτων και μέθοδοι επεξεργασίας των αποτελεσμάτων δίδουν τις εξής αναλογίες πρωτοπαθών μολύνσεων με τοξόπλασμα επί 1.000 κύσεων. Γαλλία: 5,35<sup>114</sup>, Γερμανία: 6<sup>97</sup>, Αυστρία 8,5<sup>97</sup>. Μία άλλη όμως έρευνα

η οποία έγινε στην Γαλλία<sup>99</sup> κατά την οποία χρησιμοποιήθηκε μεν διαφορετική τεχνική προσδιορισμού αντισωμάτων από την δική μας (IFA) αλλά η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με την ίδια μέθοδο, δίδει διπλάσια περίπου αναλογία πρωτοπαθών μολύνσεων (12 επί 1.000 κηύσεων) της προαναφερθείσης στην ίδια χώρα (5,35).

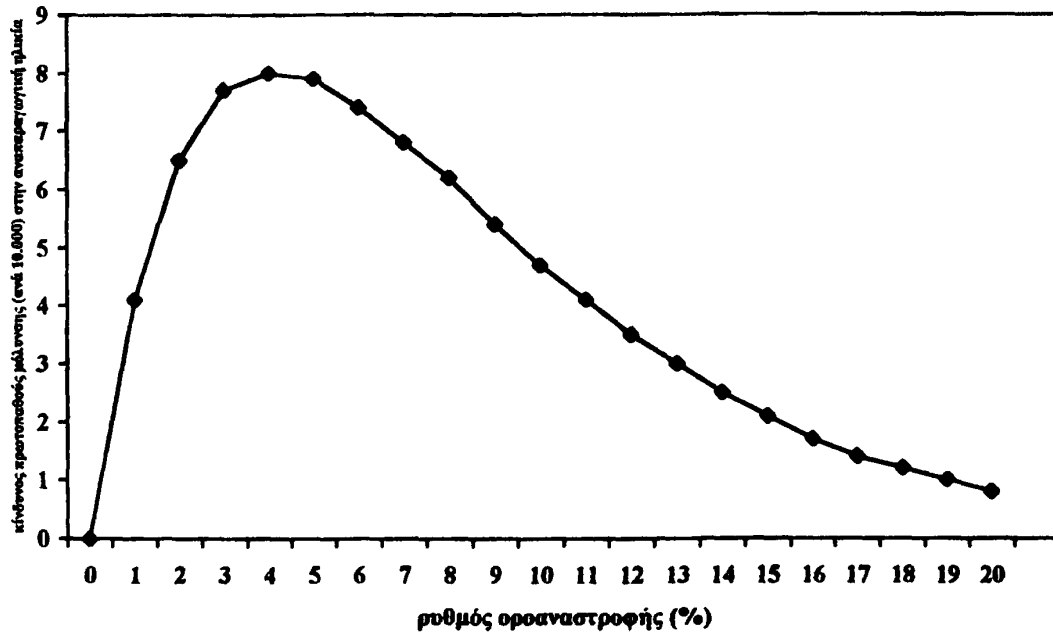
Τα αποτελέσματα της δεύτερης αυτής έρευνας στη Γαλλία, που προέκυψαν κατόπιν επεξεργασίας με την ίδια μέθοδο, η οποία για την περιοχή της Ηπείρου έδωσε ποσοστό πρωτοπαθών μολύνσεων με *T. gondii* 6,7 ανά 1000 κηύσεις, φαίνεται ότι προσεγγίζουν περισσότερο την πραγματικότητα επειδή είναι γενικά γνωστό και επιδημιολογικά τεκμηριωμένο ότι η Γαλλία με τις κλιματολογικές συνθήκες της και τις υγιεινοδιαιτητικές συνήθειες των κατοίκων της (βρώση ωμού ή ατελώς ψημένου κρέατος) εμφανίζει πολύ υψηλή συχνότητα μόλυνσεως με *T. gondii*.

Όπως τονίσθηκε κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων ο ρυθμός οροαναστροφής για κάθε περιοχή αντικατοπτρίζει πρακτικά το σύνολο των παραγόντων που συμμετέχουν στον επιπολασμό της τοξοπλάσμωσης. Χρησιμοποιώντας την εξίσωση (3) προσδιορίσαμε τον κίνδυνο πρωτοπαθών μολύνσεων με *T. gondii* για ρυθμούς οροαναστροφής από 0% έως 20% και προέκυψε καμπύλη (σχήμα 5) της οποίας η κορυφή αντιστοιχεί σε ρυθμό οροαναστροφής 4%. Από την προσεκτική μελέτη της καμπύλης του σχήματος 5 προκύπτει ότι ο κίνδυνος πρωτοπαθών μολύνσεων κατά την κηύση για ρυθμούς κάτω από 1% και πάνω από 10% είναι μικρός, για ρυθμούς 1-2% και 7-10% είναι μέτριος ενώ από 3-6% ο κίνδυνος είναι υψηλός.

Με την προϋπόθεση ότι τόσο τα αποτελέσματα της δεύτερης έρευνας στην Γαλλία όσο και τα δικά μας στην περιοχή της Ηπείρου πληρούν τα κριτήρια της τεχνικής αξιοπιστίας και αντιπροσωπευτικότητας για τις περιοχές που πραγματοποιήθη-



καν η Γαλλία με  $r = 3,9\%$ <sup>99</sup> χαρακτηρίζεται ως περιοχή υψηλού κινδύνου, ενώ η περιοχή της Ηπείρου με την ευρεθείσα τιμή  $r = 1,81\%$  κατατάσσεται στις περιοχές μετρίου κινδύνου.



0 : 0	6 : 7.4	12 : 3.5	18 : 1.2
1 : 4.1	7 : 6.8	13 : 3.0	18 : 1.0
2 : 6.5	8 : 6.2	14 : 2.5	20 : 0.8
3 : 7.7	9 : 5.4	15 : 2.1	
4 : 8.0	10 : 4.7	16 : 1.7	
5 : 7.9	11 : 4.1	17 : 1.4	

**Σχήμα 5.** Αναμενόμενος κίνδυνος πρωτοπαθούς μόλυνσης  $R_{0x}$  για  $x = 16$  έτη και  $x' = 37$  έτη για ρυθμούς οροαναστροφής  $r$  (%) από 0-20%.

Επ' αυτού θέλουμε να τονίσουμε ότι στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων η τεχνική ELISA με κεκαθαρμένα αντιγόνα<sup>207</sup>, η οποία σύμφωνα με συγκριτικές μελέτες υπερέρχει σε ευαισθησία από την δοκιμασία χρώσης και εμμέσου ανοσοφθορισμού χωρίς να υστερεί σε ειδικότητα<sup>172,173</sup> και ως εκ τούτου παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα. Επιπλέον οι 914 γυναίκες οι οποίες απετέλεσαν το υλικό αυτής της έρευνας αποτελούν σύμφωνα με τα απογραφικά δεδομένα του 1983 με προβολή τους στο 1989<sup>206</sup> το 1,7% του συνολικού πληθυσμού



γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία και το 18% των εγκύων οι οποίες τερμάτισαν την κύησή τους στην περιοχή της Ηλείου.

Υστερα από τα παραπάνω φαίνεται ότι τα αποτελέσματα τουλάχιστον της παρούσης έρευνας πληρούν τα κριτήρια της τεχνικής αξιοπιστίας και της αντιπροσωπευτικότητας και ως εκ τούτου επιτρέπουν την ορθή εκτίμηση του κινδύνου πρωτοπαθούς μόλυνσης κατά την κύηση στην περιοχή της Ηλείου και την κατάταξή της στις περιοχές μετρίου κινδύνου.

