Prawidłowe rozpoznanie toksoplazmozy u kobiet ciężarnych — ważność badań diagnostycznych oraz nowe możliwości

Proper diagnosis of toxoplasmosis among pregnant women — importance of diagnostic investigations and new possibilities

Lucyna Holec-Gąsior[1], Dariusz Lautenbach[2], Dorota Drapała[1], Józef Kur[1]

[1]Katedra Mikrobiologii, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska
[2]Klinika Położnictwa, Gdański Uniwersytet Medyczny

STRESZCZENIE

Artykuł opisuje problem toksoplazmozy, kliniczne objawy choroby, leczenie, aktualną diagnostykę oraz nowe możliwości testów diagnostycznych. Ponadto, przedstawiono istotne zagadnienia obejmujące aktualnie prowadzone badania naukowe, które dotyczą zastosowania nowych narzędzi diagnostycznych (rekombinantowych antygenów *T. gondii*) w serodiagnostyce toksoplazmozy.

Forum Medycyny Rodzinnej 2010, tom 4, nr 4, 255–262

słowa kluczowe: *Toxoplasma gondii*, toksoplazmoza, diagnostyka serologiczna, antygeny rekombinantowe

ABSTRACT

The article describes the problem of toxoplasmosis, the clinical manifestations of infection, treatment, current diagnosis of *T. gondii* infection and new possibility of diagnostic tests. Furthermore, important topics of current research which concern usage of new diagnostic tools (recombinant antigens of *T. gondii*) for serological test were presented.

Forum Medycyny Rodzinnej 2010, vol. 4, nr 4, 255–262

key words: *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, serological diagnosis, recombinant antigens

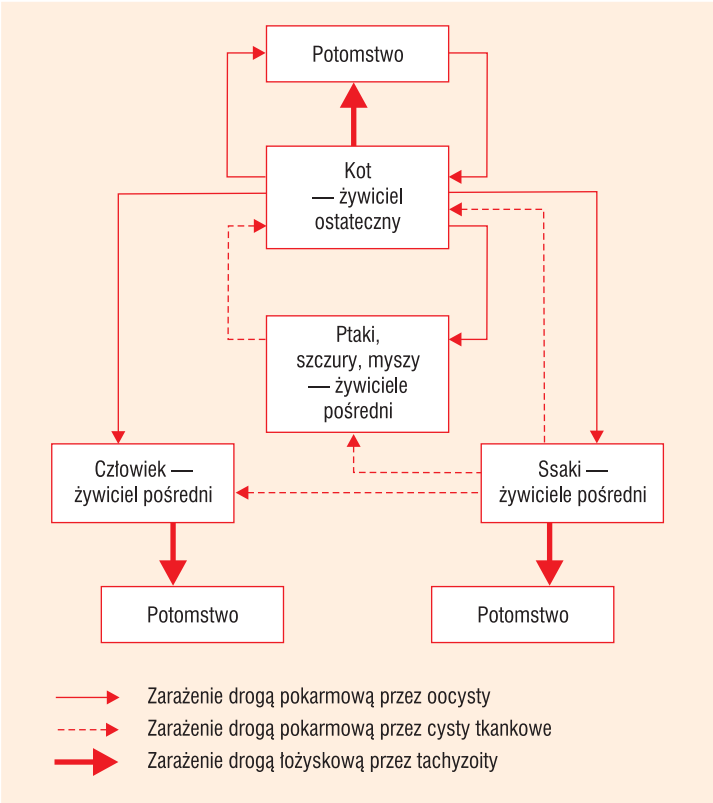
Adres do korespondencji:
dr inż. Lucyna Holec-Gąsior
Katedra Mikrobiologii, Wydział Chemiczny,
Politechnika Gdańska
ul. Narutowicza 11/12
80–233 Gdańsk
tel.: (58) 347–24–06, faks: (58) 347–18–22,
e-mail: holec@pg.gda.pl

