

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Milena D. Blagojević

**Učestalost i faktori rizika za infekciju
Toxoplasma gondii u populaciji dobrovoljnih
davalaca krvi i trudnica**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Milena D. Blagojević

Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in the population of voluntary blood donors and pregnant women

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023.

Mentor: Prof. dr Ljiljana Marković-Denić, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komentor: Dr sci. med. Tijana Štajner, viši naučni saradnik, Institut za medicinska istraživanja, Univerzitet u Beogradu

Članovi komisije:

1. N. Sav. dr Branko Bobić, Institut za medicinska istraživanja, Univerzitet u Beogradu
2. N. Sar. dr Vesna Mijoljević, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Prof. dr Suzana Otašević, Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu

Datum odbrane doktorske disertacije: _____

Prikupljanje uzoraka krvi dobrovoljnih davalaca i trudnica za potrebe ovog istraživanja omogućio je Institut za transfuziju krvi Srbije, dok je celokupno istraživanje urađeno u Nacionalnoj referentnoj laboratoriji za toksoplazmozu, u okviru Centra izuzetnih vrednosti za zoonoze prenošene hranom i vektorima Instituta za medicinska istraživanja, Instituta od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Univerziteta u Beogradu. Istraživanje obuhvaćeno ovom doktorskom disertacijom započeto je u okviru projekta Ministarstva nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije: *Kontrola infekcije Apikompleksnim patogenima: od novih mesta delovanja leka do predikcije* (br. III41019), pod rukovodstvom N. Sav. dr Olgice Đurković-Đaković. Dalji tok istraživanja podržan je institucionalnim finansiranjem naučnoistraživačkih aktivnosti Instituta za medicinska istraživanja od strane Ministarstva nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije za 2020. godinu (br. 451-03-68/2020-14/200015), 2021. (br. 451-03-9/2021-14/200015), 2022. (br. 451-03-68/2022-14/200015) i 2023. godinu (br. 451-03-47/2023-01/200015).

Izjava zahvalnosti

Za sve divne ljude čije su tople reči i blagi osmesi dali podsticaj da se ovaj rad završi.

Zahvaljujem se mentorki profesorki Ljiljani Marković-Denić u čijim sam rečima najviše snage i utehe našla; čija je doslednost uvek vraćala želju za uspehom i bez čijih saveta i pomoći ovaj rad ne bi ugledao svetlost dana.

Veliku zahvalnost dugujem komentorki dr Tijani Štajner na profesionalnosti, stručnosti i velikom strpljenju. Od prvih dana rada u laboratoriji učila me je da mislim kao naučnik, iako to nimalo nije bio lak zadatak. Trebalo je puno vremena da se od jednog kliničkog lekara napravi naučnik spreman da iznedri ovaj rad.

Hvala divnom dr Branku Bobiću na saradnji, koja je od prvog dana od kada sam kročila u laboratoriju, bila laka.

Zahvaljujem se i profesorki Suzani Otašević i dr Vesni Miočević na njihovim savetima bez kojih ova teza ne bi imala svoj pravi odjek.

Veliku zahvalnost dugujem dr Olgici Đurković-Đaković koja je verovala u moj uspeh i bez koje ova teza nikada ne bi imala svoj početak.

Takođe, zahvaljujem se i asistentu dr Vladimiru Nikoliću na nesebičnoj pomoći u vezi sa statističkom obradom podataka.

Čuvajući posebno mesto u srcu za one najdraže koji su uvek bili vetar u leđa, zahvaljujem se prijateljima, sadašnjim i bivšim kolegama.

Na pragu devetog meseca trudnoće u kome su nastali ovi redovi želela bih da napišem koliko sam zahvalna svojim roditeljima, Dragomiru i Gordani na neizmernoj ljubavi i podršci tokom svih ovih godina, na neizmernoj snazi koju sam crpela iz svoje braće, Bojanu i Radovanu. Zahvalnost dugujem Radoju, Radmili, Milunu, Neveni, Slađani i Jeleni, mojoj porodici na koju sam uvek mogla da se oslonim.

Mom voljenom suprugu Pavlu, koji je strpljivo dočekao da ova teza ugleda svetlost dana pod prezimenom Blagojević.

Ovu etapu života završavam sa nadom da će nova početi sa rođenjem našeg sina Save.

I na kraju, želim ponaosob da se zahvalim svim kolegama koje su imale veliki značaj u pisanju naučno-istraživačkog rada koji je proizišao iz ove doktorske disertacije, radeći savesno, odgovorno i posvećeno. Zahvaljujem se mentorki profesorki Ljiljani Marković-Denić na pomoći u epidemiološkoj analizi podataka i završnoj proveru rada; komentorki dr Tijani Štajner na pomoći u osmišljavanju metodologije i završne provere rada; dr Branku Bobiću i dr Vladimiru Nikoliću na pomoći u statističkoj obradi podataka; dr Snežani Jovanović-Srzić i dr Ivi Đilas na saradnji u prikupljanju uzoraka, kao i dr Olgici Đurković-Đaković koja je omogućila sredstva za sprovođenje istraživanja.

U Beogradu, 12.12.2022.

Učestalost i faktori rizika za infekciju *Toxoplasma gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi i trudnica

Sažetak

Uvod: Toksoplazmoza je jedno od najrasprostranjenijih parazitskih oboljenja koje izaziva obligatno intracelularna protozoa *Toxoplasma gondii*. Procenjuje se da je trećina čovečanstva inficirana ovim parazitom. Kod imunokompetentnih osoba infekcija je uglavnom asimptomatska ili protiče uz blagu kliničku sliku, ali kod fetusa i imunokompromitovanih osoba infekcija može imati teži klinički tok i može dovesti i do smrtnog ishoda. U složenom životnom ciklusu *T. gondii* učestvuju stalni domaćin, životinja iz porodice *Felidae*, i prelazni domaćin koji može biti bilo koja toplokrvna životinja, ali i čovek. Mačka, u kojoj se odvija seksualna faza razmnožavanja, izbacuje oociste parazita putem fecesa u spoljašnju sredinu koju tako kontaminira. Čovek se najčešće zarazi ingestijom zrelih oocista sa voća/povrća koje raste nisko pri zemlji, u kontaminiranoj vodi ili preko kontaminiranih ruku, kao i ingestijom tkivnih cista u nedovoljno termički obrađenom ili sirovom mesu. Značajan put prenosa infekcije je vertikalna transmisija sa majke na plod kada nastaje kongenitalna infekcija. Takođe, transplantacija solidnih organa ili matičnih ćelija hematopoeze može biti put prenosa infekcije *T. gondii* kod imunokompromitovanih pacijenata. Prenos vijabilnih parazita putem transfuzije krvi takođe je moguć, ali je često zanemaren i nedovoljno dokumentovan. Stoga je cilj ovog istraživanja bio određivanje prevalencije toksoplazmoze u opštoj, zdravoj populaciji (populaciji davalaca krvi) i populaciji trudnica sa sagledavanjem faktora rizika za nastanak toksoplazmoze, sa posebnim osvrtom na one koje je moguće modifikovati.

Materijal i metode: Istraživanje je dizajnirano kao hibridno istraživanje koje su činile dve studije prevalencije. Prvim istraživanjem bilo je obuhvaćeno 1095 konsekutivno odabranih dobrovoljnih davalaca krvi, oba pola, uzrasta od 18 do 65 godina iz Beograda, koji su u u periodu od decembra 2017. do jula 2018. godine donirali krv u Institutu za transfuziju krvi Srbije. Drugom studijom preseka u okviru ovog istraživanja obuhvaćeno je 300 trudnica iz Beograda koje su dolazile u Institut za transfuziju krvi Srbije u periodu od novembra 2018. godine do februara 2019. godine zbog rutinskog ispitivanja krvne grupe i Rh faktora pre porođaja. Uzorkovanje krvi i epidemiološki intervju ispitanika sproveden je u Institutu za transfuziju krvi Srbije, a celokupno istraživanje sprovedeno je u Nacionalnoj referentnoj laboratoriji za toksoplazmozu. Ispitanike su intervjuisali lekari korišćenjem epidemiološkog upitnika (demografske karakteristike, stil života i ishrane, lična i ginekološka anamneza) posebno dizajniranog za ovaj tip studije u cilju otkrivanja potencijalnih faktora rizika za infekciju *T. gondii*. Serološki skrining na prisustvo specifičnih IgG antitela podrazumevao je primenu HSDA testa (eng. *high sensitivity direct agglutination assay*). Uzorci koji su bili pozitivni u HSDA testu su dalje ispitivani enzimskim imunotestom za određivanje specifičnih IgG antitela u automatizovanom mini VIDAS aparatu. Status infekcije *T. gondii* procenjivao se kod onih ispitanika kod kojih su specifična IgG antitela detektovana u koncentraciji ≥ 8 IU/ml, određivanjem njihovog aviditeta primenom enzimskog imunotesta za određivanje aviditeta IgG antitela specifičnih za *T. gondii* (VIDAS® Toxo IgG avidity TXGA, Biomerieux, Francuska). Kod ispitanika sa specifičnim IgG antitelima niskog ili graničnog aviditeta određivana su i specifična IgM antitela enzimskim imunotestom (VIDAS® Toxo IgM, TXM, Biomerieux, Francuska), sa ciljem da se potvdi/isključi primarna infekcija.

Rezultati: Prevalencija infekcije *T. gondii* u populaciji davalaca krvi iznosi 20,5%, odnosno 16,5% u ukupnoj populaciji žena (trudnice i negravidne žene, davaoci krvi) i 12,7% u populaciji trudnica. Multivarijantnom regresionom analizom potvrđeno je da su uzrast ispitanika, opština stanovanja kao i kontakt sa zemljom nezavisni prediktori infekcije u populaciji davalaca krvi. Sa povećanjem godina života ispitanika rizik od infekcije *T. gondii* raste linearno od najmlađe uzrasne grupe (18-29 godina) do najstarije (>60 godina) (OR=1,9, 95% CI: 1,13-3,28; OR=3,2, 95% CI: 1,91-5,35; OR=4,6, 95% CI:

2,71-7,89; OR=6,8, 95% CI: 3,27-14,24). Takođe, osobe koje žive u prigradskim opštinama Beograda imaju 2,2 puta veću šansu da dobiju toksoplazmozu u odnosu na one koju žive u gradskim opštinama Beograda (OR=2,2, 95% CI: 1,43-3,34). Ispitanici koji imaju kontakt sa zemljom imaju 1,4 puta veću šansu da se inficiraju *T. gondii* u odnosu na one koji ne dolaze u kontakt sa zemljom (OR=1,4, 95% CI: 1,01-1,94). Multivarijantnom regresionom analizom kod trudnica potvrđeno je da su uslovi stanovanja (OR=0,4, 95% CI: 0,19-0,83), i konzumiranje pilećeg mesa (OR=0,3, 95% CI: 0,04-0,83) nezavisni prediktori infekcije. Trudnice imaju 60% manju šansu da obole od toksoplazmoze ukoliko žive u stanu/kući bez dvorišta u odnosu na one koje žive u kući sa dvorištem. Takođe, trudnice imaju 70% manje verovatnoću da obole od toksoplazmoze ukoliko jedu piletinu u odnosu na druge vrste mesa. S druge strane, u ukupnoj populaciji žena nezavisni faktori rizika su, prema multivarijantnoj analizi, samo stariji uzrast i kontakt sa zemljom. Odnosno, žene starije od 40 godina su češće inficirane *T. gondii* u odnosu na mlađe ispitanice (OR=2,7, 95% CI: 1,33-5,51). Takođe, ispitanice koje su u kontaktu sa zemljom imaju veću šansu da obole od toksoplazmoze u odnosu na one koje nisu imale kontakt sa zemljom (OR=1,5, 95% CI: 1,03-2,32). Konzumiranje nedovoljno termički obrađenog mesa više nije značajan faktor rizika za infekciju *T. gondii* kao što je prethodnih decenija bio slučaj. Tokom istraživanja u populacijama davalaca krvi i trudnica nije otkriven nijedan slučaj akutne infekcije *T. gondii*. U obe populacije, svi seropozitivni ispitanici su bili u hroničnoj fazi infekcije *T. gondii*. Svi uzorci ispitanika koji su bili pozitivni u HSDA, takođe su bili pozitivni u TXG VIDAS testu, a od 224 seropozitivna davaoca krvi, 220 je imalo visok indeks aviditeta specifičnih IgG antitela. Samo 4 ispitanika (1,8%) imala su graničan indeks aviditeta specifičnih IgG antitela, u potpunom odsustvu specifičnih IgM antitela. Dok je u populaciji trudnica, od 38 seropozitivnih žena, 36 imalo visok indeks aviditeta specifičnih IgG antitela. Jedna ispitanica je imala nizak indeks aviditeta i jedna je imala graničan indeks aviditeta specifičnih IgG antitela, obe sa potpunim odsustvom specifičnih IgM antitela, i obe serološki praćene do porođaja.