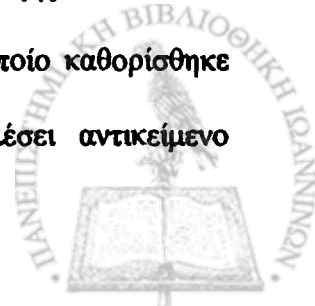
Εκ πρώτης όψεως η θεωρητικώς υπολογισθείσα συχνότητα πρωτοπαθών μολύνσεων (6,7/1.000) κατά την κύηση δεν επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα του ορολογικού ελέγχου των 914 εγκύων που απετέλεσαν το υλικό της παρούσης εργασίας. Πράγματι σε καμία από τις κατά την πρώτη εξέταση 336 IgG οροθετικές έγκυες δεν διαπιστώθηκε η ταυτόχρονη παρουσία IgM αντισωμάτων. Επομένως τα αντισώματα αυτά οφείλονται σε προγενεστέρα και όχι σε πρωτοπαθή κατά την κύηση με *T. gondii* μόλυνση. Επί πλέον σε καμία από τις 578 οροαρνητικές για IgG και IgM αντισώματα δεν διαπιστωθεί κατά τον ανά 4-6 εβδομάδες επανέλεγχό των οροαναστροφή ενδεικτική πρόσφατης μόλυνσης. Η παρατηρηθείσα διαφορά της θεωρητικώς υπολογισθείσης συχνότητας πρωτοπαθών μολύνσεων κατά την κύηση (6,7/1.000) με τα αποτελέσματα του ορολογικού ελέγχου σύμφωνα με τα οποία δεν διαπιστώθηκε καμία περίπτωση πρωτοπαθούς μόλυνσης χρίζει περαιτέρω συζήτησης πριν οδηγήσει σε λανθασμένα συμπεράσματα.

Η αναμενόμενη θεωρητικά συχνότητα υπολογίσθηκε από τα αποτελέσματα προσδιορισμού IgG αντισωμάτων ανά έτος ηλικίας και αποτελεί όπως προκύπτει από τους πίνακες III, IV και V μια αναμφισβήτητη πραγματικότητα. Η πραγματικότητα αυτή φαίνεται καθαρά από τον πίνακα IV από την ανάλυση του οποίου προκύπτει η σταθερή αύξηση του ποσοστού οροθετικών εγκύων ανά πενταετία ηλικίας από 29,4%



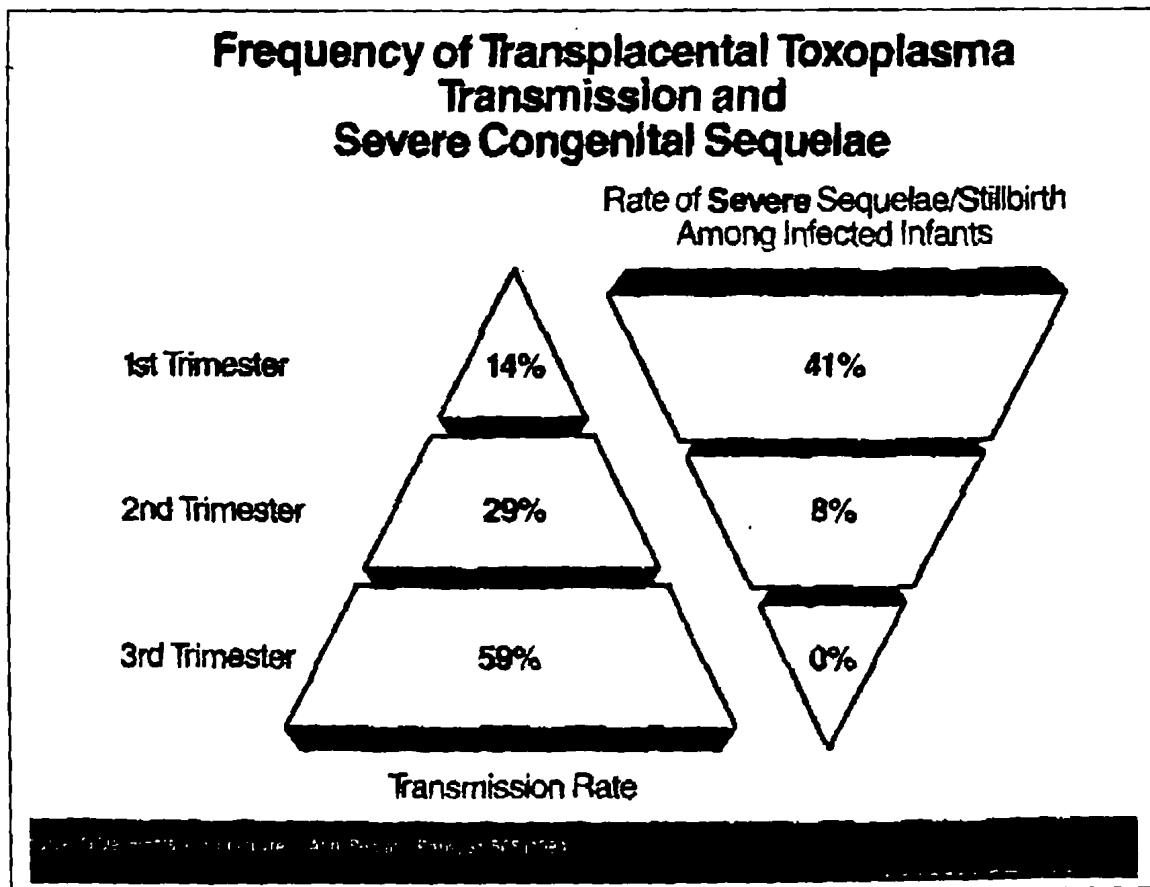
σε 57%. Αυτό σημαίνει πρακτικά ότι το 27,6% των γυναικών μολύνεται με *T. gondii* κατά την διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας και επομένως δεν μπορεί λογικά να απέχει της πραγματικότητας η υπολογισθείσα αναλογία πρωτοπαθούς μόλυνσης 0,6% σε ενδεχόμενη κύηση.

Ενώ όμως το επιλεγέν δείγμα πληροί σύμφωνα με τα όσα αναφέρθηκαν παραπάνω τα κριτήρια της αντιπροσωπευτικότητας όσον αφορά τον θεωρητικό υπολογισμό του κινδύνου πρωτοπαθούς μόλυνσης με *T. gondii* κατά την κύηση δεν επιτρέπει την διαπίστωση του πραγματικού αριθμού των μολύνσεων στο ίδιο, σύμφωνα με τα ισχύοντα κριτήρια αξιολόγησης των κλινικοεργαστηριακών ευρημάτων. Αυτό οφείλεται στο ότι κατά την παρούσα εργασία το ενδιαφέρον επικεντρώθηκε κυρίως στο μαθηματικό υπολογισμό της αναμενόμενης συχνότητας πρωτοπαθών μολύνσεων κατά την κύηση και όχι στην εργαστηριακή διαπίστωσή τους. Για αυτό τον λόγο όπως ήδη αναφέρθηκε αποκλείστηκαν από το δείγμα γυναίκες των οποίων η κύηση διεκόπη κατόπιν αποβολής ή δεν τερματίστηκε στην Πανεπιστημιακή Μαιευτική Κλινική. Επομένως τυχόν περιπτώσεις πρωτοπαθών μολύνσεων με *T. gondii* οι οποίες οδήγησαν σε αποβολή δεν συγκαταλέγονται σε αυτό το υλικό. Επίσης είναι δυνατόν τέτοιες περιπτώσεις να συγκαταλέγονται μεταξύ των γυναικών οι οποίες δεν τερμάτισαν την κύησή τους στην Πανεπιστημιακή Μαιευτική Κλινική. Επί πλέον κατά την εργασία αυτή για την εργαστηριακή διαπίστωση πρωτοπαθών μολύνσεων χρησιμοποιήθηκε αποκλειστικά και μόνο το κριτήριο της οροαναστροφής και δεν διερευνήθηκαν λεπτομερέστερα άλλα εργαστηριακά ευρήματα, όπως οι πολύ χαμηλοί (6-10 IU/ml) ή πολύ υψηλοί (> 300 IU/ml) τίτλοι IgG αντισωμάτων, εφόσον δεν συνοδεύονταν από την παρουσία IgM αντισωμάτων. Τέτοια εργαστηριακά ευρήματα σύμφωνα με την γνώμη ορισμένων ερευνητών αποτελούν ένδειξη προσφάτου λοίμωξης. Μία τέτοια διερεύνηση θα υπερέβαινε τα όρια του ερευνητικού πλαισίου το οποίο καθορίστηκε από το σκοπό της εργασίας. Είναι όμως δυνατόν να αποτελέσει αντικείμενο



μελλοντικής προοπτικής μελέτης με ταυτόχρονη διαπίστωση τυχόν επιπτώσεων κατά την πορεία της εγκυμοσύνης ή συγγενών βλαβών στο έμβρυο και το νεογνό.