Copyright © 2010 Via Medica
ISSN 1897–3590

WSTĘP

Toxoplasma gondii jest kosmopolitycznym pierwotniakiem poliksenicznym, bezwzględnym pasożytem wewnątrzkomórkowym występującym powszechnie u człowieka oraz u większości zwierząt stałocieplnych (ssaki, ptaki). U swoich żywicieli występuje w postaci trzech form rozwojowych [1]: 1) tachyzoitu — formy wegetatywnej pasożyta, 2) cysty tkankowej — zawierającej wewnątrz bradyzoity oraz 3) oocysty — formy przetrwalnej zwierającej sporozoity. Rozwój pasożyta w organizmie żywiciela może przebiegać na dwa sposoby. U żywiciela pośredniego (człowiek, niektóre ssaki i ptaki) następuje tylko rozwój bezpłciowy (schizogonia), z którym jest związana forma rozwojowa tachyzoitu i bradyzoitu. Z kolei rozwój płciowy (gametogonia) może zachodzić tylko w komórkach nabłonkowych błony śluzowej jelita cienkiego kotowatych (*Felidae*), w tym u kota domowego (*Felis catus*) [2], i prowadzi do powstania oocyst pasożyta zawierających sporozoity, które wraz z kałem zarażonego zwierzęcia trafiają do środowiska zewnętrznego. W populacji ludzkiej częstość zarażenia jest uzależniona od bardzo wielu czynników, na przykład od panującego klimatu, sposobu odżywiania oraz ogólnych warunków sanitarno-epidemiologicznych panujących na danym terenie. Najwyższe odsetki zarażeń występują w klimacie umiarkowanym i ciepłym, z uwagi na optymalną temperaturę i wilgotność środowiska sprzyjającą sporulacji i długiemu okresowi przetrwania oocyst. To właśnie pokarm zanieczyszczony oocystami wydalanymi przez kota lub półsurowe mięso zwierząt hodowlanych (głównie owiec i świń) zawierające cysty tkankowe pasożyta stanowią najczęstsze źródło zarażenia *T. gondii* u ludzi (ryc. 1). Poza drogą pokarmową do zarażenia pasożytem może dojść także przez łożysko — taka droga transmisji dotyczy płodów zarażonych podczas czynnej, pierwotnej inwazji u matki w czasie ciąży. Sporadycznie człowiek może się także zarazić podczas transfuzji krwi lub przeszczepu zakażonych narządów oraz na przykład w trakcie pracy z materiałem zakaźnym, co dotyczy jedynie personelu laboratoryjnego [3].

Toksoplazmoza może mieć jednak bardzo ciężki przebieg u płodów (zarażonych drogą łożyskową) oraz u osób z niedoborem odporności



Rycina 1. Główne drogi transmisji pasożyta *Toxoplasma gondii* [2]

OBJAWY KLINICZNE CHOROBY

U ludzi z prawidłowo funkcjonującym układem immunologicznym zarażenie pasożytem (toksoplazmoza) w większości przypadków przebiega bezobjawowo. Łagodne objawy kliniczne, jak powiększenie węzłów chłonnych (głównie szyjnych), uczucie osłabienia i umiarkowana gorączka, czy też objawy często przypominające grypę (złe samopoczucie, bóle mięśni i stawów) dotyczą niewielkiej grupy pacjentów.

Toksoplazmoza może mieć jednak bardzo ciężki przebieg u płodów (zarażonych drogą łożyskową) oraz u osób z niedoborem odporności. Wrodzona postać choroby może się ujawnić w postaci bardzo wielu objawów

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

Tabela 1

Objawy kliniczne w zależności od okresu zarażenia kobiety ciężarnej pasożytem *Toxoplasma gondii* [4]

Trymestr ciąży	Procent zarażonych noworodków	Objawy kliniczne
I	17	Poronienie, poród przedwczesny
II	25	Zwapnienie śródczaszkowe, niedorozwój umysłowy, uszkodzenie gałki ocznej
III	65	Postać lekka, w 85% bezobjawowa

