



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ &

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ:

ΠΟΙΟΤΗΤΑ-ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΔΑΤΩΝ

ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Διπλωματική Εργασία:

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΤΟΞΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

ΣΕ ΣΠΟΥΔΑΣΤΕΣ ΤΟΥ Τ.Ε.Ι. ΛΑΡΙΣΑΣ

ΑΣΤΕΡΙΟΣ Θ. ΓΡΑΜΜΕΝΟΣ

ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Δρ. ΧΡΗΣΤΟΣ ΧΑΤΖΗΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ

Φεβρουάριος 2013

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ : Δρ. Χ. ΧΑΤΖΗΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ

Δρ. Β. ΚΡΙΚΕΛΗΣ

Δρ. Γ. ΡΑΧΙΩΤΗΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η τοξοπλάσμωση εγκυμονεί σοβαρούς κινδύνους για τον άνθρωπο και τη δημόσια υγεία και μπορεί να προληφθεί με σχετικά απλά μέτρα υγιεινής.

Σκοπός : Ήταν η διερεύνηση του επιπολασμού των αντισωμάτων IgG του τοξοπλάσματος σε σπουδαστές του ΤΕΙ Λάρισας. Στόχος ήταν να διερευνηθεί τυχόν συσχέτιση των αποτελεσμάτων των ορολογικών εξετάσεων με τον τόπο καταγωγής, την σχέση με κατοικίδια γάτα, αλλά και με τις διατροφικές συνήθειες κάθε σπουδαστή.

Μέθοδος : Στην έρευνα συμμετείχαν 368 σπουδαστές του ΤΕΙ Λάρισας. Ελήφθησαν ισάριθμα δείγματα ορών, ενώ οι σπουδαστές συμπλήρωσαν ερωτηματολόγιο σχετικό με τα δημογραφικά τους στοιχεία, τις διατροφικές συνήθειες και την ύπαρξη οικοσίτης γάτας. Κάθε ορός αίματος εξετάστηκε με ανοσολογική δοκιμή ELISA για τον προσδιορισμό αντισωμάτων κατά του τοξοπλάσματος.

Αποτελέσματα: Το υψηλότερο ποσοστό θετικών δειγμάτων παρουσιάστηκε σε φοιτητές που δήλωσαν ως τόπο μόνιμης κατοικίας την Αθήνα/ Θεσσαλονίκη (20%) και σε σπουδαστές ηλικίας μικρότερης των 25 ετών (17,4% έναντι 8,3% των υπολοίπων). Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση των θετικών δειγμάτων με τον τρόπο ψησίματος του κρέατος, τη συχνότητα κατανάλωσής του ή την ύπαρξη οικοσίτης γάτας.

Συμπεράσματα: Οι νέοι ενήλικες των αστικών κέντρων πιθανόν να αντιμετωπίζουν αυξημένη πιθανότητα μόλυνσης με τοξόπλασμα. Τίθενται ερωτήματα σχετικά με την επάρκεια των μέτρων ατομικής και δημόσια υγιεινής.

ABSTRACT

Introduction: Toxoplasmosis posts a serious risk for humans and public health and rather simple hygiene measures can prevent the spread of it.

Aim : It was to investigate the prevalence of IgG antibodies in a sample of students of TEI of Larissa and further associations with dietary habits, place of resident and domestic cats.

Methods: The study sample consisted of 368 students of TEI of Larissa. All students gave blood samples and filled in a questionnaire regarding their demographic features, their dietary habits and the possession of domestic cats. Every blood sample was examined with ELISA test for titer of IgG antibodies to be determined.

Results: The highest percentage of positive samples was found among students who reported the cities of Athens and Salonika as place of residence(20%) and among students aged 25years or younger (17.4% vs 8.3% of those <25yrs). No associations were observed between positive samples and frequency of meat consumption, roasting method or domestic cat possession.

Conclusions : Young adults in urban areas are possibly facing greater likelihood of being contaminated with toxoplasma. Questions about adequacy of self and public hygiene measures are considered.

Κατάσταση πινάκων

- Πίνακας 1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος
- Πίνακας 2. Τόπος μόνιμης διαμονής των σπουδαστών του δείγματος
- Πίνακας 3. Ηλικιακή ομάδα και αποτέλεσμα εξέτασης
- Πίνακας 4. Κατανομή αποτελεσμάτων ανά ηλικία
- Πίνακας 5. Ηλικιακή ομάδα και αποτελέσματα
- Πίνακας 6. Φύλο και αποτέλεσμα εξέτασης
- Πίνακας 7. Τόπος μόνιμης κατοικίας και αποτέλεσμα εξέτασης
- Πίνακας 8. Αποτέλεσμα και κατοικία σε πόλη/ χωριό
- Πίνακας 9. Αποτέλεσμα εξέτασης (θετικό/ αμφίβολο έναντι αρνητικού) και κατανάλωση κρέατος
- Πίνακας 10. Αποτέλεσμα εξέτασης (θετικό έναντι αρνητικό/ αμφίβολο) και κατανάλωση κρέατος
- Πίνακας 11. Τρόπος ψησίματος και αποτέλεσμα εξέτασης
- Πίνακας 12. Τρόπος ψησίματος και αποτέλεσμα εξέτασης (θετικό έναντι αρνητικό/αμφίβολο)

Κατάσταση γραφημάτων

- Γράφημα 1. Ευρύτερη περιοχή μόνιμη κατοικίας
- Γράφημα 2. Ηλικιακή κατανομή των συμμετεχόντων
- Γράφημα 3. Κατανάλωση κρέατος.
- Γράφημα 4. Κατοχή γάτας
- Γράφημα 5. Αποτέλεσμα της εξέτασης
- Γράφημα 6. Τρόπος ψησίματος του κρέατος
- Γράφημα 7. Ηλικιακές ομάδες και θετικά/αρνητικά-αμφίβολα αποτελέσματα
- Γράφημα 8. Συγκριτική παρουσίαση ποσοστών θετικών και αρνητικών/ αμφίβολων αποτελεσμάτων σε σχέση με τον τόπο μόνιμης κατοικίας

Κατάσταση διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1. Προσαρμοσμένα ως προς την αναπηρία χρόνια ζωής (DALY), που προκαλούνται από διαφορετικές τροφιμογενείς νόσους ανά εκατομμύριο κατοίκους κατά τη διάρκεια ενός μέσου έτους (average year) στην Ελλάδα, συμπεριλαμβανομένης της αβεβαιότητας.

Διάγραμμα 2. Τάσεις για τους 5 κορυφαίους συνεισφέροντες συντελεστές, για το βάρος των τροφιμογενών νοσημάτων στην Ελλάδα, 1996–2006.

Κατάσταση εικόνων

Εικόνα 1. Η επικράτηση γονοτύπων του *Toxoplasma gondii* στην Ευρώπη και την περιοχή της ανατολικής Μεσογείου.

Εικόνα 2. *Toxoplasma gondii*.

Εικόνα 3. Σποροφόρες ωοκύστες του *Toxoplasma gondii*.

Εικόνα 4. Σποροφόρες ωοκύστες του *Toxoplasma gondii*, σε επίπλευση περιττωμάτων γάτας σε σάκχαρα (sugar flotation).

Εικόνα 5. Ταχυζωίτες του *Toxoplasma gondii*.

Εικόνα 6. Κύκλος ζωής του *Toxoplasma gondii*.

Εικόνα 7. Κύκλος ζωής και δράση του *Toxoplasma gondii*.

Εικόνα 8. Κύκλος μετάδοσης της λοίμωξης.

Εικόνα 9. Βρέφος θηλυκού γένους με υδροκέφαλο που οφείλεται σε συγγενή τοξοπλάσμωση.

Εικόνα 10. Χοριοαμφιβληστροειδίτιδα.

Εικόνα 11. Ταχυζωίτες *T. gondii*, με χρώση φθορίζοντων αντισωμάτων.

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	iii
ABSTRACT.....	iii
Κατάσταση πινάκων.....	iv
Κατάσταση γραφημάτων.....	iv
Κατάσταση διαγραμμάτων.....	v
Κατάσταση εικόνων.....	v
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	2
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2
1.1 Ιστορικά στοιχεία.....	3
1.2. Επιπολασμός.....	4
1.2.3 Επιπολασμός στην Ελλάδα.....	7
1.2.4 Επιπολασμός σε κατοικίδιες γάτες.....	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	11
2.1 Περιγραφή.....	11
2.1.1Μορφολογία.....	12
2.1.2 Ταξινόμηση.....	14
2.1.3 Κύκλος Ζωής.....	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	18
3.1 Γενικά για τη μετάδοση.....	18
3.2 Παράγοντες κινδύνου.....	19
3.5 Συγγενής τοξοπλάσμωση.....	20
3.5.1 Προσβολή του εμβρύου.....	21
3.6 Τοξοπλάσμωση και σχιζοφρένεια.....	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.....	24
4.1 Κλινικά συμπτώματα.....	24
4.2 Κλινική εικόνα.....	25
4.3 Ανίχνευση αντισωμάτων.....	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.....	31
5.1 Πρωτογενής πρόληψη.....	31
5.2 Δευτερογενής πρόληψη.....	33
5.3 Ανάπτυξη εμβολίου.....	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6.....	36
ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	36
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	38
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7.....	39
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	39
7.1 Σκοπός.....	39
7.2 Δείγμα της έρευνας.....	39
7.3 Προσδιορισμός αντισωμάτων.....	39
7.4 Στατιστική ανάλυση.....	40
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8.....	42
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	42
Περιγραφική Στατιστική.....	42
Επαγωγική Στατιστική.....	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9.....	55
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	55
Περιορισμοί.....	57
Προτάσεις.....	58
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	60

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η τοξοπλάσμωση είναι μια πολύ διαδεδομένη ζωοανθρωπονόσος και οφείλεται στο παράσιτο *Toxoplasma gondii*. Το *T. gondii* είναι ένα υποχρεωτικά ενδοκυττάριο παράσιτο, το οποίο προσβάλλει κυρίως τις γάτες καθώς και άλλα αιλουροειδή ως τελικούς ξενιστές. Είναι ικανό να επηρεάσει μια ευρύτατη ποικιλία ενδιάμεσων ξενιστών όπως πουλιά, αμφίβια και θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου (Σιώχου και συν., 2004· Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Η μετάδοση του *T. gondii* λαμβάνει χώρα με την κατάποση των ωοκύστεων που αποβλήθηκαν από κόπρانا γάτας, με την απορρόφηση κύστεων του *T. gondii* από χρονίως μολυσμένους ιστούς, ή με κάθετη μετάδοση (Fuentes et al., 2001).

Μεταξύ 15 και 85% του ενήλικου πληθυσμού σε όλο τον κόσμο έχουν χρόνια λοίμωξη από το *T. Gondii*, ανάλογα με τη γεωγραφική τοποθεσία (Fuentes et al., 2001).

Η τοξοπλάσμωση έχει κυμαινόμενα αποτελέσματα στον ξενιστή. Ανοσοεπαρκή μολυσμένα άτομα εμφανίζουν ήπια συμπτώματα ή μπορεί να παραμένουν ασυμπτωματικά, ενώ η μόλυνση σε συγγενώς μολυσμένα παιδιά και σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα (ασθενείς με AIDS, λήπτες μοσχευμάτων οργάνων και ασθενείς με καρκίνο) προκαλεί υψηλά ποσοστά νοσηρότητας και θνησιμότητας. Η εξέλιξη και η σοβαρότητα της νόσου διαφέρουν στους ασθενείς, πράγμα που οφείλεται σε αρκετές μεταβλητές, συμπεριλαμβανομένης της γενετικής του ξενιστή και του παρασίτου. Είναι γνωστό ότι η μολυσματικότητα του *T. gondii* διαφέρει στα ζώα, ανάλογα με το στέλεχος *T. gondii*. Η ταυτοποίηση μιας πιθανής συσχέτισης μεταξύ της σοβαρότητας ή του τύπου της νόσου και του γονοτύπου του στελέχους, μπορεί να είναι πολύ σημαντική για τον προσδιορισμό της σωστής θεραπείας και την πιθανή έκβαση της νόσου σε κάθε περίπτωση στον άνθρωπο (Fuentes et al., 2001).

Η γενετική ανάλυση των στελεχών δείχνει ότι ο πολλαπλασιασμός του *T. gondii* γίνεται κυρίως με κλωνική ασεξουαλική, ή μονογονική αναπαραγωγή, ενώ ο

αμφιγονικός ανασυνδυασμός μεταξύ διαφορετικών στελεχών του παρασίτου αποτελεί εξαίρεση σε φυσικούς πληθυσμούς (Fuentes et al., 2001).

1.1 Ιστορικά στοιχεία

Αγενή στάδια παρασίτων που ταιριάζουν στην περιγραφή του τοξοπλάσματος παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά στις αρχές του προηγούμενου αιώνα, στους ιστούς πτηνών και θηλαστικών. Η πρώτη ολοκληρωμένη περιγραφή τροφοζωιδίων του *T. gondii* (δηλαδή ταχυζωΐδια/ταχυζωΐτες ή ενδοζωΐτες) στο σπλήνα, το συκώτι και το αίμα του *Ctenodactylus gondis*, ένα είδος τρωκτικού της Βόρειας Αφρικής, δόθηκε το 1908 από τους Nicolle και Manceaux. Εισήγαγαν το γένος τοξόπλασμα (*Toxoplasma*), και το *T. gondii* έγινε το είδος του γένους (Tenter et al., 2000).

Ενώ λοιπόν το *T. gondii* παρατηρήθηκε για πρώτη φορά σε τρωκτικά από το 1908, δεν είχε αναγνωριστεί ως παράγοντας μολυσματικής νόσου. Η πιθανή σχέση του παρασίτου με τη συγγενή υδροκεφαλία, αναφέρθηκε πρώτη φορά το 1928 υπόθεση η οποία επιβεβαιώθηκε το 1932. Το 1939 αναφέρεται μία περίπτωση εγκεφαλίτιδας από τοξόπλασμα από τους Wolf et al. (Nguyen, 2006).

Το *T. gondii* αναγνωρίστηκε ως μια σοβαρή και δυνητικά θανατηφόρα ασθένεια των ενηλίκων το 1968, μετά από αρκετές περιπτώσεις εγκεφαλίτιδας από τοξόπλασμα, που βρέθηκαν σε ασθενείς με αιματολογικούς καρκίνους. Το 1970, η γνώση του κοκκιδιακού κύκλου ζωής του *T. gondii* ολοκληρώθηκε με την ανακάλυψη των αμφιγονικών σταδίων στο λεπτό έντερο των γατών (Tenter et al., 2000).

Στη συνέχεια καταγράφηκε ευρύτερα ως αιτία νοσηρότητας σε ασθενείς με ανοσοανεπάρκεια, συμπεριλαμβανομένων των ασθενών με AIDS, ξεκινώντας το 1983. Το *T. gondii* εξακολουθεί να αποτελεί σημαντική ασθένεια στον σύγχρονο κόσμο, ειδικά σε έγκυες γυναίκες και ανοσοκατασταλμένους ασθενείς (Nguyen, 2006).

1.2. Επιπολασμός

1.2.1 Επιπολασμός παγκοσμίως

Η τοξοπλάσμωση είναι μια λοίμωξη διαδεδομένη σε όλη την υφήλιο και οι επιδημιολογικές έρευνες σε πληθυσμούς έδειξαν ότι το ποσοστό μόλυνσης παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση ανάλογα την περιοχή, τις διατροφικές συνήθειες του πληθυσμού και άλλες συμπεριφορές όσον αφορά τη διατήρηση κατοικίδιων αιλουροειδών. Σε χώρες όπου οι συνθήκες υγιεινής είναι κακές, το κλίμα είναι ήπιο και υγρό και διατηρούνται πολυάριθμες γάτες, η συχνότητα προσβολής του πληθυσμού από τοξόπλασμα είναι αυξημένη. Επίσης σε χώρες όπου από συνήθεια οι άνθρωποι καταναλώνουν κρέας που δεν ψήνεται καλά, όπως στη Γαλλία, η συχνότητα προσβολής είναι εξαιρετικά υψηλή. Η πλειονότητα των λοιμώξεων από τοξόπλασμα είναι ασυμπτωματικές, και η διάγνωση βασίζεται κυρίως στα αποτελέσματα των ορολογικών εξετάσεων. Ο επιπολασμός των αντισωμάτων έναντι του τοξοπλάσματος κυμαίνεται μεταξύ 5 έως 95% του νεανικού πληθυσμού σε διαφορετικά μέρη του κόσμου και σύμφωνα με έναν υπολογισμό, πάνω από 500 εκατομμύρια άνθρωποι είναι μολυσμένοι από τοξόπλασμα σε όλο τον κόσμο. Στις έγκυες γυναίκες παγκοσμίως, ο επιπολασμός των αντισωμάτων κυμαίνεται από 7 έως 51,3% (Κρεατσάς & Δενδρινός, 2005). Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 3 δεκαετιών, η επίπτωση της προγεννητικής μόλυνσης με *T. gondii*, εκτιμάται ότι κυμαίνεται από 1 έως 100 ανά 10.000 γεννήσεις, σε διάφορες χώρες (Tenter et al., 2000).

Ο κίνδυνος της ενδομήτριας μόλυνσης του εμβρύου, ο κίνδυνος εκδήλωσης της συγγενούς τοξοπλάσμωσης και η σοβαρότητα της ασθένειας εξαρτάται από το χρόνο της μητρικής λοίμωξης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, την ανοσολογική επάρκεια της μητέρας κατά τη διάρκεια της παρασιταμίας, τον αριθμό και τη λοιμογόνο δύναμη των παρασίτων που διαβιβάζονται στο έμβρυο και την ηλικία του εμβρύου κατά τη στιγμή της μετάδοσης. Αν δεν αντιμετωπιστεί, ο κίνδυνος της ενδομήτριας μόλυνσης του εμβρύου αυξάνεται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, δηλαδή από περίπου 14% μετά από την πρωτογενή μόλυνση της μητέρας κατά το πρώτο τρίμηνο, σε περίπου 59% μετά από την πρωτογενή μόλυνση της μητέρας κατά το τελευταίο τρίμηνο. Εξαιτίας αυτού, η επίπτωση της προγεννητικής μόλυνσης με *T. gondii* ποικίλλει βάσει της συχνότητας της πρωτοπαθούς μητρικής λοίμωξης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Τα ποσοστά επίπτωσης επίσης ποικίλουν, ανάλογα με τη

μέθοδο της εκτίμησης. Οι εκτιμήσεις μπορούν να προέλθουν απευθείας από τις έρευνες κατά τη γέννηση ή κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας, ή έμμεσα από προοπτικές έρευνες επίκτητης λοίμωξης με *T. gondii* κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Πρόσφατες εκτιμήσεις που βασίζονται σε ορολογικές μελέτες, έδειξαν ότι οι επιπτώσεις της πρωτογενούς λοίμωξης της μητέρας κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης κυμαίνονται από 1 έως 310 ανά 10.000 εγκυμοσύνες, σε διαφορετικούς πληθυσμούς στην Ευρώπη, την Ασία, την Αυστραλία και την Αμερική (Tenter et al., 2000).

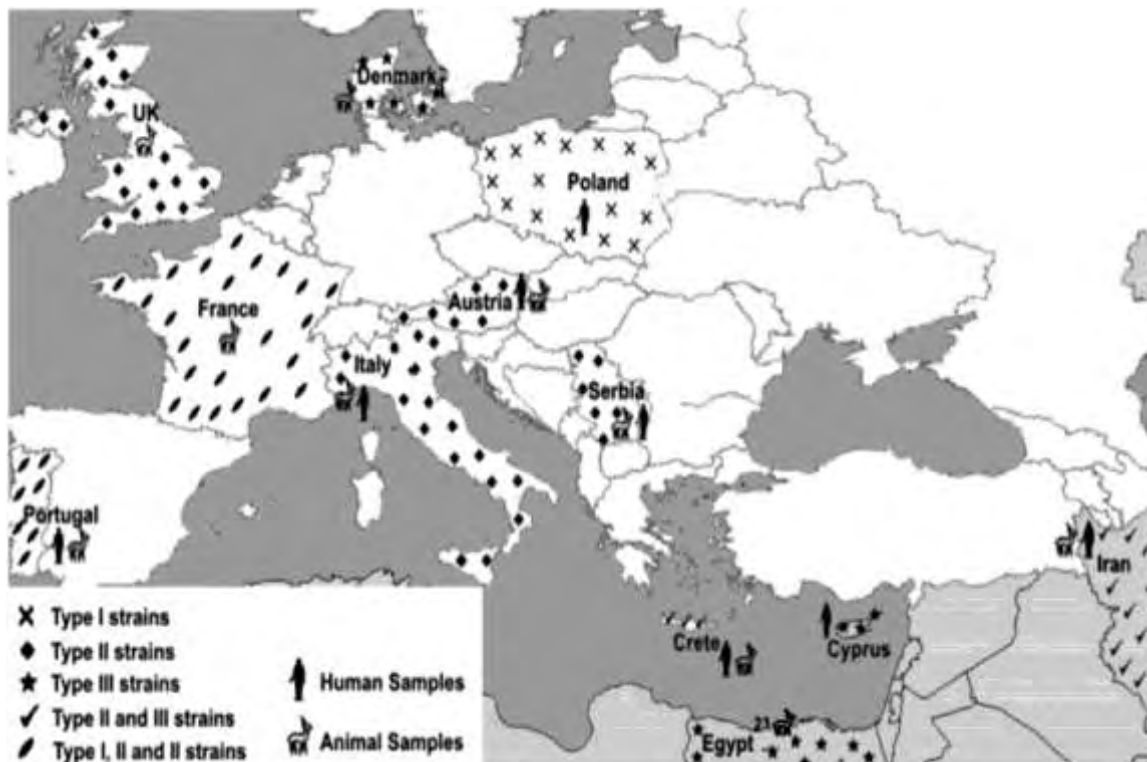
Οι τιμές αυτές εξαρτώνται από τη συχνότητα της λοίμωξης στον υπό μελέτη πληθυσμό και είναι ελαφρώς υψηλότερες (6-410 ανά 10.000) αν ληφθούν υπόψη μόνον επιρρεπείς γυναίκες, δηλ. γυναίκες που δεν έχουν αναπτύξει ανοσία πριν από τη σύλληψη.