Zaključak: Ohrabrujući podatak je da je prevalencija toksoplazmoze zdrave odrasle populacije i zdravih trudnica u skladu sa evropskim i svetskim trendom višedecenijskog pada prevalencije, kao i podatak da za gotovo godinu dana istraživanja nisu otkriveni slučajevi akutne infekcije *T. gondii*. Ovim istraživanjem identifikovani su faktori rizika za infekciju *T. gondii* u reprezentativnom uzorku opšte populacije, i to oni na koje se ne može delovati (uzrast, mesto stanovanja), ali i faktori rizika na koje se može delovati preventivnim merama (npr. kontakt sa zemljom). Na osnovu rezultata ovog istraživanja, efikasne mere primarne prevencije toksoplazmoze bi se odnosile prevashodno na izbegavanje direktnog kontakta sa zemljom, npr. putem nošenja lične zaštitne opreme. U okviru mera sekundarne prevencije, skrining program namenjen dobrovoljnim davaocima krvi i pacijentima pre uvođenja u jatrogenu imunosupresiju bi bio od izuzetnog značaja jer bi omogućio da se pravovremeno otkrije akutna infekcija *T. gondii* koja primaocu krvi/krvnih produkata može ugroziti život, odnosno rizik od reaktivacije hronične infekcije kod imunosuprimiranih pacijenata. Takođe, dostupnost tačnim informacijama, kao i edukacija ugroženih grupa, posebno trudnica i onih žena koje planiraju trudnoću o značaju pravovremenog serološkog skrininga na toksoplazmozu, o indikacijama za dijagnostiku kongenitalne infekcije ali i terapijskih opcija, bi doprinela trendu daljeg smanjenja prevalencije infekcije *T. gondii* u našoj zemlji.

Ključne reči: *Toxoplasma gondii*, epidemiologija, faktori rizika, prevalencija, dobrovoljni davaoci krvi, trudnice

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Epidemiologija

UDK broj:

Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in the population of voluntary blood donors and pregnant women

Abstract

Introduction: Toxoplasmosis is one of the most widespread parasitic diseases caused by an obligate intracellular protozoan *Toxoplasma gondii*. It is estimated that one third of human population is infected with this parasite. In immunocompetent people, the infection is mostly asymptomatic or is presented with flu-like symptoms, but in fetus and immunocompromised host, clinical manifestations are generally more severe and even life-threatening. The complex life cycle of *T. gondii* involves a definitive host, animal from the Felidae family, and an intermediate host that can be any warm-blooded animal, as well as humans. Sexual reproduction occurs only in intestines of a cat and infected cat excretes the oocysts of the parasite via faeces into the environment. Humans are usually infected by ingestion of mature oocysts by contaminated fruits/vegetables, contaminated water, or contaminated hands, as well as by ingestion of tissue cysts in undercooked or raw meat. An important route of infection is vertical transmission of parasites from acutely infected mother to fetus, resulting in congenital toxoplasmosis. Also, toxoplasmosis may evolve as an opportunistic infection in immunocompromised patients after transplantation of solid organs or hematopoietic stem cells. Transmission of viable parasites via blood transfusion is also possible, but is often overlooked and insufficiently documented. Therefore, the aim of the research was to determine the prevalence of toxoplasmosis and risk factors in the general, healthy population (population of blood donors) and in the population of pregnant women, in order to identify risk factors for toxoplasmosis, with special reference to those that can be modified.

Material and methods: The research was designed as a hybrid study consisting of two cross-sectional studies. The first study included 1095 consecutively selected voluntary blood donors, of both sexes, aged 18 to 65 from Belgrade, who donated blood to the Blood Transfusion Institute of Serbia in the period from December 2017 to July 2018. The second cross-sectional study included 300 pregnant women from Belgrade who came to the Institute for Blood Transfusion of Serbia in the period from November 2018 to February 2019 for routine testing of blood group and Rh factor before delivery. Blood sampling and epidemiological interview of the subjects was conducted at the Institute for Blood Transfusion of Serbia, and the entire research was conducted at the National Reference Laboratory for Toxoplasmosis. Subjects were interviewed by physicians using an epidemiological questionnaire (demographic characteristics, lifestyle data, medical and gynecological history) specially designed for this type of study in order to detect potential risk factors for *T. gondii* infection. Serological screening for the presence of specific IgG antibodies was performed by in-house high sensitivity direct agglutination assay (HSDA). The samples that were positive in the HSDA test were further examined by enzyme immunoassay for the determination of specific IgG antibodies in an automated mini VIDAS. All samples with specific IgG \geq 8 IU/mL were further examined for their avidity (VIDAS® Toxo IgG avidity TXGA, Biomerieux, France). In subjects with low or borderline specific IgG avidity, specific IgM antibodies were also determined by enzyme immunoassay (VIDAS® Toxo IgM, TXM, Biomerieux, France), with the aim of confirming/excluding primary infection.

Results: The prevalence of *T. gondii* infection in the population of blood donors is 20.5%, 16.5% in the population of women (pregnant and non-pregnant women) and 12.7% in the population of pregnant women. Multivariate regression analysis confirmed that the age, suburban living and contact with the soil are independent risk factors of infection in the population of blood donors. The risk of *T. gondii* infection increase linearly from the youngest age group (18-29 years) to the oldest (>60 years) (**OR=1.9, 95% CI: 1.13-3.28; OR =3.2, 95% CI: 1.91-5.35 OR=4.6, 95% CI: 2.71-7.89 OR=6.8, 95% CI: 3.27-14.24**). Also, subjects who living in the suburban municipalities of Belgrade have a 2.2 times higher chance to become infected with *T. gondii* compared to those living in the urban municipalities (**OR=2.2,**

95% CI: 1.43–3.34). Subjects who have contact with soil have a 1.4 times higher chance to become infected with *T. gondii* than those who did not (**OR=1.4, 95% CI: 1.01-1.94**). Multivariate regression analysis in pregnant women confirmed that living conditions (**OR=0.4, 95% CI: 0.19-0.83**), and consumption of chicken meat (**OR=0.3, 95% CI: 0.94-0.83**) are independent risk factors of infection. Pregnant women have a 60% lower chance of getting toxoplasmosis if they live in an flat/house without a yard compared to those who live in a house with a yard. Also, pregnant women are 70% less likely to get toxoplasmosis if they eat chicken compared to other types of meat. On the other hand, in the population of women, independent risk factors are, according to multivariate analysis, only older age and contact with the soil. Women older than 40 years are more often infected with *T. gondii* compared to younger subjects (**OR=2.7, 95% CI: 1.33-5.51**). Also, women who are in contact with the soil have more chance to acquire toxoplasmosis compared to those who are not (**OR=1.5, 95% CI: 1.03-2.32**). Consumption of undercooked meat is no longer a significant risk factor for *T. gondii* infection. In the populations of blood donors and pregnant women, no cases of acute *T. gondii* infection were detected throughou the entire study. In both populations, all seropositive subjects were in the chronic stage of *T. gondii* infection. All samples of subjects who were positive in HSDA were also positive in TXG VIDAS test, and of 224 seropositive blood donors, 220 had a high avidity index of specific IgG antibodies. Only 4 subjects (1.8%) had a borderline index of avidity of specific IgG antibodies, in the complete absence of specific IgM antibodies. Furthermore, in the population of pregnant women, of 38 seropositive women, 36 had a high avidity index of specific IgG antibodies. One subject had a low avidity index and one had a borderline avidity index of specific IgG antibodies, both with complete absence of specific IgM antibodies, and both were serologically monitored until delivery.

Conclusion: It is encouraging that the prevalence of toxoplasmosis in healthy adults and healthy pregnant women is in line with the European and worldwide trend of a decades-long decline in the prevalence of *T. gondii* infection, as well as the fact that no cases of acute *T. gondii* infection were detected in almost a year of study. A set of risk factors for *T. gondii* infection in the representative sample of general population was identified throughout this study – ones that could not be modified (age, place of residence) and factors that in fact could be prevented (eg. contact with soil). Based on these results, effective measures of primary prevention of *T. gondii* infection should be focused on avoiding the direct contact with soil, eg. by wearing personal protective equipment. Secondary prevention should be based on the mandatory screening for toxoplasmosis, of voluntary blood donors and patients undergoing immunosuppression protocols, to ensure timely detection of potentially life threatening acute *T. gondii* infection as well as the risk of reactivation of chronic infection. Moreover, dissemination of evidence-based informations regarding the risk factors for toxoplasmosis towards vulnerable categories, and the significance of timely serological screening, indications for laboratory testing for congenital toxoplasmosis and treatment options to the pregnant (or pregnancy planning) women, could contribute to further decrease of the prevalence of toxoplasmosis in our country.

Key words: *Toxoplasma gondii*, epidemiology, risk factors, prevalence, voluntary blood donors, pregnant women

Scientific field: Medicine

Scientific subfield: Epidemiology

UDC number:

Sadržaj:

1. Uvod	1
1.1. Istorijat.....	1
1.2. Životni oblici parazita <i>Toxoplasma gondii</i>	2
1.2.1. Tahizoit.....	2
1.2.2. Bradizoit.....	2
1.2.3. Sporozoit.....	2
1.3. Životni ciklus parazita <i>Toxoplasma gondii</i>	3
1.4. Epidemiologija infekcije <i>Toxoplasma gondii</i>	5
1.5. Putevi prenošenja infekcije parazitom <i>Toxoplasma gondii</i>	7
1.5.1. Infekcija ingestijom bradizoita (tkivne ciste).....	8
1.5.2. Infekcija ingestijom sporozoita (oocista).....	9
1.5.3. Infekcija tahizoitima.....	10
1.5.4. Infekcija parazitom <i>Toxoplasma gondii</i> kao posledica transplantacije.....	10
1.5.5. Infekcija parazitom <i>Toxoplasma gondii</i> nastala transfuzijom krvi.....	11
1.6. Klinički entiteti infekcije parazitom <i>Toxoplasma gondii</i>	12
1.6.1. Infekcija parazitom <i>Toxoplasma gondii</i> kod imunokompetentnih osoba.....	12
1.6.2. Očna infekcija parazitom <i>Toxoplasma gondii</i>	13
1.6.3. Kongenitalna infekcija parazitom <i>Toxoplasma gondii</i>	14
1.6.4. Infekcija parazitom <i>Toxoplasma gondii</i> kod imunokompromitovanih osoba.....	16
1.7. Metode laboratorijske dijagnostike infekcije <i>Toxoplasma gondii</i>	17
1.7.1. Direktne dijagnostičke metode.....	17
1.7.2. Indirektne dijagnostičke metode.....	19
2. Ciljevi istraživanja	23
3. Materijal i metode	24
3.1. Dizajn istraživanja.....	24
3.2. Instrumenti prikupljanja podataka-upitnici.....	24
3.3. Ispitivanje serološkog statusa infekcije <i>T. gondii</i>	25
3.4. Statistička analiza.....	31
4. Rezultati istraživanja	32
4.1. Rezultati istraživanja studije preseka dobrovoljnih davalaca krvi.....	32
4.1.1. Osnovni demografski podaci.....	32
4.1.2. Podaci koji se odnose na navike u ishrani i stil života dobrovoljnih davalaca krvi.....	33

4.1.3. Podaci koji se odnose na ličnu anamnezu dobrovoljnih davalaca krvi.....	39
4.1.4. Podaci iz ginekološko-akušerske anamneze davalaca krvi ženskog pola.....	40
4.1.5. Prevalencija infekcije <i>T. gondii</i> u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi	40
4.1.6. Status infekcije <i>T. gondii</i> u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi	43
4.1.7. Rezultati univarijantne i multivarijantne regresione analize u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi	43
4.2. Rezultati istraživanja studije preseka u populaciji trudnica.....	48
4.2.1. Osnovni demografski podaci	48
4.2.2. Podaci koji se odnose na navike u ishrani i stil života trudnica	49
4.2.3. Podaci koji se odnose na ličnu anamnezu trudnica.....	53
4.2.4. Podaci iz ginekološko-akušerske anamneze trudnica.....	53
4.2.5. Prevalencija infekcije <i>T. gondii</i> u populaciji trudnica	55
4.2.6. Status infekcije <i>T. gondii</i> u populaciji trudnica	56
4.2.7. Rezultati univarijantne i multivarijantne regresione analize u populaciji trudnica	57
4.3. Udruženi rezultati istraživanja svih ispitanica: trudnica i davalaca krvi ženskog pola	61
5. Diskusija.....	68
6. Zaključci.....	77
7. Literatura.....	78

1. Uvod

1.1. Istorijat

Parazit *Toxoplasma gondii* su prvi put opisali Nicolle i Manceaux 1908. godine u laboratoriji Charles Nicolle u Pasterovom Institutu u Tunisu izolujući ga iz krvi i tkiva severnoafričkog glodara (*Ctenodactylus gondii*) (1). Iste godine u Brazilu parazit otkriva i Splendore, izolujući ga iz tkiva zeca (2). Godinu dana nakon otkrića, Nicolle i Manceaux daju ime organizmu na osnovu njegovog oblika (grč. *toxon*-luk, *plasma*-uobličen).