klinicznych, które w dużym stopniu zależą od okresu zarażenia płodu podczas ciąży (tab. 1). Wraz z czasem trwania ciąży ryzyko jest poważniejsze, natomiast stopień powikłań jest odwrotnie proporcjonalny do okresu, w którym nastąpiło zarażenie u matki (tab. 2). Ponadto, bezpośrednio po urodzeniu znaczny procent noworodków zarażonych pasożytem nie wykazuje żadnych objawów klinicznych. Takie objawy mogą ujawnić się dopiero w późniejszym okresie życia dziecka (dziecięcym lub młodzieńczym). Charakteryzują się wówczas ciężkim przebiegiem, najczęściej ze zmianami w narządzie wzroku (np. zapalenie siatkówki i naczyniówki) lub z opóźnieniem rozwoju umysłowego oraz utratą słuchu. W przypadku toksoplazmozy wrodzonej u niewielkiej liczby noworodków stwierdzana jest klasyczna triada objawów (tzw. triada Sabina-Pinkertona), charakteryzująca się zapaleniem siatkówki i naczyniówki, wodogłowiem lub małogłowiem oraz zwapnieniami śródczaszkowymi. Drugą grupę noworodków stanowią dzieci z objawami uogólnionymi (wskazującymi na możliwość zarażenia *T. gondii*), takimi jak: powiększenie wątroby i śledziony, zmiany w narządzie wzroku, nasilona lub przedłużająca się żółtaczka, objawy skazy krwotocznej, zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym, hipotrofia, niska punktacja w skali Apgar czy wcześniactwo.

Tabela 2

Ryzyko zarażenia płodu w zależności od wieku ciążowego, w którym nastąpiła serokonwersja [5]

Czas trwania ciąży (tyg.)	Ryzyko zarażenia płodu (%)	Ryzyko rozwoju objawów klinicznych (%)
12	6	75
16	15	55
20	18	40
24	30	33
28	45	21
32	60	18
36	70	15
40	80	12

LECZENIE TOKSOPLAZMOZY

Wskazaniami do leczenia toksoplazmozy są: pierwotna inwazja *T. gondii* u kobiety w czasie ciąży, postać wrodzona choroby oraz toksoplazmoza u osób z niedoborem odporności. U dzieci z toksoplazmozą wrodzoną poza leczeniem farmakologicznym często konieczne jest także leczenie rehabilitacyjne, okulistyczne oraz operacyjne (np. dzieci z wodogłowiem). Postępowanie w leczeniu toksoplazmozy zależy od stanu klinicznego oraz wyników badań serologicznych danego pacjenta. W wielu przypadkach terapia jest kontynuowana przez okres około jednego roku. Ponadto, podczas leczenia najczęściej stosuje się terapię skojarzoną z wykorzystaniem kilku leków lub podaje się kolejne leki po sobie. W leczeniu farmakologicznym toksoplazmozy u kobiet ciężarnych stosuje się spiramycynę jako lek z wyboru, zwłaszcza w pierwszym trymestrze ciąży. Podawanie pirymetaminy w tym okresie wiązałoby się z możliwym teratogennym działaniem. W drugim i trzecim trymestrze

Postępowanie w leczeniu toksoplazmozy zależy od stanu klinicznego oraz wyników badań serologicznych danego pacjenta

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

ciąży możliwe jest zastosowanie na przykład preparatu złożonego z sulfadoksyny i pirymetaminy. Jest to środek skuteczniejszy w leczeniu i zapobieganiu toksoplazmozie wrodzonej w porównaniu do spiramycyny, ze względu na jego dobre przechodzenie przez łożysko do płodu. Po włączeniu leczenia obserwowano ograniczanie i cofanie się zmian widocznych w badaniu ultrasonograficznym u płodu. Niezmiernie istotny jest fakt, że terapia kobiety ciężarnej musi być kontynuowana do momentu zakończenia ciąży. Obecnie można wnioskować o przekazaniu infekcji z matki na płód na podstawie badania płynu owodniowego metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*). Potwierdzenie obecności pasożyta w płynie owodniowym jest bezpośrednim dowodem zarażenia płodu i obliguje do zintensyfikowania terapii u ciężarnej.

Istotny jest fakt, że terapia kobiety ciężarnej musi być kontynuowana do momentu zakończenia ciąży

DIAGNOSTYKA TOKSOPLAZMOZY

Poważny stopień powikłań chorobowych, wynikających z zarażenia pasożytem u pacjentów ze znacznym osłabieniem funkcji układu immunologicznego czy nabytym upośledzeniem odporności oraz u noworodków (toksoplazmoza wrodzona), jest powodem uznania ważności badań diagnostycznych. Prawidłowe rozpoznanie choroby jest nieodzownym warunkiem podjęcia odpowiednich decyzji dotyczących przede wszystkim leczenia oraz zapobiegania toksoplazmozie. **Największe znaczenie i zarazem wyzwanie stanowi określenie momentu inwazji *T. gondii* u kobiety ciężarnej, czyli próba określenia tego, czy kobieta w danym momencie przechodzi toksoplazmozę wczesną czy przewlekłą.** Przyjmuje się bowiem, że jedynie pierwotne, aktywne zarażenie podczas ciąży lub na krótko przed jej rozpoczęciem oznacza poważne zagrożenie dla płodu (poronienie lub narodziny dziecka z wadami wrodzonymi).