Η πιθανότητα μετάδοσης του παρασίτου στο έμβρυο είναι μεγαλύτερη, όσο πιο προχωρημένη είναι η κύηση. Σύμφωνα με πρόσφατη μετα-ανάλυση, η πιθανότητα μετάδοσης υπολογίστηκε σε 15% σε ορομετατροπή¹ της μητέρας κατά την 13^η εβδομάδα κύησης, 44% κατά την 26^η εβδομάδα και 71% κατά την 36^η εβδομάδα (Thiébaud et al., 2007· Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Η συχνότητα εμφάνισης λοίμωξης της μητέρας κατά την κύηση κυμαίνεται από 1 έως 8 ανά 1000 έγκυες, με τα υψηλότερα ποσοστά που αναφέρθηκαν να προέρχονται από τη Γαλλία (Gilbert & Peckham, 2002).

Ο κίνδυνος μετάδοσης της λοίμωξης στο έμβρυο αυξάνει κατακόρυφα με την ηλικία κύησης κατά την ορομετατροπή. Σε ό,τι αφορά στα ζώα, η νόσος έχει παγκόσμια κατανομή σε θηλαστικά και πουλιά. (Thiébaud et al., 2007· Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

¹ Εμφάνιση στο αίμα αντισωμάτων έναντι του ιού και ανίχνευσή τους στο αντίστοιχο τεστ, το οποίο γίνεται θετικό.



Εικόνα 1. Η επικράτηση γονοτύπων του *Toxoplasma gondii* στην Ευρώπη και την περιοχή της ανατολικής Μεσογείου (Messaritakis et al., 2008).

Αν και οι χρόνιες λοιμώξεις σε κατοικίδια και άγρια ζώα κατανέμονται ομοιόμορφα μεταξύ στελεχών τύπου II και III, οι περισσότερες αναφορές υποδεικνύουν ότι ο υψηλός επιπολασμός στελεχών τύπου II στον άνθρωπο προκαλείται από τον υψηλό επιπολασμό του εν λόγω στελέχους σε ζώα. Στελέχη από ζώα και ανθρώπους σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες, δείχνουν μια επικράτηση του γονότυπου II, αλλά οι τύποι I και III έχουν επίσης αναφερθεί στην Πορτογαλία και ο τύπος III στη Δανία (εικόνα 1). Στελέχη από μολυσμένα ζώα σε Αίγυπτο (Dubey et al., 2003) και Ιράν (Zia-Ali et al., 2007) έχουν τυποποιηθεί ως II και III. Πολλαπλές μολύνσεις και άτυποι γονότυποι έχουν περιγραφεί και νέα λοιμογόνα στελέχη του *T. gondii* προσαρμοσμένα σε άγρια ζώα, έχει αναφερθεί ότι παράγουν σοβαρά συμπτώματα σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα. Φαίνεται ότι οι χώρες κοντά στην Κρήτη έχουν είτε στελέχη τύπου III (Αίγυπτος, τυποποιημένα σε ζώα, ένα περιστατικό σε άνθρωπο στην Κύπρο), είτε στελέχη τύπου II (Ιταλία και Σερβία, τυποποιημένα σε ανθρώπους και ζώα) (Messaritakis et al., 2008).

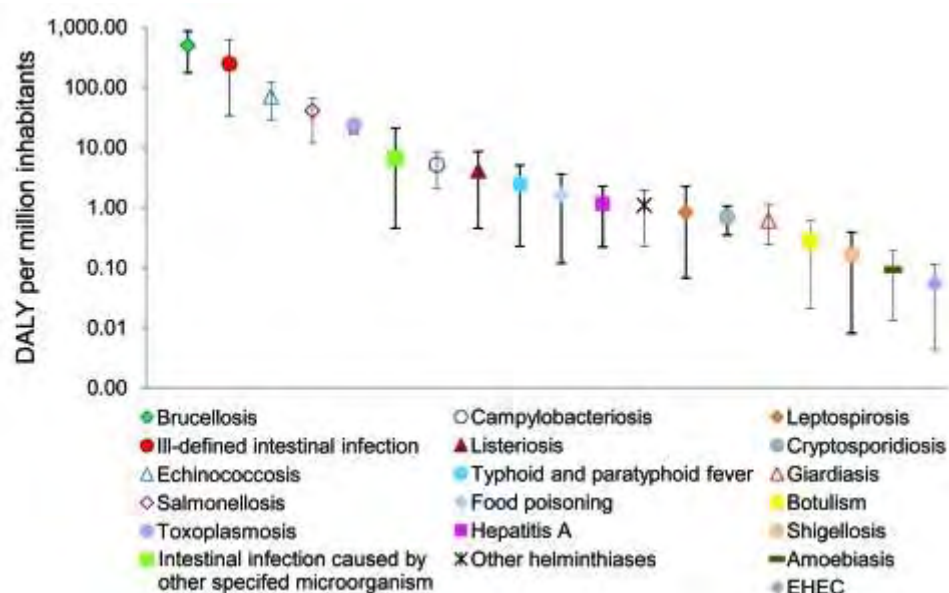
Δεν υπάρχουν επαρκείς πληροφορίες για να συνδεθούν γονότυποι του *T. gondii* με γεωγραφικές περιοχές ή πηγές μόλυνσης. Η απουσία του στελέχους τύπου I από τις χώρες της περιοχής της ανατολικής Μεσογείου, θα μπορούσε να εξηγηθεί από τις ομοιότητες γεωγραφικών και οικολογικών παραγόντων, τις ανθρώπινες συνήθειες και τη διατροφή, οι οποίες μπορεί να επηρεάσουν την κατανομή των γονοτύπων (Dubey et al., 2003; Messaritakis et al., 2008).

1.2.3 Επιπολασμός στην Ελλάδα

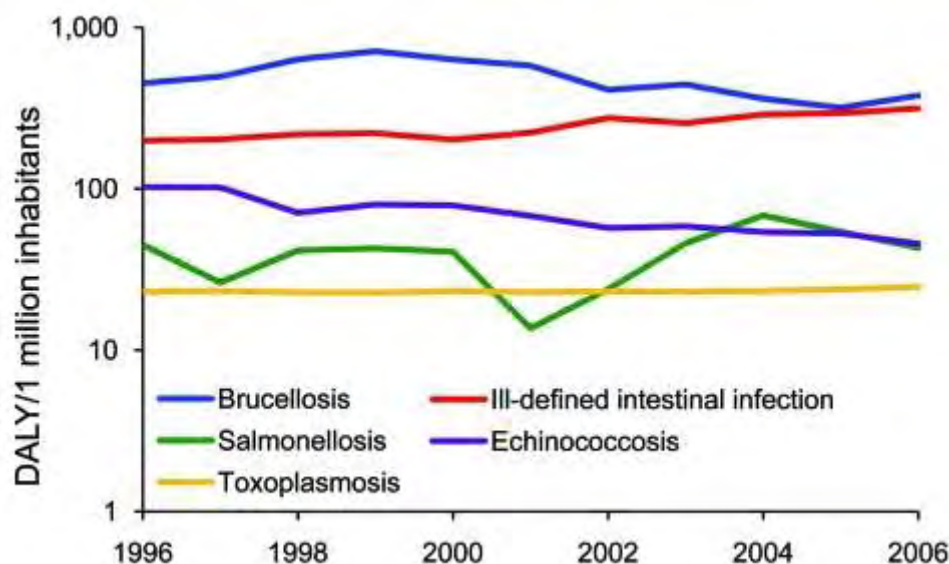
Λίγες αναφορές τοξοπλάσμωσης υπάρχουν για την Ελλάδα. Η οροθετικότητα για λοίμωξη με *T. gondii* κυμαίνεται από 11,1% έως 51% σε συγκεκριμένες ομάδες και από 29% έως 45% του γενικού πληθυσμού. Βρέθηκε ότι τα περισσότερα στελέχη του ανθρώπου ανήκαν στον τύπο III, έναν τύπο που έχει αναφερθεί κυρίως σε ζώα. Παρά το γεγονός ότι η διαδρομή μετάδοσης του *T. gondii* στον πληθυσμό δεν μπορεί να αποδειχθεί, η λοίμωξη από βραδυζωίτες και σποροζωΐδια είναι δυνατή στην Ελλάδα και την Κύπρο, γιατί πολλές αδέσποτες γάτες ζουν σε αγροτικές και αστικές περιοχές και το ζεστό περιβάλλον ευνοεί την επιβίωση των ωοκύστεων. Η διατροφή των ανθρώπων στην Ελλάδα και την Κύπρο περιλαμβάνει την κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων ωμών, άγριων λαχανικών και σαλατών που θα μπορούσαν εύκολα να έχουν μολυνθεί με ωοκύστες του παρασίτου. Επιπλέον, καταναλώνονται αρνί, πρόβατο, κατσίκι και χοιρινό (περιστασιακά μη επαρκώς μαγειρεμένο) και καπνιστό χοιρινό και λουκάνικα (Messaritakis et al., 2008).

Η γεωργική και κτηνοτροφική κατεύθυνση αυτών των χωρών ευνοεί τη διατήρηση μεγάλων πληθυσμών τρωκτικών. Σε μια μελέτη που διεξήχθη στην Κύπρο κατά την περίοδο 2000-2003, 625 τρωκτικά εξετάστηκαν για αντισώματα έναντι του *T. gondii* και το 22% των ζώων ήταν οροθετικά. Θα ήταν ενδιαφέρον να μελετηθεί αν η μειωμένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών που καλλιεργούνται στο σπίτι, η κατανάλωση παστεριωμένου γάλακτος, η χρήση των καταψυκτών στο σπίτι, η αστικοποίηση και η εκπαίδευση επηρεάζουν την οροθετικότητα και την κατανομή γονοτύπων του *T. gondii* σε διαφορετικές χώρες (Messaritakis et al., 2008).

Στην Ελλάδα, η συγγενής τοξοπλάσμωση ακολουθεί αμέσως μετά τη σαλμονέλωση στις τροφογενείς ασθένειες (Διάγραμμα 1). Έτσι η ασθένεια δεν έχει αναγνωριστεί ως σημαντική τροφογενής ασθένεια στη χώρα, αν και έχουν τεκμηριωθεί σοβαρές συνέπειες για την υγεία (Gkogka et al., 2011).



Διάγραμμα 1. Προσαρμοσμένα ως προς την αναπηρία χρόνια ζωής (DALY), που προκαλούνται από διαφορετικές τροφιμογενείς νόσους ανά εκατομμύριο κατοίκους κατά τη διάρκεια ενός μέσου έτους (average year) στην Ελλάδα, συμπεριλαμβανομένης της αβεβαιότητας. Οι εκτιμήσεις παρουσιάζονται σε λογαριθμική κλίμακα στον άξονα y. Τα ευθύγραμμα τμήματα αντιπροσωπεύουν τα 95% διαστήματα αξιοπιστίας. EHEC: εντεροαιμορραγική *Escherichia coli* (Gkogka et al., 2011).



Διάγραμμα 2. Τάσεις για τους 5 κορυφαίους συνεισφέροντες συντελεστές, για το βάρος των τροφιμογενών νοσημάτων στην Ελλάδα, 1996–2006. DALY: disability-adjusted life years, προσαρμοσμένα ως προς την αναπηρία χρόνια ζωής (Gkogka et al., 2011).

1.2.4 Επιπολασμός σε κατοικίδιες γάτες

Ο εκτιμώμενος επιπολασμός οροθετικότητας του *T. gondii* σε κατοικίδιες γάτες (*Felis catus*), σε όλο τον κόσμο, είναι 30-40%. Δεν έχει υπάρξει όμως έρευνα σε εθνικό επίπεδο, για τον επιπολασμό του *T. gondii* σε γάτες στις ΗΠΑ. Ωστόσο, τοπικοί επιπολασμοί οροθετικότητας έχουν κυμανθεί από ~16% έως 80% (Conrada et al., 2005).

Ο ορολογικός έλεγχος σε κλινικά ασθενείς γάτες από τοξοπλάσμωση ως διαφορική διάγνωση, οδήγησε σε ένα συνολικό επιπολασμό του 31,6%. Ο επιπολασμός ανά περιφέρεια κυμάνθηκε σε συμμόρφωση με το διαφορετικό κατά τόπους κλίμα. Η επικράτηση σε ξηρότερες περιοχές νοτιοδυτικά (Νέο Μεξικό, Γιούτα και Αριζόνα) ήταν χαμηλότερη (16,1%), ενώ ο επιπολασμός σε υγρά κλίματα ήταν πολύ μεγαλύτερος (59,2% στη Χαβάη). Αυτές οι μελέτες καταδεικνύουν ότι οι γάτες στις ΗΠΑ συνήθως εκτίθενται στο *T. gondii* (Elbez-Rubenstein A., 2009; Elmore et al., 2010)

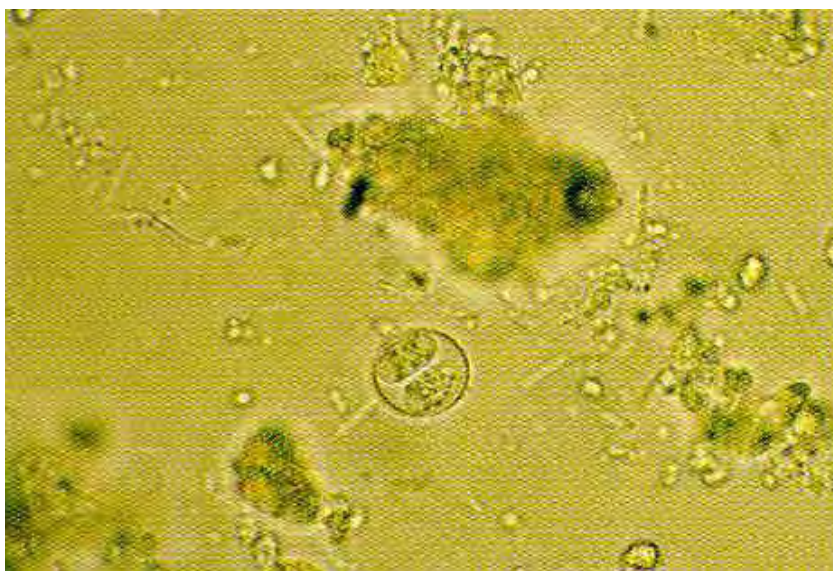
Στις Η.Π.Α. το 50% των χοίρων και το 60% των γατών είναι ασυμπτωματικοί φορείς. Πηγή μόλυνσης είναι η γάτα. Ένας άλλος τρόπος μόλυνσης είναι η εισπνοή και κατάποση σποροφόρων ωοκυστών που αιωρούνται στη σκόνη (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ - ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΟΥ

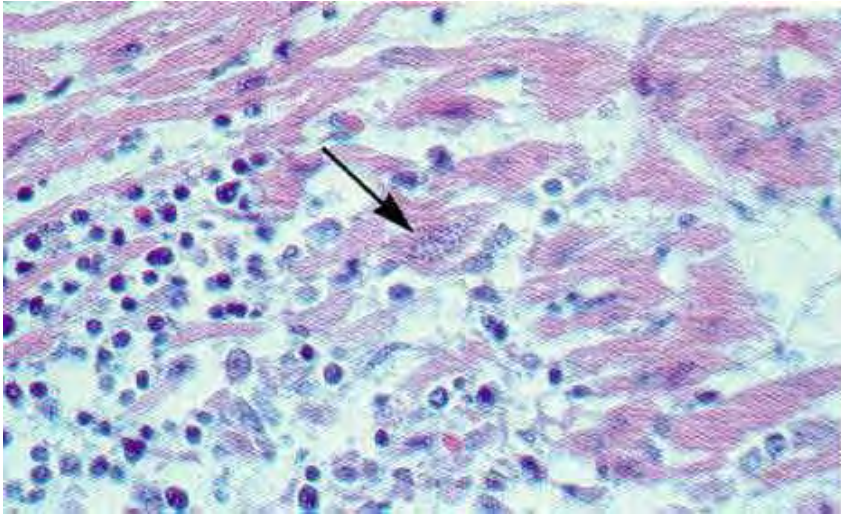
2.1 Περιγραφή

Το *Toxoplasma gondii* είναι ενδοκυτταρικό κοκκίδιο, παράσιτο των θηλαστικών και πτηνών. Είναι πολύ διαδεδομένο σ' όλο τον κόσμο και έχει σημασία για τη δημόσια υγεία. Είναι διαδεδομένο και στους χοίρους στους οποίους έχουν παρατηρηθεί ορισμένα κλινικά περιστατικά (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012).

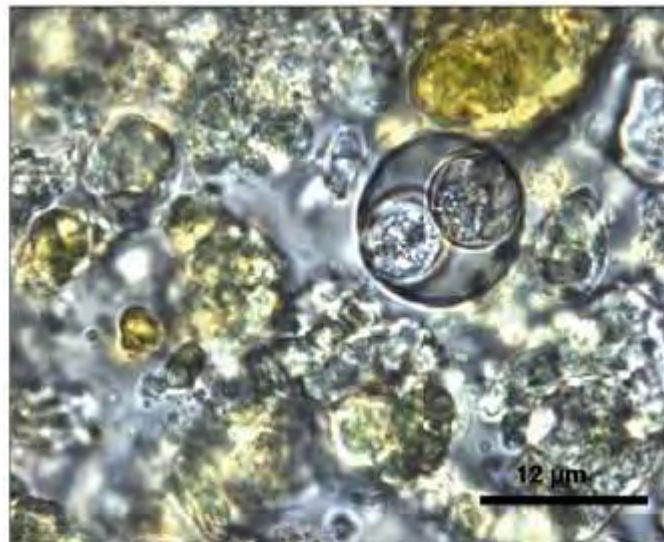


Εικόνα 2. *Toxoplasma gondii* (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012).

2.1.1Μορφολογία



Εικόνα 3. Σποροφόρες ωοκύστες του *Toxoplasma gondii* (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012).



Εικόνα 4. Σποροφόρες ωοκύστες του *Toxoplasma gondii*, σε επίπλευση περιττωμάτων γάτας σε σάκχαρο (sugar flotation). Μέσο μέγεθος ωοκύστης του *T. gondii*: 10-12μm. Παραχώρηση φωτογραφίας από τον A. Lucio-Forster, Cornell University, USA (Elmore et al., 2010).

Οι σποροφόρες (ή σποριωμένες) ωκύστες που είναι μολυσματικές και βρίσκονται στο περιβάλλον, έχουν μέγεθος 10-13 x 9-11 μm και περιέχουν 2 σποροκύστες με 4 σποροζώιτες η κάθε μια (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012).



Εικόνα 5. Ταχυζώιτες του *Toxoplasma gondii* (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012).

Ενδιάμεσος ξενιστής είναι τα πρόβατα, οι κατσίκες, τα βοοειδή, οι χοίροι, τα κοτόπουλα και άλλα πουλιά που μεταφέρουν το *Toxoplasma gondii* εγκυστωμένο σε ιστούς τους ιδιαίτερα το μυϊκό και τον εγκέφαλο. Οι κύστες μέσα στους ιστούς μπορεί να παραμείνουν βιώσιμες για μεγάλο χρονικό διάστημα, ακόμη και δια βίου. Τα βοοειδή προσβάλλονται ελάχιστα από τοξοπλασμική λοίμωξη (Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Ο τελικός ξενιστής του *Toxoplasma gondii* είναι οι γάτες και άλλα αιλουροειδή που μολύνονται κυρίως τρώγοντας μολυσμένα θηλαστικά, συνήθως τρωκτικά ή πουλιά και επίσης από ωκύστες στο έδαφος που βρίσκονται μέσα σε περιττώματα από γάτες (Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Όλα τα άλλα ζώα μπορεί να είναι ενδιάμεσοι ξενιστές. Ο βιολογικός κύκλος του *T. gondii* είναι άμεσος ή έμμεσος και περιλαμβάνει δυο στάδια: το εξωεντερικό στις γάτες και τα άλλα ζώα κατά το οποίο γίνεται μονογονική αναπαραγωγή του παρασίτου και το εντεροεπιθηλιακό μόνο στις γάτες κατά το οποίο γίνεται αμφιγονική αναπαραγωγή (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012).

2.1.2 Ταξινόμηση

Η ακόλουθη ταξινόμηση αναφέρεται στην βάση δεδομένων του NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Τομέας: Eukarya.

Βασίλειο: alveolata.

Φύλο: apicomplexa.

Κατηγορία: coccidia.

Τάξη: eucoccidiorida.

Οικογένεια: Sarcocystidae.

Γένος: *Toxoplasma*.

Είδος: *Toxoplasma gondii*.

(Sabri M., 2011).