Prvi slučaj kongenitalne toksoplazmoze dijagnostikovao je 1937. godine kod novorođenčeta koje je umrlo u prvom mesecu života od encefalomijelitisa. Autopsijom mozga novorođenčeta kao uzročnik nekroze moždanog tkiva identifikovani su paraziti (3) čime je potvrđeno da se i čovek može inficirati parazitom *Toxoplasma gondii*. Doista, nekoliko godina ranije, 1923. godine, ciste *T. gondii* opisao je u retini odojčeta koje je bolovalo od hidrocefalusa i mikrooftalmije i Janku (4, 5), ali uzročnici tada nisu identifikovani, niti je posumnjao na kongenitalnu infekciju. Posle više dijagnostikovanih slučajeva inflamatornih bolesti oka koje su dovedene u vezu sa infekcijom *T. gondii* (6, 7) početkom 50-ih godina prošlog veka, uspostavljen je kao klinički entitet toksoplazmatski horioretinitis. Tih godina akutnu akviriranu toksoplazmozu, njene kliničke oblike, detaljno je proučio Sim po kome se najčešći limfoglandularni oblik i naziva Simova bolest (8). Do daljih saznanja se dolazi 80-ih godina XX veka, kada je otkriveno da je toksoplazmoza oportunistička infekcija, koja može dovesti do smrtnog ishoda kod HIV inficiranih osoba usled imunosupresije zbog osnovne bolesti (9).

Sa saznanjem da je ovaj parazit uzročnik oboljenja ljudi počinje razvoj dijagnostičkih testova. Prvi serološki test implementirali su Sabin i Feldman 1948. godine. Test se bazirao na otkrivanju *T. gondii*-specifičnih antitela u serumu inficiranih pacijenata i on postaje zlatni standard za sve ostale kasnije uvedene serološke testove (10). Upotrebom ovog testa kroz brojna epidemiološka istraživanja, došlo se do saznanja da je reč o visokoprevalentnoj infekciji u ljudskoj populaciji. Kasnija naučna istraživanja su potvrdila da je parazitom *T. gondii* inficirana gotovo trećina čovečanstva (11), ali i da može da inficira sve toplokrvne životinje (ptice i sisare) (12).

Prva naučna istraživanja iz 1937. godine pokazala su da je u pitanju obligatno intracelularni parazit koji se može održavati u laboratorijskim uslovima subkutanim i intraperitonealnim pasažama homogenata mozga inficiranih laboratorijskih životinja (13). Iste te godine, posmatrajući laboratorijske miševe, postavljena je hipoteza da je mogući put širenja infekcije ingestija tkiva uginulih inficiranih životinja (13). Tokom 50-ih godina prošlog veka počinje i istraživanje puteva infekcije ljudi, jer je jedini do tada poznati put prenosa bio vertikalno - sa majke na plod. U ranim istraživanjima zbog same morfološke strukture i prisustva u cirkulaciji, ovaj parazit se pogrešno dovodio u vezu sa lajšmanijom i njenim vektorima, ali takva pretpostavka je brzo opovrgnuta. Proučavanjem do tada prepoznate dve razvojne faze parazita (tahizoit i tkivna cista), postavlja se hipoteza da je konzumiranje mesa mogući put širenja infekcije (14). Otkriveno je da sadržaj tkivne ciste može biti otporan na prisustvo tripsina i želudačne kiseline nakon ingestije i da zahvaljujući toj sposobnosti potencijalno može izazvati infekciju kod ljudi (15). Desmonts je 1965. godine potvrdio tu hipotezu i konzumiranje nedovoljno termički obrađenog mesa postaje prihvaćeno kao glavni put infekcije (16). Iste te godine otkrivena je u mačijem fecesu nova forma parazita (oocista) kojom se mogao dodatno objasniti put prenosa infekcije (17). Opis životnog ciklusa parazita zaokružen je tek 70-ih godina, kada se došlo do saznanja da je parazit kokcidija čija se seksualna faza razmnožavanja dešava u intestinumu mačke i čijim se fecesom nesporulisane

oociste izbacuju u spoljašnju sredinu gde sporulišu i postaju infektivne. Životni ciklus se nastavlja u prelaznim domaćinima aseksualnim razmnožavanjem (18).

Krajem XX veka, na osnovu svih poznatih karakteristika životnog ciklusa i načina širenja infekcije, parazit *T. gondii* biva klasifikovan u klasu Coccidia, phylum Apicomplexa, sa definisanim životnim oblicima (tahizoit, bradizoit i sporozoit).

Phylum: Apicomplexa
Class: Coccidia
Order: Eucoccidiarida
Family: Sarcocystidae
Genus: Toxoplasma
Species: Toxoplasma gondii

1.2. Životni oblici parazita *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii je parazitska protozoa koja pripada filumu *Apicomplexa*, zajedno sa *Babesia* sp., *Cryptosporidium* sp., *Cyclospora* sp., *Isospora* sp. i *Plasmodium* sp. (19).

Razlikujemo tri životna oblika *T. gondii* - tahizoit, bradizoit i sporozoit (**Slika 1**). Sva tri životna oblika su infektivna za čoveka.

1.2.1. Tahizoit

Predstavlja prvi opisani životni oblik koji su Nicolle i Manceaux otkrili u tkivu severnoafričkog glodara (*Ctenodactylus gondii*). Tahizoit je brzodeleća (grč. *tahos* = brzina), vegetativna, invazivna forma parazita, koja ima sposobnost da inficira sve ćelije jednog domaćina. Tahizoiti su odgovorni za nastanak akutne faze primarne infekcije, ali i za reaktivaciju latentne infekcije. Bilo da nastaju konverzijom bradizoita ili sporozoita, zahvaljujući brzom deobi, šizogonijom (oblik endodiogenije - aseksualne reprodukcije tokom koje od roditeljske ćelije prostom deobom nastaju dve ćerke ćelije) (20, 21), lako invadiraju sve ćelije, odnosno tkiva domaćina tokom faze parazitemije.

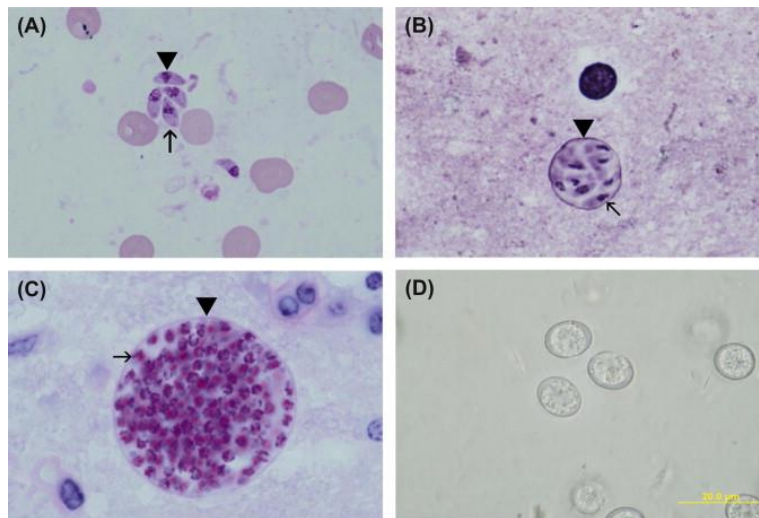
1.2.2. Bradizoit

Za razliku od tahizoita, bradizoit predstavlja sporodeleći (grč. *brady* = spor) životni oblik koji nastaje konverzijom tahizoita pod uticajem imunološkog odgovora domaćina čime se ograničava proces širenja infekcije. Bradizoiti tokom hronične faze infekcije formiraju tkivne ciste pre svega u predilekcionim tkivima domaćina (CNS, skeletni i srčani mišić) i mogu imati životni vek koliko i sam imunokompetentni domaćin. Istraživanja sprovedena 60-ih godina prošlog veka ukazala su da zid ciste može biti uništen nakon ingestije pepsinom/tripsinom, ali sadržaj ciste ostaje intaktan pod uticajem gastričnih sokova (15), dok nasuprot toga tahizoiti bivaju odmah uništeni. Zbog te osobine, tkivne ciste bogate bradizoitima su osnova širenja infekcije kod karnivora nakon ingestije inficiranog mesa.

1.2.3. Sporozoit

Poslednji je otkriven životni oblik parazita koji se nalazi unutar zrele oociste. Tokom seksualne faze replikacije parazita u intestinumu stalnog domaćina (životinje iz porodice Felida) nastaje nezrela oocista koja putem mačijeg fecesa dospeva u spoljašnju sredinu. U spoljašnjoj sredini oocista sporuliše i postaje

zrela, a sporozoiti u njoj infektivni. Svaka sporulisana oocista (12 do 13 μm) se sastoji od dve sporociste, koje sadrže po četiri sporozoita. Oociste su izuzetno otporne na dejstvo faktora spoljašnje sredine (22).



Slika 1-Životni oblici *T. gondii* (preuzeto iz Dubey JP. *Toxoplasma gondii*. In: Weiss LM, Kim K, editors. The history and life cycle of *Toxoplasma gondii*. 2nd ed. London: Academic Press; 2014. p. 1-17 (23).

- (A) Tahizoiti (vrh strelice)-razmaz (*Giemsa* bojenje)
- (B) Mala tkivna cista ispunjena bradizoitima (vrh strelice)-razmaz (*Giemsa* bojenje)
- (C) Tkivna cista-presek
- (D) Nesporulisane oociste u mačijem fecesu

1.3. Životni ciklus parazita *Toxoplasma gondii*

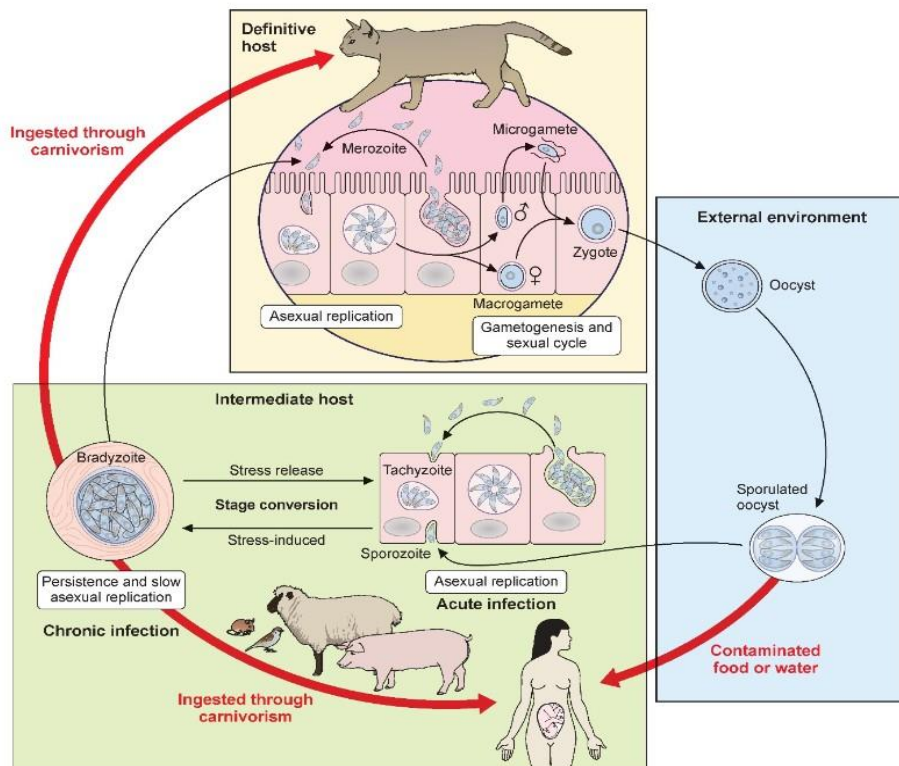
T. gondii ima kompleksan životni ciklus koji zahteva prisustvo stalnog i prelaznih domaćina (**Slika 2**).

Parazit prolazi kroz dve faze razmnožavanja tokom svog životnog ciklusa (seksualno i aseksualno razmnožavanje). Seksualna faza životnog ciklusa odvija se isključivo u intestinumu stalnog domaćina, odnosno domaće ili divlje mačke. Mačke se inficiraju ingestijom cista koje se nalaze u tkivu uginulog inficiranog plena, ili ingestijom oocista (sporozoita) iz kontaminirane spoljašnje sredine. Nakon ingestije, zid tkivne ciste/oociste pod uticajem niskog pH i proteolitičkih enzima u želudačnom soku biva uništen oslobađajući bradizoite, odnosno sporozoite. Prve ćelije domaćina koje bivaju invadirane su ćelije intestinuma, enterociti, u kojima bradizoiti, deleći se putem šizogonije (aseksualna faza), postaju merozoiti. Merozoiti se diferenciraju u makrogamete, odnosno mikrogamete koji procesom gametogonije (seksualna faza) formiraju nesporulisane oociste. Rupturom enterocita nesporulisane oociste putem mačijeg fecesa dospevaju u spoljašnju sredinu. U spoljašnjoj sredini posle nekoliko dana odigrava se završna faza sazrevanja, odnosno sporulacija oociste koja tada postaje infektivna, kako za stalne, tako i za sve prelazne domaćine. Sporulisana oocista ima dve sporociste, a svaka sporocista sadrži po četiri sporozoita (24, 25). Izbacivanje oocista putem fecesa u spoljašnju sredinu počinje od 3 do 7 dana nakon infekcije tkivnim cistama, ≥ 13 dana nakon infekcije tahizoitima, a ≥ 18 dana ako mačka unese oociste (26). Kao i kod drugih kokcidija, parazit je manje infektivan za stalnog domaćina nego za prelaznog. Mačka mora pojesti najmanje 10 oocisti da bi se inficirala, a za miša je dovoljna i jedna oocista

(26, 27). Oociste su veoma otporne u spoljašnjoj sredini. U sredinama gde prevladava topla klima i visoka vlažnost vazduha oocista može preživeti mesecima. Zrela oocista može inficirati gotovo sve životinjske vrste što govori u prilog velike moći adaptacije parazita.