Αν συνδέσουμε τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας με τα επικρατούντα σήμερα διεθνή βιβλιογραφικά δεδομένα σύμφωνα με τα οποία το 34% των πρωτοπαθών μολύνσεων κατά την κύηση καταλήγει σε μόλυνση του εμβρύου και ότι μόνο το 16,33% από τα μολυνθέντα έμβρυα θα εμφανίσουν αμέσως μετά τον τοκετό ή και αργότερα βαριά συγγενή τοξοπλάσμωση (Σχήμα 6) τότε επί του υπολογισθέντος 6,7/1.000 ποσοστού πρωτοπαθών μολύνσεων αντιστοιχούν 3,7 περιπτώσεις συγγενούς τοξοπλάσμωσης ανά 10.000 τοκετούς. Σημειωτέον ότι σε κανένα από τα 914 νεογνά των μητέρων που ελέγχθηκαν κατά την παρούσα εργασία δεν εμφανίσθηκε κλινική συμπτωματολογία συγγενούς τοξοπλάσμωσης.



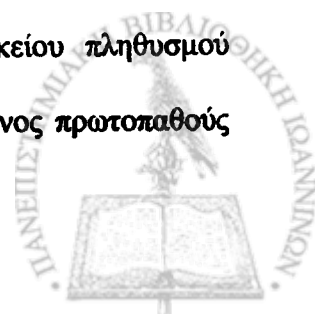
Σχήμα 6. Συχνότητα διαπλακουντιακής μετάδοσης του τοξοπλάσματος και συγγενών ανωμαλιών στο έμβρυο.





Τελειώνοντας με αυτή την διαπίστωση την λεπτομερή ανάλυση και συζήτηση των αποτελεσμάτων αυτής της εργασίας μπορούμε να καταλήξουμε στα εξής συνοπτικά συμπεράσματα:

1. Το 36,8% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας της περιοχής της Ηπείρου έχει ήδη ανοσοποιηθεί με *T. gondii* κατόπιν προγενεστέρας μόλυνσεως και δεν διατρέχει κίνδυνο πρωτοπαθούς μόλυνσεως σε περίπτωση εγκυμοσύνης.
2. Η συχνότητα με την οποία διαπιστώνονται IgG αντισώματα έναντι *T. gondii* σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας 16-40 ετών αυξάνει γραμμικά με την ηλικία εξαρτώμενη μόνο από τον χρόνο έκθεσης στον κίνδυνο μόλυνσης χωρίς να επηρεάζεται από άλλους παράγοντες.
3. Σύμφωνα με την επεξεργασία των αποτελεσμάτων με το μαθηματικό μοντέλο και την αντιπαραβολή τους με δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας η περιοχή της Ηπείρου κατατάσσεται στις περιοχές μετρίου κινδύνου όσον αφορά τον κίνδυνο πρωτοπαθούς μόλυνσεως κατά την κύηση.
4. Ο κίνδυνος πρωτοπαθούς μόλυνσεως με *T. gondii* κατά την κύηση υπολογίσθηκε ότι κυμαίνεται από 1,03% για γυναίκες ηλικίας 16 ετών και μειούται γραμμικά σε 0,7% για γυναίκες ηλικίας 37 ετών. Αν ο κίνδυνος αυτός εξετασθεί σε σχέση με την κατανομή των εγκυμοσύνων ανά έτος ηλικίας των γυναικών προκύπτει καμπύλη που καθορίζει ότι το 10,6% (κορυφή της καμπύλης) των αναμενόμενων περιστατικών πρωτοπαθούς μόλυνσεως με *T. gondii* θα είναι στην ηλικία των 23 ετών και μόνο το 1,27% θα είναι στην ηλικία των 16 και 36 ετών αντίστοιχα (άκρα της καμπύλης).
5. Σύμφωνα με την μαθηματική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και τα στατιστικά στοιχεία που αφορούν το σύνολο του γυναικείου πληθυσμού αναπαραγωγικής ηλικίας στην περιοχή της Ηπείρου ο κίνδυνος πρωτοπαθούς



μολύνσεως κατά την κύηση ανέρχεται σε 6,7 επί 1000 κήσεων και ο αναμενόμενος αριθμός εγκύων που θα μολυνθούν πρωτοπαθώς σε 37 κατ' έτος.

6. Εάν τα αποτελέσματα αυτά παραβληθούν και αξιολογηθούν με τα επικρατούντα διεθνή βιβλιογραφικά δεδομένα σύμφωνα με τα οποία μόνο το 16,3% από τα μολυνθέντα έμβρυα θα εμφανίσουν τυπική συγγενή τοξοπλάσμωση. Ο αναμενόμενος αριθμός περιπτώσεων συγγενούς τοξοπλάσμωσης στην περιοχή Ηπείρου σε 3.7 επί 10.000 τοκετών.

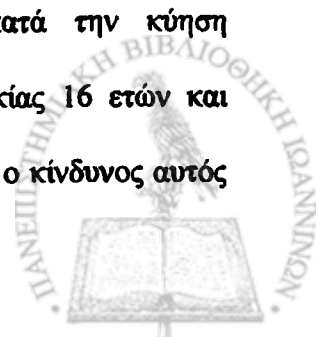


## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός αυτής της εργασίας υπήρξε η εργαστηριακή διερεύνηση του κινδύνου πρωτοπαθών μολύνσεων με *T. gondii* κατά την κύηση σε έγκυες της περιοχής Ηπείρου.

Για το σκοπό αυτό εξετάσθηκαν προς διαπίστωση IgG και IgM αντισωμάτων με την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA, 914 δείγματα ορών τα οποία εξήχθησαν από ισάριθμες έγκυες, οι οποίες τερμάτισαν την κύησή τους με τοκετό στην Πανεπιστημιακή Μαιευτική Κλινική. Με τη βοήθεια ενός μαθηματικού μοντέλου προσδιορίστηκε ο ρυθμός οροαναστροφής κατά έτος ηλικίας, για τις ηλικίες από 16-40 ετών και εξ αυτού ο θεωρητικός κίνδυνος πρωτοπαθών μολύνσεων κατά την κύηση. Από την λεπτομερή ανάλυση και επεξεργασία των αποτελεσμάτων αυτής της έρευνας προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

1. Το 36,8% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας της περιοχής της Ηπείρου έχει ήδη ανοσοποιηθεί με *T. gondii* κατόπιν προγενεστέρας μολύνσεως και δεν διατρέχει κίνδυνο πρωτοπαθούς μολύνσεως σε περίπτωση εγκυμοσύνης.
2. Η συχνότητα με την οποία διαπιστώνονται IgG αντισώματα έναντι *T. gondii* σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας 16-40 ετών αυξάνει γραμμικά με την ηλικία εξαρτώμενη μόνο από τον χρόνο έκθεσης στον κίνδυνο μόλυνσης χωρίς να επηρεάζεται από άλλους παράγοντες.
3. Σύμφωνα με την επεξεργασία των αποτελεσμάτων με το μαθηματικό μοντέλο και την αντιπαραβολή τους με δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας η περιοχή της Ηπείρου κατατάσσεται στις περιοχές μετρίου κινδύνου όσον αφορά τον κίνδυνο πρωτοπαθούς μολύνσεως κατά την κύηση.
4. Ο κίνδυνος πρωτοπαθούς μολύνσεως με *T. gondii* κατά την κύηση υπολογίσθηκε ότι κυμαίνεται από 1,03% για γυναίκες ηλικίας 16 ετών και μειούται γραμμικά σε 0,7% για γυναίκες ηλικίας 37 ετών. Αν ο κίνδυνος αυτός



εξετασθεί σε σχέση με την κατανομή των εγκυμοσύνων ανά έτος ηλικίας των γυναικών προκύπτει καμπύλη που καθορίζει ότι το 10,6% (κορυφή της καμπύλης) των αναμενόμενων περιστατικών πρωτοπαθούς μόλυνσεως με *T. gondii* θα είναι στην ηλικία των 23 ετών και μόνο το 1,27% θα είναι στην ηλικία των 16 και 36 ετών αντίστοιχα (άκρα της καμπύλης).

5. Σύμφωνα με την μαθηματική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και τα στατιστικά στοιχεία που αφορούν το σύνολο του γυναικείου πληθυσμού αναπαραγωγικής ηλικίας στην περιοχή της Ηπείρου ο κίνδυνος πρωτοπαθούς μόλυνσεως κατά την κύηση ανέρχεται σε 6,7 επί 1000 κύσεων και ο αναμενόμενος αριθμός εγκύων που θα μολυνθούν πρωτοπαθώς σε 37 κατ' έτος.
6. Εάν τα αποτελέσματα αυτά παραβληθούν και αξιολογηθούν με τα επικρατούντα διεθνή βιβλιογραφικά δεδομένα σύμφωνα με τα οποία μόνο το 16,3% από τα μολυνθέντα έμβρυα θα εμφανίσουν τυπική συγγενή τοξοπλάσμωση. Ο αναμενόμενος αριθμός περιπτώσεων συγγενούς τοξοπλάσμωσης στην περιοχή Ηπείρου σε 3.7 επί 10.000 τοκετών.