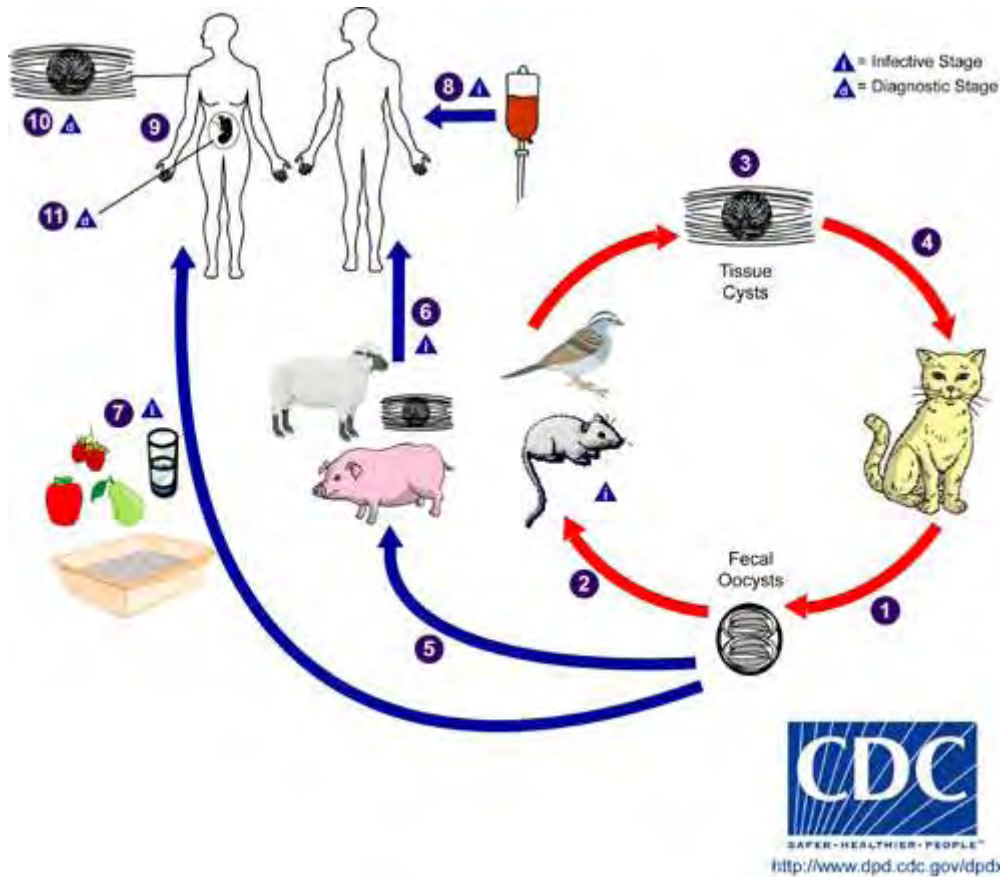
2.1.3 Κύκλος Ζωής

Το *T. gondii* υπάρχει κυρίως σε τρεις μορφές: ωοκύστες, ταχυζώιτες, και βραδυζώιτες. Οι ωοκύστες παράγονται μόνο στον τελικό ξενιστή, τα μέλη της οικογένειας των αιλουροειδών. Όταν περάσουν στα κόπρανα και κατόπιν προσληφθούν, οι ωοκύστες μπορούν να μολύνουν ανθρώπους και άλλους

ενδιάμεσους ξενιστές. Μπορούν να εξελιχθούν σε ταχυζώιτες, που είναι η ταχέως πολλαπλασιαζόμενη μορφή τροφοζωιδίων του *T. gondii*. Διαιρούνται με ταχύτητα στα κύτταρα, προκαλώντας την καταστροφή ιστών και την εξάπλωση της μόλυνσης. Οι ταχυζώιτες σε έγκυες γυναίκες είναι σε θέση να μολύνουν το έμβρυο. Τελικά οι ταχυζώιτες εντοπίζονται στους ιστούς των μυών και του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπου αυτοί μετατρέπονται σε κύστει στον ιστό, ή βραδυζώιτες. Αυτό πιστεύεται ότι είναι μια απάντηση στην ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή. Η κατάποση των κύστεων μέσω μολυσμένου κρέατος είναι επίσης μια πηγή μόλυνσης, καθώς οι βραδυζώιτες μετατρέπονται ξανά σε ταχυζώιτες, με την είσοδο σε ένα νέο ξενιστή (Nguyen, 2006).

Μέλη της οικογένειας των αιλουροειδών (*Felidae*) είναι οι μόνοι γνωστοί τελικοί ξενιστές για τα αμφιγονικά στάδια του *Toxoplasma gondii* και αποτελούν επομένως τις κύριες δεξαμενές της λοίμωξης. Οι γάτες μολύνονται από τα ποντίκια. Αφού οι κύστει καταποθούν από τη γάτα, απελευθερώνονται και εισβάλλουν στα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου, όπου από τη συνένωση του μικρογαμέτη με το μακρογαμέτη κατά τον αμφιγονικό κύκλο του παρασίτου στη συνέχεια σχηματίζεται η ωοκύστη. Η ωοκύστη αποβάλλεται με τα κόπρανα στο εξωτερικό περιβάλλον ως άωρη ωοκύστη η οποία στην αρχή έχει σχήμα σφαιρικό και μετά τη σπορογονία μετατρέπεται σε ωοειδή. Η μη σποροφόρος ωοκύστη, σε μία έως πέντε ημέρες μετά την αποβολή σποριώνεται (γίνεται μολυσματική). Η κύστη μαζί με τη σποροφόρο ωοκύστη είναι οι μορφές του παρασίτου που προκαλούν τη μόλυνση στον άνθρωπο και τους άλλους ενδιάμεσους ξενιστές. Αν και οι γάτες διαχέουν ωοκύστεις για μία έως δύο εβδομάδες μόνο σε όλη τους τη ζωή, ο αριθμός τους μπορεί να είναι μεγάλος.

Οι ωοκύστεις μπορούν να επιβιώσουν στο περιβάλλον για αρκετούς μήνες και είναι εξαιρετικά ανθεκτικές σε απολυμαντικά, στον παγετό και την ξηρασία, αλλά θανατώνονται με θέρμανση στους 70°C για 10 λεπτά. Οι άνθρωποι μπορεί να μολυνθούν με διάφορους τρόπους: Α) κατάποση όχι καλά μαγειρεμένου μολυσμένου κρέατος που περιέχει κύστεις τοξοπλάσματος· Β) κατάποση της ωοκύστης από μολυσμένα με κόπρανα χέρια ή τρόφιμα· Γ) μεταμόσχευση οργάνων ή μετάγγιση αίματος· Δ) διαπλακουντιακή διαβίβαση· Ε) τυχαίος εμβολιασμός με ταχυζώιτες. Τα παράσιτα σχηματίζουν κύστεις στον ιστό, συνηθέστερα σε σκελετικό μυ, στο μυοκάρδιο και στον εγκέφαλο. Οι κύστεις αυτές μπορούν να παραμείνουν σε όλη τη διάρκεια της ζωής του ξενιστή (Elmore et al., 2010).



Εικόνα 6. Κύκλος ζωής του *Toxoplasma gondii*. Οι μόνοι γνωστοί τελικοί ξενιστές για το *Toxoplasma gondii* είναι μέλη της οικογένειας Felidae (κατοικίδιες γάτες και συγγενείς τους). Οι μη σποριωμένες ωοκύστες διασπείρονται στα κόπρανα της γάτας (1). Παρά το γεγονός ότι οι ωοκύστες συνήθως διασπείρονται μόνο για 1-2 εβδομάδες, ο αριθμός τους μπορεί να είναι μεγάλος. Οι ωοκύστες χρειάζονται 1-5 ημέρες για να σποριωθούν στο περιβάλλον και έτσι γίνονται μολυσματικές. Οι ενδιάμεσοι ξενιστές στη φύση (όπως πτηνά και τρωκτικά) μολύνονται μετά την κατάποση χώματος, νερού ή φυτικού υλικού μολυσμένου με ωοκύστες (2, 5). Οι ωοκύστες μετατρέπονται σε ταχυζώιτες λίγο μετά την κατάποση. Οι ταχυζώιτες εντοπίζονται στο νευρικό και μυϊκό ιστό και εξελίσσονται σε κύστεις του ιστού (βραδυζώιτες). Οι γάτες μολύνονται μετά την κατανάλωση ενδιάμεσων ξενιστών που περιέχουν κύστεις ιστού (3, 4). Οι γάτες μπορούν επίσης να μολυνθούν απ' ευθείας, με την κατάποση σποροφόρων ωοκύστεων. Ζώα που εκτρέφονται από τον άνθρωπο για κατανάλωση και άγρια θηράματα μπορούν επίσης να μολυνθούν με κύστεις ιστού μετά από την κατάποση σποροφόρων ωοκύστεων από το περιβάλλον (5, 6). Οι άνθρωποι μπορούν να μολυνθούν με οποιαδήποτε από τις εξής οδούς:

- τρώγοντας μισοψημένο κρέας ζώων που φιλοξενούν κύστες στον ιστό (5, 6).
- Κατανάλωση τροφής ή νερού μολυσμένου με περιττώματα γάτας ή από μολυσμένα περιβαλλοντικά δείγματα (όπως χώμα μολυσμένο με κόπρανα ή κατά την αλλαγή του κιβωτίου απορριμμάτων μιας κατοικίδιας γάτας) (7).
- Μετάγγιση αίματος ή μεταμόσχευση οργάνων (8).
- Μέσω του πλακούντα, από τη μητέρα στο έμβρυο (11) (CDC, 2000).

Στον άνθρωπο ως ξενιστή, τα παράσιτα σχηματίζουν κύστες ιστού, συνηθέστερα στους σκελετικούς μυς, το μυοκάρδιο, τον εγκέφαλο, και τα μάτια. Αυτές οι κύστες μπορούν να παραμείνουν σε όλη τη διάρκεια ζωής του ξενιστή. Η διάγνωση συνήθως επιτυγχάνεται με ορολογικές εξετάσεις, αν και κύστες ιστού μπορεί να παρατηρηθούν σε δείγματα βιοψίας με χρώση. Διάγνωση των συγγενών μολύνσεων μπορεί να επιτευχθεί με ανίχνευση DNA του *T. gondii* σε αμνιακό υγρό, με τη χρήση μοριακών μεθόδων όπως η PCR (CDC, 2000).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.

ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ - ΜΟΛΥΝΣΗ

3.1 Γενικά για τη μετάδοση

Η μόλυνση στον άνθρωπο μπορεί να είναι επίκτητη ή συγγενής. Στην επίκτητη μόλυνση ο άνθρωπος μπορεί να προσβληθεί από την τοξοπλάσμωση μέσω των κοπράνων της γάτας, από ατελώς ψημένο κρέας που έχει μολυνθεί με κύστεις ή από μολυσμένο νερό. Η επίκτητη τοξοπλάσμωση σε παιδιά, εφήβους και ενήλικες δεν είναι απειλητική για τη ζωή. Όμως η σοβαρότητά της εξαρτάται από την ανοσοβιολογική κατάσταση του ξενιστή (Σιώχου και συν., 2004).

Μετάδοση γίνεται διαπλακουντιακά από τη μητέρα στο έμβρυο. Η συγγενής τοξοπλάσμωση εμφανίζεται μετά από παρασιταίμια που προκύπτει από μια οξεία λοίμωξη ανοσοεπαρκούς μητέρας ή σπανιότερα με επανενεργοποίηση λανθάνουσας λοίμωξης σε ανοσοκατασταλμένη μητέρα, αιματογενή διασπορά στον πλακούντα και μετάδοση στο έμβρυο είτε μέσω του πλακούντα είτε μετά από φυσιολογικό τοκετό. Σε σπάνιες περιπτώσεις (Vogel et al. 1996), λοίμωξη που έγινε σε διάστημα 6 μηνών πριν από τη σύλληψη έχει μεταδοθεί στο έμβρυο, από μια φαινομενικά ανοσοεπαρκή μητέρα (Thiébaud et al., 2007· Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Οι περισσότερες περιπτώσεις τοξοπλάσμωσης είναι υποκλινικές, ενώ σε ένα μικρό ποσοστό παρατηρούνται συμπτώματα όπως πυρετός, πονοκέφαλος, λεμφαδενοπάθεια, ανορεξία, μυϊκή δυσκαμψία, ηπατοσπληνομεγαλία και περιστασιακά μυοκαρδίτιδα, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα καθώς και άλλα γενικά συμπτώματα (Σιώχου και συν., 2004).

3.2 Παράγοντες κινδύνου

Το *T. gondii* είναι πολύ διαδεδομένο σ' όλο τον κόσμο. Ωστόσο, λόγω της σχολαστικής φύσης και των σύνθετων διατροφικών προτιμήσεων των γατών, το γεγονός ότι οι ωοκύστες δεν γίνονται αμέσως μολυσματικές και επειδή η διάρκεια της διασποράς των ωοκύστεων είναι σύντομη, η άμεση επαφή με τις γάτες δεν πιστεύεται ότι αποτελεί κίνδυνο μόλυνσης για τον άνθρωπο. Οι ιδιοκτήτες γατών μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο έκθεσης του ζώου με τους εξής τρόπους: (i) τον περιορισμό της γάτας σε εσωτερικό χώρο, ώστε να μη μολύνεται με την κατάποση τροφικών και πτηνών, (ii) να μην τρώει η γάτα ωμό κρέας και (iii) τον έλεγχο των δυνητικών ενδιάμεσων ξενιστών, όπως τα τρωκτικά (Elbez-Rubenstein A., 2009; Elmore et al., 2010).

Όμως, ένας πρωταρχικός παράγοντας κινδύνου για την τοξοπλάσμωση του ανθρώπου είναι η επαφή με μολυσματικές ωοκύστες, οι οποίες βρίσκονται στα περιττώματα γάτας (>1 ημέρα μετά τη διασπορά), σε μολυσμένο έδαφος και νερό (Jones et al., 2001).

Με τον τρόπο αυτό και διά μέσου χεριών και στόματος μολύνονται κυρίως τα παιδιά, όταν έρχονται σε επαφή με το χώμα και τα χόρτα των πάρκων ή την άμμο απ' τις παιδικές χαρές όταν αυτά έχουν μολυνθεί από κόπρανα γάτας. Η ενασχόληση με τον κήπο επίσης αυξάνει τον κίνδυνο για τον άνθρωπο από την έκθεση σε σποροφόρες ωοκύστες (Elmore et al., 2010).

Η κατανάλωση ανεπαρκώς μαγειρεμένου κρέατος μολυσμένων βοοειδών, χοίρων προβάτων ή ακόμη και πουλερικών είναι επίσης ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας για την μόλυνση με *T. gondii*, μέσω της κατάποσης βιώσιμων κύστεων σε ιστό. Άλλοι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν τα μαχαίρια κουζίνας που δεν πλένονται αφού έχουν χρησιμοποιηθεί για την κοπή ωμού κρέατος, φρούτων και λαχανικών, καθώς και το μη τακτικό πλύσιμο των χεριών (Jones et al., 2007).

Η περιβαλλοντική μόλυνση με ωοκύστες του *T. gondii* αποτελεί μια ανησυχία τόσο για τη δημόσια υγεία, όσο και για τις προοπτικές της βιοποικιλότητας. Επιφανειακές απορροές που περιέχουν κόπρανα γάτας, τα οποία περιέχουν ωοκύστες του *T. gondii* εισέρχονται σε υδάτινα οικοσυστήματα, όπως το θαλάσσιο βιότοπο στην ακτή της Καλιφόρνια (Kapperud et al., 1996).

Ένας ασυνήθιστος γονότυπος (τύπος X) του *T. gondii*, έχει προσδιοριστεί ότι προκαλεί θνησιμότητα σε θαλάσσιες ενυδρίδες. Ο γονότυπος αυτός έχει επίσης βρεθεί σε πολλά άλλα παράκτια είδη, συμπεριλαμβανομένων των θαλάσσιων δίθυρων μαλακίων (marine bivalves) και άλλα διηθούντα ασπόνδυλα (filter-feeding invertebrates) (Kapperud et al., 1996).

Οι θαλάσσιες ενυδρίδες (*Enhydra lutris Nereis*) σε αυτά τα μολυσμένα ενδιαιτήματα θα μπορούσαν να καταπιούν ασπόνδυλα που συσσωρεύουν ωοκύστες του *T. gondii*, ως συνέπεια των διατροφικών συνηθειών τους και γι' αυτό η επικράτηση σε θαλάσσιες ενυδρίδες είναι υψηλή (Kapperud et al., 1996).

Οι θαλάσσιες ενυδρίδες που έχασαν τη ζωή τους από κλινική τοξοπλάσμωση παρουσίαζαν μη κανονική λειτουργία του ΚΝΣ, αλλαγές στη συμπεριφορά και αναπαραγωγικά προβλήματα, όπως έκτρωση ή νεογνικό θάνατο (Kapperud et al., 1996; Elmore et al., 2010).

3.5 Συγγενής τοξοπλάσμωση

Είναι ανθρωποζωνόσος που οφείλεται στο πρωτόζωο *Toxoplasma gondii*, με κύριο ξενιστή τη γάτα και ενδιάμεσους ξενιστές τα βοοειδή, αιγοπρόβατα κ.α. Ο άνθρωπος μολύνεται από κατανάλωση μη καλά ψημένου κρέατος που περιέχει τους τροφοζώιτες του παρασίτου ή από επαφή με περιττώματα γάτας που περιέχουν τις ωοκύστες του (Δρόσου-Αγακίδου, 2011).

Στη μητέρα η λοίμωξη διαδράμει ασυμπτωματικά στο 80-90% των περιπτώσεων. Στο κύημα μεταδίδεται μόνο κατά το στάδιο της παρασιταϊμίας της μητέρας. Η κάθετη μετάδοση είναι δυνατή σ' όλη τη διάρκεια της κύησης, αλλά οι συνέπειες στο κύημα είναι τόσο σοβαρότερες, όσο νωρίτερα νοσήσει η μητέρα κατά την κύηση (Δρόσου-Αγακίδου, 2011).

3.5.1 Προσβολή του εμβρύου

Στη διάρκεια της κύησης, η έγκυος μπορεί να προσβληθεί από διάφορες λοιμώξεις, οι περισσότερες από τις οποίες είναι τοπικές λοιμώξεις του αναπνευστικού ή πεπτικού συστήματος, που δεν έχουν συνέπειες για το κύημα. Οι κύριοι λοιμογόννοι παράγοντες που μπορούν να μεταδοθούν στο κύημα και να προκαλέσουν συγγενείς λοιμώξεις, ενδομήτριες ή περιγεννητικές αναφέρονται με το ακρωνύμιο TORCH, από τα αρχικά *Toxoplasma*, *Others* (ιός ανεμευλογιάς-ζωστήρα, ιός Parvo B19, HIV, κ.α.), *Rubella*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex* (Δρόσου-Αγακίδου, 2011).

Η μετάδοση του παρασίτου μέσω του πλακούντα μπορεί να καταλήξει σε συγγενή τοξοπλάσμωση. Ο κίνδυνος μόλυνσης του εμβρύου αποτελεί συνάρτηση της ηλικίας της κύησης κατά την οποία προσεβλήθη μια οροαρνητική για αντισώματα κατά του *T. gondii* εγκυμονούσα. Η συγγενής τοξοπλάσμωση είναι ιδιαίτερα σοβαρή όταν η εγκυμονούσα προσβληθεί από το παράσιτο κατά τους πρώτους μήνες της κύησης. Η συγγενής τοξοπλάσμωση προκαλεί σοβαρές γενικευμένες ή νευρολογικές διαταραχές στο 20-30% των βρεφών, τα οποία μολύνονται ενδομήτρια (in utero). Περίπου το 10% των βρεφών παρουσιάζουν μόνο οφθαλμολογικά προβλήματα, ενώ το 70% είναι ασυμπτωματικά κατά τη γέννησή τους. Η διάγνωση της τοξοπλάσμωσης γίνεται με ορολογικές μεθόδους, κατά τις οποίες ανιχνεύονται αντισώματα IgG και IgM έναντι του *T. gondii* (Σιώχου και συν., 2004).

Το κύημα μολύνεται (α) ενδομήτρια (αιματογενώς διαμέσου του πλακούντα ή με κατάποση μολυσμένου αμνιακού υγρού), ή (γ) μετά τον τοκετό από την άμεση επαφή με τη μητέρα, με το θηλασμό ή από το περιβάλλον (Δρόσου-Αγακίδου, 2011).

Παράγοντες που καθορίζουν τη συχνότητα, το είδος και τη βαρύτητα των συγγενών λοιμώξεων είναι:

I. Το είδος του παθογόνου (λοιμογόνος δύναμη, ιικό φορτίο, τροπισμός).

II. Η ηλικία της κύησης. Η κάθετη μετάδοση των λοιμώξεων από τη μητέρα στο παιδί μπορεί να συμβεί σ' όλο το χρονικό διάστημα από τη σύλληψη, ή και πριν απ' αυτή, μέχρι και την περιγεννητική περίοδο. Ωστόσο, λοίμωξη της μητέρας πριν την εμφύτευση, δηλαδή κατά τις πρώτες 15 ημέρες από τη σύλληψη, συνήθως δεν έχει συνέπειες για το κύημα, γιατί δύσκολα το προσβάλλει, λόγω μη ανάπτυξης της πλακουντιακής κυκλοφορίας. Μετά την εμφύτευση, η συχνότητα κάθετης μετάδοσης

είναι μεγαλύτερη αν η έγκυος προσβληθεί στο δεύτερο ήμισυ της κύησης, ενώ η βαρύτητα της νόσου στο κύημα και το νεογνό είναι μεγαλύτερη, σε προσβολή της μητέρας στο πρώτο τρίμηνο της κύησης (Δρόσου-Αγακίδου, 2011).