U prelaznom domaćinu, bilo da je to čovek ili neka toplokrvna životinja, parazit prolazi samo kroz faze aseksualnog razmnožavanja. Nakon ingestije tkivne ciste ili oociste, oslobađaju se bradizoiti, odnosno sporozoiti pod dejstvom proteolitičkih enzima prevodeći se u tahizoite. U prvoj fazi ciklusa tahizoiti se procesom endodogenije dele brzo i u velikom broju u različitim ćelijama domaćina, da bi nekoliko dana po infekciji, promenili svoj metabolički status i u drugoj fazi ciklusa prešli u narednu životnu formu, bradizoite (24, 25). U predilekcionom tkivu (centralni nervni sistem, retina oka, skeletni i srčani mišić) bradizoiti formiraju tkivne ciste. Tkivne ciste se mogu naći, mada znatno ređe i u visceralnim organima (pluća, jetra, bubrezi) (25, 28). Ciste koje sadrže vijabilne bradizoite mogu živeti godinama u telu domaćina, a neretko koliko i sam domaćin (29). Bradizoit ima usporen metabolizam, adaptiran za dugo preživljavanje u telu domaćina. Kako su tkivne ciste locirane intracelularno, smrt ćelije može biti okidač za oslobađanje bradizoita nakon rupture ciste (30). Veličina ciste varira od 10 µm kod mlađe ciste (koja sadrži svega dva bradizoita) do 100 µm kod ciste koja duže boravi u organizmu domaćina (mogu imati na hiljade gusto pakovanih bradizoita).

Sposobnost parazita da se lako može prenositi između stalnog i prelaznog domaćina kao i između prelaznih, a neretko i među stalnim domaćinima, govori o izuzetno uspešnom načinu preživljavanja.



Slika 2 – Životni ciklus *T. gondii* (preuzeto iz Sanchez SG, Besteiro S. The pathogenicity and virulence of *Toxoplasma gondii*. *Virulence*. 2021;12(1):3095–3114 (31))

1.4. Epidemiologija infekcije *Toxoplasma gondii*

S obzirom na ubikvitarnu distribuciju parazita *T. gondii* i humana toksoplazmoza je zastupljena u svim delovima sveta. Procenjuje se da je jedna trećina svetske populacije inficirana *T. gondii* (12) (Slika 3). Taj podatak potvrđuje nedavno sprovedeno istraživanje Molan i sar. koji su utvrdili da je globalna prevalencija toksoplazmoze 25,7% (32), što govori o velikoj moći adaptacije parazita. Uprkos tako visokoj globalnoj prevalenciji i težini kliničke slike, *T. gondii* je jedna od pet najčešćih zanemarenih parazitskih infekcija prema proceni *Centers for Disease Control* (CDC) (33).

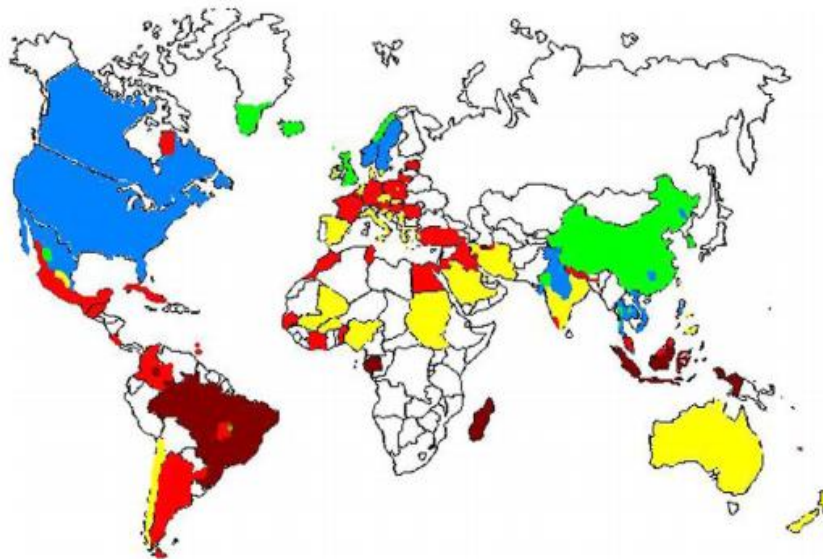
Iako je globalno rasprostranjena, prevalencija toksoplazmoze se razlikuje kako među različitim državama sveta (od 10 do 90%), tako i unutar različitih regiona iste države i među različitim etničkim grupama (33). Razlike u prevalenciji uslovljavaju različiti klimatski, kulturološki i etnički faktori.

Klimatski faktori značajno utiču na opstanak parazita *T. gondii* u spoljašnjoj sredini (34, 35). Toksoplazmoza je najzastupljenija u tropskim zemljama (Brazil, Kolumbija) gde preovladava visoka spoljašnja temperatura praćena povećanom vlažnošću vazduha, jer ti uslovi najviše pogoduju sazrevanju oociste i njenom preživljavanju u spoljašnjoj sredini. Sa druge strane, u zemljama u kojima je spoljašnja temperatura vazduha niska a vlažnost vazduha smanjena, oociste teže preživljavaju, i prevalencija toksoplazmoze je značajno niža. S tim u vezi, lako se dolazi do zaključka da je prevalencija toksoplazmoze značajno viša u južnoj u odnosu na severnu zemljinu hemisferu (36). S obzirom na to da je kompleksan životni ciklus *T. gondii* osetljiv na promene uslova spoljašnje sredine, zbog uticaja na infektivnost i dužinu preživljavanja oociste (35), svaka klimatska promena uticaće na transmisiju parazita (34). Klimatske promene utiču na vijabilnost i sporulaciju oociste. Promene temperature i vlažnosti vazduha (37) utiču i na obrasce ponašanja i preživljavanja stalnog i prelaznih domaćina (38, 39), a količina padavina na proces širenja oocista putem vode; bujice koje plave zemljište i tako kontaminiraju šire areale (40, 41). Dokazano je da i mala promena u klimi utiče na prevalenciju *T. gondii*. Yan i sar. su pronašli pozitivnu korelaciju između prosečne godišnje spoljašnje temperature u različitim oblastima Švedske i incidencije infekcije kod trudnica (34). Istraživanje koje je sproveo Alfonso i sar. pokazalo je da sa povećanjem broja kišnih dana raste incidencija obolelih mačaka, što govori u prilog povećane izloženosti parazitu usled njegovog boljeg preživljavanja u takvoj sredini (39). Da povećana količina padavina, povećavajući kontaminaciju zemljišta, dovodi do češće transmisije parazita potvrdili su u svom istraživanju i Patz i sar. (37).

Međutim, i određeni socioekonomski faktori, kao što je ekonomska razvijenost države utiču na prevalenciju toksoplazmoze i incidenciju primarne (akutne) toksoplazmoze trudnica i kongenitalne toksoplazmoze, dok se kvalitet vode za piće i sanitarni uslovi u nerazvijenim državama ističu kao faktori rizika za nastanak infekcije. Zemlje u razvoju očekivano imaju višu prevalenciju kongenitalne toksoplazmoze nastale kao posledice siromaštva (42, 43) kao i višu prevalenciju toksoplazmoze među HIV-inficiranim osobama (44). U suprotnosti sa ovim zapažanjem, pojedine države sveta koje su u razvoju (Bangladeš i Pakistan), nemaju tako visoku stopu prevalencije. Jedno od objašnjenja za to je da na rasprostranjenost infekcije utiču i kulturološke karakteristike pojedinih sredina, pre svega navike u ishrani (način pripreme obroka, vrste mesa koje se koristi u ishrani) (45, 46). Recimo, u navedenim državama u razvoju preovladava vegeterijanska ishrana, sa manjim udelom svežeg mesa u ishrani (43). Na sličan način se niska prevalencija toksoplazmoze u zemljama zapadnog Pacifika može dovesti u vezu sa ishranom baziranom na konzumiranju morskih plodova (47).

Podaci istraživanja na globalnom planu pokazuju da je očekivana prevalencija toksoplazmoze najniža u državama Severne Amerike, Jugoistočne Azije, Severne Evrope i pojedinim zemljama Afrike

(10 do 30%), umerena u državama Centralne i Južne Evrope (30-50%), dok je visoka prevalencija zabeležena u Latinskoj Americi i tropskim državama Afrike (48). Procenjuje se da je na području Sjedinjenih Američkih Država (SAD) više od 40 miliona ljudi inficirano *T. gondii*, odnosno da je seroprevalencija kod osoba starijih od 6 godina 10,8% (49). Prema nedavno objavljenim podacima Molan i sar., zemlje Afrike imaju najvišu prosečnu prevalenciju toksoplazmoze od 61,4% (20,8-87,7%), potom sledi Okeanija sa 38,5% (23-60%), Južna Amerika sa 31,2% (7,3-74,4%), Evropa sa 29,7% (8,2-59,0%), SAD/Kanada sa 17,5% (10,4-22,5%) i na samom kraju, Azija sa 16,4% (0,5-82,6%) (32). Iz svega gore navedenog jasno je da afričke zemlje beleže najvišu prevalenciju infekcije (Madagaskar, Gana, Kamerun, Kongo). Objašnjenje nalazimo u podacima koji ukazuju na najveći diverzitet sojeva *T. gondii* u ovom delu sveta sa velikom pre/naseljenošću mačkama, posebno lualicama, koje nisu pod humanom kontrolom, a lako kontaminiraju zemljište/vodu oocistama, posebno u ruralnim sredinama (50, 51). Sa druge strane, u zemljama zapadnog Pacifika, poput Južne Koreje (2,7%), Kine (9,4%), Japana (10,3%) zabeležene su najniže prevalencije toksoplazmoze, možda baš zato što se primenjuju bolje mere u kontroli širenja mačaka lualica, bolji su higijenski standardi u naseljenim područjima i u manjoj meri se, s obzirom na tradiciju pripreme mesa iseckanog na sitne komade, konzumira sveže meso koje je često vodeći faktor rizika (34).



Slika 3- Globalna prevalencija infekcije *T. gondii* (preuzeto iz Pappas G, Roussos N, Falagas ME. Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. Int J Parasitol. 2009;39:1385–94 (33))

Braon boja-prevalencija toksoplazmoze $\geq 60\%$, crvena boja- prevalencija toksoplazmoze od 40 do 60%, žuta boja-prevalencija toksoplazmoze od 20 do 40%, plava boja-prevalencija toksoplazmoze od 10 do 20%, zelena boja-prevalencija toksoplazmoze $\leq 10\%$, bela boja-nema podataka

Epidemiološki podaci koji se odnose na tlo Evrope pokazuju da je prevalencija toksoplazmoze u rangui niže (severni deo kontinenta) ili umerene (južni deo kontinenta). Međutim, podaci na koje se ova istraživanja oslanjaju uglavnom su nehomogeni i većinom se odnose na žene generativnog doba ili trudnice. Za države Zapadne i Srednje Evrope podaci su oskudni ili nedostaju (33). Ova situacija je uglavnom uslovljena odsustvom seroloških skrining programa u državama Evrope. Samo nekoliko država (Francuska, Nemačka, Slovenija, Austrija, Severna Italija) imaju nacionalni sistem kontrole kongenitalne toksoplazmoze putem obaveznog serološkog skrininga trudnica.

Pretpostavka je da će klimatske promene u budućnosti znatno uticati na promenu prevalencije. Poslednjih nekoliko decenija, globalno posmatrano, trend pada prevalencije toksoplazmoze je sveprisutan. Trend opadanja prevalencije prisutan je i na evropskom kontinentu. Najočigledniji primer, zbog dobrog uvida u podatke skrining programa koji se sprovodi od 1978. godine, je Francuska. Ona beleži gotovo dvostruki pad prevalencije kod trudnica sa 80% tokom ranih 60-ih godina do 44% u ranim 2000-tim (52).