## SUMMARY

The aim of the present study is to detect the risk of primary infections by *T. gondii*, during pregnancy of women in Epirus, using laboratory method.

To serve the purpose of the study, sera samples taken from 914 healthy pregnant women, who gave birth at the Obstetrics clinic of the University of Ioannina, were tested to detect IgG and IgM antibodies by a solid phase immunoassay method (ELISA). Using a mathematical model, we estimate the seroconversion rate for the area of Epirus, estimating separately the seroconversion rates of each group from 16 to 37 years. The theoretical risk of primary infection by *T. gondii* during pregnancy was detected using this value. The analysis of the results of this study, has led to the following conclusions:

1. 36.8% of the women in reproductive age in Epirus, have already been immunized by *T. gondii*, through previous infection and they run no risk of primary infection during pregnancy.
2. The prevalence of IgG antibodies to *T. gondii*, on women of the main reproductive age between 16-40 years, increases by linear correlation to the age, depending only on the duration of exposure to possible contamination by *T. gondii*, without being influenced by other factors.
3. According to the elaboration of the results, using a mathematical model and the comparison with corresponding results of the international bibliography, the area of Epirus is of mild risk concerning the primary infection during pregnancy.
4. The risk of primary infection by *T. gondii* during pregnancy, has been estimated between 1.03% for the 16 year-old women and decreases linearly to 0.7% for 37 year-old women. The age-related distribution of the acquired toxoplasmosis gives a curve which shows that the 10.6% (top of the curve) of the cases of acquired



toxoplasmosis will be at the age of 23 and only 1.27% will be at the age of 16 and 36 (ends of the curve).

5. According to the mathematical analysis and the statistical values concerning all the female population in the reproductive age in Epirus, the risk of primary infection during pregnancy, has been estimated to 6.7 cases in 1.000 pregnancies. This means 37 cases per year.
6. If these are compared to, and assessed by the prevailing international bibliographical data, according to which only 16.3% of the infected fetuses will reveal typical congenital toxoplasmosis. The number of the cases of congenital toxoplasmosis in Epirus is 3.7 in 10.000 births prospectively.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Siim J.C., Biering-Sorenson U. and Mollet T.: Toxoplasmosis in domestic animals. *Adv. Vet. Sci.* 1963. 8:335-429.
2. Frenkel J.K.: Toxoplasma in and around us. *Bioscience* 1973. 23:343-352.
3. Nicolle C. and Mantoux L.: Sur une infection a corps de Leishman (ou organisme) du gondi. *C.R. Acad. Sci. (Paris)* 1908. 147:763-766.
4. Cristina N., Derain F., Ambroise Thomas P.: Detection of Toxoplasma gondii by (P.C.R.) technique in AIDS infected patients using the repetitive sequence TGR1E. *Pathol. Biol. Paris* 1992 Jan; 40 (1):52-5.
5. Sever JL.: Effects of infections on pregnancy risk. *Clin. Obstet. Gynecol.* 1973 Mar; 16 (1):225-34.
6. Nicolle C. and Manceux L.: Sur un protozoaire nouveau de Gondi. *Toxoplasma. Arch. Inst. Pasteur (Tunis)* 1909. 2:97-103.
7. Splendore A.: Un nuovo protozoa parassita dei conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d' una malattia che ricorda in molti punti il kala-azar dell' uomo. *Rev. Soc. Sci. (Sao Paolo)* 1908. 3:109-112.
8. Janku J.: Pathogenesis a pathologiccka anatomie tak narvaneho vrozeneho kolo-mbomu zlute skrinn v okn normalne velikem a mikrophthalmiken s malezem parazitu v sunici. *Cas.Lek.Ces.* 1923. 62:1021-1027, 1054-1059, 1081-1085, 1111-1115, 1138-1144
9. Levaditi C.: Au sujet de certains protozooses hereditaires humaines a localiza-tion oculaires et nerveuses. *C.R. Soc. Biol. (Paris)* 1928. 98:297-298.



10. Wolf A. and Cowen D.: Granulomatous encephalomyelitis due to an encephalitozoon. A new protozoan disease of man. Bull. Neurol. Inst. N.Y. 1937. 6:306-371.
11. Sabin A. and Oliski P.: Toxoplasma and obligate intracellular parasitism. Science 1937. 85:336-337.
12. Wolf A., Cowen D. and Paige B.H.: Toxoplasmic encephalomyelitis III. A new case of granulomatous encephalomyelitis due to a protozoan. Amer. J. Pathol. 1939. 15:657-694.
13. Sabin A.B. and Feldman H.A.: Dres as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (Toxoplasma). Science 1948. 108:660-663.
14. Sabin A.B.: Toxoplasmic encephalitis in children. J.A.M.A. 1941. 116:801-807.
15. Perkins E.S.: Toxoplasmosis. B. Med. J. 1972 Oct 7; 4 (831):46.
16. Jacobs L.: Popagation, morphology and biology of Toxoplasma. Am. N.Y. Acad. Sci. 1956. 64:154-179.
17. Klainer A.S., Krehenbuhl J.L. and Remington J.S.: Scaning electron microscopy of toxoplasma gondii. J. Cl. Microbiol. 1973. 75:111-118.
18. Gustafson P.Y., Agar H.D. and Cramer D.I.: An electron microscope stundy of Toxoplasma. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1954. 3:1008-1022.
19. Hogan M.J., Vonedá C., Feeney L., Zweigart P. and Lewis A.: Morphology and culture of Toxoplasma. Arch. Ophthalmol. 1960. 64:655-657.
20. Jacobs L.: The biology of Toxoplasma. Amer. J. Trop. Hyg. 1953. 2:365-389.
21. Norrby R. and Lycke E.: Factors enhancing the host cell penetration of Toxoplasma gondii. J. Bacteriol. 1967. 93:53-58.





22. Frenkel J.K.: Toxoplasmosis: parasite life cycle. Pathology and immunology. In Hamond D.M. (ed.): The coccidia. Baltimore University Park Press 1973. pp: 343-410.
23. Remington J.S. and Cavanaugh E.N.: Isolation of the encysted form of *Toxoplasma gondii* from human skeletal muscle and brain. *New Engl. J. Med.* 1965. 273:1308-1310.
24. Dubey J.P.: Effect of freezing on the infectivity of *Toxoplasma* cysts to cats. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 1974. 165:534-536.
25. Manwell R.D. and Drobeck H.P.: The behavior of *Toxoplasma* with notes on its taxonomic status. *J. Parasitol.* 1953. 39:577-584.
26. Jacobs L., Remington J.S. and Melton M.L.: The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.* 1960. 46:11-21.
27. Sliimade K., O' Connor G.R. and Vonedá C.: Cyst formation by *Toxoplasma gondii* (RH strain) in vitro. *Arch. Ophthalmol.* 1974. 92:496-500.
28. Frenkel J., Dubey J.P. and Miller N.L.: *Toxoplasma gondii* in cats: Fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science* 1970. 167:893-896.
29. Dubey J.P., Miller N.L. and Frenkel J.K.: The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *J. Exp. Med.* 1970. 132:636-662.
30. Jones T.C., Yeh S. and Hirsch J. G.: The interaction between *Toxoplasma gondii* and mammalian cells. I. Mechanism of entry and intracellular fate of the parasite. *J. Exp. Med.* 1972. 136:1157-1172.
31. Lycke E., Carlberg K. and Norrby R.: Interactions between *Toxoplasma gondii* and its host cells : Function of the penetration-enhancing factor of *Toxoplasma*. In *Fect. Immun.* 1975. 11:853-861.