III. Η κατάσταση ανοσίας της μητέρας. Η συχνότητα και η βαρύτητα λοίμωξης του κυήματος είναι μεγαλύτερη όταν πρόκειται για πρωτοπαθή λοίμωξη της μητέρας στην κύηση. Αντίθετα, σε περιπτώσεις υποτροπιάζουσας λοίμωξης της εγκύου, όπως π.χ. σε λοίμωξη από ιό απλού έρπητα ή CMV (cytomegalovirus, κυτταρομεγαλοϊός), το ανοσιακό σύστημα της μητέρας βρίσκεται σε ετοιμότητα και παράγει αμέσως ειδικά IgG αντισώματα, που περνούν τον πλακούντα και προστατεύουν το κύημα, με αποτέλεσμα η λοίμωξή του να είναι λιγότερο συχνή και λιγότερο βαριά (Δρόσου-Αγακίδου, 2011).



Εικόνα 9. Βρέφος θηλυκού γένους με υδροκέφαλο που οφείλεται σε συγγενή τοξοπλάσμωση. [Η εικόνα προέρχεται από: Dubey JP, and Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and Man. CRC Press, Boca Raton, Florida, 52, 1988. URL:

<http://www.pathobio.sdu.edu.cn/sdjsc/engparabook/ch084.htm>]

3.6 Τοξοπλάσμωση και σχιζοφρένεια

Το γεγονός ότι το *T. gondii* είναι νευροτροφικό, επηρεάζει νευροδιαβιβαστές, προφανώς καταστέλεται από ορισμένα αντιψυχωσικά φάρμακα και υπάρχουν γονίδια προδιάθεσης, καθιστά έναν αιτιολογικό σύνδεσμο μεταξύ σχιζοφρένειας και τοξοπλάσμωσης εγγενώς εύλογο. Μελέτες σε ζώα μολυσμένα με τοξόπλασμα απέδειξαν ότι αυτός ο οργανισμός επηρεάζει τα επίπεδα της ντοπαμίνης, της νορεπινεφρίνης και άλλων νευροδιαβιβαστών, οι οποίοι είναι γνωστό ότι επηρεάζονται σε άτομα με σχιζοφρένεια (Torrey & Yolken, 2007).

Πολλοί ερευνητές προτείνουν ότι, η αρχική λοίμωξη συμβαίνει πιθανώς νωρίς στη ζωή, στη μήτρα ή κατά τη διάρκεια της πρώιμης παιδικής ηλικίας. Στη συνέχεια, αργότερα στη ζωή τους, ένα δεύτερο «χτύπημα» μπορεί να επανενεργοποιήσει το παράσιτο. Αυτή η αναβίωση τότε μπορεί να συμβάλει στη σχιζοφρένεια, ίσως ιδιαίτερα σε άτομα με γενετική προδιάθεση για τη νόσο. Δε μπορούμε να πούμε με ακρίβεια τι μπορεί να είναι το δεύτερο «χτύπημα». Μια πιθανότητα είναι ότι οι ορμονικές αλλαγές της εφηβείας παίζουν ένα ρόλο, μια θεωρία που θα μπορούσε να βοηθήσει να εξηγηθεί το γιατί οι περισσότερες περιπτώσεις σχιζοφρένειας εμφανίζονται στο τέλος της εφηβείας και στις αρχές της τρίτης δεκαετίας της ζωής (Hendricks, 2009).

Πολλές μελέτες υποστηρίζουν τώρα τη θεωρία που συνδέει το *T. gondii* με τη σχιζοφρένεια. Πολλές από αυτές είναι μελέτες αντισώματος, στις οποίες συγκρίνουμε, για παράδειγμα, το επίπεδο των αντισωμάτων τοξοπλάσματος σε αίμα που λαμβάνεται από ανθρώπους που έχουν σχιζοφρένεια και από εκείνους που δεν έχουν. Οι Yolken και Torrey πραγματοποίησαν μια μετα-ανάλυση όλων των σοβαρών επιστημονικών μελετών για αντισώματα *T. gondii* στη σχιζοφρένεια. Τα αποτελέσματά τους, από 23 μελέτες, έδειξαν ότι οι ασθενείς με σχιζοφρένεια είχαν σχεδόν τριπλάσιες πιθανότητες από αυτούς χωρίς σχιζοφρένεια, να είναι θετικοί για αντισώματα *T. gondii*. Η μελέτη εμφανίστηκε στο Δελτίο του 2007 για τη σχιζοφρένεια (2007 Schizophrenia Bulletin) (Hendricks, 2009).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

4.1 Κλινικά συμπτώματα

Οι κλινικές εκδηλώσεις της τοξοπλάσμωσης ποικίλλουν σε μεγάλο βαθμό, δίνοντας μια σειρά από μη ειδικά συμπτώματα. Σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς, η μόλυνση είναι συνήθως ασυμπτωματική ή πολύ ήπια. Τα συνήθη συμπτώματα περιλαμβάνουν λεμφαδενοπάθεια τραχήλου της μήτρας και άλλα συμπτώματα γενικευμένης λοίμωξης. Αυτά περιλαμβάνουν πυρετό, κακουχία, νυχτερινές εφιδρώσεις, μυαλγίες, πονόλαιμο και κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα.

Η κλινική πορεία σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς μπορεί να είναι πολύ πιο σοβαρή. Αυτές οι λοιμώξεις συνήθως προέρχονται από επανενεργοποίηση λανθάνουσας μόλυνσης, παρά από νεοαποκτηθείσα λοίμωξη. Σημαντικά συμπτώματα είναι η εγκεφαλίτιδα, η μυοκαρδίτιδα και η πνευμονία, με το θάνατο να είναι σχεδόν βέβαιος αν η ασθένεια αφεθεί χωρίς θεραπεία. Σε ασθενείς με AIDS, η εγκεφαλίτιδα από τοξόπλασμα είναι ιδιαίτερα συχνή και συμβαίνει στο 10-50% των οροθετικών ασθενών με τον αριθμό των CD4 T-κυττάρων να είναι μικρότερος από 100/μl.

Η τοξοπλάσμωση σε συγγενώς μολυσμένα νεογέννητα μπορεί να παρουσιαστεί με ένα μη ειδικό τρόπο, με ευρύ φάσμα συμπτωμάτων, ορισμένα από τα οποία μπορεί επίσης να είναι αρκετά σοβαρά. Αυτά περιλαμβάνουν χοριοαμφιβληστροειδίτιδα, τύφλωση, επιληψία, διανοητική καθυστέρηση, αναιμία, ίκτερο, εγκεφαλίτιδα, πνευμονία και άλλα. Η πλήρης ανάρρωση είναι πολύ σπάνια (Nguyen, 2006).

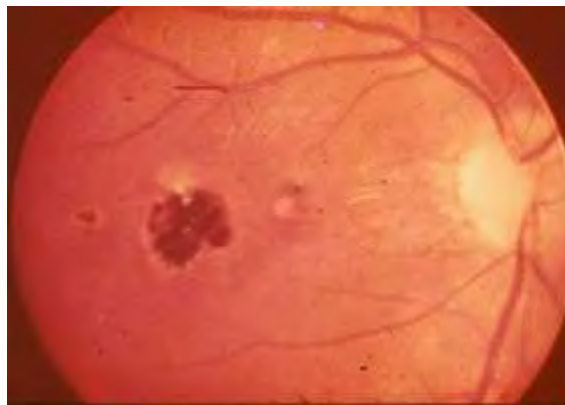
4.2 Κλινική εικόνα

Νεκροτομικά, η νόσος χαρακτηρίζεται από πνευμονία, έλκος του εντέρου, ηπατομεγαλία και λευκές νεκρωτικές εστίες σε διάφορα όργανα. Σε μικροσκοπική εξέταση παρατηρούνται στην οξεία φάση της νόσου ταχυζωίτες, ενώ στη χρόνια εγκυστωμένοι βραδυζωίτες (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012).

Σε ένα σημαντικό ποσοστό τα νεογέννητα με ενδομήτρια λοίμωξη από τοξόπλασμα είναι ασυμπτωματικά, αλλά τα περισσότερα από αυτά θα εκδηλώσουν αργότερα μόνιμες βλάβες από τα μάτια ή το ΚΝΣ. Οι κλινικές μορφές εκδηλώνονται με:

1. Εικόνα γενικευμένης νόσου με εξανθήματα (πορφυρικά και "blueberry muffin"), ηπατοσπληνομεγαλία, ίκτερο, αναιμία, θρομβοπενία.
2. Προσβολή του ΚΝΣ (υδροκεφαλία ή μικροκεφαλία, σπασμοί και ενδοκρανιακές επασβεστώσεις), που είναι ιδιαίτερα συχνή και μπορεί να αποτελεί τη μοναδική εκδήλωση της νόσου κατά τη γέννηση.
3. Οφθαλμική προσβολή (χοριοαμφιβληστροειδίτιδα, καταρράκτης, μικροφθαλμία).
4. Καθυστερημένες εκδηλώσεις μπορεί να εμφανιστούν ακόμη και στις ασυμπτωματικές περιπτώσεις. Συχνότερες είναι οι συνέπειες της χοριοαμφιβληστροειδίτιδας (νυσταγμός, στραβισμός, τύφλωση) και της προσβολής του ΚΝΣ (υδροκέφαλος, σπασμοί κ.λπ.), νευρογενής βαρηκοΐα (Torrey and Yolken, 2003· Δρόσου-Αγακίδου, 2011).

Η βαρύτητα των εκδηλώσεων εξαρτάται από την ηλικία κύησης κατά την οποία συμβαίνει η λοίμωξη. Τα έμβρυα που προσβάλλονται σε πρωιμότερο στάδιο της κύησης έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες να αναπτύξουν βαρεία νόσο (66% για το 1ο τρίμηνο, έναντι 5-10% για το 3ο τρίμηνο). Αν το έμβρυο προσβληθεί κατά το 1ο τρίμηνο μπορεί να καταλήξει σε ενδομήτριο θάνατο, γέννηση θνησιγενούς νεογνού ή νεογνού με βαρεία συγγενή νόσο με μικροκεφαλία, υδροκέφαλο, ενδοκρανιακές αλλοιώσεις (αποτιτανώσεις και διάταση κοιλίας), διανοητική καθυστέρηση, χοριοαμφιβληστροειδίτιδα, λεμφαδενοπάθεια, ηπατοσπληνική διόγκωση και ίκτερο. Οι ενδοκρανιακές αποτιτανώσεις και οι νευρολογικές διαταραχές είναι πιθανότερο να συμβούν όσο νωρίτερα στην κύηση συμβαίνει η ορομετατροπή, πράγμα το οποίο δε φαίνεται να συμβαίνει με τη χοριοαμφιβληστροειδίτιδα (Thiébaud et al., 2007).



Εικόνα 10. Χοριοαμφιβληστροειδίτιδα. [Η εικόνα προέρχεται από: Division of Parasitic Diseases, Centers for Disease Control. DPDx Image Library. Accessed 2006 May 24. URL:

http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Toxoplasmosis_il.htm]

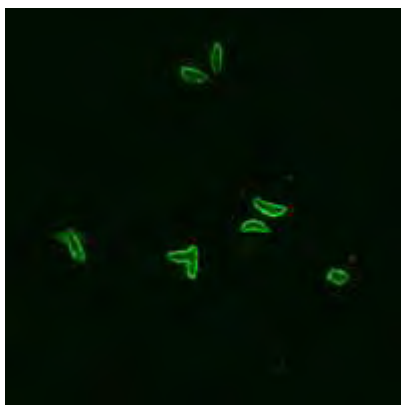
Επίσης αναφέρονται συγγενής καταρράκτης, διάρροια έμετοι, εξάνθημα, πνευμονίτιδα και αιμορραγικές εκδηλώσεις. Αντίθετα οι συνέπειες προσβολής στο τέλος της εγκυμοσύνης είναι πολύ μικρές και το νεογνό είναι ασυμπτωματικό ή εμφανίζει μόνο χοριοαμφιβληστροειδίτιδα που εξελίσσεται αν δεν χορηγηθεί θεραπεία. Πολλά νεογνά ενώ αρχικά είναι ασυμπτωματικά μπορεί προιούσης της ηλικίας να εμφανίσουν κάποια εκδήλωση και συνήθως χοριοαμφιβληστροειδίτιδα. Η συγγενής τοξοπλάσμωση έχει ενοχοποιηθεί ακόμη, ως αίτιο συγγενούς κώφωσης (Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Γέννηση θνησιγενών ή νεογνικός θάνατος είναι σπάνια (Freeman et al., 2005).

Ανάλυση 24 μελετών σειράς σε 550 βρέφη που μολύνθηκαν και ανιχνεύθηκαν με προγεννητικό ή έλεγχο κατά τη γέννηση έδειξε ότι 19% (105/550) είχαν κλινικές εκδηλώσεις στη βρεφική ηλικία (<1 έτους): 14% (79/550) είχαν χοριοαμφιβληστροειδίτιδα και 9% (49/550) είχαν ενδοκράνιες αποτιτανώσεις. Περίπου 5% των μολυνθέντων βρεφών που ταυτοποιήθηκαν με προγεννητικό ή έλεγχο κατά τη γέννηση είχαν σοβαρές νευρολογικές διαταραχές (βρεφικοί σπασμοί, μικροκεφαλία, τοποθέτηση βαλβίδας ή θάνατος) (Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

4.3 Ανίχνευση αντισωμάτων

Η διάγνωση της συγγενούς τοξοπλάσμωσης βασίζεται στην ανίχνευση των ειδικών IgM αντισωμάτων στο νεογνό και του DNA του ιού με PCR. Χαρακτηριστικά ευρήματα μπορούν να προκύψουν από τον ακτινολογικό έλεγχο εγκεφάλου (διάχυτες επασβεστώσεις, κυρίως φλοιικές, και υδροκέφαλος) (Δρόσου-Αγακίδου, 2011).



Εικόνα 11. Ταχυζώιτες *T. gondii*, με χρώση φθορίζοντων αντισωμάτων (Nguyen, 2006).

[Η εικόνα προέρχεται από: Division of Parasitic Diseases, Centers for Disease Control. DPDx Image Library. Accessed 2006 May 24. URL:

http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Toxoplasmosis_il.htm]

Αποτελέσματα ερευνών δείχνουν ότι περίπου το 25% των ενηλίκων στη Μ. Βρετανία, στις ΗΠΑ και σε πολλές άλλες χώρες έχει μολυνθεί ή έχει νοσήσει από τοξοπλάσμωση. Στην ηπειρωτική Ευρώπη τα ποσοστά αυτά είναι πολύ μεγαλύτερα και κυμαίνονται μεταξύ 50-80% (Σιώχου και συν., 2004).

Η ανίχνευση των αντισωμάτων έναντι του *T. gondii* σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας ποικίλει ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή, τις κλιματολογικές συνθήκες, το βιοτικό επίπεδο και τις διατροφικές συνήθειες του γενικού πληθυσμού.

Σε μελέτες που έγιναν σε διάφορες χώρες σε εγκύους διαπιστώθηκαν ποσοστά οροθετικών εγκύων γυναικών από 6,1% έως και 70% (Νορβηγία 10.9%, Στοκχόλμη 6.1%, Λονδίνο 18.8%, Φιλανδία 20.3%, Ν. Υόρκη 32%, Παρίσι 70%).

Σε πρόσφατες μελέτες στην Ελλάδα (Καβάλα, Ηράκλειο, Αχαΐα) ανιχνεύθηκαν σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας αντισώματα IgG κατά του *T. gondii* από 22.8% έως 34.5%, και αντισώματα IgG και IgM από 0.7% έως 1.75%.(17-19) Στην παρούσα μελέτη ανιχνεύθηκαν IgG αντισώματα κατά του *T. gondii* στο 23% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας, οι οποίες προσήλθαν για προγεννητικό έλεγχο, ενώ στο 2% ανιχνεύθηκαν ταυτόχρονα και IgG και IgM αντισώματα. Η διαφορά των αποτελεσμάτων στις διάφορες περιοχές της Ελλάδας μπορεί να οφείλεται στη χρήση διαφορετικών αντιγονικών τύπων κατά τη διαδικασία του εργαστηριακού προσδιορισμού (Σιώχου και συν., 2004).

Σε σχέση με τα αποτελέσματα ερευνών σε άλλες χώρες, τα ποσοστά αντισωμάτων κατά του *T. Gondii*, τα οποία ανιχνεύονται στην Ελλάδα παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές. Έτσι, στη Γαλλία το 1995, το ποσοστό των οροθετικών γυναικών ανερχόταν στο 54.3%, ενώ στη Βραζιλία από 32.4% έως 77.7%. Αυτή η μεγάλη διαφορά θα μπορούσε να οφείλεται στις διαφορετικές συνήθειες του Ελληνικού πληθυσμού σε σχέση με αυτές των άλλων λαών της Ευρώπης και της Αμερικής, τόσο στη διατροφή, όσο και στην κατοχή κατοικίδιων ζώων (Σιώχου και συν., 2004).

Η συνεχής παρακολούθηση και καταγραφή του επιπέδου των αντισωμάτων κατά του *T. gondii* σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας αποκτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον, ειδικότερα σε ό,τι αφορά τις εγκύους, γιατί η τοξοπλάσμωση είναι μία από τις συχνότερες αιτίες συγγενούς λοίμωξης στον άνθρωπο. Επομένως, είναι επιτακτική η λήψη κατάλληλων προληπτικών μέτρων για την αποφυγή της λοίμωξης (Σιώχου και συν., 2004).

Για ακριβή ορολογική διάγνωση απαιτείται έλεγχος και της μητέρας και του παιδιού. Ανοσοεπαρκείς μητέρες με οξεία λοίμωξη κατά την εγκυμοσύνη έχουν συνήθως θετικά IgM και IgG. Η διάγνωση στο νεογνό βασίζεται στην ύπαρξη ειδικών IgM, τα οποία μπορεί να εμφανιστούν μέσα στις πρώτες ημέρες ζωής ή σε διάφορους χρόνους μετά τη γέννηση (ανάλογα με τη χρονική στιγμή της λοίμωξης της μητέρας). Έτσι η μη εύρεση IgM δεν αποκλείει τη συγγενή λοίμωξη. Όταν οι τίτλοι IgM, στο βρέφος, είναι αρνητικοί ή αμφίβολοι θα πρέπει να γίνεται έλεγχος των IgA και IgE με ELISA, που είναι πιο ευαίσθητη μέθοδος (~90% έναντι 75-80%) αλλά χωρίς εξασφαλισμένη ειδικότητα (Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Ιδιαίτερου ενδιαφέροντος είναι ο καθορισμός της οξείας μόλυνσης σε έγκυες γυναίκες, λόγω του κινδύνου της συγγενούς τοξοπλάσμωσης. Αυτός περιπλέκεται από το γεγονός ότι πολλές γυναίκες έχουν υφιστάμενα IgG και IgM αντισώματα προς το *T. gondii*, εξαιτίας προγενέστερης μόλυνσης. Υπάρχουν αποτελεσματικές διαγνωστικές τεχνικές που παρακολουθούν τις αλλαγές στην έκφραση αντισωμάτων της μητέρας με την πάροδο του χρόνου, αλλά η ταχεία διάγνωση προτιμάται σε μεγάλο βαθμό, γιατί τα έμβρυα συχνά μολύνονται γρήγορα (Press et al., 2005; Nguyen, 2006).

Με γνώμονα αυτή την ανάγκη, οι Cynthia Press, Jose Montoya και Jack Remington στο Palo Alto Medical Foundation προσδιόρισαν μια σειρά από δοκιμασίες που είναι αποτελεσματικές στον πρώιμο προσδιορισμό της μόλυνσης, από ένα μόνο δείγμα ορού της μητέρας. Αυτό βασίζεται στη διαπίστωση ότι οι δοκιμασίες VIDAS (bio-Merieux, Lyon, France) χημικής συγγένειας της IgG VIDAS IgG avidity tests συνήθως αποτυγχάνουν κατά την πρώιμη λοίμωξη, επειδή οι τίτλοι IgG είναι πολύ χαμηλοί. Η συνιστώμενη διαγνωστική διαδικασία αποτελείται από αναζήτηση για θετικά αποτελέσματα στη δοκιμασία χρώσης Sabin-Feldman και μιας IgM ELISA, σε συνδυασμό με μια αρνητική δοκιμασία VIDAS χημικής συγγένειας της IgG VIDAS IgG avidity test. Αυτό προσδιορίστηκε ως ένα αποτελεσματικό σύνολο κριτηρίων για τη διάγνωση πρώιμης οξείας λοίμωξης, η οποία μπορεί στη συνέχεια να ακολουθείται από πρώιμη θεραπεία για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου της συγγενούς λοίμωξης (Press et al., 2005; Nguyen, 2006).

Η επανάληψη του ελέγχου σε ηλικία 10 ημερών μπορεί να βοηθήσει τη διάγνωση. Οι τίτλοι IgM και IgA σε βρέφος που δεν έχει μολυνθεί (δηλαδή, σε βρέφος με χαμηλούς θετικούς τίτλους IgM και IgA, ως αποτέλεσμα διαρροής του πλακούντα) μειώνονται με ταχείς ρυθμούς, ενώ παραμένουν θετικοί για εβδομάδες ή μήνες σε βρέφος με ενδομήτρια λοίμωξη. Τακτικοί ορολογικοί έλεγχοι κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους ζωής είναι απαραίτητοι για τη διάγνωση όταν τα αρχικά αποτελέσματα είναι αμφίβολα. Οι τίτλοι IgG που προήλθαν από τη μητέρα διαπλακουντιακά, συνήθως, πέφτουν σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα μεταξύ 6-12 μηνών ενώ αντίθετα στα βρέφη με συγγενή λοίμωξη διατηρούνται αυξημένα και πέραν της ηλικίας του ενός έτους.

Η καλύτερη μέθοδος προγεννητικής διάγνωσης της λοίμωξης του εμβρύου είναι η ανίχνευση DNA του *T. gondii* με PCR ή RT-PCR (πιο ευαίσθητη) στο αμνιακό υγρό μετά τη διενέργεια αμνιοπαρακέντησης αλλά η ευαισθησία της μεθόδου είναι

χαμηλότερη στις αρχές σε σχέση με μια προχωρημένη εγκυμοσύνη (Thalib et al., 2005; Montoya and Remington, 2008).