Podstawą współczesnej diagnostyki toksoplazmozy są badania serologiczne

Podstawą współczesnej diagnostyki toksoplazmozy są badania serologiczne, które polegają na wykryciu w surowicy lub płynach ustrojowych osób zarażonych pasożytem specyficznych przeciwciał anty-*T. gondii* klasy IgG, IgM oraz — w niektórych przypadkach — IgA. Przeciwciała klasy IgM pojawiają się jako pierwsze w odpowiedzi na inwazję pasożyta. Osiągają najwyższy poziom w pierwszych tygodniach zarażenia, po czym zazwyczaj ich liczba maleje (utrzymują się w organizmie przez 4–6 mies.). Z tego powodu przeciwciała tej klasy uznawano za tak zwany wskaźnik początkowej fazy choroby, dlatego wykrycie w surowicy pacjenta specyficznych IgM pozwalało na stwierdzenie wczesnej toksoplazmozy. Badania prowadzone w ostatnich latach pokazały jednak, że dynamika przeciwciał IgM jest zróżnicowana i zależy od układu immunologicznego pacjenta, niekiedy bowiem są wykrywane w surowicach osób z przewlekłą fazą choroby [6] i z tego powodu nie mogą być markerem wczesnej toksoplazmozy. Przeciwciała klasy IgA charakteryzują się podobną dynamiką jak immunoglobuliny klasy M, przy czym mogą utrzymywać się w organizmie nawet do 9. miesiąca. Najsilniejszą odpowiedź na zarażenie *T. gondii* obserwuje się w klasie przeciwciał IgG, które pojawiają się w krążeniu jako ostatnie. Produkcja tych immunoglobulin zaczyna się już około drugiego tygodnia od momentu inwazji pasożyta. Między 2. a 3. miesiącem przeciwciała te osiągają najwyższy poziom, który utrzymuje się przez kilka miesięcy, po czym zazwyczaj w ciągu dwóch lat stopniowo się obniża. Przeciwciała klasy IgG w niskich mianach są obecne w krążeniu do końca życia.

DIAGNOSTYKA KOBIET CIĘŻARNYCH

W Polsce obecnie nie prowadzi się badań przesiewowych u kobiet w czasie ciąży w kierunku zarażenia pasożytem *T. gondii*. Serodiagnostyka toksoplazmozy jest jedynie za-

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

lecana z uwagi na fakt, że kobiety ciężarne stanowią grupę pacjentów, dla których (głównie ze względu na możliwość zarażenia wewnątrzmacicznego) jest to szczególnie istotne. W przypadku badań diagnostycznych u kobiety ciężarnej po pierwsze należy potwierdzić lub wykluczyć zarażenie pasożytem. Jeśli zostanie ono potwierdzone, trzeba precyzyjnie określić, w jakiej fazie choroby znajduje się dana pacjentka: wczesnej czy przewlekłej. **Przyjmuje się, że kobiety ciężarne, które zaraziły się pasożytem przed zajściem w ciążę i mają przeciwciała klasy IgG w stężeniu do około 300 IU/ml, są zdolne do ochrony płodu przed zarażeniem *T. gondii*.** Wszystkie seronegatywne kobiety ciężarne, u których nie wykryto żadnych przeciwciał anty-*T. gondii*, należą do grupy ryzyka. W związku z tym powinny być poinformowane o profilaktyce choroby oraz konieczności powtarzania badań serologicznych w kierunku toksoplazmozy co trzy miesiące.