32. Remington J.S. in discussion, Lainson R.: Observations on the nature and transmission of *Toxoplasma* in the light of its wide host and geographical range. *Survey Ophthalmol.* 1961. 6:721-758.
33. Sheffield H.G. and Melton M.L.: The fine structure and reproduction of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.* 1968. 54:209-226.
34. Wallace G.D.: The role of the cat in the natural history of *Toxoplasma gondii*. *Amer. J. Trop. Hyg.* 1973. 22:313-322.
35. Lund E., Lycke E. and Sourander P.: A cinematographic study of *Toxoplasma gondii* in cell cultures. *Br. J. Exp. Pathol.* 1961. 42:357-362.
36. Remington J.S., Krahenbuhl J.L.: Immunology of *Toxoplasma* infection. In: Cohen S., Sudun E.H. (Eds): *Immunology of parasitic infections*. Oxford, Blackwell Scientific Publications 1976. pp. 235-267.
37. Kaufman H.E., Melton M.L., Remington J.S. and Jacobs L.: Strain differences of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.* 1959. 45:189-190.
38. Arango F.G., Dubey J.R., Remington J.S.: Antigenic similarity between the coccidian parasites. *J. Protozool.* 1984. 31:145-147.
39. Johnson A.M., McDonald, Neoh S.H.: Monoclonal antibodies to *Toxoplasma* cell membrane surface antigens, protect mice from toxoplasmosis. *J. Protozool.* 1983. 30:351-356.
40. Handman E., Coding J.W., Remington J.S.: Detection and characterization of membrane antigens of *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 1980. 134:2578-2583.
41. Kasper L.H., Bradley M.S., Pfefferkorn E.R.: Identification of stage-specific sporozoite antigens of *Toxoplasma gondii* by monoclonal antibodies. *J. Immunol.* 1984. 132:443-449.



42. Kasper L.H., Currie K.M., Bradley M.S.: An unexpected response to vaccination with a purified major membrane tachyzoite antigen (P30) of *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 1985. 134:3426-3431.
43. Asai T. et al .: Detection of nucleoside triphosphate hydrolase as a circulating antigen in sera of mice infected with *Toxoplasma gondii*. *Infect. Immun.* 1987. 55:1332-1335.
44. Hassl A., Auer H., Hermentin K., Picher O., Aspok H.: Experimental studies on circulating antigen of *Toxoplasma gondii* in intermediate hosts: Criteria of detection and structural properties. *Zentralbl. Bakteriол. Mikrobiol. Hyg (A)* 1987. 270:302-309.
45. Suzuki Y., Kobayashi A.: Presence of high concentrations of circulating *Toxoplasma* antigens during acute *Toxoplasma* infection in athymic nude mice. *Infect. Immun.* 1987. 55:1017-1018.
46. Candolf E., Derouin F., Kien T.: Detection of circulating antigens in immunocompromised patients during reactivation of chronic toxoplasmosis. *Eur. J. Microbiol.* 1987. 6:44-48.
47. Hassl A, Aspok H, Framm H: Circulating antigen of *Toxoplasma gondii* in patients with AIDS. *Zentralbl. Bakteriол. Mikrobiol. Hyg (A)* 1988. 270:302-309.
48. Suzuki Y., Thullier P., Desmonts G., Remington J.S.: Antigens responsible for immunoglobulin G. responses specific for the acute stage of *Toxoplasma* infection in humans. *J. Clin. Microbiol.* 1988. 26:901-905.
49. Delatoille P., Orlaque G., Slizewicz B.: Advantage of using 35.000 molecular weight protein for testing of *Toxoplasma gondii* immunoglobulin. *M. J. Clin. Microbiol.* 1988. 26:796-797.



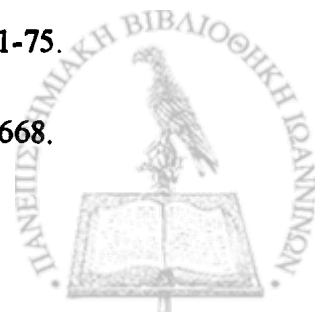
50. Remington J.S.: Experiments on the transmission of toxoplasmosis. *Survey Ophthalmol.* 1961. 6:856-867.
51. Jacobs L.: *Toxoplasmosis gondii* parasitology and transmission. *Bull. N.Y. Acad. Med.* 1974. 50:128-145.
52. Wong M.M, Kovek WJ, Hendickx A: Experimental congenital infection of *Toxoplasma gondii* in *Macaca arctoides* *Asian J Infect Dis* 1979 (Jun); 3 (2):61-67
53. Garcia A.G.P.: Congenital toxoplasmosis in two successive sibs. *Arch. Dis. child.* 1968. 43:705-709.
54. Glasser L. and Delte B.G.: Congenital toxoplasmosis with placental infection in monozygotic twins. *Pediatrics* 1963. 35:276-283.
55. Beckett R.S. and Flynn J. Jr.: Toxoplasmosis: report of two new cases with a classification and with a demonstration of the organisms in the human placenta. *New Engl. Med.* 1953. 249:345-350.
56. Neghme A., Thiermann E., Pino F., Christen R. and Agosin M.: Toxoplasmosis humanae en Chile. *Bol. Inform. Parasit. chil.* 1952. 7:6-8.
57. Remington J.S., Melton M. and Jacobs L.: Chronic *Toxoplasma* infection in the uterus. *J. Lab. Clin. Med.* 1960. 56:879-883.
58. Ruiz A., Manuel, Flores C. and Kotcher E.: The prevalence of *Toxoplasma* antibodies in Costa Rica postpartum women and their neonates. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 1966. 95:817-819.
59. Ruoss C.F. and Bourne G.L.: Toxoplasmosis in pregnancy. *J. Obstet. Gynecol. Br. Commoun.* 1972. 79:1115-1118.
60. Desmonts G. and Courvaux J.: Congenital Toxoplasmosis. A prospective study of 378 pregnancies. *New Engl. J. Med.* 1974. 290:1110-1116.



61. Desmots G. and Courveur J.: Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. *Bull. N.Y. Acad. Med.* 1974. 50:146-159.
62. Feldman H.A. and Miller L.T.: Congenital human toxoplasmosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1956. 64:180-184.
63. Sabin A.B., Eichenwald H., Feldman H. and Jacobs L.: Present status of clinical manifestations of Toxoplasmosis in man. *J.A.M.A.* 1952. 150:1063-1069.
64. Stanton M. and Pinkerton H.: Benign acquired toxoplasmosis with subsequent pregnancy. *Amer. J. Clin. Pathol.* 1953. 23:1199-1207.
65. Kraubig H.: Praventive Behandlung dei konnatalen Toxoplasmose. In Kirchoff H. and Kraubig N. (eds) *Toxoplasmose praktische fragen und ergebnisse.* Stuttgart. Georg Thieme Verlag. 1966. pp. 104-122.
66. Kimball A.G., Kean B.H. and Fuchs F.: Congenital toxoplasmosis: a prospective study of 4.048 obstetric patients. *Amer J Obstet Gynec* 1971. 111:211-218.
67. Thalhammer O.: Prenatal incubation period. In Thalhammer O. (ed): *Prenatal infections.* Stuttgart. Georg Thieme Verlag. 1971. pp. 70-71.
68. Courveur J., Desmots G. and Cirre J.Y.: Congenital toxoplasmosis in twins. A series of fourteen pair of twins : absence of infection in one twin in to pairs. *J. Pediat.* 1960. p. 59-61.
69. Frenkel J.K.: Toxoplasmosis. In Benirsch K. (ed): *Comparative aspects of reproductive failure.* New York. Springer-Verlag 1966. pp. 296-321.
70. Miller M.J., Aronson W.J. and Remington J.S.: Late parasitemie in asymptomatic acquired toxoplasmosis. *Ann. Intern. Med.* 1969. 71:139-145.
71. Remington J.S.: Toxoplasmosis and human abortion. *Prog. Gynecol.* 1963. 4:303-315.



72. Kimball A.C., Kean B.H., Fuchs F.: Congenital Toxoplasmosis: a prospective study of 4,048 obstetric patients. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1971 Sep. 15; 14 (2):211-218.
73. Roberts C.W., Alexander J.: Studies on a murine model of congenital toxoplasmosis: vertical disease transmission only occurs in BALBIC mice infected for the first time during pregnancy. *Parasitology* 1992 Feb; 104 p+1:19-23.
74. Machado J.O.L., Machado M.E.L., Pinho A.L., de Silva S. and Gomes F.J.R.: Estudo sobre a viabilidade de transmissao da toxoplasmosose por via vaginal. *Reg. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 1968. 10:371-375.
75. Thiermann E.: Transmission congenite del *Toxoplasme gondii* on rats con infection lege. *Biologica (Chile)* 1957. 23:59-67.
76. Remington J.S., Newell J.W. and Caranaugh E.: Spontaneous abortion and chronic toxoplasmosis. Report of a case with isolation of the parasite. *Obstet. Gynecol.* 1964. 29:25-31.
77. Talice R.Y., Perer-Moreira L.: Investigations sobre la toxoplasmosis en el Uruguay: Sobre vida de *Toxoplasma gondii* ensangre humana in vitro. *An. Fac. Med. Montevideo* 1957. 42:143-147.
78. Vasina S.G., Dunaeva Z.V.: On the survival of *Toxoplasma* outside the host organism. *J. Med. Parazitol. (Mosk)* 1960. 29:451-454.
79. Siim J.C.: Clinical and diagnostic aspects of human acquired toxoplasmosis. In Siim J.C. (eds): *Human Toxoplasmosis*. Copenhagen. Munksgaard 1960. pp. 53-79.
80. Fleck D.G.: Epidemiology of Toxoplasmosis. *J. Hyg. (Lond.)* 1963. 61:61-75.
81. The epidemiology of Toxoplasmosis. *Med. J. Aust.* 1971 Mar 27; 1 (13):668.