Ο υπερηχογραφικός έλεγχος του εμβρύου (με συνήθη ευρήματα: υπερηχογενείς ενδοκρανιακές εστίες, αποτιτανώσεις και διάταση των κοιλιών) είναι χρήσιμος στην παροχή προγνωστικών πληροφοριών και στη λήψη της απόφασης διακοπής της κύησης σε έμβρυο με συγγενή λοίμωξη (Cortina-Borja et al., 2010; Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.

ΠΡΟΛΗΨΗ

5.1 Πρωτογενής πρόληψη

1. Ενημέρωση των εγκύων γυναικών αναφορικά με τα εξής προληπτικά μέτρα:

- Κατανάλωση καλομαγειρεμένου κρέατος ή εναλλακτικά συντήρησή του στους -20°C για 24 ώρες.
- Σχολαστικό πλύσιμο των ωμών λαχανικών πριν την κατανάλωση.
- Οι έγκυες θα πρέπει να αποφεύγουν να έρχονται σε επαφή με περιττώματα από αδέσποτες γάτες. Καλό είναι να φορούν γάντια όταν περιποιούνται τον κήπο και να πλένουν σχολαστικά τα χέρια τους μετά τη δουλειά και ιδιαίτερα πριν το φαγητό. Επίσης, μαχαίρια και άλλα αντικείμενα που ήρθαν σε επαφή με ωμό κρέας θα πρέπει να πλένονται σχολαστικά πριν την επαναχρησιμοποίηση του.

2. Οι γάτες πρέπει να σιτίζονται με ξηρά τροφή, κονσέρβες και καλομαγειρεμένο κρέας και να παραμένουν οικόσιτες. Τα περιττώματά τους πρέπει να απομακρύνονται σε καθημερινή βάση ή να θάβονται βαθιά στο έδαφος για αποφυγή διασποράς των ωοκυστών.

3. Πόση νερού μόνο από ελεγμένο δίκτυο (Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Προληπτικά οι γάτες δεν πρέπει να εισέρχονται στα χοιροστάσια, γιατί τα κόπρανά τους μπορεί να περιέχουν ωοκύστες. Άλλο μέτρο πρόληψης είναι η καταπολέμηση των τρωκτικών στο χοιροστάσιο γιατί όχι μόνο προσελκύουν γάτες, αλλά γιατί και τα ίδια μπορεί να γίνουν αιτία μόλυνσης εάν είναι φορείς βραδυζωϊτών και φαγωθούν από τους χοίρους. Τέλος δεν θα πρέπει να δίνονται στους χοίρους ως τροφή αμαγείρευτα σκουπίδια που μπορεί να περιέχουν κρέατα με βραδυζωϊτες (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012).

Η πρόληψη της πρωτογενούς λοίμωξης σήμερα επιτυγχάνεται καλύτερα μέσω εκπαίδευσης. Οι συστάσεις περιλαμβάνουν το επαρκές μαγείρεμα του κρέατος πριν από την κατανάλωση, σε θερμοκρασίες τουλάχιστον 66°C και αποφεύγοντας τον χειρισμό ωμού κρέατος με χέρια χωρίς γάντια. Οι ιδιοκτήτες γατών προειδοποιούνται να αποφεύγουν τον απευθείας χειρισμό δοχείων ή κουτιών που χρησιμοποιούν τα ζώα για την καθαριότητά τους, ή χώματος που μπορεί να έχει μολυνθεί με περιττώματα γάτας. Οι γάτες που τρέφονται με εμπορικές τροφές, είναι λιγότερο πιθανό να έχουν μολυνθεί, σε σύγκριση με τις γάτες που κυνηγούν. Οι έγκυες γυναίκες πρέπει να αποφεύγουν ειδικά την επαφή με γάτες ή το χειρισμό των δοχείων καθαριότητας που αναφέρθηκαν (Nguyen, 2006).

Τρόποι για να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος έκθεσης είναι τα γάντια κηπουρικής ή ένας άλλος τρόπος ενασχόλησης με το χώμα, τα γάντια όταν απομακρύνονται απορρίμματα γατών και το πλύσιμο των χεριών μετά από αυτές τις δραστηριότητες (Jones et al., 2007).

Καθώς δεν υπάρχει αποτελεσματικό εμβόλιο για τους ανθρώπους, η πρόληψη της ζωονοσογόνου μετάδοσης μάλλον είναι ο καλύτερος τρόπος για να προσεγγιστεί το πρόβλημα της τοξοπλάσμωσης, και πρέπει να γίνει με τον περιορισμό της έκθεσης σε ωοκύστες ή κύστες σε ιστό. Οι συστάσεις για την επίτευξη αυτού περιλαμβάνουν την καλή υγιεινή (π.χ. πλύσιμο των χεριών μετά την επαφή με το χώμα, το πλύσιμο φρούτων και λαχανικών που τρώγονται ωμά), το πάγωμα κρέατος σε -20°C για 24 ώρες, το μαγείρεμα του κρέατος έως ότου επιτευχθεί εσωτερική θερμοκρασία 66°C, και να μην πίνει κανείς νερό που δεν έχει υποστεί επεξεργασία. Συνιστάται επίσης ο περιορισμός των γατών σε κλειστούς χώρους, η διατροφή τους με εμπορικά παρασκευασμένες ζωοτροφές και ο καθημερινός καθαρισμός των κουτιών απορριμμάτων, γιατί χρειάζεται τουλάχιστον μία ημέρα για τους οργανισμούς να σποριώνονται και να γίνουν μολυσματικοί μετά τη διασπορά. Οι συστάσεις ειδικά για τις έγκυες γυναίκες περιλαμβάνουν χρήση γαντιών όταν ασχολούνται με την κηπουρική ή έρχονται σε επαφή με χώμα ή άμμο, που ακολουθείται από προσεκτικό πλύσιμο των χεριών. Επιπλέον, οι έγκυες γυναίκες πρέπει να αποφεύγουν την αλλαγή άμμου για γάτες, αν είναι δυνατόν. Οι ιδιοκτήτες θα πρέπει επίσης να συμβουλεύονται να κρατήσουν τα σκυλιά μακριά από το κιβώτιο απορριμμάτων για την αποφυγή κατάποσης των ωοκύστεων. Η αγωγή υγείας για τις γυναίκες που βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία θα πρέπει να περιλαμβάνει πληροφορίες

σχετικά με το κρέας, το έδαφος και τα περιττώματα γάτας που σχετίζονται με την πρόληψη της τοξοπλάσμωσης. Τα ανοσοκατασταλμένα άτομα, συμπεριλαμβανομένων των ατόμων με HIV λοίμωξη, θα πρέπει επίσης να εκπαιδεύονται για το πώς γίνεται πρόληψη της λοίμωξης. Οι κτηνίατροι θα πρέπει να επισημαίνουν στους ιδιοκτήτες σκύλων τη σπουδαιότητα που παρουσιάζει ο εμβολιασμός κατά του ιού της νόσου του Carré, καθώς τα περισσότερα περιστατικά τοξοπλάσμωσης σε σκύλους παρατηρήθηκαν σε εκείνους που δεν έχουν εμβολιαστεί κατά του ανοσοκατασταλτικού αυτού ιού (Elmore et al., 2010).

5.2 Δευτερογενής πρόληψη

1. Ταυτοποίηση επίνοσων εγκύων με ορολογικό έλεγχο.
2. Η θεραπεία κατά τη διάρκεια της κύησης έχει σαν αποτέλεσμα την ελάττωση της επίπτωσης της λοίμωξης του βρέφους κατά 50%.
3. Θεραπευτική έκτρωση προλαμβάνει τη γέννηση νεογνού πάσχοντος από συγγενή τοξοπλάσμωση αλλά θα πρέπει να εξετάζεται μόνο σε περιπτώσεις λοίμωξης της μητέρας κατά το πρώτο ή δεύτερο τρίμηνο της κύησης (Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Δεν υπάρχουν εμβόλια για το *T. gondii*, αν και αρκετά βρίσκονται σε αρχικό στάδιο ανάπτυξης. Η πρόληψη της συγγενούς μετάδοσης είναι δυνατή μέσω της έγκαιρης διάγνωσης της οξείας λοίμωξης σε μητέρες και χορήγηση προφυλακτικής αγωγής με σπειραμυκίνη (Nguyen, 2006).

Τα σημαντικότερα μέτρα για την αποφυγή της λοίμωξης είναι η αποφυγή κρέατος το οποίο δεν έχει ψηθεί καλά, το πολύ καλό πλύσιμο των φρούτων και των λαχανικών, καθώς και η αποφυγή οποιασδήποτε επαφής με το έδαφος και τα ζώα ιδιαίτερα δε τις γάτες. Η τήρηση αυτών των προληπτικών μέτρων οδηγεί σε μείωση του κινδύνου μόλυνσης (Σιώχου και συν., 2004).

Συνιστάται στην έγκυο η αποφυγή των εστιών μόλυνσης (γάτες) και της κατανάλωσης μη καλά ψημένου κρέατος. Η νόσος στην έγκυο αντιμετωπίζεται με χορήγηση σπειραμυκίνης πριν τη 16^η εβδομάδα της κύησης και με συνδυασμό σπειραμυκίνης με πυριμεθαμίνη μετά τη 16^η εβδομάδα και εφ' όσον υπάρχει υποψία προσβολής του κυήματος. Η χορήγηση πυριμεθαμίνης αντενδείκνυται πριν τη 16^η εβδομάδα κύησης, γιατί είναι δυνητικά τερατογόνος. Πρόσφατα προτάθηκε εναλλακτικά η χορήγηση κοτριμοξαζόλης, αλλά δεν υπάρχουν ακόμη αρκετές μελέτες για την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητά της (Δρόσου-Αγακίδου, 2011).

Δεν υπάρχουν μελέτες οι οποίες να καταδεικνύουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας σε περίπτωση λοίμωξης της εγκύου, έτσι ώστε να αποφευχθεί μια διαπλακουντιακή μόλυνση του εμβρύου. Συνεπώς, η όλη προσπάθεια πρέπει να εστιάζεται στον προγεννητικό έλεγχο, στη συχνή παρακολούθηση των οροαρνητικών εγκύων κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και στην πρόληψη. Έτσι, θα είναι δυνατόν να ανιχνεύονται έγκαιρα οι περιπτώσεις οξείας μόλυνσης. Επίσης, πρέπει να εφαρμόζονται τα αναφερθέντα μέτρα για την αποφυγή της λοίμωξης, με στόχο τη μείωση των μολύνσεων στις εγκύους. Η έγκαιρη διάγνωση μιας οξείας μόλυνσης, καθώς και η μείωση της συχνότητας των μολύνσεων στις έγκυες γυναίκες θα έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του κινδύνου της συγγενούς τοξοπλάσμωσης (Σιώχου και συν., 2004)

5.3 Ανάπτυξη εμβολίου

Η ανάπτυξη εμβολίου για την πρόληψη της διασποράς ωοκύστεων από τις γάτες βρίσκεται σε εξέλιξη και ως επί το πλείστον αφορά σε ζωντανά εμβόλια. Υπάρχουν ορισμένα μειονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένης της περιορισμένης διάρκειας αντοχής τους σε αποθήκευση και του κινδύνου μόλυνσης ανθρώπων που χειρίζονται τα εμβόλια (Elmore et al., 2010).

Το στέλεχος S48 Toxovax1 είναι ένα ζωντανό εμβόλιο που αναπτύχθηκε αρχικά για χρήση σε πρόβατα, αλλά, όταν χρησιμοποιείται στις γάτες, αναστέλλει την αμφιγονική ανάπτυξη του *T. gondii*. Έτσι, το ανοσοποιητικό σύστημα ανταποκρίνεται στο στέλεχος του παρασίτου, αλλά οι γάτες δεν είναι σε θέση να παράγουν ωοκύστες. Στα πρόβατα, αυτό το εμβόλιο χρησιμοποιείται για να μειώσει την

ανάπτυξη κύστεων στον ιστό. Το T-263 στέλεχος του *T. gondii* είναι ένα ζωντανό μεταλλαγμένο στέλεχος που αποσκοπεί στη μείωση ή την πρόληψη της διασποράς ωοκύστεων από γάτες, αναπτυσσόμενο μόνο μερικώς στον εντερικό σωλήνα των αιλουροειδών. Δοκιμές πεδίου (Field trials) με αυτό το εμβόλιο για αιλουροειδή διεξήχθησαν στις ΗΠΑ σε χοιροτροφικές μονάδες. Οι γάτες ακινητοποιήθηκαν, εμβολιάστηκαν και αφέθηκαν ελεύθερες. Μετά τον εμβολιασμό των γατών που διέμεναν στα αγροκτήματα, η οροθετικότητα ως προς το *T. gondii* στους εκτρεφόμενους χοίρους μειώθηκε, γεγονός που υποδηλώνει μικρότερη μόλυνση του περιβάλλοντος με ωοκύστες και επομένως, μικρότερο κίνδυνο μόλυνσης για τους χοίρους. Υπάρχουν αναφορές για απόπειρες εμβολιασμού γατών χρησιμοποιώντας στελέχη *T. gondii* τροποποιημένα με ακτινοβολία, χημικές επεξεργασίες, επιλεγμένα ανασυνδυασμένα αντιγόνα και νέα συστήματα μεταφοράς και παράδοσης (delivery), συμπεριλαμβανομένου ενός ικού οχήματος (vehicle) έρπητα αιλουροειδών τύπου 1. Όλα αυτά τα εμβόλια παρέχουν ένα επίπεδο ανοσίας σε γάτες, αλλά υπάρχει ανάγκη για ένα ανασυνδυασμένο ή από νεκρά στελέχη εμβόλιο που θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως πρότυπο για εμβολιασμό του ανθρώπου κατά του *T. gondii* (Centers for Disease Control and Prevention, 2009; Elmore et al., 2010).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Έλεγχος κρουσμάτων, φορέων, στενού περιβάλλοντος

- Δήλωση του κρούσματος στις αρμόδιες υγειονομικές αρχές.
- Απομόνωση των ασθενών δεν εφαρμόζεται.
- Καραντίνα δεν εφαρμόζεται.
- Ταυτόχρονη απολύμανση δεν εφαρμόζεται.
- Εμβολιασμός των επαφών δεν εφαρμόζεται.
- Διερεύνηση των επαφών και της πηγής μόλυνσης: Σε συγγενή λοίμωξη προσδιορισμός του τίτλου αντισωμάτων στη μητέρα και το βρέφος (Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Θεραπευτικό σχήμα συγγενούς τοξοπλάσμωσης

I. Συμπτωματική νόσος:

Iα. Για τους πρώτους 6 μήνες ζωής πυριμεθαμίνη μαζί με σουλφαδιαζίνη και φυλινικό οξύ.

Iβ. Για το δεύτερο 6μηνο ζωής: σπειραμυκίνη για 4 εβδομάδες, που εναλλάσσεται με πυριμεθαμίνη + σουλφαδιαζίνη + φυλινικό οξύ για άλλες 4 εβδομάδες, μέχρι το τέλος του πρώτου χρόνου ζωής.

II. Ασυμπτωματική νόσος: πυριμεθαμίνη + σουλφαδιαζίνη + φυλινικό οξύ για 6 εβδομάδες που εναλλάσσεται με σπειραμυκίνη για άλλες 6 εβδομάδες, μέχρι το τέλος του πρώτου χρόνου ζωής (Δρόσου-Αγακίδου, 2011).

Σε επιβεβαιωμένη λοίμωξη της εγκύου μετά τις 6 πρώτες εβδομάδες χορηγείται σπειραμυκίνη που μειώνει τον κίνδυνο μετάδοσης της λοίμωξης στο έμβρυο μέχρι και το τέλος της κύησης. Μετά την 20η εβδομάδα γίνεται έλεγχος του αμνιακού υγρού με PCR και ταυτόχρονη υπερηχογραφική παρακολούθηση του εμβρύου. Σε περίπτωση επιβεβαιωμένης λοίμωξης του εμβρύου χορηγείται σουλφαδιαζίνη-πυριμεθαμίνη στη

μητέρα από την 30ή εβδομάδα κύησης μέχρι τον τοκετό. Σε επιβεβαιωμένη συγγενή τοξοπλάσμική λοίμωξη του νεογέννητου χορηγείται συνδυασμός σουλφαδιαζίνης-πυριμεθαμίνης μέχρι την ηλικία του ενός έτους εκτός αν παρουσιαστεί τοξικότητα οπότε χορηγείται σπιραμικίνη. Σε περίπτωση οφθαλμικής συμμετοχής χορηγούνται στεροειδή. Επειδή η πυριμεθαμίνη προκαλεί ουδετεροπενία συγχορηγείται φολινικό οξύ (Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων, 2012).

Η θεραπεία συνίσταται στη χορήγηση πυριμεθαμίνης (1mg/kg/H, σε 1 δόση), σουλφαδιαζίνης (50 -100 mg/kg/H, στ, σε 2 δόσεις), φυλινικού οξέος (5-10 mg 3 φορές την εβδομάδα) και σπειραμυκίνης (100mg/kg/H, σε 2 δόσεις) για ένα χρόνο (Δρόσου-Αγακίδου, 2011).

Θεραπεία σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς

Η θεραπεία της τοξοπλάσμωσης σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς συνήθως δεν είναι απαραίτητη. Σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, η συνιστώμενη θεραπεία είναι ένας συνδυασμός πυριμεθαμίνης 25-100mg ημερησίως και τρισουλφαπυριμιδίνης (trisulfapyrimidines) 2-6g ημερησίως, και οι δύο για ένα μήνα. Αυτός ο συνδυασμός φαρμάκων αναστέλλει τη σύνθεση του DNA και των πρωτεϊνών του *T. gondii*. Το φολινικό οξύ μπορεί επίσης να χορηγηθεί για τη μείωση της καταστολής του μυελού των οστών, που προκαλείται από την πυριμεθαμίνη. Η κλινδαμυκίνη έχει βρεθεί ότι είναι αποτελεσματική στη θεραπεία της εγκεφαλίτιδας από τοξόπλασμα, σε ασθενείς με AIDS.

Στην οξεία λοίμωξη σε έγκυες γυναίκες, η συνιστώμενη θεραπεία περιλαμβάνει τη σπειραμυκίνη, αν το έμβryo δεν έχει ακόμη τοξοπλάσμωση. Η σπειραμυκίνη είναι ένα αντιβιοτικό που εντοπίζεται στον πλακούντα και έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τη μόλυνσή του κατά 60%. Ασκεί όμως κάποια τερατογόνο δράση, η οποία πρέπει να σταθμίζεται έναντι του κινδύνου της συγγενούς λοίμωξης. Αν το έμβryo έχει μολυνθεί, χορηγείται ο προαναφερόμενος συνδυασμός φάρμακων, αντί της σπειραμυκίνης (Nguyen, 2006).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

7.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση του επιπολασμού των αντισωμάτων IgG του τοξοπλάσματος σε σπουδαστές του ΤΕΙ Λάρισας. Στόχος ήταν να διερευνηθεί τυχόν συσχέτιση των αποτελεσμάτων των ορολογικών εξετάσεων με το φύλο, τον τόπο καταγωγής, την σχέση με κατοικίδια γάτα, αλλά και με τις διατροφικές συνήθειες κάθε σπουδαστή.

7.2 Δείγμα της έρευνας

Στην έρευνα συμμετείχαν 368 σπουδαστές του Τ.Ε.Ι. Λάρισας (δείγμα ευκολίας). Δεδομένου ότι οι σπουδαστές προέρχονταν από όλα τα γεωγραφικά διαμερίσματα της χώρας, το δείγμα που μελετήθηκε θεωρείται ότι είναι κατά προσέγγιση αντιπροσωπευτικό του πληθυσμού της χώρας, όσον αφορά την συγκεκριμένη ηλικία. Το δείγμα επιλέχθηκε τυχαία και είναι αντιπροσωπευτικό της αναλογίας αρρένων και θηλέων που υπάρχει στην χώρα.

7.3 Προσδιορισμός αντισωμάτων

Από κάθε σπουδαστή που συμμετείχε στην έρευνα, ελήφθη δείγμα αίματος περίπου 5cc. Μετά την πήξη, το φιαλίδιο με το δείγμα του αίματος φυγοκεντρήθηκε προκειμένου να διαχωριστούν τα έμμορφα συστατικά από τον ορό του αίματος. Ο ορός μεταφέρθηκε σε νέο φιαλίδιο και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία -20°C μέχρι να εξεταστεί. Κάθε σπουδαστής συμπλήρωσε και ανώνυμο ερωτηματολόγιο (προκειμένου να διασφαλιστούν τα προσωπικά δεδομένα) το οποίο ταυτίζεται με το

αντίστοιχο δείγμα ορού. Στο ερωτηματολόγιο αναφέρονταν στοιχεία που αφορούσαν στην ηλικία, στο φύλο και στον τόπο καταγωγής του σπυδαστή. Έτσι έγινε δυνατή η συγκέντρωση δεδομένων αναφορικά με τη σχέση του σπυδαστή με κατοικίδιες γάτες, όπως επίσης και για διατροφικές συνήθειες, όσον αφορά την κατανάλωση κρέατος.