Jeśli w surowicy pacjentki obecne są przeciwciała klasy IgG, należy ustalić, czy jest to następstwo wcześniejszego zarażenia (toksoplazmoza przewlekła), czy skutek obecnej aktywnej inwazji pasożyta (toksoplazmoza wczesna, pierwotna). W pierwszym przypadku dzięki ochronnemu działaniu przeciwciał nie występuje zagrożenie dla rozwijającego się płodu, natomiast w przypadku toksoplazmozy wczesnej należy rozpocząć leczenie kobiety ciężarnej. Obecnie uważa się, że wczesną fazę choroby może wskazywać dynamika specyficznych przeciwciał w klasie IgG (3–4-krotny wzrost miana wykazany w kolejnych badaniach surowicy danej pacjentki), a także wykrycie przeciwciał IgM i dodatkowo IgA [5]. Jednak w wielu przypadkach oznaczenie obecności specyficznych IgM oraz miana/dynamiki IgG może nie wystarczyć do prawidłowej oceny stadium zarażenia pierwotniakiem *T. gondii*. Niezmiernie pomocnym w potwierdzeniu fazy choroby jest, wprowadzony w ostatnich latach do serodiagnostyki toksoplazmozy, test oznaczania awidności przeciwciał klasy IgG swoistych dla *T. gondii*. Pozwala on na ustalenie fazy zarażenia na podstawie oznaczenia siły wiązania przeciwciał IgG z antygenami pasożyta [7–9]. We wczesnej fazie choroby przeciwciała antytoksoplazmozowe IgG charakteryzują się słabą siłą wiązania antygenów — są to immunoglobuliny o tak zwanej niskiej awidności. Trwające zarażenie stymuluje układ immunologiczny gospodarza, w związku z czym wytwarzane w dużych ilościach przeciwciała IgG cechują się coraz większą siłą wiązania z antygenami pasożyta (czyli tzw. wysoką awidnością). Czas potrzebny na przejście IgG z niskiej do wysokiej awidności wynosi około 16 tygodni. Z tego względu przeciwciała o wysokiej awidności występują w fazie przewlekłej zarażenia, gdy tachyzoitów *T. gondii* nie ma już w krążeniu, a pasożyty znajdują się w różnych mięśniach gospodarza w postaci cyst tkankowych zawierających bradyzoity [9, 10].

BADANIA SEROLOGICZNE

Badania serologiczne w rozpoznawaniu toksoplazmozy obejmują różne laboratoryjne metody diagnostyczne, które cechują wysoka czułość i swoistość. Pierwszym zastosowanym w diagnostyce toksoplazmozy odczynem serologicznym był — wprowadzony przez Sabina i Feldmana w 1948 roku [11] — odczyn barwny DT (*dye test*), który polegał na pochłanianiu barwnika błękitu metylenowego przez tachyzoity *T. gondii*. W obecności dopełniacza i specyficznych przeciwciał klasy IgG i IgM komórki pasożyta nie zabarwiały się. Metoda ta jest wysoce czuła i swoista, jednak nie różnicuje klas przeciwciał, a poza tym wymaga pracy z materiałem zakaźnym. Prawie 10 lat później, w 1957 roku, Goldman [12] wprowadził do diagnostyki toksoplazmozy test immunofluorescencji pośredniej (OIP, *indirect fluorescent antibo-*