82. Feldman H.A. and Miller L.T.: Serological study of Toxoplasmosis prevalence. Amer. J. Hyg. 1956. 64:320-335.
83. Feldman H.A.: A nationwide serum survey of U.S.A. Amer. J. Epidemiol. 1965. 81:385-391.
84. Τσιλφίδης Ι., Αντωνιάδης Γ.: Ανοσοενζυμικός προσδιορισμός αντισωμάτων έναντι *Toxoplasma gondii*. Διδακτορική διατριβή. Ιωάννινα 1989.
85. Desmots G. and Courreur J.: Toxoplasmosis: epidemiologic and serologic aspects of perinatal infection. Progress in Clinical and Biological research Vol. 3. New York. Alan R. Lics. Inc. 1975. pp. 115-132.
86. Chowdhurg M.N.: Toxoplasmosis: a review. J. Med. Clin. Exp. Theor. 1986. 17:373-396.
87. Gibson C.H. and Coleman N.: The prevalence of Toxoplasma antibodies in Guatemala and Costa Rica. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1958. 7:334-338.
88. Hrboe A.: Toxoplasma dye titres in 1600 blood donors in Oslo. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl. 1952. 93:325-331.
89. Desmots G. and Courreur J.: L' expression clinique de l' infection cher le nouveau-n. 3. Toxoplasmose congenitale: 21 Congress pediatres de Langue Francaise. Rapports. 1967. 3:453-488.
90. Courreur J. and Desmots G.: Congenital and maternal Toxoplasmosis. A review of 300 congenital cases. Der. Med. Child. Neurol. 1962. 4:519-530.
91. Desmots G.: General conclusions of the workshop of infectious diseases. Prog. Clin. Biol. Res. 1985. 1363 B 313-6.



92. Bozzuffi P.M., Ferrari G., Fiorelli A., Terragne A.: Antibody prevalence to torch agents in pregnant women and relative risk of congenital infections in Italy. *Biol. Re. Pregnancy Perinatol.* 1987. 8 (22):84-88.
93. Beach P.G.: Prevalence of antibodies of *Toxoplasma gondii* in pregnant women in Oregon. *J. Infect. Dis.* 1979 Nov.; 140 (5):780-783.
94. Κακλαμάνη Ε, Βυσούλης Χ, Δρούγκα Μ, Τριχόπουλος Δ: Αντισώματα έναντι *T. gondii* εις τον Ελληνικό πληθυσμό. 1975. *Ιατρική* 27:172-176.
95. Frenkel J.K.: Breaking the transmission chain of toxoplasma: a program for the prevention of human toxoplasmosis. *Bull. N.Y. Acad. Med.* 1974. 50:228-235.
96. Stray Pederson B., Pederen J.O., Omland T.: Estimations of the incidences of *Toxoplasma* infections among pregnant women from different areas in Norway. *Scand. J. Infect. Dis.* 1979; 11 (3):247-252.
97. Remington J.S., Desmonts G.: Toxoplasmosis. In *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, ed. pp. 143-263. 1983. WB Saunders, Philadelphia.
98. Hersey D.W., Mc Gregor J.A.: Low prevalence of *Toxoplasma* infection in a Rocky Mountain Prenatal Population. *Obstet Gynecol* 70 (6):900-2/1987 Dec.
99. Papor L., Simondon F., Saurin W., Sarmini H.: A simple model relevant to toxoplasmosis applied to epidemiologic results in France. *Am. J. Epidemiol.* 1986 Jan.; 123 (1):154-161.
100. Desmonts G., Courreur J.: A prospective study of the offsprings of 542 woman who acquired toxoplasmosis during pregnancy: Pathophysiology of congenital disease. Vienna 1978. Stuttgart George Thieme. 1979:51-60.
101. Roch E. and Varele G.: Dirersos aspectos de la investigacion sobre toxoplasmosis en Mexico. *Rev. Invest. Saluol. Publica* 1966. 26:31-39.





102. Carter A.O., Frank J.W.: Congenital Toxoplasmosis: epidemiologic features and control. *Can. Med. Assoc. J.* 1986 Sep.; 135 (6):618-23.
103. Logar J., Liker M. et al.: Incidence of congenital Toxoplasmosis in the republic of Slovenia. *Scand. J. Infect. Dis.* 1992. 24 (1):105-8.
104. Jamre L.M., Dos Santos O.G., Guimaraes G.C.: Frequency of antibodies to Toxoplasma in pregnant women and their newborn in Sao Paulo City, Brazil. *Rev. Bras. Pesqui. Med. Biol.* 1979 Sep.; 12 (4-5):279-85.
105. Lappalainen M., Koskela P., Hedman K., Koskiniemi M.: Incidence of primary Toxoplasma infections during pregnancy in southern Finland: a prospective cohort study. *Scand. J. Infect. Dis.* 1992. 24 (1):97-104.
106. Koppe J.G., Kloosterman G.J.: Toxoplasmosis and pregnancy with a long term follow-up of the children. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Biol.* 1974. 4:101-110.
107. Stray-Pederson B.: Infants potentially at risk for congenital toxoplasmosis. *Mm. J. Dis. child* 1980. 134:638-642.
108. Williams K.A.B, Scoh J.M, Mac Farlane D.E, Williams H: Congenital toxoplasmosis: a prospective survey in the west of Scotland *J Infect* 1981 3:219-229
109. Desmots G, Daffos F., Forestier F., Capell-Pavlosky M., Thullier Ph., Chartier M.: Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Lancet* i 1985. 500-504.
110. Koppe J.G., Lower-Sieger D.H., De Reoyer-Bonnet H.: Results of 20 year follow-up of congenital toxoplasmosis. *Lancet* i 1986. 254-256.
111. Huldt S.: Studies on experimental toxoplasmosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1971. 177:146-155.
112. Huldt G.: Experimental Toxoplasmosis. Parasitaemia in guinea-pig. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1963. 58:457-470.



113. Jadin J.M., Creemers J.: Vitrastructure et biologie des toxoplasmes. III. Observations de toxoplasmes intra erythrocytaires cher un mammifer. Acta Trop. (Base) 1968. 25:267-270.
114. Courreur J.: Congenital toxoplasmosis. Epidemiology, physiopathology, evolution, diagnosis, prognosis, principles of the treatment, prevention. Rev. Pret. 1992 Jan 15; 42 (2):243-6.
115. Norik R.A. and O' Connor G.R.: The so-called toxin of Toxoplasma. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1969. 18:511-515.
116. Petterson E.K.: An explanation of the biological action of the toxotoxin based on some in vitro experiments. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 1971. 79:33-36.
117. Werner H.: Latent intrauterine infection with Toxoplasma gondii. Bol. chil. Parasitol. 1968. 23:90-101.
118. Wemer H.: Uber das Vorkommen von Toxoplasma gondii in de generations organen bei Tier und Mensh. Einfluss und Bedeutung einer latenten Toxoplasma - Infection des uterus auf Verlauf einer Embrvonal Fetal - Entwicklung. In Kirchoff H (ed) Toxoplasmose Stuttgart George Thieme Verlag 1971 pp 20-29
119. Mukhenjee A.K., Datta A.: Persistant Toxoplasmic parasitaemia in a pregnant woman. Indian Med. Assoc. 1986 Feb; 84 (2):48-52.
120. Krahenbuhl J.L., Caines J.D. and Remington J.S.: Lymphocyte transformation in human toxoplasmosis. J. Infect. Dis. 1972. 125:283-288.
121. Remington J.S., Jacobs L. and Melton M.L.: Congenital transmission of toxoplasmosis from mother animals with acute and chronic infection. J. Infect. Dis. 1961. 108:163-173.