Trend održivog pada prevalencije toksoplazmoze poslednjih nekoliko decenija na tlu Evrope, potvrđen je i na Balkanu (53). Najdramatičniji pad prevalencije u ovom delu Evrope beleži Srbija. Nacionalna referentna laboratorija za toksoplazmozu tokom poslednje četiri decenije sprovedla je niz studija na ženama generativnog doba i trudnicama i dobijeni rezultati su ukazali da je prevalencija toksoplazmoze u Srbiji dramatično pala sa 86% tokom 1988. godine na 32,5% u 2007. godini (54, 55).

U Srbiji je tokom prve dve decenije epidemioloških ispitivanja, tačnije u periodu od 1960-1980. godine, registrovana prevalencija od 50% (56, 57) koja je imala tendenciju rasta posle 80-ih godina XX veka (58, 59). Nadalje, od devedesetih godina prošlog veka prevalencija toksoplazmoze počinje naglo da opada i pad postaje kontinuiran i održiv kao i na tlu Evrope (55).

Međutim, u periodu od kraja XX do početka XXI veka u Srbiji, u laboratoriji koja od 2008. uživa status Nacionalne referentne laboratorije za toksoplazmozu, osmišljeno je i sprovedeno nekoliko epidemioloških istraživanja. Istraživanja su se bavila ispitivanjem faktora rizika u populacijama žena generativne dobi. Prvo istraživanje sprovedeno u periodu od 1988-1991. godine u Beogradu, ukazalo je da je vodeći faktor rizika bilo konzumiranje nedovoljno termički obrađenog mesa, sa prevalencijom toksoplazmoze koja je iznosila 77% (59). Druga studija rađena u periodu od 1988-1997. godine odnosila se na žene uzrasta od 15 do 49 godina sa teritorije cele Srbije koja je takođe potkrepila činjenicu naglog pada prevalencije toksoplazmoze u desetogodišnjem periodu istraživanja sa 86% na 39%, kao i činjenicu da je vodeći faktor rizika i dalje bilo nedovoljno termički obrađeno meso (54) ali čiji je značaj opadao. Poslednje istraživanje koja je rađeno na ženama generativne dobi u periodu od 2001. do 2005. godine takođe je ukazalo da je vodeći faktor rizika kod akutno inficiranih žena bilo nedovoljno termički obrađeno meso ali da je prevalencija toksoplazmoze opala do 32,5% pri čemu se ta prevalencija nije mnogo menjala poslednjih 5 godina tog istraživanja (55).

Retrospektivna studija rađena na teritoriji Vojvodine u periodu od 2006. do 2008. godine na populaciji pacijenata koji su se lečili u tom periodu u Kliničkom Centru Vojvodine, ustanovila je prevalenciju toksoplazmoze od 38,1% (60), a sa druge strane istraživanje rađeno na teritoriji Kosova i Metohije nekoliko godina kasnije (2011-2012. godine) u populaciji žena generativnog doba pokazalo je da je prevalencija toksoplazmoze iznosila 24,1% (61).

1.5. Putevi prenošenja infekcije parazitom *Toxoplasma gondii*

Čovek se može zaraziti *T. gondii* (Slika 4):

- a) ingestijom tkivnih cista (konzumiranjem nedovoljno termički obrađenog ili svežeg mesa),
- b) ingestijom oocista (konzumiranjem kontaminiranog voća/povrća koje raste nisko pri zemlji, kontaminirane vode, preko prljavih ruku),
- c) ingestijom tahizoita (konzumiranje nepasterizovanog kozijeg mleka),
- d) vertikalnim putem (prenosom tahizoita sa majke na plod u toku primarne infekcije trudnice),
- e) transplantacijom organa ili matičnih ćelija hematopoeze,
- f) transfuzijom krvi,
- g) u toku laboratorijskog akcidenta.

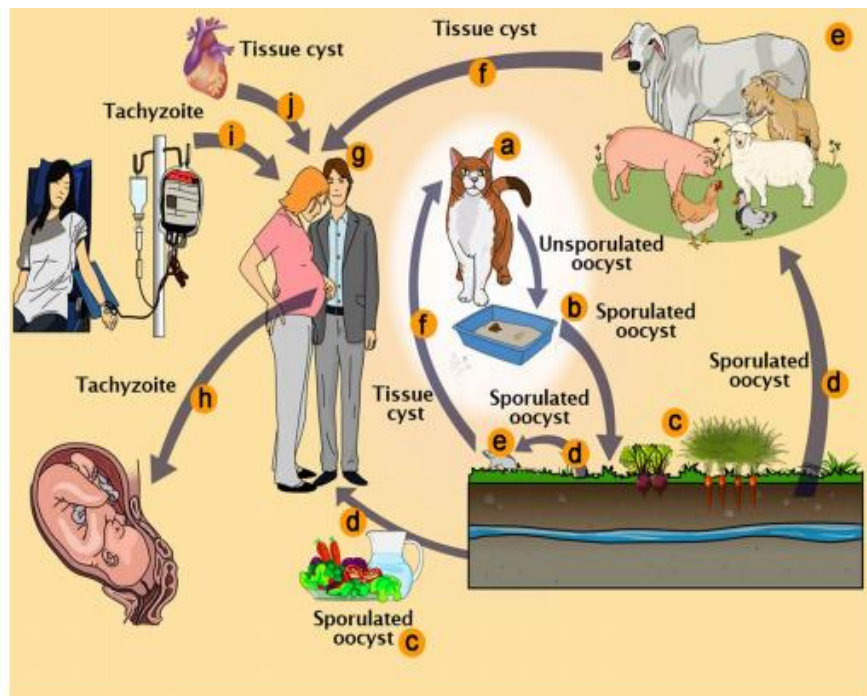


Fig. 1 *Toxoplasma gondii* pathways of transmission. **a** Feline definitive host (cat). **b** Unsporulated oocysts in cat feces. **c** Food contaminated with sporulated oocysts. **d** Oocysts may be ingested by intermediate hosts via water or raw vegetables. **e** Intermediate hosts (e.g. cattle, sheep, poultry and swine). **f** Ingestion of tissue cysts in uncooked meat. **g** Intermediate hosts (humans). **h** Tachyzoites transmitted through the placenta to the foetus. **i** Transmission by blood transfusion and organ transplant (**j**)

Slika 4- Putevi prenošenja infekcije *T. gondii* (preuzeto iz Attias M, Teixeira DE, Benchimol M, Vommaro RC, Crepaldi PH, De Souza W. The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. Parasit Vector. 2020;13(1):588 (62))

1.5.1. Infekcija ingestijom bradizoita (tkivne ciste)

Izvor infekcije, širom sveta, može biti meso svake toplokrvne životinje ili ptice koje se koristi u humanoj ishrani. Rizik prenosa infekcije putem konzumiranja određene vrste mesa zavisi od lokalnih etničkih navika i prevalencije toksoplazmoze kod vrste životinja koja se koristi u ishrani u tom podneblju. U multicentričnoj evropskoj studiji utvrđeno je da 30 do 63% slučajeva infekcije *T. gondii* nastaje kao posledica konzumiranja nedovoljno termički obrađenog ili sirovog mesa (63). Konzumiranje nedovoljno termički obrađenog (NTO) mesa identifikovano je kao glavni faktor rizika na teritoriji Beograda u populaciji žena generativnog doba (54, 59). S obzirom na to da su veoma otporne, tkivne ciste mogu preživeti i do tri nedelje u inficiranom mesu na temperaturi frižidera (1 do 6°C). Takođe, tkivne ciste mogu sačuvati infektivnost do 11 dana na temperaturi od -7°C, dok je zamrzavanje mesa na temperaturama nižim od -12°C u trajanju od tri dana obično dovoljno da ubije ciste (64). Tkivne ciste bivaju uništene tokom procesa kuvanja, kada se dostigne temperatura viša od 67°C, dok vijabilnost mogu sačuvati na temperaturi od 60°C tokom četiri minuta, a na 50°C u trajanju od deset minuta (65). Dakle, meso namenjeno ljudskoj ishrani neophodno je adekvatno termički obraditi kako bi se otklonio rizik od infekcije *T. gondii*. U mesnim prerađevinama ciste mogu biti uništene procesom usoljavanja, dimljenja. Na preživljavanje tkivne ciste utiče koncentracija soli kao i temperatura na kojoj se meso skladišti, tako da čak i primena svih ovih postupaka ne znači da određena mesna prerađevina ne predstavlja potencijalni izvor cista *T. gondii*.

1.5.2. Infekcija ingestijom sporozoita (oocista)

Na preživljavanje oocista u spoljašnjoj sredini najviše utiču klimatski faktori. Povećana vlažnost vazduha pri visokim temperaturama pogoduje dužem opstanku oociste u zemljištu. Zbog pogodnih klimatskih uslova, najviša prevalencija toksoplazmoze zabeležena je u zemljama Južne Amerike i Afrike, ali i u zemljama gde preovladava umerena klima (Francuska) pri visokim spoljašnjim temperaturama rizik od prenosa infekcije se povećava sa povećanjem vlažnosti vazduha (66).

Mačke kao stalni domaćini su izvor infekcije, kontaminacijom sredine. Direktni kontakt sa mačkom nije put širenja infekcije za razliku od kontakta sa mačijim fecesom. Infekcija mačke je asimptomatska i mada je period eliminacije oociste relativno kratak (7-21 dan), značaj za širenje infekcije je veliki (66, 67). Samo jedna inficirana mačka može izbaciti i do 100 miliona nesporuliranih oocista (10x12µm) putem fecesa u spoljašnju sredinu (68, 69). U roku od nekoliko dana (1 do 5) oocista u spoljašnjoj sredini sporuliše i postaje infektivna i može da inficira domaćina. Sporulirane oociste u mačijim kutijama za pesak mogu sačuvati vijabilnost u trajanju do dve nedelje (70). Nesporulirane oociste gube moć sporulacije nakon zamrzavanja na temperaturi od - 6°C u roku od 7 dana ili nakon izlaganja temperaturi od 37°C za 24 h (22, 71).

Jednom sporulirane, oociste postaju izuzetno otporne. Pod uticajem odgovarajuće klime, mogu preživeti u spoljašnjoj sredini i do godinu dana. U laboratorijskim uslovima, sporulirane oociste mogu preživeti na + 4°C i do 54 meseca, na - 10°C i do 106 dana, a na temperaturi od 35°C mogu sačuvati vijabilnost i do 32 dana (72). Sa druge strane, temperatura između 55°C i 60°C, koja se postiže prilikom kuvanja, ubija oociste za svega par minuta (72). Zid sporulirane oociste je jako otporan na uticaj dezinficijensa (73).

Sporulirane oociste u spoljašnjoj sredini mogu kontaminirati zemlju (voće/povrće) i vodu te nakon ingestije, izazvati infekciju kod ljudi.

1.5.2.1. Kontaminacija zemlje

Kontaminirana zemlja je jedan od vodećih faktora rizika u nastanku infekcije *T. gondii*. Evropska multicentrična studija ukazala je da 6 do 17% slučajeva toksoplazmoze nastaje kao posledica kontakta ljudi sa kontaminiranom zemljom (63). Rezultati istraživanja sprovedenog u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) pokazali su da su antitela na *T. gondii* dva puta češća kod osoba koje imaju toksokarijazu, što opet govori u prilog infekcije nastale u kontaktu sa zemljom (74). Rizik od infekcije koja ovako nastaje je najveći kod dece (konzumiranje zemljišta u igri, stavljanje kontaminiranih ruku u usta). Opisan je u literaturi slučaj pojave infekcije *T. gondii* kod šestoro dece, mlađe od sedam godina, koja su tokom igre u dvorištu konzumirala zemljište/pesak koje su posećivale mačke (75). Oociste *T. gondii* su nađene čak u 32% školskih igrališta u Brazilu (76). Kontaminirana zemlja kao i voda, mogu zagaditi voće i povrće koje raste nisko pri zemlji. Više istraživanja istaklo je značaj prenosa infekcije nakon konzumiranja svežeg neoprano voća i povrća u ishrani (jagode, rotkvice, zelena salata, itd.) (77-79).

1.5.2.2. Kontaminacija vode

U vodenoj sredini oociste mogu dugo preživeti. Hemijski i fizički tretmani vode, uključujući hlorinaciju i tretman ozonom (80) neuspešni su u uništavanju oocisti. U svetu je zabeleženo nekoliko epidemija koje su nastale konzumiranjem kontaminirane vode, Great Victoria u oblasti British Columbia, Kanada (81), Santa Isabel do Ivaí u Brazilu (82) i Coimbatore, Indija (83). Takođe, kako oociste mogu opstati u morskoj vodi, faktori rizika za širenje infekcije mogu biti i konzumiranje školjki poput ostriga

i drugih morskih plodova koji se konzumiraju u sirovom stanju tako da u njima eventualno prisutne oociste zadržavaju svoju vijabilnost (84).

1.5.3. Infekcija tahizoitima

Tahizoiti *T. gondii*, za razliku od sporozoita, nisu otporni u spoljašnjoj sredini, i ingestijom bivaju lako uništeni jer svega desetak minuta mogu da prežive uticaj hlorovodonične kiseline (HCL) i pepsina. Horizontalni prenos tahizoita sa stanovišta epidemiologije i medicine nema velikog značaja koliko vertikalni prenos sa majke na plod. Od horizontalnog puta prenosa tahizoita opisani su jedino slučajevi ingestije tahizoita konzumiranjem nepasterizovanog kozijeg mleka (12).