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

dy), który znacznie ułatwił serologiczne rozpoznawanie choroby i umożliwił ocenę odpowiedzi typu humoralnego u człowieka. Test ten oprócz DT wciąż jest uznawany za referencyjny. Obecnie w serodiagnostyce toksoplazmozy wykorzystywane są różne techniki laboratoryjne, na przykład liczne testy aglutynacyjne, testy immunoenzymatyczne: ELISA (*Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay*), EIA (*Enzyme Immuno Assay*), ELIFA (*Enzyme-Linked-ImmunoFluorescent Assay*), ISAGA (*Immunosorbent agglutination assay*) itd. W komercyjnie dostępnych testach diagnostycznych (opartych na wyżej wymienionych metodach) do wykrywania specyficznych przeciwciał antytoksoplazmozowych różnych klas wykorzystuje się preparaty antygenowe, które są izolowane z tachyzoitów (jednych z form rozwojowych *T. gondii*) otrzymanych z płynu otrzewnowego zarażonych myszy lub z kultur tkankowych *in vitro*. Jest to przygotowana w odpowiednich proporcjach mieszanka antygenów cytoplazmatycznych i błonowych. Otrzymanie tak zwanego poliwalentnego antygenu natywnego (TLA, *Toxoplasma lysate antigen*) jest uciążliwe i trudne, ponieważ wymaga hodowli pasożyta *in vivo* na myszach lub w hodowli tkankowej *in vitro.* Ponadto, interpretacja wyników badań serologicznych (uzyskanych w niektórych przypadkach za pomocą testów, w których do wykrywania specyficznych przeciwciał stosuje się TLA) może być trudna i niewystarczająca, by móc rozpoznać fazy choroby. Z tego też powodu w licznych laboratoriach na całym świecie są prowadzone badania, w których poszukuje się nowych narzędzi diagnostycznych mogących znaleźć zastosowanie w testach serologicznych rozpoznających toksoplazmozę oraz różnicujących jej fazy. Obecnie dużą uwagę skupia się na antygenach rekombinantowych *T. gondii*, otrzymywanych z wykorzystaniem metod inżynierii genetycznej i biologii molekularnej. Rekombinantowe białka stanowią bowiem alternatywne źródło antygenów mogących zastąpić poliwalentny antygen natywny pasożyta, wykorzystywany obecnie w komercyjnie dostępnych zestawach diagnostycznych.

ANTYGENY REKOMBINANTOWE *T. GONDII* — NOWE MOŻLIWOŚCI W SERODIAGNOSTYCE TOKSOPLAZMOZY

Czułość i efektywność testów serologicznych zależą w głównej mierze od dwóch czynników: od poziomu przeciwciał produkowanych przez organizm w odpowiedzi na przebyte zarażenie oraz od zastosowanego w teście antygenu (rozpoznającego specyficzne immunoglobuliny). W przypadku konstrukcji zestawów diagnostycznych wykorzystujących metody serologiczne, o ile nie ma się wpływu na pierwszy z tych czynników, o tyle istnieje możliwość dużego wyboru różnorodnych antygenów, które zasadniczo wpływają na czułość i specyficzność testów. **Rozwój metod biologii molekularnej oraz inżynierii genetycznej stworzył nowe możliwości otrzymywania coraz to lepszych i bardziej skutecznych narzędzi diagnostycznych.** Antygeny rekombinantowe, produkowane w bakteryjnych lub eukariotycznych systemach ekspresyjnych, stanowią nową grupę odczynników immunodiagnostycznych o bardzo wysokiej jakości. Stosowanie rekombinantowych białek antygenowych jako specyficznych markerów rozpoznających przeciwciała jest szczególnie wskazane do sprawdzania obecności patogenów wywołujących różne rodzaje odpowiedzi immunologicznej, którymi zarażenie prowadzi do przewlekłych inwazji, lub obecności patogenów, które po inwazji ostrej przechodzą w stan utajony (tak jak w przypadku *T. gondii*).

W ciągu ostatnich kilkunastu lat (szczególnie w ostatniej dekadzie) w literaturze światowej pojawiło się wiele prac naukowych dotyczących otrzymywania oraz zastosowania w serodiagnostyce toksoplazmozy różnych rekombinantowych białek antygenowych *T. gondii* [13–24]. Wyniki licznych ba-