122. Aranja F.G. and Remington J.S.: IgG antibody suppression of the IgM antibody response to *Toxoplasma gondii* in newborn rabbits. *J. Immunol.* 1975. 115:335-338.
123. Strickland G.T., Pettit L.E. and Voller A.: Immunodepression in mice infected with *Toxoplasma gondii*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 1973. 22:452-455.
124. Hultdt G., Card S. and Olovson S.G.: Effect of *Toxoplasma gondii* on the thymus. *Nature* 1973. 244:301-303.
125. McLeod R., Beem M.O., Estes R.G.: Lymphocyte anergy specific to *Toxoplasma gondii* antigens in a baby with congenital toxoplasmosis. *J. Clin. Lab. Immunol.* 1985 Jul.; 17 (3):149-153.
126. Ruskin J. and Remington J.S.: Immunity and intracellular infection: resistance to bacteria in mice infected with protozoan.
127. Hervei S., Simon K.: Congenital toxoplasmosis simulating brain tumor. Serologic properties, preventive possibilities in Toxoplasmosis. *Orv. Hetil.* 1979 Jul. 22; 120 (29):1767-72.
128. Callahan W.P., Russell W.O. and Smith M.G.: Human Toxoplasmosis. A clinicopathologic study with presentation of five cases and review of the literature. *Medicine* 1946. 25:343-397.
129. Zuelzer W.W.: Infantile toxoplasmosis, with a report of three cases, including two in which the patients were identical twins. *Arch. Pathol.* 1944. 38:1-19.
130. Bernirshke K. and Driscoll S.G.: The pathology of the human placente. New York Springer Verlag. 1967. 512 p.p.
131. Altshuler G.: Toxoplasmosis as a cause of hydranencephaly. *Amer. J. Dis. child* 1973. 125:251-252.



132. Wolf A., Cowen D. and Paige B.H.: Toxoplasmic encephalomyelitis. VI. Clinical diagnosis of infantile or congenital toxoplasmosis. Survival beyond infancy. Arch. Neurol. Psych. 1942. 48:689-739.
133. Leikin S., Whang-Peng J. and Oppenheim J.J.: In vitro transformation of human cord blood lymphocytes by antigens. New York Academic Press 197 p.p. 389-402.
134. Hogan M.J.: Ocular Toxoplasmosis. New York Columbia University press. 1951 p.p. 86.
135. Koch F.L.P., Wolf A., Cowen D. and Paige B.A.: Toxoplasmic encephalomyelitis VII. Significance of ocular lesions in the diagnosis of infantile or congenital toxoplasmosis. Arch. Ophthalmol. 1943. 29:1-25.
136. De Vroede M., De Mentar F.: Congenital Toxoplasmosis: late appearance of retinal lesions after treatment. Acta Paediatr. Scand. 1979 Sep.; 68 (5):761-2.
137. Amos G.S.: Posterior segment involvement in selected pediatric infectious diseases. J. Am. Ophthalm. Assoc. 1979 Nov.; 50 (11):1211-20.
138. Arango F.G. and Remington J.G.: Induction of tolerance to an intracellular protozoan (*T. gondii*) by passively administered antibody. J. Immunol. 1974. 113:1424-1428.
139. Frenkel J.K. and Friedlander S.: Toxoplasmosis. Pathology of neonatal disease. Pathogenesis, diagnosis and treatment. Public health service . Publication N. 141 Washington D.C. U.S. Government Printing Office 1952. 108 p.p
140. Ruoss C.F., Bourne G.L.: Toxoplasmosis during pregnancy. J. Obstet. Gynecol. Br. Common. 1972 Dec.; 79 (12):1115-8.



141. Remington J.S., Barnett C.G., Meikel M. and Lunde M.V.: Toxoplasmosis and infectious mononucleosis. Arch. Intern. Med. 1962. 110:744-753.
142. Koube K., Lasovske S., Morarcova E.: Lymphadenitis caused by Toxoplasmosis during gravidity. Zentralbl. Gynakol. 1979. 19 (14):918-20.
143. Joseph R., Desmonts E., Job J.G. and Courreur J.: Abdominal lymphadenopathy as first location of acquired toxoplasmosis. In Siim J.G. (eds): Human Toxoplasmosis. Copenhagen. Muntsgaard 1960. p.p. 120-123.
144. Jones T.C., Kean B.H. and Kimball A.C.: Acquired toxoplasmosis. N.Y. state J. Med. 1969. J. Med. 69:2237-2242.
145. Remington J.S.: Toxoplasmosis in the adult. Bull. N.Y. Acad. Med. 1974. 50:211-227.
146. Maw G., Piekarski G.: Toxoplasma infection und chwangerschaft epidemiologie und Bedeutung. Fur schwanger schaftsrerlauf und kindesentwicklung. Dtsch Artebl. 1978. 75:77-80.
147. Remington J.S., cited by Frenkel J.K.: Some data on the incidence of human toxoplasmosis as a cause of mental ratavolation. Washington D.C., U.S. Government Printing Office 1968. p.p. 89-97.
148. O' Fel A.: Parasitologie mycologie. Maladies parasitaires et fongiques. 2e Ed, La Madeleine, Editions C. et R.1985. p. 174-184.
149. Pilly E.: Maladies infectieuses. 9e Ed, La Madeleine, Editions C. et R. 1985. p. 380-385.
150. Williams T.D.: Presume ocular Toxoplasmosis: some clinical observations. Am. J. Ophthalm. Physiol. Opt. 1979 Oct.; 56 (10):633-641.



151. Fair J.R.: Congenital toxoplasmosis: diagnostic importance of chorioretinitis. J.A.M.A. 1958. 168:250-253.
152. De Roever-Bonnet H.: Congenital toxoplasmosis. Trop. Geogr. Med. 1961. 13:27-41.
153. Desmots G, Daffos F, Forestier F, Capell-Pavlovsky M., Thullier Ph., Chartier M.: Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. Lancet i 1985. 500-4.
154. Lunde M.N.: Laboratory methods in the diagnosis of Toxoplasmosis. Health Lab. Sci. 1973 Oct.; 10 (4):319-28.
155. Beaver PC, Jung RC: Animal agents and vectors of human disease Philadelphia, Lea and Febiger. p. 55-59.
156. Abbas A.M.A.: Comparative study of methods used for isolation of *Toxoplasma gondii*. Bull. W.H.O. 1967. 36:344-346.
157. Chang C.H., Stulber C., Bollinger R.O., Walker R. and Brough A.J.: Isolation of *Toxoplasma gondii* in tissue culture. J. Pediatr. 1972. 81:790-791.
158. Derouin F, Thullier P, Candolfi E, Daffos F, Forestier E: Early prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis using amniotic fluid samples and tissue culture. Eur. J. Clin. Microbiol. 1988. 7:423-425.
159. Lunden A., Hoglund S.: Some characteristics of *Toxoplasma gondii* grown in cell culture. Zentralbl. Bakteriol. Microbiol. Hyg. (A) 1987. 267:286 (Abs).
160. Harmentin K., Auer A., Aspok H.: In vitro cultivation of *Toxoplasma gondii* under defined conditions. Zentralbl. Bakteriol. Microbiol. Hyg. (A) 1987. 267:285 (Abs).
161. Warren J. and Sabin A.B.: The complement fixation reaction in toxoplasmic infection. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1942. 51:11-14.



162. Cohen Khalles V., Seguela J.D.: C<sub>4</sub> component of the complement: a new indirect marker for the prenatal diagnosis of Toxoplasmosis (letter). *Presse. Med.* 1992 May. 23; 21 (19):908.
163. Remington J.S., Desmonts G.: Toxoplasmosis in infectious diseases of the fetus and newborn infant. ed. J.S. Remington, J.O. Klein. Philadelphia 1976. W.B. Saunders, p.p. 143-263.
164. Kelen A.E., Ayllon-Leindl, Lobroffsky N.A.: Indirect fluorescent antibody method in serodiagnosis of toxoplasmosis. *Can. J. Microbiol.* 1962. 8:545.
165. Garin JP, Ambroise, Thomas P.: La diagnostic serologique de la toxoplasmose par la methode des anticorps fluorescents (technique indirecte). *Press Med.* 71:2485-2488.
166. Fulton J.D., Turk J.L.: Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. *Lancet* 1959. 2:1068-1069.
167. Potasman I., Arango F.G., Desmonts G., Remington J.S.: Analysis of toxoplasma gondii antigens recognized by human sera obtained before and after acute infection. *J. Infect. Dis.*, 1986 Oct.; 154 (4):650-7.
168. Fulton JD, Voller A: Evaluation of immunofluorescent and direct agglutination methods for detection of specific toxoplasma antibodies. *Br. Med. J.* 1985. 2:1173-1175.
169. Voller A., Bidwell D.E., Bartlett A., Fleck D.G., Perkins M., Oladehim B.: A microplata enzyme immunoassay for toxoplasma antibody. *J. Clin. Pathol.* 1976. 29:150-153.