Vertikalni, transplacentalni put prenosa tahizoita tokom trudnoće odgovoran je za nastanak kongenitalne infekcije. Do kongenitalne toksoplazmoze dolazi tokom primarne infekcije majke, kada tahizoiti tokom parazitemije preko placente dolaze do ploda. Učestalost vertikalne transmisije raste sa porastom gestacijske starosti ploda i o tome će biti reči kasnije.

1.5.4. Infekcija parazitom *Toxoplasma gondii* kao posledica transplantacije

U populaciji pacijenata podvrgnutih transplantaciji solidnih organa/matičnih ćelija hematopoeze toksoplazmoza predstavlja životno ugrožavajuću infekciju usled ograničene imunološke sposobnosti organizma primalaca za odbranu. Osim osnovne bolesti koja je indikacija za transplantaciju, fatalnom ishodu primalaca sa toksoplazmozom doprinosi i produžena primena imunosupresivne terapije.

Toksoplazmoza može nastati kao posledica transplantacije solidnih organa (srce, pluća, bubreg, jetra, itd.) ili nakon transplantacije matičnih ćelija hematopoeze (eng. *Haematopoietic Stem Cell Transplantation*-HSC transplantacija). (85, 86).

1.5.4.1. Infekcija parazitom *Toxoplasma gondii* kao posledica transplantacije solidnih organa

1.5.4.1.1. Akvivirusna (preneti grafitom) toksoplazmoza

Putem solidnih organa koji sadrže ciste (srce, bubrezi, pluća, jetra) infekcija *T. gondii* može biti preneti od seropozitivnog donora (D⁺) seronegativnom recipijentu (R⁻) (87, 88).

U hroničnoj fazi infekcije ciste nastanjuju nervno i mišićno tkivo (CNS, retina, skeletni i srčani mišić), ali i pojedine visceralne organe (pluća, bubrezi, jetra) (21, 89). Usled odsustva kompetentnog imunološkog odgovora kod R⁻ zbog jatrogene imunosupresije uvek postoji opasnost da će ciste poreklom iz organa D⁺ rupturom dovesti do fatalne infekcije (tzv. reaktivacija infekcije D u organizmu R). Od prvih istraživanja sprovedenih 70-ih godina prošlog veka (90, 91) do danas, najviše prijavljenih slučajeva infekcije bilo je nakon transplantacije srca ili srca/pluća seropozitivnog donora seronegativnom recipijentu (92-94). U svetlu brojnih transplantacija koje se godišnje izvedu u svetu, ređe se beleže slučajevi infekcije *T. gondii* nakon transplantacije drugih solidnih organa (bubrezi, jetra, pankreas, itd.) seropozitivnog donora seronegativnom recipijentu (85). Klinički znaci infekcije obično se javljaju u periodu do tri meseca nakon transplantacije (ponekad i posle dve nedelje) i obično su praćene povišenom temperaturom, znacima miokarditisa, encefalitisa ili pnemonitisa, u zavisnosti od predilekcije parazita (93, 95). Serokonverzija koja se nedugo nakon transplantacije uoči kod R⁻, sa pojavom specifičnih IgG i IgM antitela u krvi, siguran je znak infekcije *T. gondii* (dobijene od D⁺) koja kod R⁻ može rezultirati i smrtnim ishodom. Međutim, usled duboke imunosupresije recipijenta pojava specifičnih antitela u krvi najčešće izostaje, i onda je jedini parametar za dijagnostiku infekcije prisustvo parazita/DNK parazita u cirkulaciji ili drugim telesnim tečnostima (likvor, bronhoalveolarni lavat). Teška klinička forma toksoplazmoze zabeležena je i u slučajevima transplantacije srca sa D⁺ na R⁺ (96). Međutim, ovako

nastala toksoplazmoza je retko posledica reinfekcije recipijenta sojem *T. gondii* donora, već češće predstavlja posledicu reaktivacije infekcije (soja *T. gondii*) R+ usled duboke imunosupresije.

1.5.4.1.2. Reaktivirana toksoplazmoza

Reaktivacija latentne infekcije *T. gondii* nakon transplantacije solidnih organa je daleko ređa i manje opasna nego što je to slučaj nakon HSCT (97). Takođe, reaktivacija infekcije nakon transplantacije visceralnih organa javlja se ređe nego nakon transplantacije srca (85). Dokumentovano je samo nekoliko slučajeva reaktivacije infekcije *T. gondii* nakon transplantacije bubrega i jetre (98). Klinički znaci reaktivacije infekcije često su praćeni i promenom u serološkim parametrima (85, 92, 99). U krvi se obično registruje povišen titar specifičnih IgG antitela, neretko u odsustvu specifičnih IgM antitela (100), dok je indeks aviditeta specifičnih IgG antitela visok za razliku od primarne infekcije (101). Dijagnostika reaktivirane infekcije je otežana ukoliko titar specifičnih antitela ostaje stabilan u krvi, i tada je jedini kriterijum za dijagnostiku infekcije prisustvo parazita/DNK parazita u krvi ili drugim telesnim tečnostima (bronhoalveolarni lavat, likvor).

1.5.4.2. Infekcija parazitom *Toxoplasma gondii* kao posledica transplantacije matičnih ćelija hematopoeze

1.5.4.2.1. Akvuirana (preneta graftom) toksoplazmoza

Za razliku od transplantacije solidnih organa, rizik od prenosa cista je zanemarljiv kod HSCT. Sa druge strane, transmisija parazita tokom HSCT jedino može da se dogodi ukoliko je infekcija kod donora bila u fazi parazitemije u trenutku kolekcije hematopoeznih ćelija (85, 102).

1.5.4.2.2. Reaktivirana toksoplazmoza

Toksoplazmoza nastala nakon HSCT najčešće je posledica reaktivacije latentne infekcije kod seropozitivnog recipijenta (R+). Klinički znaci infekcije *T. gondii* se obično javljaju u prva dva meseca nakon transplantacije, u manje od 10% slučajeva unutar prvih 30 dana, a u 15-20% slučajeva nakon više od 100 dana (85). Toksoplazmoza se najčešće ispoljava znacima encefalitisa, pneumonitisa ili kao diseminovana bolest sa fatalnim ishodom. Dijagnostika je bazirana na izolovanju parazita/DNK parazita u krvi, koštanoj srži, likvoru, bronhoalveolarnom lavatu, a ređe se bazira na serološkim testovima koji su usled stanja produžene jatrogene imunosupresije nepouzdati.

1.5.5. Infekcija parazitom *Toxoplasma gondii* nastala transfuzijom krvi

Transfuzija krvi predstavlja često zanemaren ali mogući put prenosa infekcije *T. gondii*, odnosno vijabilnih parazita (103).

Poseban rizik postoji u populaciji imunokompromitovanih pacijenata kada transfuzija pune krvi/komponentata krvi, kao deo terapijskog protokola, može potencijalno ugroziti život pacijenta ukoliko je donor krvi bio u fazi parazitemije. Poznato je da više od 80% inficiranih osoba nema znake infekcije, odnosno toksoplazmoza kod donora krvi može ostati neprepoznata, dodatno povećavajući stepen rizika u prenosu *T. gondii* tahizoita putem krvi.

Međutim, i pored ovih saznanja serološki skrining donora krvi se i dalje rutinski ne sprovodi, a put prenosa infekcije *T. gondii* transfuzijom krvi i do današnjih dana ostaje predmet mnogih kontroverzi jer parazit može sačuvati vijabilnost i do 50 dana u citriranoj krvi na 5°C (104, 105). Dokumentovano je nekoliko slučajeva prenosa parazita putem transfuzije leukocita (104, 105) kao i jedan slučaj koji ukazuje

na mogućnost prenosa parazita putem transfuzije trombocita (106), sa posledičnim smrtnim ishodom primaoca krvi.

U Srbiji se serološko ispitivanje donora krvi vrši na hepatitis B, hepatitis C, sifilis i virus humane imunodeficijencije (HIV). Serološki skrining na prisustvo parazita *T. gondii* se ne radi rutinski tako da rizici prenosa parazita putem transfuzije krvi nisu dokumentovani.

1.6. Klinički entiteti infekcije parazitom *Toxoplasma gondii*

U populaciji imunokompetentnih osoba klinička slika je blaga ili u većini slučajeva asimptomatska, za razliku od specifično ugroženih grupa (fetus/imunokompromitovane osobe) kod kojih infekcija *T. gondii* može imati ozbiljne kliničke, čak i životno ugrožavajuće posledice.

Razlikujemo, s tim u vezi, nekoliko kliničkih entiteta:

- a) Infekcija *T. gondii* kod imunokompetentnih osoba (s posebnim osvrtom na očnu toksoplazmozu)
- b) Infekcija *T. gondii* u populaciji specifično ugroženih grupa:
 1. Kongenitalna toksoplazmoza
 2. Toksoplazmoza kod imunokompromitovanih osoba

1.6.1. Infekcija parazitom *Toxoplasma gondii* kod imunokompetentnih osoba

Sabin je 1941. godine opisao prvi slučaj stečene toksoplazmoze kod šestogodišnjeg dečaka iz Sinsinatija koji je hospitalizovan 1937. godine nakon traume glave, pod inicijalima R.H. (107). Dva dana nakon prijema kod dečaka se javila intenzivna glavobolja praćena konvulzijama i dečak je preminuo usled neuroloških komplikacija. Nakon urađene autopsije, homogenat dečakovog mozga je inokulisan u laboratorijske miševe sa idejom da se izoluje poliovirus za koga se sumnjalo da je bio uzročnik encefalomijelitisa kod dečaka. Međutim, te 1937. godine iz laboratorijskih miševa je izolovan prvi humani soj *T. gondii* nazvan po inicijalima dečaka RH koji se od tada uspešno održava u referentnim laboratorijama za toksoplazmozu širom sveta.

Primarno stečena toksoplazmoza kod imunokompetentnih osoba je u 80% slučajeva asimptomatska (9, 11). Kod simptomatskih pacijenata mogu se javiti nespecifični, *flu-like* simptomi, poput uvećanih limfnih žlezda (cervikalne, ingvinalne i aksilarne), subfebrilnih temperatura udruženih sa malaksalošću i mialgijama. Limfadenopatija može trajati ponekad mesecima i često liči na kliničku sliku infektivne mononukleoze.

Ponekad primarna infekcija *T. gondii* može biti udružena sa znacima retinohorioiditisa (108). U Kanadi (British Columbia) registrovana je visoka stopa javljanja retinohorioiditisa tokom epidemije (19/100 primarno inficiranih), pri čemu je 20% ispitanika imalo ponovljene epizode retinohorioiditisa (109) kao posledica infekcije atipičnim sojem izolovanim iz kuguara (110).

Iako je klinička slika, ukoliko se simptomi ispolje, blaga, atipični sojevi mogu i kod imunokompetentne osobe ponekad da izazovu pneumonitis, miokarditis, meningoencefalitis pa čak i da dovedu do smrtnog ishoda (111).

1.6.2. Očna infekcija parazitom *Toxoplasma gondii*

Dugo se smatralo da je očna toksoplazmoza (OT) isključivo posledica kongenitalno nastale infekcije (112) ali su kasnije sprovedena istraživanja osporila ovu paradigmu i pokazala da očna patologija može biti manifestacija i postnatalne infekcije (113).

S tim u vezi, OT može biti manifestacija primarne akvovirane infekcije ili se može javiti kao sekvela kongenitalno nastale infekcije parazitom *T. gondii*. Iako je retko manifestacija primarne akvovirane infekcije, kod imunokompetentnih osoba horioretinitis je obično samoograničavajuće prirode i uglavnom se spontano povlači u periodu od 4 do 8 nedelja (114), retko ostavljajući sekvele. Sa druge strane u OT kongenitalne etiologije sekvele mogu biti takve da dovedu do potpunog gubitka vida, u zavisnosti od dela retine zahvaćenog infekcijom. Naime, nelečena ili neadekvatno lečena kongenitalna toksoplazmoza kao čestu kasnu sekvelu (godinama nakon rođenja, čak i u ranoj mladosti) ima upravo retinohoroiditis (58).