Κάθε ορός αίματος εξετάστηκε με ανοσολογική δοκιμή ELISA (VIRO-IMMUN Labor-Diagnostika GmbH) για τον προσδιορισμό αντισωμάτων κατά του τοξοπλάσματος. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν καταγράφηκαν σε φύλλα εργασίας EXCEL ταυτόχρονα με τα αναφερόμενα στο αντίστοιχο ερωτηματολόγιο που είχε συμπληρωθεί από τον σπυδαστή. Με τη βοήθεια λογισμικού για τη στατιστική επεξεργασία δεδομένων (SPSS for Windows 11.0, SPSS Chicago, Inc.) έγινε η στατιστική επεξεργασία των στοιχείων. Η συλλογή των δειγμάτων έγινε το χρονικό διάστημα Οκτώβριος 2010 - Μάιος 2011. Η εργαστηριακή ανάλυση το Σεπτέμβριο 2011. Για το εργαστηριακό μέρος χρησιμοποιήθηκε διακριβωμένος επωαστικός κλίβανος memmert, ρυθμισμένος στους 37°C με απόκλιση συν, πλην μια μονάδα. Το φασματοφωτόμετρο που έγιναν οι μετρήσεις ήταν της AWARENESS TECHNOLOGY INC (μοντέλο star fax 320). Το μήκος κύματος ήταν 450 nm. Χρησιμοποιήθηκε οκτακάναλη πιπέτα 300 μl (μικρόλιτρων). Στο φυσιολογικό πληθυσμό, ως τιμή -διαγνωστικό όριο θεωρούνται οι 10 IU/ml. Αποτέλεσμα μικρότερο των 10 IU/ml θεωρείται ως αρνητικό και μεγαλύτερο των 10 IU/ml ως θετικό. Ωστόσο, αποτελέσματα μεταξύ 9-11 IU/ml θεωρούνται ως αμφίβολα και τα άτομα θα πρέπει να υπόκεινται σε επανέλεγχο με νωπά δείγματα. Η ευαισθησία της μεθόδου ανέρχεται σε 100%, ενώ η ειδικότητα σε 99,1%

7.4 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS 17.0. Έγινε περιγραφική και επαγωγική στατιστική ανάλυση. Για τη σύγκριση των μέσων τιμών των δύο κατανομών χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία T test. Για τη σύγκριση αναλογιών χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες χ^2 και το Fisher's Exact Test. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν (Παπαϊωάννου & Φερεντίνος, 2000):

- το χ^2 του Pearson για πολύπτυχους πίνακες 3x2 στις περιπτώσεις που λιγότερο από το 25% των αναμενόμενων τιμών είναι <5, καμία από τις αναμενόμενες τιμές δεν είναι <1 και το σύνολο των παρατηρήσεων είναι >24.
 - το χ^2 του Yates² για πίνακες 2x2
 - Στις περιπτώσεις που δεν πληρούνταν οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του χ^2 (αριθμός παρατηρήσεων ανά κελί <5) χρησιμοποιήθηκε η ακριβής δοκιμασία κατά Fisher (Fisher's Exact Test) για δίπτυχους πίνακες ή εναλλακτικά ο λόγος πιθανοτήτων (Likelihood ratio) για πολύπτυχους πίνακες
- Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε σε $p < 0.05$

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Περιγραφική Στατιστική

Ανδρες ήταν 172 άτομα (46,7%). Η πλειονότητα των φοιτητών κατοικούσε μόνιμα σε αστικό κέντρο (263 άτομα, 71,5%) και 105 άτομα (28,5%) σε χωριό-πίνακας 1.

Πίνακας 1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος

Φύλο	N	%
Ανδρας	172	46,7
Γυναίκα	196	53,3
Σύνολο	368	100,0
Τόπος κατοικίας		
Πόλη	263	71,5
Χωριό	105	28,5
Σύνολο	368	100,0

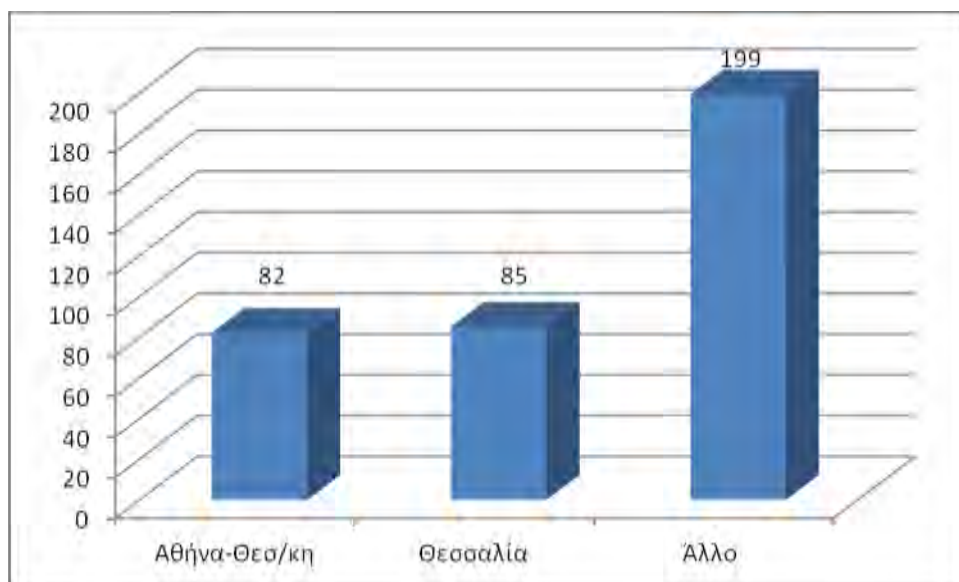
Αναφορικά με την ευρύτερη περιοχή κατοικίας, 82 άτομα (22,4%) δήλωσαν μόνιμοι κάτοικοι Αθηνών/ Θεσσαλονίκης, 85 άτομα (23,09%) δήλωσαν ως τόπο μόνιμης κατοικίας περιοχές στο Γεωγραφικό διαμέρισμα της Θεσσαλίας και 199 άτομα (54,3 %), προέρχονταν από άλλα μέρη της χώρας (Γράφημα 1.)

Οι περισσότεροι φοιτητές διέμεναν μόνιμα στην περιφέρεια της Αττικής, της Θεσσαλίας και της Μακεδονίας.

Πίνακας 2. Τόπος μόνιμης διαμονής των σπουδαστών του δείγματος

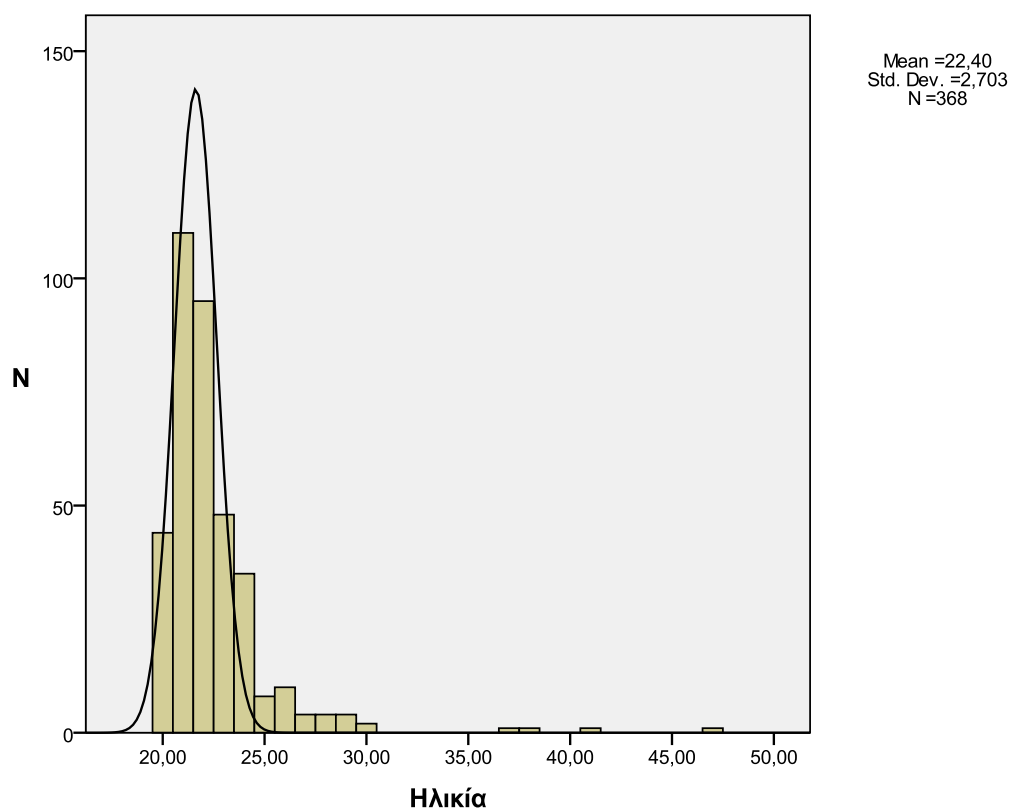
Τόπος διαμονής (νομοί-περιφέρειες)	N	%
Θράκη	9	2,4
Μακεδονία	60	16,3
Ήπειρος	9	2,4
Ιόνια νησιά	10	2,7
Στερεά Ελλάδα	33	9,0
Πελοπόννησος	28	7,6
Κρήτη	4	1,1
Κυκλάδες	1	0,3
Δωδεκάνησα	8	2,2
Υπ. Αιγαίο	6	1,6
Κύπρος	30	8,2
Λάρισα	50	13,6
Τρίκαλα	12	3,3
Καρδίτσα	6	1,6
Μαγνησία	18	4,9
Θεσσαλονίκη	19	5,2
Αττική	64	17,7
Σύνολο	368	100,0

Γράφημα 1. Ευρύτερη περιοχή μόνιμης κατοικίας



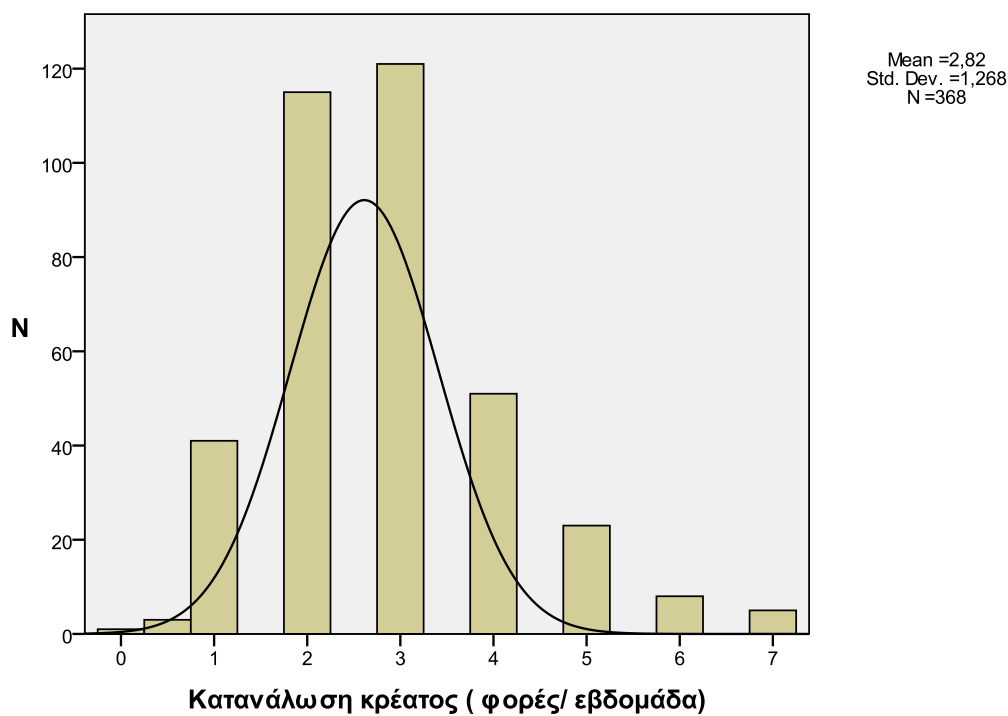
Η μέση ηλικία των ατόμων του δείγματος ήταν 22,40 έτη ($\pm 2,70$) (γράφημα 2).

Γράφημα 2. Ηλικιακή κατανομή των συμμετεχόντων



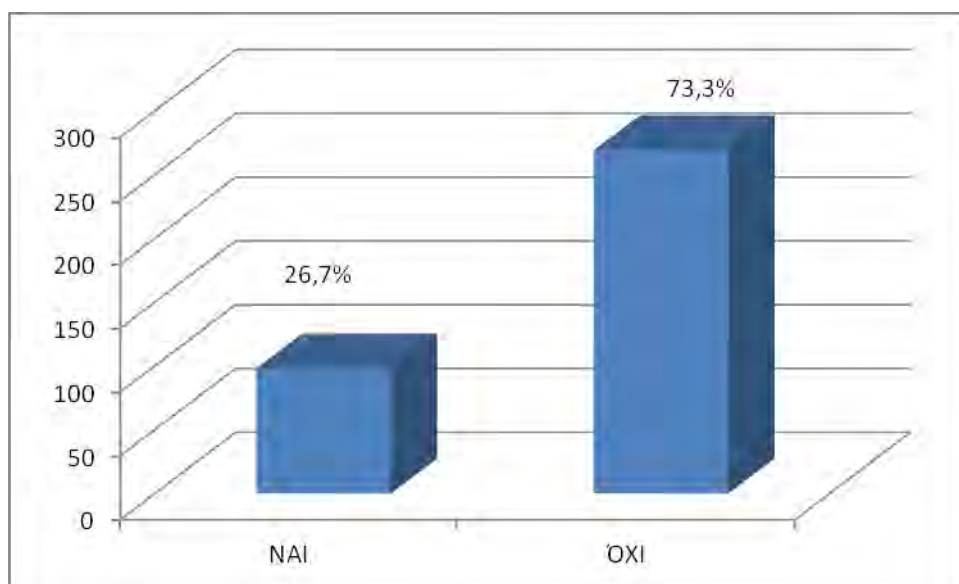
Η μέση κατανάλωση κρέατος ανά εβδομάδα ήταν 2,82 ημέρες την εβδομάδα. Υπήρχαν άτομα με μηδενική κατανάλωση και άτομα που κατανάλωναν κρέας κάθε μέρα (Γράφημα 3).

Γράφημα 3. Κατανάλωση κρέατος.



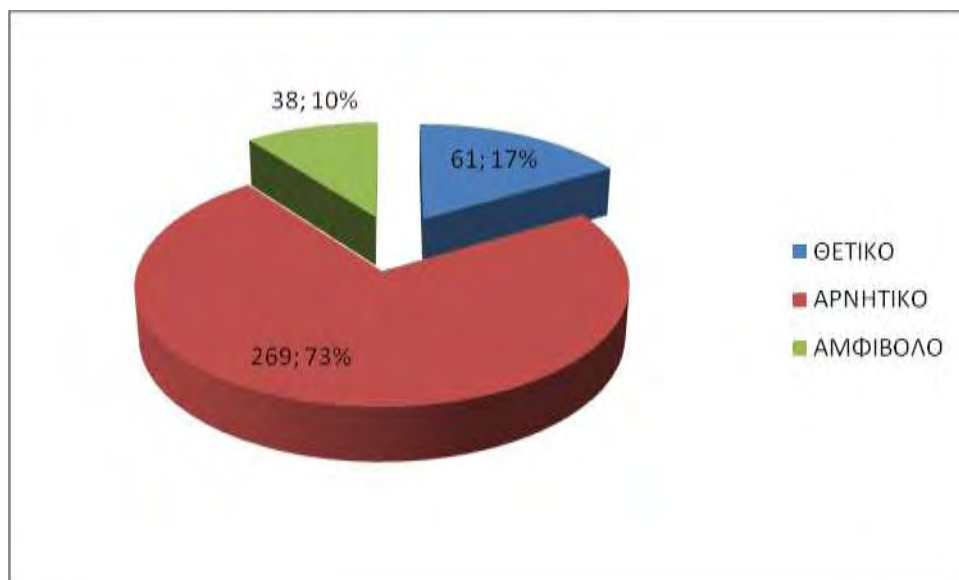
Το 26,7% των φοιτητών δήλωσε ότι είχε γάτα ως κατοικίδιο ζώο (Γράφημα 4).

Γράφημα 4. Κατοχή γάτας



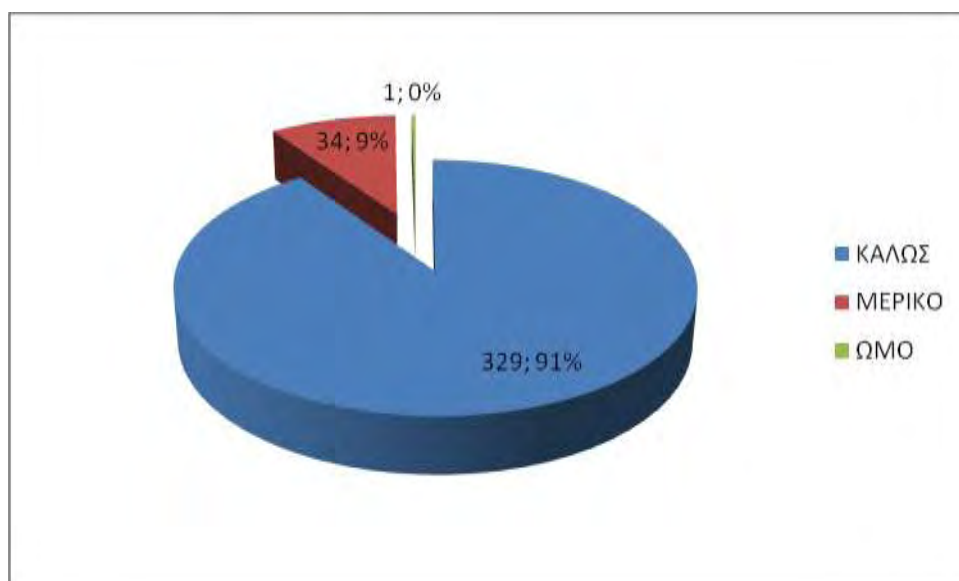
Όσον αφορά τα αποτελέσματα της εξέτασης, 61 δείγματα (17%) ήταν θετικά, 38 δείγματα ήταν αμφίβολα (10%) και 269 δείγματα (73%) ήταν αρνητικά (Γράφημα 5).

Γράφημα 5. Αποτέλεσμα της εξέτασης



Η πλειονότητα των ερωτηθέντων δήλωσε ότι καταναλώνει το κρέας καλά ψημένο (329 άτομα, 91%), 34 άτομα δήλωσαν ότι το προτιμούσαν μερικώς ψημένο (9%), ενώ μόνον ένας φοιτητής δήλωσε ότι το προτιμούσε ωμό (Γράφημα 6).

Γράφημα 6. Τρόπος ψησίματος του κρέατος



Επαγωγική Στατιστική

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την ηλικία και το αποτέλεσμα της εξέτασης : $t(366)=0,433$, $p=0,665$ με τη μέση ηλικία να είναι $23,74\pm 1,7$ και $23,57\pm 2,9$ αντίστοιχα στις δύο ομάδες των θετικών και των αρνητικών/αμφίβολων δειγμάτων.

Πίνακας 3. Ηλικιακή ομάδα και αποτέλεσμα εξέτασης

	Αποτέλεσμα	N	ΜΤ	ΤΑ	p
Ηλικία	Θετικό	61	23,74	1,7	0,665
	Αρνητικό/ αμφίβολο	307	23,57	2,9	

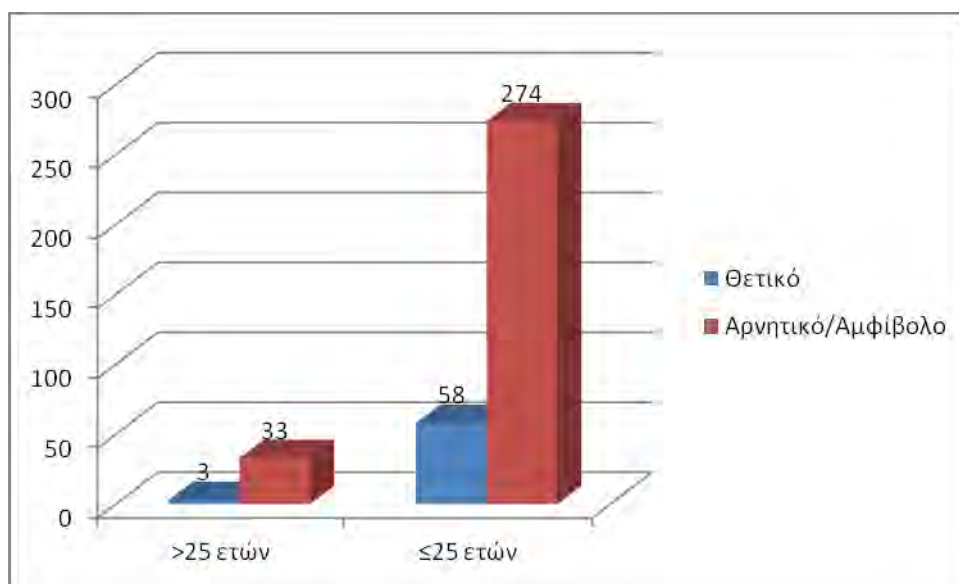
Ωστόσο, η κατανομή των αποτελεσμάτων σε σχέση με την ηλικία έδειξε μια ελάττωση των θετικών δειγμάτων με την πρόοδο της ηλικίας, με τη διαφορά να είναι έκδηλη μετά την ηλικία των 25 ετών (πίνακας 4).