170. Walls K.W., Bullock S.L., English D.K.: Use of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and its microadaptation for the serodiagnosis of toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 1977. 5:275-277.
171. Duermeier W., Wielaard F., Swinkels J.: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M. antibodies against *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Microbiol.* 1980. 12:805-806.
172. Wilson M., Wave D.A., Walis K.W.: Evaluation of commercial serodiagnostic kits for toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 1987. 25:2262-2265.
173. Aerbrink P., Van Loon A.M., Rotmans J.P., Van Knapen F., Van Dijk W.C.: Interlaboratory evaluation of indirect enzyme linked immunosorbent assay, and immunoblotting for detection of immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Microbiol.* 1987. 25:100-105.
174. Cubitt W.D., Ades A.E., Peckham C.S.: Evaluation of five commercial assays for screening antenatal sera for antibodies to *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Pathol.* 1992 May; 45 (5):435-8.
175. Pinon J.M., Thoannes H., Pouletty P.H., Poirrier j., Damiens J., Pelletier P.: Detection of IgM specific for toxoplasmosis in serum and cerebrospinal fluid using a non-enzymatic IgA-capture assay. *Diagn. Immunol.* 1986. 4 (5):223-7.
176. Feldman H.A., Sabin A.B.: Skin reactions to toxoplasmic antigen in people of different ages without known history of infection. *Pediatrics* 1949. 4:798-804.
177. Rougier D, Ambroise-Thomas D: Detection of toxoplasmic immunity by multipuncture skin test with excretory-secretory antigen. *Lancet* 1985 Jul.; 2 (8447):121-3.





178. Cazenave J., Broussin B., Cambeilh C., Discamps G.: Rapid detection of Toxoplasma by "Polymerase chain reaction" contribution to prenatal diagnosis (letter). *Presse. Med.* 1992 Feb. 8; 21 (5):221.
179. Cazenave J., Forestier F., Begueret J.: Contribution of a new P.C.R. assay to the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Prenat Diagn.* 1992 Feb.; 12 (2):119-27.
180. Crob U, Roggenkamp A, Janitschke K, Heesemann J: Improved sensitivity of the P.C.R. for detection of Toxoplasma gondii in biological and human clinical specimen. *European J of Clin. Microbiol. and Infect. Diseases* 1992. 11:33-39.
181. Bessieres M.H., Sequele J.P.: IgA antibody response during acquired and congenital toxoplasmosis. *J. Clin. Pathol.* 1992 Jul.; 45 (7):605-8.
182. Decoster A., Darcy F., Delcroix M. et al.: Anti P-30 IgA antibodies as prenatal markers of congenital Toxoplasma infection. *Clin. Exp. Immunol.* 1992 Feb.; 87 (2):310-315.
183. Work K.: Resistance of Toxoplasma gondii encysted in pork. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 1968. 73:85-92.
184. Frenkel J.K. and Dubey J.P.: Rodents as vectors for feline coccidia. Isospore felis and isospore rivolta. *J. Infect. Dis.* 1972. 125:69-72.
185. Altshuler G.: Toxoplasmosis as a cause of hydranencephaly. *Am. J. Dis. child* 1973. 125:251-252.
186. McLeod R., Hubbell J. et al.: Levels of pyrimethamine in sera and cerebrospinal and ventricular fluids from infants treated for congenital Toxoplasmosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992 May; 36 (5).



187. Frenkel J.K., Weber R.W. and Lunde M.N.: Acute Toxoplasmosis. Effective treatment with pyrimethamine, sulfadiazine, leucovorin calcium and yeast. J.A.M.A. 1960. 173:1471-1476.
188. Koch F., Schlagetter K., Schultze H.E. and Schwick G.: Symptomatische Macroglobulinämie bei hiesigen Kindern. Z. Kinderheilkd. 1956. 78:283-300.
189. Beverly J.K.: Toxoplasmosis. Br. Med. J. 1973 May; 2 (864):475-8.
190. Daffos F., Forestier F. et al.: Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital Toxoplasmosis. N. Engl. J. Med. 1988 Feb.; 318 (5):271-5.
191. Griffith E.L.: The treatment of Toxoplasmosis during pregnancy. J. Am. Med. Wom. Assoc. 1973 Mar.; 28 (3):140-1.
192. Pilly E.: Maladies infectieuses. 9e Ed., Le Madeleine, Edit. C. et R. p. 380-385.
193. Koppe J.G., Loewer Sieger D.H., De Reover Bonnet H.: Results of 20 year follow up of congenital toxoplasmosis. Lancet i, 1986. 254-6.
194. Future perspectives. In proceedings IXth International Congress of Infectious and Parasitic Disease. Munich. Vol. III. Parasitic infections, Immunology, Mycotic infections, General Topics, ed. W. Marget, W. Lang, E. Gabler-Sandberger, Medizin Verlag Munchen, Munich. p.p. 69-72
195. Ritter S.E., Vermund S.H.: Congenital Toxoplasmosis. Obstet. Gynecol. Neonat. Nurs. 1985. 14 (6):435-9.
196. Hume O.S.: Toxoplasmosis and pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 1972 Nov.; 114 (5):703-15.
197. Macer G.: Toxoplasmosis in obstetrics. Its possible relation to mongolism. Amer. J. Obstet. Gynecol. 1963. 87:66-70.



198. Vlaex S.: Opyt profilaktiki vrozdennogo toksoplazmoza. Vop. Okrany Materin. Dets 1965. 10:78-82.
199. Kimball A.C., Kean B.H. and Fuchs F.: The role of toxoplasmosis in abortion. Amer. J. Obstet. Gynecol. 1971. 111:219-226.
200. Coffoy J.D.: Congenital Toxoplasmosis 38 years ago (letter). Pediatr. Infect. Dis. 1985 Mar.; 4 (2):214.
201. Bakht F.R., Gentry L.O.: Toxoplasmosis in pregnancy: an emerging concern for family physicians. Am. Fam. Physician 1992 Apr.; 45 (4):1683-90.
202. Ellis C.J.: Antiparasitic agents in pregnancy. Clin. Obstet. Gynecol. 1986 Jun.; 13 (2):269-75.
203. Lilienfeld A.M., Lilienfeld D.E., Foundations of epidemiology. 2nd ed. New York: Oxford University Press. 1980:358-9.
204. Τριχόπουλου Δ.: Ιατρική Στατιστική. Αθήνα 1975. σελ. 116-120.
205. Murray R. Spiegel: (Schaums Outline of theory and problems of probability and statistics). Mc GRAW - HILL, New York. Press 1975:218-220.
206. Στατιστική της φυσικής κινήσεως του πληθυσμού της Ελλάδος έτους 1983. Εθνική Στατιστική Υπηρεσία. Αθήναι 1986.
207. Verhofstede C, Sabbe L, Van Rentergherm L: Ability of enzyme-linked immunosorbent assays to detect early immunoglobulin G antibodies to Toxoplasma gondii. Eur. J. Clin. Microbiol 1987, 6:147-151.
208. Τσιλφίδης Ι., Αντωνιάδης Γ., Παπαδοπούλου Χ.: Αντισώματα έναντι T. gondii σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Θεσσαλονίκη 1987, Πρακτικά 2ου Βορειοελλαδικού Ιατρικού Συνεδρίου, σελ. 142-146.



209. Δίζα-Ματαυτοή Ε, Σουλίου-Συμεωνίδου Ε, Κοκκίνη ΣΤ, Φραντζίδου- Αδαμοπούλου Β, Κυριαζοπούλου-Δαλαϊνα Β, Παπαπαναγιώτου Ι: Ανοσία του πληθυσμού της Β. Ελλάδος έναντι του *T. gondii*. Δελτ. Ελλην. Μικρο. Εταιρείας 30:85-93.
210. Αλεξάνδρου-Ηλιάδη Μ, Πατραμάνη Ι, Παυλάτου Μ: Η ανοσική κατάσταση έναντι του τοξοπλάσματος επί γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας. Δελτ. Ελλην. Μικρο. Εταιρείας 1981, 26:333-338.
211. Κατσάνης Γ, Γολεμάτη Π, Πατραμάνη Ι: Συχνότητα και τίτλος αντισωμάτων κατά του τοξοπλάσματος σε γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας. Ιατρ. Επιθ. Εν. Δυναμ. 19:279-281.
212. Lolis D, Tzigounis B, Michalas S, Koumentakou E, Kaskarelis D: Toxoplasma antibodies and spontaneous abortion. Int. J. Gynecol. Obstet. 1978, 15:299.