Evropsko retrospektivno istraživanje (1916 ispitanika) ukazalo je da je najčešća dijagnoza kod bolesnika sa očnom toksoplazmozom (kongenitalna ili postnatalna) posteriorni uveitis i da je globalno gledano toksoplazmoza uzročnik čak 4,2% dijagnostikovanih uveitisa (115). U Severnoj Africi toksoplazmoza je drugi vodeći uzrok očne patologije (10,8%) i najčešći uzrok posteriornog uveitisa (38,8%) (116). Područje infekcije najčešće obuhvata periferiju retine dovodeći do lezije makule i zapaljenja staklastog tela (117, 118). Lezija optičkog nerva je redak događaj, ali može izazvati ozbiljno oštećenje vida, odnosno potpuni gubitak vida. Kod dece sa kongenitalnom toksoplazmozom katarakta može biti povezana sa retinohoroiditisom i može dovesti do teškog iridociklitis (118). U očnoj toksoplazmozi se mogu sresti i retinohoroidni ožiljci, fokalni/difuzni vaskulitisi i sindrom inflamatorne očne hipertenzije (119). Aktivne lezije su povezane sa zapaljenjem staklastog tela, što dovodi do zamućenja vida kod pacijenata, dok su skotomi direktno povezani sa veličinom i lokalizacijom retinohoroidinih lezija tokom neaktivne faze infekcije. Ređe se u očnoj patologiji mogu javiti multifokalni retinohoroiditis, horoiditis bez retinitisa, hemoragični vaskulitis, oštećenje optičkog diska, serozno odvajanje mrežnjače i neovaskularizacija mrežnjače (119).

Za dijagnozu očne toksoplazmoze obično je dovoljan oftalmološki pregled očnog dna jer je nalaz tipičan i ne zahteva laboratorijsku potvrdu infekcije *T. gondii* (120). Veoma retko, kada funduskopskim pregledom ne može da se postavi/isključi dijagnoza rade se dodatni, serološki testovi (određivanje specifičnih IgM i IgG antitela). Otkrivanje antitela na *T. gondii* i PCR analiza očne vodice su dodatni dijagnostički alati sa visokom senzitivnošću u potvrdi dijagnoze (121, 122)

Ukoliko je infekcija zahvatila ili je u neposrednoj blizini žute mrlje, zbog potencijalnog oštećenja vida, savetuje se hitno uvođenje terapije (123). Takođe, hemoprofilaksa je obavezna ukoliko se očna patologija javi kod imunosuprimiranih pacijenata ili je u pitanju atipična klinička slika očne toksoplazmoze. Hemoprofilaksa podrazumeva upotrebu pirimetamina i sulfadiazina zajedno sa kortikosteroidima kao klasična „trostruka terapija” (124). Rothova i sar. su ukazali na bolji terapijski efekat primenom trostruke terapije u odnosu na bilo koji drugi terapijski protokol (125).

1.6.3. Kongenitalna infekcija parazitom *Toxoplasma gondii*

Kongenitalna toksoplazmoza (KT) nastaje kao posledica vertikalnog prenosa tahizoita, transplacentalno, sa majke na plod tokom akutne infekcije u trudnoći ili u perikonceptualnom periodu koji se proteže i do 2 meseca pre začeća. Da bi se uopšte moglo govoriti o KT neophodna je klinička ili laboratorijska potvrda infekcije ploda.

Od trenutka spoznaje da *T. gondii* u humanoj populaciji može dovesti do kongenitalne infekcije ploda sa teškim kliničkim manifestacijama, koje mogu biti i inkompatibilne sa životom, najveći broj istraživanja u ovoj oblasti, sa posledično najjačim odjekom u naučnoj javnosti bilo je usmereno upravo na kongenitalnu toksoplazmozu.

Prvi slučaj KT opisan je kod novorođenčeta starog tri dana sa kliničkim znacima hidrocefalusa i mikroftalmije, od strane tri patologa Wolf, Cown i Paige u Njujorku 1938. godine (3), ali se tada nije znalo da postoji mogućnost vertikalne transmisije parazita sa majke na plod. Usled progresivnih neuroloških komplikacija, novorođenče je umrlo nepunih mesec dana po rođenju. Prilikom autopsije uočeni su jasni znaci encefalomijelitisa i retinitisa i iz tkiva su izolovani vijabilni paraziti *T. gondii*. Dakle, prošlo je čak nekoliko decenija od otkrića parazita da bi se postavila hipoteza o transplacentalnom prenosu infekcije. Tokom narednih godina, Sabin je sumirao iskustva stečena kroz medicinsku praksu i kao sigurne znake kongenitalne toksoplazmoze naveo hidrocefalus, intracerebralne kalcifikacije i horioretinitis (126). Ovi znaci, tzv. „trijas KT“ su u eri pre razvoja pouzdanih dijagnostičkih laboratorijskih metoda služili kao klinička potvrda KT. Danas se, usled široko dostupne i pouzdane prenatalne dijagnostike i efikasne terapije, tzv. „trijas KT“ retko sreće.

Incidencija KT je vrlo varijabilna u globalnim okvirima, sa upadljivim razlikama među različitim geografskim područjima, uslovljenim razlikama u prevalenciji infekcije *T. gondii* u opštoj populaciji ali i dostupnošću raspoložive dijagnostike. Pouzdani podaci o incidenciji KT, s obzirom da je često asimptomatska na rođenju, postoje samo za tri zemlje koje već dugi niz godina sprovode obavezan program serološkog skrininga trudnica (Francuska, Austrija, Slovenija), dok se u ostalim zemljama baziraju na različito zasnovanim procenama. U Francuskoj, zemlji koja ima višedecenijski skrining program obaveznog serološkog testiranja trudnica na toksoplazmozu te pravovremene dijagnostike i lečenja KT, incidencija iznosi 2,9/10.000 novorođenčadi (Villena, 2010). U Austriji se takođe sprovodi dobar prenatalni serološki skrining trudnica i incidencija iznosi 1/10.000 novorođenčadi (127). U Sloveniji incidencija KT iznosi 3/1000 novorođene dece (128). Procenjuje se da se u SAD rađa jedno dete sa KT na 10.000 novorođene dece (129), odnosno da na godišnjem nivou od 4 miliona novorođene dece njih 400 biva zaraženo *T. gondii* (130). Ipak, po mišljenju nekih autora incidencija KT u SAD je značajno viša i iznosi od 500 do 5000 živorođene dece na godišnjem nivou (131), dok se na globalnom nivou procenjuje da od KT oboli oko 190.000 dece godišnje (42). U Velikoj Britaniji simptomatska KT se javlja u 0,34/10.000 slučajeva (132), dok se u Brazilu, zemlji visoke prevalencije toksoplazmoze, KT registruje kod 9/10.000 novorođene dece (133).

Uslov da bi se dogodila kongenitalna infekcija je parazitemija, odnosno hematogena diseminacija tahizoita do placentе, kao i mogućnost prolaska placentalne barijere. Više faktora utiče na to da li će infekcija trudnice rezultirati infekcijom ploda, i to pre svega broj i virulentnost parazita, imunološki odgovor trudnice (stepen imunosupresije) kao i i trimestar trudnoće u kojem je došlo do njene infekcije. Sa porastom gestacijske starosti, usled fiziološkog povećanja propustljivosti placentе, raste i rizik od vertikalnog prenosa parazita, ali se zato rizik od ozbiljnijih oštećenja ploda smanjuje (134). Tokom poslednjih nekoliko nedelja trudnoće mogućnost prenosa tahizoita raste i do 90%, u odnosu na prvih 6 nedelja kada je mogućnost prenosa tahizoita manja od 2% (135, 136).

Ukoliko do infekcije dođe na početku trudnoće, moguća oštećenja ploda su najveća, iako je mogućnost prenosa tahizoita najmanja ali, ukoliko do infekcije ploda ipak dođe, potencijalne manifestacije su najozbiljnije i često inkompatibilne sa životom - spontani ili *missed* pobačaj (137). Iako se danas tzv. klasični trijas KT retko sreće (hidrocefalus/mikrocefalus, cerebralni kalcifikati i oštećenja retine) to jesu potencijalne manifestacije neležene KT nastale u drugom trimestru trudnoće. Tokom drugog trimestra, kada se odvija intenzivna organogeneza, *T. gondii* može izazvati fina oštećenja predilekcionih organa (pre svega CNS-a, uključujući i retinu). *T. gondii* dovodi do stvaranja multifokalnih i difuznih polja parenhimatozne nekroze tkiva mozga fetusa koja se vremenom transformišu u kalcifikate. Najčešće komplikacije ovih događaja su razvoj hidrocefalusa (obstrukcija *Sylvius aqueducta* ili *Monro foramina* usled same nekroze tkiva) ili mikrocefalusa (gubitak nervnog tkiva). Osim oštećenja tkiva mozga, *T. gondii*, najčešće u poslednjem trimestru trudnoće, može da izazove okularne lezije dovodeći najčešće do retinohoroiditisa, mada može nastati atrofija optičkog nerva, mikroftalmija, slepilo. Tokom života, posebno u ranoj mladosti, usled lokalne reaktivacije hronične toksoplazmoze odnosno ekscistacije bradizoita iz okularnih cista kod kongenitalno inficiranog deteta može doći do novih epizoda retinohoroiditisa (58), pri čemu može nastati i slepilo ukoliko je zonom inflamacije obuhvaćena makula (138).

Neretko se kongenitalna infekcija može sistemski manifestovati znacima hepatosplenomegalije, trombocitopenijom, pneumonitisom, makulopapuloznom ospom, intrauterusnim zastojem u rastu ploda (*in utero growth restriction* – IUGR), odnosno nedovoljnom porođajnom težinom.

Veoma retko, KT može nastati usled reaktivacije hronične infekcije duboko imunosuprimirane trudnice, ili još ređe, reinfekcije trudnice novijim virulentnijim sojem *T. gondii* (konzumiranje sirovog ili nedovoljno termički obrađenog mesa na podneblju koje nastanjuju virulentniji sojevi-internacionalna putovanja) (139).

Opisane kliničke manifestacije i potencijalne sekvele koje mogu nastati kao posledica kongenitalne infekcije *T. gondii*, potenciraju značaj pravovremenog i adekvatnog serološkog skrininga svih žena reproduktivne dobi (trudnice, žene koje planiraju trudnoću). Sistemski organizovan i sveobuhvatan serološki skrining tokom trudnoće predstavlja prvi korak u prevenciji KT, jer više od 50% zaraženih trudnica nema simptome bolesti i nema u anamnestičkim podacima istoriju izlaganja poznatim faktorima rizika. Ukoliko se na vreme dijagnostikuje i leči, posledice KT se mogu sprečiti, ili bar umanjiti, uključujući i pojavu kasnih sekvela (140).

Lečenje novootkrivenih primarno inficiranih trudnica je neophodan korak u cilju sprečavanja prenosa infekcije na plod. S obzirom na to da primarno inficirana trudnica ne znači nužno i kongenitalnu infekciju ploda, neophodno je da ukoliko se na KT posumnja (serologija, fetalna ultrasonografija) uradi i opsežna prenatalna dijagnostika, uključujući i PCR (*polymerase chain reaction*) analizu uzorka plodove vode u cilju detekcije DNK parazita u uzorku, kao indikatora fetalne infekcije. Spiramicin je lek izbora kod inficiranih trudnica pre nego što se utvrdi infekcija ploda i procenjuje se da značajno redukuje rizik prenosa infekcije. Ukoliko se prenatalnom dijagnostikom utvrdi KT, tada se terapijski protokol menja i uvodi se pirimetamin i sulfonamid (najčešće sulfadiazin, PYR-SDZ) koji prolaze placentu, i primenjeni u kombinaciji imaju sinergistički efekat. Preporučeni terapijski režim se kontinuirano primenjuje tokom cele trudnoće i tokom prve godine života deteta, uz dodatak folne kiseline koja redukuje potencijalni mijelosupresivni efekat PYR-SDZ. Prenatalno inficirana deca koja se adekvatno leče i prate tokom čitave prve godine života imaju manji broj ili uopšte nemaju sekvele (pre svega horioretinitis) u kasnijem životnom dobu (129).

Kada se uzmu u obzir moguće kliničke posledice KT ali i troškovi kompleksne dijagnostike i lečenja, sagledava se značaj edukacije žena u generativnom dobu o poznatim faktorima rizika kao široko dostupnom a veoma efikasnom programu prevencije KT. U takvim preventivnim programima akcenat je

na konzumaciji isključivo adekvatno termički obrađenog mesa, temeljnom pranju voća i povrća pre konzumiranja, pranju ruku nakon kontakta sa zemljom, kao i nošenju adekvatne opreme prilikom rada u bašti, izbegavanju čišćenja mačijih posuda tokom trudnoće ili na upotrebi rukavica prilikom čišćenja i pražnjenja istih. Takođe kao značajna mera sekundarne prevencije, serološko ispitivanje statusa infekcije *T. gondii* kod trudnica podrazumeva detekciju specifičnih IgM i IgG antitela na početku i tokom svakog trimestra trudnoće. Ukoliko dođe do serokonverzije u trudnoći, indikuje se prenatalna dijagnostika KT. Primer efikasnog serološkog skrining programa trudnica predstavlja Francuska sa jednomesečnim analizama na toksoplazmozu do porođaja. Prepoznato je da je u Francuskoj prevalencija kongenitalne toksoplazmoze bila najviša u periodu od 1987. do 1991. godine, da bi u periodu od 1992. do 2008. godine značajno opala (141), potvrđujući opravdanost skrining programa. Austrija i Slovenija serološki skrining trudnica sprovode jednom u trimestru. Uvođenje i šema serološkog skrining programa zavise od njegovog pretpostavljenog *cost-benefit* učinka (142). U Italiji je skrining nedavno uveden. U nekim zemljama (Belgija, Švajcarska, Litvanija), skrining program se primenjivao nekoliko godina, dok se u pojedinima državama Evrope (Velika Britanija, Norveška) troškovi potencijalnog skrining programa ne smatraju opravdanim pri postojećoj seroprevalenciji toksoplazmoze među trudnicama.