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

dań pokazują, ile zalet i nowych możliwości daje wykorzystanie takich preparatów diagnostycznych zamiast stosowanych obecnie antygenów natywnych pasożyta. Do głównych zalet stosowania rekombinantowych antygenów (ważnych z punktu widzenia każdego pacjenta) można zaliczyć na przykład niższe koszty badań diagnostycznych spowodowane tańszym kosztem produkcji i oczyszczania rekombinantowych białek antygenowych w porównaniu do kosztów związanych z wyprodukowaniem antygenu natywnego pasożyta. Niższy koszt oznaczenia diagnostycznego z pewnością może mieć bezpośredni wpływ na rozpowszechnienie takich badań, szczególnie wśród kobiet ciężarnych, które z uwagi na ryzyko zarażenia płodu powinny być poddawane masowym badaniom przesiewowym. Prowadzone badania naukowe na obecnym etapie pokazują przede wszystkim, że użycie w serologicznych testach diagnostycznych pojedynczych antygenów rekombinantowych (a także ich specjalnie opracowanych mieszanek) umożliwia wykrycie swoistych przeciwciał anty-*T. gondii* z taką samą czułością jak w przypadku wykorzystania antygenu natywnego pasożyta [16, 18, 20, 24]. Co ważne, zastosowanie odpowiednio wyselekcjonowanych białek rekombinantowych (charakterystycznych dla różnych form rozwojowych pasożyta — tachyzoitów lub bradyzoitów) pozwala na zróżnicowanie fazy wczesnej i przewlekłej toksoplazmozy, które jest oparte na pojedynczej próbie surowicy pacjenta. W tym momencie można mówić o rewolucji w diagnostyce tej choroby, co dokumentują liczne prace naukowe z ostatnich lat [17, 19, 25–30]. **Wykrycie tak zwanych molekularnych markerów antygenowych (odpowiednich białek pasożyta), reagujących specyficznie z przeciwciałami antytoksoplazmowymi zawartymi w surowicach pacjentów z wczesną bądź przewlekłą fazą choroby, jest największym osiągnięciem naukowców, które daje zupełnie nowe możliwości w serodiagnostyce zarażeń powodowanych przez *T. gondii*.** Opracowanie i wprowadzenie do diagnostyki choroby nowego testu, który będzie oparty na takich markerach molekularnych, pozwoli precyzyjnie odpowiedzieć na pytanie, czy badany pacjent przechodzi toksoplazmozę wczesną czy przewlekłą, co z kolei ma bardzo duże znaczenie szczególnie w przypadku kobiet ciężarnych.

PIŚMIENNICTWO

1. Dubey J.P., Lindsay D.S., Speer C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin. Microbiol. Rev. 1998; 11: 267–299.
2. Tenter A.M., Heckeroth A.R., Weiss L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int. J. Parasitol. 2000; 30: 1217–1258.
3. Herwaldt B.L. Laboratory — acquired parasitic infection from accidental exposures. Clin. Microbiol. Rev. 2001; 14: 659–699.
4. Boyer K.M. Congenital toxoplasmosis: current status of diagnosis, treatment, and prevention. Semin. Pediatr. Infect. Dis. 2000; 11: 167–171.
5. Pinard J.A., Leslie N.S., Irvine P.J. Maternal serologic screening for toxoplasmosis. J. Midwifery Womens Health 2003; 48: 308–316.
6. Liesenfeld O., Montoya J.G., Tathineni N.J. i wsp. Confirmatory serologic testing for acute toxoplasmosis and rate of induced abortions among women reported to have positive *Toxoplasma* immunoglobulin M antibody titers. Am. J. Obstet. Gynecol. 2001; 184: 140–145.
7. Hedman K., Lappalainen M., Seppaia I. i wsp. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Infect. Dis. 1989; 159: 736–740.
8. Sensini A., Pascoli S., Marchetti D. i wsp. IgG avidity in the serodiagnosis of acute *Toxoplasma gondii* infection, a multicenter study. Clin. Microbiol. Infect. 1996; 2: 25–29.
9. Cozon G.J., Ferrandiz J., Nebhi H. i wsp. Estimation of the avidity of immunoglobulin G for routine diagnosis of chronic *Toxoplasma gondii* infec-