Πίνακας 4. Κατανομή αποτελεσμάτων ανά ηλικία

		Αποτέλεσμα		Σύνολο
		Θετικό	Αρνητικό/αμφίβολο	
Ηλικία	20,00	3	41	44
	21,00	21	89	110
	22,00	15	80	95
	23,00	12	36	48
	24,00	7	28	35
	25,00	0	8	8
	26,00	1	9	10
	27,00	1	3	4
	28,00	0	4	4
	29,00	0	4	4
	30,00	1	1	2
	37,00	0	1	1
	38,00	0	1	1
	41,00	0	1	1
47,00	0	1	1	
Σύνολο		61	307	368

Όταν επιχειρήθηκε η στατιστική σύγκριση με σημείο τομής τα 25 έτη, βρέθηκε ότι πράγματι τα θετικά αποτελέσματα υπερτερούσαν στις ηλικίες άνω των 25 ετών, σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p=0,238$, με τη σημείωση του πολύ μικρού αριθμού θετικών δειγμάτων στην ηλικιακή ομάδα >25 ετών (3 δείγματα) (γράφημα 7). Σε περίπτωση που τα θετικά αποτελέσματα μελετούνταν μαζί με τα αμφίβολα ως μια ομάδα, η διαφορά εξανεμιζόταν ($\chi^2=0,220$, $p=0,639$) (πίνακας 5).

Γράφημα 7. Ηλικιακές ομάδες και θετικά/αρνητικά-αμφίβολα αποτελέσματα



Fischer exact test, $p=0,238$

Πίνακας 5. Ηλικιακή ομάδα και αποτελέσματα

		Αποτέλεσμα		Σύνολο
		Θετικό /αμφίβολο	Αρνητικό	
Ηλικιακή ομάδα	>25 ετών	8	28	36
	≤25 ετών	91	241	332
Σύνολο		99	269	368
$\chi^2=0,220$, $p=0,639$				

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο αποτέλεσμα της εξέτασης σε σχέση με το φύλο : Τα ποσοστά για τα θετικά, αρνητικά και αμφίβολα αποτελέσματα διαμορφώθηκαν για τους άνδρες σε 14,5%, 74,4%, 11,1% και για τις γυναίκες σε : 18,3%, 71,9%, 7,8% αντίστοιχα.

Πίνακας 6. Φύλο και αποτέλεσμα εξέτασης

		Αποτέλεσμα			Σύνολο
		Θετικό	Αρνητικό	Αμφίβολο	
Φύλο	Άνδρας	25	128	19	172
	Γυναίκα	36	141	19	196
Σύνολο		61	269	38	368
$\chi^2=1,051, p=0,591$					

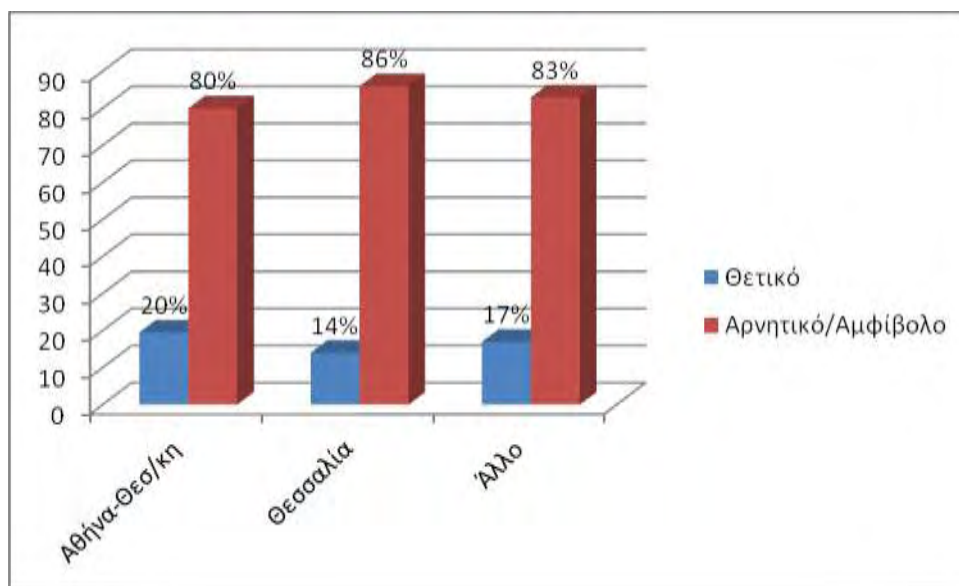
Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά, αναφορικά με το αποτέλεσμα και τον τόπο μόνιμης κατοικίας.

Πίνακας 7. Τόπος μόνιμης κατοικίας και αποτέλεσμα εξέτασης

		Αποτέλεσμα			Σύνολο
		Θετικό	Αρνητικό	Αμφίβολο	
Τόπος μόνιμης κατοικίας	Αθήνα-Θεσ/κη	16	53	13	82
	Θεσσαλία	12	68	5	85
	Άλλο	33	146	20	199
Σύνολο		61	267	38	366
$\chi^2=6,135, p=0,189$					

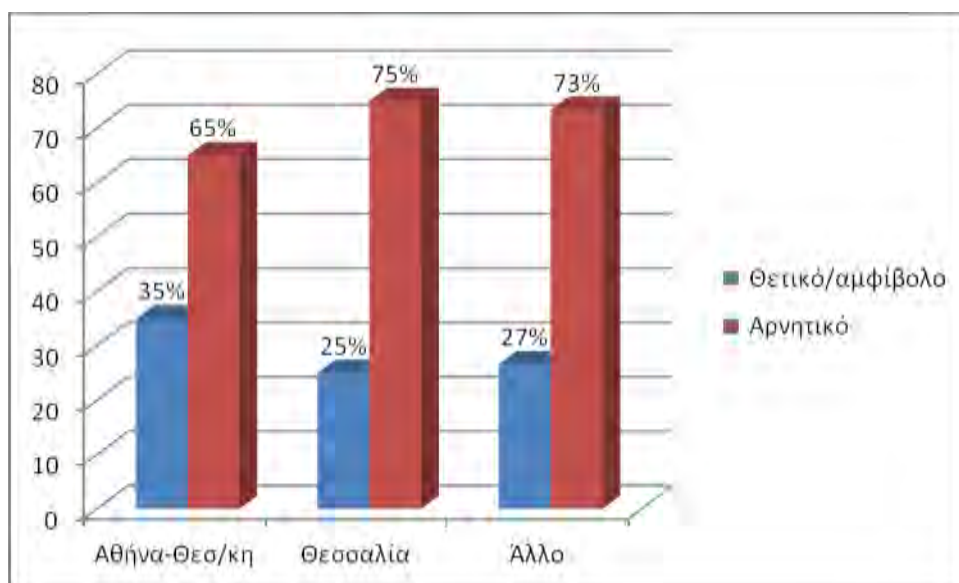
Σε συμφωνία με τον πίνακα 6, όταν το αποτέλεσμα αντιμετωπίστηκε ως δίτιμη μεταβλητή (θετικό και αρνητικό/ αμφίβολο) και εξετάστηκε σε σχέση με τον τόπο κατοικίας, το μεγαλύτερο ποσοστό θετικών δειγμάτων παρουσιάστηκε σε φοιτητές που δήλωσαν ως τόπο μόνιμης κατοικίας την Αθήνα/ Θεσσαλονίκη (20%), ακολουθούσαν οι φοιτητές από άλλες περιοχές της Ελλάδας (17%), ενώ το μικρότερο ποσοστό εμφάνισαν οι φοιτητές που κατοικούσαν μόνιμα στη Θεσσαλία (14%). Η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική : $\chi^2=0,877$, $p=0,645$ (Γράφημα 8)

Γράφημα 8. Συγκριτική παρουσίαση ποσοστών θετικών και αρνητικών/ αμφίβολων αποτελεσμάτων σε σχέση με τον τόπο μόνιμης κατοικίας



Όταν όμως τα θετικά / αμφίβολα αντιμετωπίστηκαν ως μία κατηγορία, το υψηλότερο ποσοστό παρουσιάστηκε σε φοιτητές από Αθήνα/ Θεσσαλονίκη (35,5%) , σε σχέση με φοιτητές από τη Θεσσαλία (25%) και την υπόλοιπη Ελλάδα (26,6%), με τη διαφορά να είναι ενδεικτική στατιστικής σημαντικότητας ($p<0,01$) : $\chi^2=5,032$, $p=0,081$.

Γράφημα 9. Συγκριτική παρουσίαση ποσοστών θετικών/ αμφίβολων και των αρνητικών αποτελεσμάτων σε σχέση με τον τόπο μόνιμης κατοικίας



Επίσης, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο αποτέλεσμα της εξέτασης σε σχέση με την κατοικία σε πόλη ή χωριό ($\chi^2=1,248$ $p=0,536$)

Πίνακας 8. Αποτέλεσμα και κατοικία σε πόλη/ χωριό

		Αποτέλεσμα			Σύνολο
		Θετικό	Αρνητικό	Αμφίβολο	
Κατοικία	Πόλη	44	189	30	263
	Χωριό	17	80	8	105
Σύνολο		61	269	38	368
$\chi^2=1,248$ $p=0,536$					

Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στη μέση κατανάλωση κρέατος ανά εβδομάδα ανάλογα με το αποτέλεσμα της εξέτασης : $t(366)=-1,828$, $p=0,068$, 2,55 (1,13) έναντι 2,87 (1,28) στην περίπτωση που τα αποτελέσματα ομαδοποιούνταν σε θετικά/ αμφίβολα και αρνητικά και $t(366)=-1,828$, $p=0,068$, 2,66 (1,16) έναντι 2,88 (1,29) όταν ομαδοποιούνταν σε θετικά και αρνητικά/ αμφίβολα, δίνοντας σχεδόν πανομοιότυπα αποτελέσματα (πίνακες 9 & 10).

Πίνακας 9. Αποτέλεσμα εξέτασης (θετικό/ αμφίβολο έναντι αρνητικού) και κατανάλωση κρέατος

	Αποτέλεσμα	N	ΜΤ	ΤΑ	p
Κατανάλωση κρέατος (φορές/εβδομάδα)	Θετικό/αμφίβολο	61	2,55	1,132	0,068
	Αρνητικό	307	2,87	1,288	

Πίνακας 10. Αποτέλεσμα εξέτασης (θετικό έναντι αρνητικό / αμφίβολο) και κατανάλωση κρέατος

	Αποτέλεσμα	N	ΜΤ	ΤΑ	p
Κατανάλωση κρέατος (φορές/εβδομάδα)	Θετικό	99	2,66	1,169	0,068
	Αρνητικό/αμφίβολο	269	2,88	1,299	

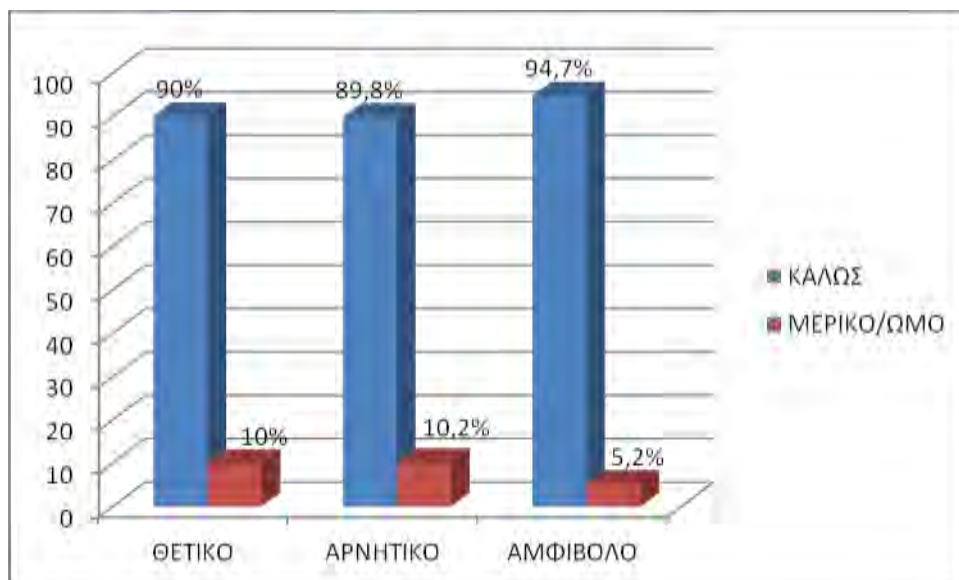
Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά το βαθμό ψησίματος του κρέατος (καλώς ή μερικώς ψημένο/ωμό) και το αποτέλεσμα της εξέτασης (LR=1,082, p=0,585) (πίνακας 10).

Πίνακας 11. Τρόπος ψησίματος και αποτέλεσμα εξέτασης

		Αποτέλεσμα			Σύνολο
		Θετικό	Αρνητικό	Αμφίβολο	
Τρόπος ψησίματος	Καλώς	54	239	36	329
	Μερικώς/ωμό	6	27	2	35
Σύνολο		60	266	38	364
LR=1,082, p=0,585					

Σημειώνεται ωστόσο ότι στην περίπτωση των αμφίβολων αποτελεσμάτων, το ποσοστό εκείνων που κατανάλωναν κρέας μερικώς ψημένο / ωμό αντιστοιχούσε στο 5,2% των αμφίβολων δειγμάτων, όταν στις άλλες δύο κατηγορίες, το ποσοστό αυτό ήταν σχεδόν το διπλάσιο (γράφημα 10).

Γράφημα 10. Αποτέλεσμα και τρόπος ψησίματος του κρέατος



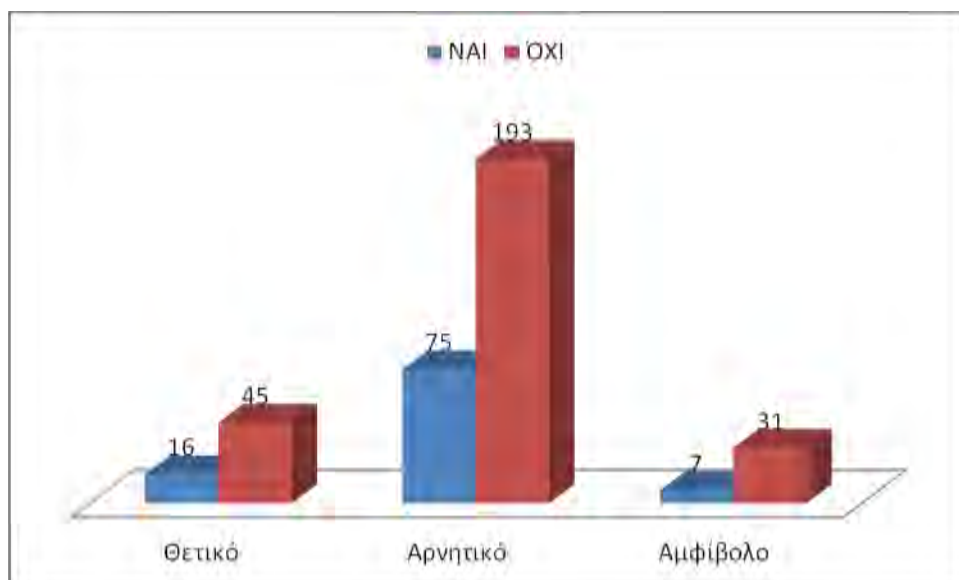
Επίσης, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο αποτέλεσμα της εξέτασης σε σχέση με τον τρόπο ψησίματος, όταν τα αποτελέσματα χωρίστηκαν σε δυο κατηγορίες (θετικά και αρνητικά/αμφίβολα), αφού τα ποσοστά ήταν σχεδόν πανομοιότυπα. Όσοι είχαν θετικά δείγματα, κατανάλωναν το κρέας μερικώς ωμό σε ποσοστό 10% (6/60) και επί των αρνητικών / αμφίβολων δειγμάτων, το ποσοστό ήταν 9,6% (29/304).

Πίνακας 12. Τρόπος ψησίματος και αποτέλεσμα εξέτασης (θετικό έναντι αρνητικό/αμφίβολο)

		Αποτέλεσμα		Σύνολο
		Θετικό	Αρνητικό /αμφίβολο	
Τρόπος ψησίματος	Καλώς	54	275	329
	Μερικώς/ωμό	6	29	35
Σύνολο		60	304	364
$\chi^2 < 0,000, p \approx 1,000$				

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά, αναφορικά με την κατοχή γάτας και το αποτέλεσμα της εξέτασης ($\chi^2=1,654$ $p=0,458$)

Γράφημα 11. Κατοχή γάτας και αποτέλεσμα εξέτασης



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι όσοι φοιτητές διέμεναν μόνιμα σε αστικές περιοχές και ήταν ηλικίας μικρότερης των 25 ετών είχαν περισσότερες πιθανότητες να έχουν θετικά δείγματα. Τα δεδομένα αυτά έρχονται σε αντίθεση με κάποια από τα παραδοσιακά επιδημιολογικά χαρακτηριστικά της νόσου, σύμφωνα με τα οποία η νόσος είναι συχνότερη σε άτομα που προέρχονται από αγροτικές περιοχές. Ωστόσο το εύρημα αυτό συναντάται και σε άλλες μελέτες. Πράγματι αν και σε πολλές μελέτες αναφέρεται αυξημένος επιπολασμός οροθετικότητας στις αγροτικές περιοχές, η σχέση αυτή δε θα πρέπει να θεωρείται δεδομένη, καθώς αυξημένα ποσοστά παρατηρούνται και σε αστικές περιοχές. Οι διαφορές στον επιπολασμό αντανακλούν περισσότερο διαφορές στο κοινωνικοοικονομικό επίπεδο (υγιεινή, διατροφικές συνήθειες, είδος εργασίας). Διαφορές σε σχέση με την ηλικία συνδυάζονται με παλαιότερες εξάρσεις της νόσου, ενώ η ύπαρξη κατοικιδίων συνιστά επιβαρυντικό παράγοντα, χωρίς ωστόσο να παραγνωρίζεται ο ρόλος και άλλων ενδιάμεσων ξενιστών (πχ ποντικών). Κοινή διαπίστωση πάντως είναι ότι ο επιπολασμός της νόσου υποχωρεί την τελευταία 15ετία στις δυτικοευρωπαϊκές χώρες. Αλλά και στις ΗΠΑ, ο επιπολασμός του *T. gondii* φαίνεται να υποχωρεί. Έχει αναφερθεί επιπολασμός οροθετικότητας (seroprevalence) 14,1% κατά τη διάρκεια των ετών 1988-1994 σε άτομα 12-49 ετών, ενώ οροθετικότητα 9,0% έχει αναφερθεί κατά τη διάρκεια των ετών 1999-2004 στην ίδια ηλικιακή ομάδα (οι τιμές για τον επιπολασμό αυτών των δύο χρονικών περιόδων προσαρμόστηκαν για την ηλικία και τυποποιήθηκαν για τον πληθυσμό των ΗΠΑ, για να γίνει σύγκριση) (Nutter et al., 1998, Nutter et al., 2004). Στην πρόσφατη (2010) μελέτη των Hofhuis et al στην Ολλανδία βρέθηκε ότι η οροθετικότητα ήταν συχνότερη στις αστικές περιοχές, σε όσους κατανάλωναν ωμό χοιρινό και είχαν γάτα. Και εδώ όμως ο επιπολασμός της οροθετικότητας φαίνεται υποχωρεί από το 40% το 1996/1997 στο 26% το 2006/2007. Αν και ο επιπολασμός μεταξύ αγροτικών και αστικών περιοχών δε διέφερε σε μελέτη στη Σλοβακία οι διατροφικές συνήθειες, όπως η κατανάλωση ωμού κρέατος, ωμών λαχανικών και φρούτων συνδυάστηκε με αυξημένη οροθετικότητα στις γυναίκες (Studenicová et al 2006). Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε μεγάλο δείγμα εγκύων γυναικών στη Νορβηγία βρέθηκε ότι ο επιπολασμός κυμαινόταν περίπου στο

13%, με την επίπτωση να είναι στο 3,5%. Ο επιπολασμός οροθετικότητας ήταν αυξημένος στις αγροτικές περιοχές και στις δυτικές συνοικίες της πρωτεύουσας. Η διαβίωση σε αγροτικές διαφορές και το χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο συνδυάζονται με αυξημένο επιπολασμό οροθετικότητας (Dias et al 2011, Vilibic-Cavlek et al 2011). Οι διαφορές στην επίπτωση της οροθετικότητας με την πρόοδο της ηλικίας που παρατηρήθηκαν σε ορισμένες περιοχές στη Σουηδία αντανακλούν αντίστοιχες διαφορές στην επίπτωση της νόσου σε παρελθόντα έτη, χωρίς ωστόσο να παρατηρούνται διαφορές μεταξύ αστικών και αγροτικών περιοχών. Οι διαφορές μεταξύ αγροτικών και αστικών περιοχών ήταν αμβληχρές και στη Δανία, όπως διαπιστώθηκε σε παλαιότερη μελέτη (Stray-Petersen & Lorentzen-Styr 1995, Lebech et al 1993).

Παράγοντες που συμβάλλουν στην αυξημένη επίπτωση της νόσου στις αστικές περιοχές είναι οι εναλλακτικοί τρόποι μετάδοσης και οι συνθήκες υγιεινής. Έχει βρεθεί ότι ποντίκια μπορούν να δράσουν ως ενδιάμεσοι ξενιστές και να συμβάλλουν στην επιμονή και τη διάδοση της νόσου, διατηρώντας έτσι υψηλό επιπολασμό οροθετικότητας και στις αστικές περιοχές (Murphy et al 2008). Σε κοινότητες χαμηλού κοινωνικοοικονομικού επιπέδου η μόλυνση τείνει να εμφανίζεται στην παιδική-εφηβική ηλικία, και νωρίς κατά την ενήλικη ζωή. Οι σκύλοι επίσης λειτουργούν ως μηχανικοί φορείς του παρασίτου, καθώς καταπίνουν κοπρανώδες υλικό και μεταφέρουν ποσότητες χόματος, ενδεχομένως μολυσμένου. Σε έρευνα στη Βραζιλία βρέθηκε ότι η ορομετατροπή των IgG ήταν υψηλή στις γυναίκες ηλικίας μικρότερης των 25 ετών και στις χαμηλότερες εισοδηματικές τάξεις. Η κατανάλωση νωπών λαχανικών πλυμένων με νερό αμφίβολης ποιότητας, η κατανάλωση κοτόπουλου και η κατοχή σκύλου συσχετίστηκαν με αυξημένη συχνότητα IgG αντισωμάτων (Sroka et al 2010).

Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι εκτός από τους «παραδοσιακούς» τρόπους μετάδοσης της νόσου, με τους οποίους ίσως είναι εξοικειωμένο και το ευρύ κοινό, έμφαση πρέπει να δοθεί και στους εναλλακτικούς τρόπους μετάδοσης, η οποία μπορεί να αποσοβηθεί αν τηρούνται βασικοί κανόνες υγιεινής και αν τα δίκτυα ύδρευσης συντηρούνται ικανοποιητικά, γεγονός που σε εποχές οικονομικής ένδειας αποκτά ιδιαίτερη σημασία. Ο τρόπος παρασκευής των τροφών, ανεξάρτητα αν πρόκειται για αγροτικές ή αστικές περιοχές σχετίζεται με τη μετάδοση του παρασίτου. Υπολογίζεται ότι 50% των μολύνσεων προκαλούνται από την κατανάλωση ωμού ή μισοψημένου μολυσμένου κρέατος. Μόλυνση όμως μπορεί να

συμβεί και με άλλους τρόπους, όπως με την κατανάλωση μολυσμένης τροφής (ωμά μολυσμένα φρούτα και λαχανικά που δεν πλύθηκαν), πίνοντας νερό μολυσμένο με ώριμες ωοκύστες του *T. gondi* ή με την ενασχόληση με χώμα, μολυσμένο λίπασμα, κόπρανα γάτας ή ωμό κρέας και στη συνέχεια με το άγγιγμα του στόματος, των ματιών ή της μύτης χωρίς να μεσολαβήσει πλύσιμο. Μόλυνση μπορεί ακόμα να γίνει και με το μη σωστό πλύσιμο των χεριών, των μαχαιριών και των σκευών που χρησιμοποιήθηκαν για την κοπή ωμού κρέατος. Το νόσημα μπορεί να εμφανιστεί και ως επιδημία, σε περίπτωση μόλυνσης των υδάτων που τροφοδοτούν τους κατοίκους πόλεων με κόπρανα μολυσμένων με τοξόπλασμα αιλουροειδών (όπως είναι οι γάτες) (Stroka et al 2010). Η αυξημένη συχνότητα ανεύρεσης αντισωμάτων σε αστικούς πληθυσμούς μαρτυρά την πλημμελή τήρηση κανόνων υγιεινής, αλλά και την αλληλεπίδραση μεταξύ ανθρώπων και άγριας ζωής, πράγμα που σημαίνει ότι άνθρωποι και ζώα μοιράζονται τις ασθένειές τους με όλο και υψηλότερο ρυθμό, όπως προέκυψε από μελέτη στις ΗΠΑ, όπου για τη μετάδοση του παρασίτου έχουν ενοχοποιηθεί οι αγριόγατες που ζουν στις αστικές περιοχές, οι οποίες και ήταν περισσότερο πιθανό να μεταφέρουν παράσιτα σε σχέση με τις γάτες της επαρχίας. Επίσης, αυξημένος κίνδυνος υπάρχει όταν οι γάτες καταναλώνουν ωμό κρέας ή καταπίνουν δυναμικά μηχανικούς φορείς της παρασίτωσης όπως είναι οι μύγες και οι κατσαρίδες (Dubey & Jones 2009).

Περιορισμοί

Στη μελέτη περιελήφθη, λόγω του αρχικού σχεδιασμού, μικρός αριθμός ατόμων ηλικίας άνω των 25 ετών και τα αποτελέσματα θα πρέπει να ερμηνεύονται με επιφύλαξη. Επίσης, δεν υπήρξε λεπτομερής καταγραφή των αστικών περιοχών που οι φοιτητές δήλωσαν ως τόπο διαμονής, ούτε τέθηκαν πληθυσμιακά κριτήρια για τον ακριβή χαρακτηρισμό τους, ενώ τα δεδομένα προέρχονταν από ένα μόνο ΤΕΙ της επαρχίας. Πρόκειται για αγροτική περιοχή, με διαφορετικές εμπειρίες νόσου, με καλύτερη εξοικείωση με ζωνόσους και σχετικά υψηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο.

Επίσης, δεν ήταν δυνατό να προσδιοριστεί ο χρόνος μόλυνσης και παραμένει η πιθανότητα κάποιο ποσοστό ορομετατροπής να έλαβε χώρα κατά το χρόνο της φοιτητικής ζωής. Ακόμα, η ακριβέστερη καταγραφή διατροφικών συνηθειών (είδος κρέατος, ποσότητες/γεύματα/ωμά λαχανικά) και του τρόπου παρασκευής τους

πιθανόν να οδηγούσε σε ασφαλέστερα συμπεράσματα. Ακόμα, δεν έγινε επανέλεγχος των αμφίβολων δειγμάτων, λόγω αντικειμενικών δυσχερειών. Ωστόσο η συμφωνία των ευρημάτων της παρούσας μελέτης με εκείνα πρόσφατων διεθνών μελετών συνηγορεί υπέρ μιας μεταβολής στα παραδοσιακά επιδημιολογικά χαρακτηριστικά της νόσου και μπορεί να αποτελέσει την αφετηρία για τη διεξαγωγή μελετών μεγαλύτερης κλίμακας.

Προτάσεις

Μελλοντικές έρευνες θα πρέπει να εστιάσουν στις συνθήκες υγιεινής και διαβίωσης των νέων ανθρώπων στις μεγαλουπόλεις και ιδιαίτερα στις πιο υποβαθμισμένες περιοχές τους, στις οποίες και θα πρέπει να παρακολουθηθεί η επίπτωση της ορομετατροπής και της παρασίτωσης ιδιαίτερα στις εγκύους και να ληφθούν τα αντίστοιχα μέτρα προστασίας της δημόσιας υγείας με κύριο στόχο την ενημέρωση των πολιτών.

Πράγματι, η πρόληψη της τοξοπλάσμωσης στον άνθρωπο βασίζεται στη σωστή ενημέρωση. Επομένως δεν θα πρέπει να καταναλώνεται ωμό ή ατελώς θερμικά επεξεργασμένο κρέας και θα πρέπει να τηρείται σχολαστική προσωπική υγιεινή, ιδιαίτερα όταν ο άνθρωπος έρχεται σε επαφή με ωμό κρέας (κρεοπώλες, σφαγείς, μάγειροι) ή με τα κόπρανα ύποπτης γάτας. Η σωστή πληροφόρηση του πληθυσμού για τα μέτρα πρόληψης, θα μειώσει και πιθανά θα εξαλείψει τον κίνδυνο μετάδοσης της νόσου στον άνθρωπο. Συγκεκριμένα, προτείνονται τα εξής :

-Η σωστή πληροφόρηση.

-Αποφυγή κατανάλωσης ωμού ή ατελώς ψημένου κρέατος.

-Τήρηση προσωπικής υγιεινής με πλύσιμο χεριών με σαπούνι προτού αυτά έρθουν σε επαφή με το στόμα απευθείας, ή μέσω της τροφής, ή το κάπνισμα.

-Η αποφυγή χρησιμοποίησης των ίδιων σκευών, εργαλείων και επιφανειών εργασίας (πάγκων) που χρησιμοποιήθηκαν προηγουμένως για την κατεργασία ωμού κρέατος, για την κατεργασία άλλων τροφών που θα καταναλωθούν ωμά (π.χ. λαχανικά, φρούτα) αν προηγουμένως δεν έχουν καθαριστεί σωστά.

- Η αποφυγή κατανάλωσης ατελώς πλυμένων λαχανικών και φρούτων.

- Χρησιμοποίηση προστατευτικών γαντιών κατά τις κηπευτικές εργασίες ή σε σημεία όπου πιθανά μπορεί να υπάρχουν κόπρανα μολυσμένης γάτας.
- Αποφυγή κοινόχρηστων περιοχών με άμμο (παιδικές χαρές, αθλητικοί χώροι) από μικρά παιδιά, όταν αυτές είναι χώροι αφόδευσης αδέσποτων γατών.
- Αποφυγή χαιδέματος σκύλου ο οποίος προηγουμένως κυλίστηκε πάνω σε κόπρανα γάτας πριν αυτός πλυθεί επιμελώς.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. *Toxoplasma gondii*. Βάση διαχείρισης παρασίτων. <http://www.aua.gr/parasites/parasite.php?id=38>

Πρόσβαση: 07.11.2012

Δρόσου-Αγακίδου Β. (2011). 12. *Ενδομήτριες και Περιγεννητικές Λοιμώξεις στο: Λοιμώξεις νεογνού-Συγγενείς λοιμώξεις.*

Κέντρο Ελέγχου & Πρόληψης Νοσημάτων (2012). *Συγγενής τοξοπλάσμωση.*

http://www.keelrno.gr/el-gr/νοσήματαθέματαυγείας/λοιμώδη_νοσήματα/συγγενήςτοξοπλάσμωση.aspx#10

Πρόσβαση: 07.11.2012

Κρεατσάς Κ. Γ., Δενδρινός Σπ. (2005). «*Ο ρόλος του Toxoplasma Gondii στις καθ' έξιν αποβολές*». Αρεταίειο Νοσοκομείο. Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών. Ασκληπιακό Πάρκο Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών. <http://panacea.med.uoa.gr/topic.aspx?id=430>

Παπαϊωάννου, Τ., Φερεντίνος Κ.(2000) *Ιατρική Στατιστική και Στοιχεία Βιομαθηματικών*, Εκδόσεις ΣΤΑΜΟΥΛΗ, Αθήνα

Σιώχου Α., Τουπλικιώτη Π., Παπαζαχαριάδου Μ. (2004). «*Προσδιορισμός αντισωμάτων IgG και IgM έναντι τοξοπλάσματος σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας*». *Ελληνική Μαιευτική & Γυναικολογία/Hellen Obstet Gynecol*; 16(3): 360-363.

Ξένη

Centers for Disease Control and Prevention (2009). “*Guidelines for Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV Infected Adults and Adolescents; Recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America*”. **MMWR**; 58(No. RR-4), 200–202. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5804a1.htm>

Conrada A. P., Millerb A. M., Kreudera C., Jamesd R. E., Mazeta J., Dabritza H., Jessupb A. D., Frances Gullande M. E. (2005). “*Transmission of Toxoplasma: Clues from the study of sea otters as sentinels of Toxoplasma gondii flow into the marine environment*”. **Int J Parasitol**; (35):1155–1168.

Cortina-Borja M., Tan H. K., Wallon M., Paul M., Prusa A., Buffolano W., Malm G., Salt A., Freeman K., Petersen E., Gilbert R. E., European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (EMSCOT) (2010). “*Prenatal treatment for serious neurological sequelae of congenital toxoplasmosis: an observational prospective cohort study*”. **PLoS Med.**; 7(10): pii: e1000351

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2953528/pdf/pmed.1000351.pdf>

Dias RC., Lopes-Mori FM., Mitsuka-Breganó R., Dias RA., Tokano DV., Reiche EM., Freire RL., Navarro IT. (2011). “*Factors associated to infection by Toxoplasma gondii in pregnant women attended in Basic Health Units in the city of Rolândia, Paraná, Brazil*”. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**; 53(4):185-91.

Dubey J.P., and Beattie C.P. (1988). *Toxoplasmosis of animals and Man*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 52, URL:

<http://www.pathobio.sdu.edu.cn/sdjsc/engparabook/ch084.htm>

Dubey J.P. and Jones J.L. (2008). “*Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States”. **Int J Parasitol** ; 38(11):1257-78.

Dubey J. P., Graham D. H., Dahl E., Hilali M., El-Ghaysh A., Sreekumar C., Kwok O. C., Shen S. K., Lehmann T. (2003). “*Isolation and molecular characterization of Toxoplasma gondii from chickens and ducks from Egypt*”. **Vet Parasitol**; 114: 89–95. <http://naldc.nal.usda.gov/download/15125/PDF>

Elbez-Rubenstein A. (2009). “*Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review*”. **J. Infect. Dis.**; 199, 280–285.

<http://jid.oxfordjournals.org/content/199/2/280.full.pdf>

Elmore S. A., Jones J. L., Conrad P. A., Patton S., Lindsay D. S., Dubey J. P. (2010). “*Toxoplasma gondii: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention*”. **Trends Parasitol**;26(4):190-6.

<http://www.cbpv.com.br/artigos/1268917963.pdf>

Freeman K., Oakley L., Pollak A., Buffolano W., Petersen E., Semprini A. E., Salt A., Gilbert R. (2005). “*European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis. Association between congenital toxoplasmosis and preterm birth, low birth weight and small for gestational age birth*”. **BJOG**;112(1):31-7.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-0528.2004.00299.x/pdf>

Fuentes I., Rubio M. J., Ramirez C., Alvar J. (2001). “*Genotypic Characterization of Toxoplasma gondii Strains Associated with Human Toxoplasmosis in Spain: Direct Analysis from Clinical Samples*”. **J Clin Microbiol** ; 39 (4):1566–1570

Gilbert R.E. and Peckham C. S. (2002). “*Congenital toxoplasmosis in the United Kingdom: to screen or not to screen?*” **J Med Screen**;9: 135-141.

<http://jms.rsmjournals.com/content/9/3/135.long>

Gkogka E., Reij M. W., Havelaar A. H., Zwietering M. H., Gorris L. G. M. (2011). “*Risk-based estimate of effect of foodborne diseases on public health, Greece*”. **Emerg Infect Dis.**; 17(9): 1581–1590.

Hendricks M. (2009). *Could a common microbe, passed along through feline waste, raise the risk for schizophrenia? Neurovirologist Bob Yolken and colleagues are building the case.* The Johns Hopkins University Online version.

Hofhuis A., van Pelt W., van Duynhoven YT., Nijhuis CD., Mollema L., van der Klis FR., Havelaar AH., Kortbeek LM. (2011). “*Decreased prevalence and age-specific risk factors for Toxoplasma gondii IgG antibodies in The Netherlands between 1995/1996 and 2006/2007*”. **Epidemiol Infect** ; 139(4):530-8.

Jones L. J., Kruszon-Moran D., Sanders-Lewis K., and Wilson M. (2007). “*Toxoplasma gondii infection in the United States, 1999-2004, decline from the prior decade*”. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**; 77 405–410.

<http://www.ajtmh.org/content/77/3/405.full.pdf+html>

Jones L. J., Kruszon-Moran D., Wilson M., McQuillan G., Navi T., McAuley B. J. (2001). "*Toxoplasma gondii* Infection in the United States: Seroprevalence and Risk Factors". **Am J Epidemiol**;154:357–65.

<http://aje.oxfordjournals.org/content/154/4/357.full.pdf>

Kapperud G., Jenum A. P., Stray-Pedersen B., Melby K. K., Eskild A., Eng J. (1996). "*Risk Factors for Toxoplasma gondii* Infection in Pregnancy. Results of a Prospective Case-Control Study in Norway". **Am J Epidemiol**; 144(4) <http://aje.oxfordjournals.org/content/144/4/405.full.pdf>

Lebech M., Larsen SO., Petersen E. (1993). "*Prevalence, incidence and geographical distribution of Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women in Denmark". **Scand J Infect Dis**;25(6):751-6.

Ljungström I., Gille E., Nokes J., Linder E., Forsgren M. (1995). "*Seroepidemiology of Toxoplasma gondii* among pregnant women in different parts of Sweden". **Eur J Epidemiol**;11(2):149-56.

Messaritakis I., Detsika M., Koliou M., Sifakis S., Antoniou M. (2008). "*Prevalent Genotypes of Toxoplasma gondii* in Pregnant Women and Patients from Crete and Cyprus". **Am. J. Trop. Med. Hyg.**; 79(2), pp. 205–209.

Montoya J. G. and Remington J. S. (2008). "*Management of Toxoplasma gondii* infection during pregnancy". **Clin Infect Dis**; 47: 554-566.

<http://cid.oxfordjournals.org/content/47/4/554.full.pdf+html>

Morisaki H. J., Heuser E. J., Sibley D. L. (1995). "*Invasion of Toxoplasma gondii* occurs by active penetration of the host cell". **Emerg Infect Dis**; 108: 2457-2464.

Mortensen B. P., Nørgaard-Pedersen B., Waltoft L. B., Sørensen L. T., Hougaard D., Yolken H. R. (2007). “*Early Infections of Toxoplasma gondii and the Later Development of Schizophrenia*”. **Schizophr Bull**; 33 (3) 741–744.

Murphy RG., Williams RH., Hughes JM., Hide G., Ford NJ., Oldbury DJ. (2008). “*The urban house mouse (Mus domesticus) as a reservoir of infection for the human parasite Toxoplasma gondii: an unrecognised public health issue*”? **Int J Environ Health Res**; 18(3):177-85.

Nguyen C. (2006). *Toxoplasmosis*. Stanford University.

<http://www.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006/Toxoplasmosis/lifecycle.html>

<http://www.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006/Toxoplasmosis/history.html>

<http://www.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006/Toxoplasmosis/symptoms.html>

<http://www.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006/Toxoplasmosis/diagnosis.html>

<http://www.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006/Toxoplasmosis/treatment.html>

<http://www.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006/Toxoplasmosis/prevention.html>

Nutter FB., Levine JF., Stoskopf MK., Gamble HR., Dubey JP. (1998). “*Seroprevalence of Toxoplasma gondii and Trichinella spiralis in North Carolina black bears (Ursus americanus)*”. **J Parasitol**; 84:1048–1050.

Nutter FB., Dubey JP., Levine JF., Breitschwerdt EB., Ford RB., Stoskopf MK. (2004). “*Seroprevalence of antibodies against Bartonella henselae and Toxoplasma gondii and fecal shedding of Cryptosporidium spp., and Toxocara cati in feral and pet domestic cats*”. **J Am Vet Med Assoc**; 225:1394–1398

Press, C., Montoya, J. G., Remington J. S. (2005). “*Use of a Single Serum Sample for Diagnosis of Acute Toxoplasmosis in Pregnant Women and Other Adults*”. **J Clin Microbiol**;43(7):3481-3483.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1169102/pdf/0154-05.pdf>

Sabri, M. (2011). *Toxoplasma gondii*.

http://www.uobabylon.edu.iq/uobColeges/ad_downloads/4_26576_469.pdf

Sroka S., Bartelheimer N., Winter A., Heukelbach J., Ariza L., Ribeiro H., Oliveira FA., Queiroz AJ., Alencar C Jr., Liesenfeld O. (2010). “*Prevalence and risk factors of toxoplasmosis among pregnant women in Fortaleza, Northeastern Brazil*”. **Am J Trop Med Hyg**; 83(3):528-33.

Stray-Pedersen B., Lorentzen-Styr AM. (1979). “*The prevalence of toxoplasma antibodies among 11,736 pregnant women in Norway*”. **Scand J Infect Dis**, 11(2):159-65.

Studenicová C., Bencaiová G., Holková R. (2006). “*Seroprevalence of Toxoplasma gondii antibodies in a healthy population from Slovakia*”. **Eur J Intern Med**; 17(7):470-3.

SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis) study group, Thiébaud R, Leproust S, Chêne G, Gilbert R. (2007). “*Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data*”. **Lancet**; 369:115-22. www.oek.hu/oekfile.pl?fid=1304

Tenter M. A., Heckeroth R. A., Weiss M. L. (2000). “*Toxoplasma gondii: from animals to humans*”. **Int J Parasitol.**; 30(12-13): 1217–1258.

Thalib L., Gras L., Romand S., Prusa A., Bessieres M. H., Petersen E., Gilbert R. E. (2005). “*Prediction of congenital toxoplasmosis by polymerase chain reaction analysis of amniotic fluid*”. **BJOG**;112: 567-574.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-0528.2005.00486.x/pdf>

Torrey F. E. and Yolken H. R. (2003). “*Toxoplasma gondii and Schizophrenia*”. **Emerg Infect Dis**; 9 (11): 1375-1380

Torrey F. E. and Yolken H. R. (2007). “*Editors’ Introduction: Schizophrenia and Toxoplasmosis*”. **Schizophr Bull**; 33(3):727–728.

Vilibic-Cavlek T., Ljubin-Sternak S., Ban M., Kolaric B., Sviben M., Mlinaric-Galinovic G. (2011). “*Seroprevalence of TORCH infections in women of childbearing age in Croatia*”. **J Matern Fetal Neonatal Med**; 24(2):280-3.

Vogel N., Kirisits M., Michael E., Bach H., Hostetter M., Boyer K., Simpson R., Holfels E., Hopkins J., Mack D., Mets M. B., Swisher Cn., Patel D., Roizen N., Stein L., Styein M., Withers S., Mui E., Egwuagu C., Remington J., Dorfman R., McLeod R. (1996). “*Congenital toxoplasmosis transmitted from an immunologically competent mother infected before conception*”. **Clin Infect Dis**; 23:1055-1060.

<http://cid.oxfordjournals.org/content/23/5/1055.long>

Zia-Ali N., Fazaeli A., Khoramizadeh M., Ajzenberg D., Darde M., Keshavarz-Valian H. (2007). “*Isolation and molecular characterization of Toxoplasma gondii strains from different hosts in Iran*”. **Parasitol Res**; 101: 111–115.

http://download.springer.com/static/pdf/182/art%253A10.1007%252Fs00436-007-0461-7.pdf?auth66=1353083831_80d6e275eaddf4bd8a37eeb3257ff9b6&ext=.pdf