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl

tion in pregnant women. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1998; 17: 32–36.
10. Suzuki L.A., Rocha R.J., Rossi C.L. Evaluation of serological markers for the immunodiagnosis of acute acquired toxoplasmosis. J. Med. Microbiol. 2001; 50: 62–70.
11. Sabin A.B., Feldman H.A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science 1948; 108: 660–663.
12. Goldman M. Staining *Toxoplasma gondii* with fluorescein-labelled antibody. II. A new serologic test for antibodies to *Toxoplasma* based upon inhibition of specific staining. J. Exp. Med. 1957; 105: 557–573.
13. Aubert D., Maine G.T., Villena I. i wsp. Recombinant antigens to detect *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin G and immunoglobulin M in human sera by enzyme immunoassay. J. Clin. Microbiol. 2000; 38: 1144–1150.
14. Beghetto E., Spadoni A., Bruno L. i wsp. Chimeric antigens of *Toxoplasma gondii*: toward standardization of toxoplasmosis serodiagnosis using recombinant products. J. Clin. Microbiol. 2006; 44: 2133–2140.
15. Buffolano W., Beghetto E., Del Pezzo M. i wsp. Use of recombinant antigens for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. J. Clin. Microbiol. 2005; 43: 5916–5924.
16. Hiszczyńska-Sawicka E., Kur J., Pietkiewicz H. i wsp. Efficient production of the *Toxoplasma gondii* GRA6, p35 and SAG2 recombinant antigens and their applications in the serodiagnosis of toxoplasmosis. Acta Parasitol. 2005; 50: 249–254.
17. Holec L., Hiszczyńska-Sawicka E., Gąsior A. i wsp. Use of MAG1 recombinant antigen for detection of *Toxoplasma gondii* infection in humans. Clin. Vaccine Immunol. 2007; 14: 220–225.
18. Holec L., Gąsior A., Brillowska-Dąbrowska A. i wsp. *Toxoplasma gondii:* Enzyme-linked immunosorbent assai usign different fragments of recombinant microneme protein (MIC1) for detection of immunoglobulin G antibodies. Exp. Parasitol. 2008; 119: 1–6.
19. Holec-Gąsior L., Kur J., Hiszczynska-Sawicka E. GRA2 and ROP1 recombinant antigens as potential markers for detection of *Toxoplasma gondii* — specific immunoglobulin G in human with acute toxoplasmosis. Clin. Vaccine Immunol. 2009; 16: 510–514.
20. Holec-Gąsior L., Kur J. *Toxoplasma gondii:* Recombinant GRA5 antigen for detection of immunoglobulin G antibodies using enzyme-linked immunosorbent assay. Exp. Parasitol. 2010; 124: 272–278.
21. Lau Y.L., Fong M.Y. *Toxoplasma gondii*: serological characterization and immunogenicity of recombinant surface antigen 2 (SAG2) expressed in the yeast *Pichia pastoris*. Exp. Parasitol. 2008; 119: 373–378.
22. Lecordier L., Fourmaux M., Marcier C. i wsp. Enzyme-linked immunosorbent assays using the recombinant dense granule antigens GRA6 and GRA1 of *Toxoplasma gondii* for detection of immunoglobulin G antibodies. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2000; 7: 607–611.
23. Pfrepper K.I., Enders G., Gohl M. i wsp. Seroreactivity to and avidity for recombinant antigens in toxoplasmosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2005; 12: 977–982.
24. Pietkiewicz H., Hiszczyńska-Sawicka E., Kur J. i wsp. Usefulness of *Toxoplasma gondii* — specific recombinant antigens in serodiagnosis of human toxoplasmosis. J. Clin. Microbiol. 2004; 42: 1779–1781.
25. Béla S.R., Oliveira Silva D.A., Cunha-Júnior J.P. i wsp. Use of SAG2A recombinant *Toxoplasma gondii* surface antigen as a diagnostic marker for human acute toxoplasmosis: analysis of titers and avidity of IgG and IgG1 antibodies. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2008; 62: 245–254.
26. Beghetto E., Buffolano W., Spadoni A. i wsp. Use of an immunoglobulin G avidity assay based on recombinant antigens for diagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. J. Clin. Microbiol. 2003; 41: 5414–5418.
27. Golkar M., Rafati S., Abdel-Latif M.S. i wsp. The dense granule protein GRA2, a new marker for the serodiagnosis of acute *Toxoplasma* infection: comparison of sera collected in both France and Iran from pregnant women. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2007; 58: 419–426.
28. Li S., Galvan G., Araujo F.G. i wsp. Serodiagnosis of recently acquired *Toxoplasma gondii* infection using an enzyme-linked immunosorbent assay with a combination of recombinant antigens. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2000; 7: 781–787.
29. Li S., Maine G., Suzuki Y. i wsp. Serodiagnosis of recently acquired *Toxoplasma gondii* infection with a recombinant antigen. J. Clin. Microbiol. 2000; 38: 179–184.
30. Suzuki Y., Ramirez R., Press C. i wsp. Detection of immunoglobulin M antibodies to P35 antigen of *Toxoplasma gondii* for serodiagnosis of recently acquired infection in pregnant women. J. Clin. Microbiol. 2000; 38: 3967–3970.

MOST WIEDZY Pobrano z mostwiedzy.pl