1.6.4. Infekcija parazitom *Toxoplasma gondii* kod imunokompromitovanih osoba

Krajem XX veka kada je otkriveno da je toksoplazmoza oportunistička infekcija fokus je bio usmeren na ekspanziju HIV inficiranih osoba kod kojih se *T. gondii* infekcija javljala u formi životno ugrožavajuće cerebralne toksoplazmoze (92). Uvođenjem HAART (eng. *highly active antiretroviral therapy*) protokola kod ovih pacijenata pojava toksoplazmatskog encefalitisa i ostalih oportunističkih infekcija svedena je na minimum. Zbog toga je težište interesovanja u oblasti toksoplazmoze pomereno na ostala imunokompromitovana stanja.

Poslednjih nekoliko godina sa povećanjem broja uspešno izvedenih transplantacija (solidnih organa ili matičnih ćelija hematopoeze) usled proširenja lista indikacija, dolazi i do porasta broja imunokompromitovanih pacijenata koji su u većem riziku da obole od toksoplazmoze. Iako je infekcija kod odraslih imunokompetentnih osoba uglavnom asimptomatska, toksoplazmoza kod imunokompromitovanih pacijenata može dovesti do smrtnog ishoda usled smanjene sposobnosti imunološkog odgovora da kontroliše infekciju. Toksoplazmoza imunokompromitovanih pacijenata češće nastaje kao posledica reaktivacije hronične infekcije, mada može biti i stečena primarno nastala infekcija (143).

U ovim vulnerabilnim grupama toksoplazmoza najčešće izaziva encefalitis. Klinička slika encefalitisa varira od subakutnog stanja koje može trajati nedeljama sa progresijom bolesti, do jednog akutnog stanja konfuzije praćenog brojnim neurološkim ispadima. Osim encefalitisa, toksoplazmoza kod imunokompromitovanih pacijenata se može ispoljiti znacima horioiretinitisa, pneumonitisa, ili pak kao diseminovano oboljenje koje na kraju dovodi do smrtnog ishoda (144).

Za razliku od incidencije toksoplazmoze među HIV-inficiranim pacijentima, incidencija kod transplantiranih pacijenata je manje dokumentovana (145-147), i uglavnom se podaci svode na prikaze slučajeva (48, 148). Kod transplantiranih pacijenata, rizik od reaktivacije hronične infekcije zavisi od stepena imunosupresije i vrste grafta (kalema) koji je korišćen u transplantaciji (149) pri čemu su najviše ugrožene osobe kod kojih se radi alotransplantacija hematopoeznih matičnih ćelija (allo-HSCT) dok je kod autologih transplantacija rizik minimalan (150-152). U posttransplantacionom periodu usled slabljenja imunološkog nadzora domaćina, dolazi do reaktivacije latentne (hronične) infekcije, rupture cista i diseminacije bradizoita/tahizoita koji dovode do kliničke slike encefalitisa, miokarditisa,

pneumonitisa, zavisno od predilekcije parazita. Do reaktivacije infekcije obično dolazi u prva četiri posttransplantaciona meseca, neretko i kasnije, u zavisnosti od toga koliko organizmu treba vremena da obnovi imunološki odgovor i od pojave/odsustva bolesti „kalem protiv domaćina“ (eng. *graft-versus-host disease*, GVHD). Činioci koji takođe uslovljavaju reaktivaciju latentne (hronične) toksoplazmoze su vrsta kalema i imunosupresivni protokol (intezitet odnosno dužina imunosupresivne terapije). Incidencija reaktivacije uslovljena je indirektno prevalencijom toksoplazmoze u toj populaciji. S obzirom da kao i kod kongenitalne toksoplazmoze uglavnom ne postoji organizovani skrining program ranog otkrivanja inficiranih trudnica, tako i kod imunokompromitovanih pacijenata uglavnom izostaje adekvatan monitoring infekcije *T. gondii* (stečene ili reaktivirane). Prevencija toksoplazmoze bi se ogledala u pretransplantacionom serološkom testiranju donora i/ili recipijenta, kao i u adekvatnoj hemoprofilaksi (trimetoprim/sulfametoksazol). Pojedini protokoli se baziraju na kliničkom i molekularnom (PCR) monitoringu HSCT pacijenata s ciljem rane dijagnostike reaktivacije infekcije i povećanja stope preživljavanja (86, 151, 153, 154) mada su ovi protokoli i dalje podložni debati povodom *cost-benefit* učinka.

1.7. Metode laboratorijske dijagnostike infekcije *Toxoplasma gondii*

Imajući u vidu da klinički pregled najčešće nije dovoljan za dijagnozu toksoplazmoze usled nespecifične kliničke slike ili pak odsustva simptoma infekcije, dijagnostika se po pravilu oslanja na primenu direktnih i/ili indirektnih laboratorijskih testova. Dijagnoza infekcije uglavnom se potvrđuje direktno, prisustvom vijabilnog parazita ili njegove DNK u telesnim tečnostima/tkivima ili indirektno, dokazivanjem prisustva specifičnih antitela kao indikatora humoralnog imunskog odgovora na infekciju *T. gondii*. Direktni dijagnostički testovi se nezamenljivi u dijagnostici infekcije *T. gondii* u visokorizičnim grupama (fetus/neonatus, imunokompromitovani pacijenti). S druge strane, indirektni dijagnostički testovi se koriste u cilju utvrđivanja faze infekcije *T. gondii* imunokompetentnih osoba/trudnica, ali su našli primenu i u brojnim epidemiološkim istraživanjima.

1.7.1. Direktno dijagnostičke metode

1.7.1.1. Molekularna dijagnostika toksoplazmoze primenom *Polymerase chain reaction* (PCR) metode

Molekularna dijagnostika je osnovna metoda za direktnu potvrdu kongenitalne i očne toksoplazmoze kao i toksoplazmoze kod imunokompromitovanih pacijenata (48). Molekularna metodologija se može primeniti u cilju ispitivanja različitih uzoraka (plodova voda, tkivo placentе, krv, likvor, urin, očna vodica, bronhoalveolarni lavat, itd.). Međutim, najširu primenu molekularna dijagnostika (PCR) pronašla je u prenatalnoj dijagnostici kongenitalne toksoplazmoze iz uzorka plodove vode.

Burg i sar. su 1989. godine prvi put implementirali upotrebu PCR u dijagnostici *T. gondii* infekcije, na osnovu lančanog umnožavanja ciljne sekvence nazvane B1 koja se 35 puta ponavlja u genomu parazita (155). Od tada je razvijeno više protokola koji se baziraju na prepoznavanju, umnožavanju (amplifikaciji) i analizi određenih sekvenci DNK koje su stabilne u genomu i koje se više puta ponavljaju (B1, 529 bp, ITS-1, 18S rRNK). Visokokonzervirana sekvenca dužine 529 baznih parova, koja se ponavlja čak između 200-300 puta u genomu omogućila je razvoj osjetljivije tehnike molekularne dijagnostike (10 do 100 puta u odnosu na B1) u realnom vremenu nazvane *real-time* PCR (rtPCR, qPCR) koja je ubrzala izvođenje testa i shodno tome, skratila vremenski interval od uzorkovanja do dobijanja validnog rezultata sa prvobitnih 24-48h svela na svega 4h.

Postoji široka paleta PCR protokola koje koriste različite laboratorije, ali se svaki protokol u osnovi sastoji od tri postupka (ekstrakcija, amplifikacija i detekcija ciljane DNK sekvence) (156). Specifični proceduralni koraci za koje se beleže značajne razlike između grupa istraživača odnose se na postupak ekstrakcije genetičkog materijala, odabir prajmera, upotrebu enzima uracil-DNK-glikozilaze (sprečavanje kontaminacije), upotrebu interne kontrole (156), itd.

Dokazano je da je PCR analiza plodove vode, izvedena nakon 18 gestacijske nedelje (gn) osetljivija i brža od konvencionalnih dijagnostičkih postupaka (analiza fetalne krvi) u dijagnostici kongenitalne toksoplazmoze (157). PCR iz plodove vode indikovao je kod svih trudnica kod kojih je serološkim putem postavljena sumnja na akutnu fazu infekcije ili ukoliko je ultrazvučnom sonografijom postavljena sumnja na oštećenje ploda (ventrikulomegalija, hidrocefalus, mikrocefalus). U istraživanju sprovedenom u Francuskoj kojim je obuhvaćeno 339 žena akutno inficiranih u trudnoći i kod kojih je izvršena amniocenteza između 18 i 38 gn, PCR iz plodove vode je imao 100% pozitivnu prediktivnu vrednost (PPV) i 99,7% negativnu prediktivnu vrednost (NPV) (157). U kasnije sprovedenom istraživanju u istoj zemlji, Romand i sar. su ukazali da ista konvencionalna PCR metoda primenjena kod 271 trudnice ima istu PPV (100%), specifičnost 100% ali znatno nižu NPV (88%) i senzitivnost (64%) (158). Romand i sar. su senzitivnost i NPV procenjivali poređenjem konačne dijagnoze postavljene kod novorođenčeta serološkim testovima koji su rađeni tokom prve godine života. Zaključak je bio da se čak i upotrebom molekularnih testova u prenatalnoj dijagnostici ne mogu otkriti svi slučajevi kongenitalno nastale infekcije.

Poznajući sve mane i prednosti, iako je došlo do napretka poslednjih nekoliko decenija, molekularna tehnologija koja se koristi u dijagnostici toksoplazmoze se i dalje usavršava, zahtevajući uvek adekvatnu standardizaciju u referentnim laboratorijama.

1.7.1.2. Biološki ogled

Biološki ogled predstavlja zlatni standard u dijagnostici kongenitalne infekcije *T. gondii* (136, 159), a podrazumeva identifikaciju cista *T. gondii* u tkivu mozga laboratorijskih miševa 4 do 6 nedelja nakon intraperitonealne inokulacije uzoraka plodove vode, fetalne krvi ili homogenata tkiva placent. S obzirom na to da je neophodno da prođe period od najmanje četiri nedelje nakon intraperitonealne infekcije miševa da bi se tragalo za cistama u moždanom tkivu, jasno je da test ne može biti prvi odabir u dijagnostici kongenitalno nastale infekcije, zbog toga se uglavnom dopunjuje ostalim laboratorijskim testovima. Takođe, široka primena PCR testova u XXI veku sasvim je potisnula upotrebu biološkog oglada i svela njegovu primenu na specijalizovane istraživačke referentne laboratorije.

1.7.1.3. Izolacija parazita *Toxoplasma gondii* -kultura ćelija

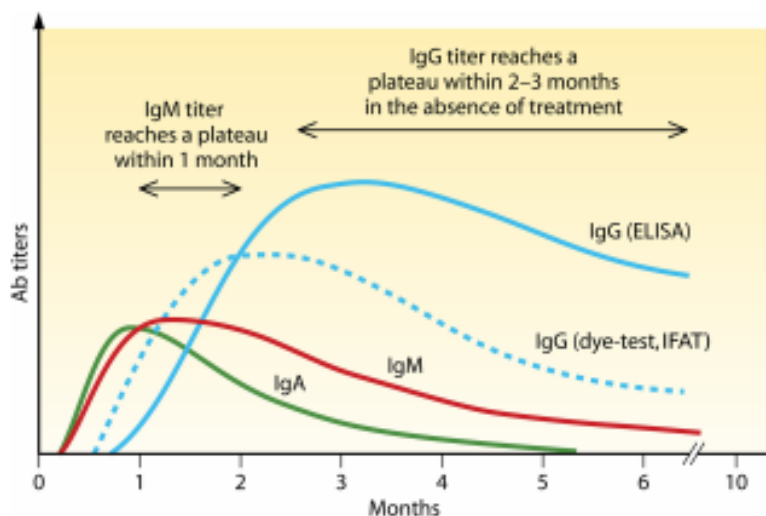
Danas se parazit *T. gondii* izoluje i održava u *in vitro* uslovima uglavnom u istraživačke svrhe, jer se izolacija *T. gondii* kroz ćelijske linije u cilju dijagnostike toksoplazmoze pokazala nedevojlno osetljivom (160).

1.7.2. Indirektne dijagnostičke metode

1.7.2.1. Kvantitativni serološki testovi

S obzirom na to da je toksoplazmoza uglavnom asimptomatska infekcija, serološki testovi olakšavaju dijagnozu otkrivanjem različitih klasa antitela specifičnih za *T. gondii* (IgM, IgA i IgG) u telesnim tečnostima (serum, plodova voda, likvor).

Najpre se sintetišu specifična IgM antitela, svega nekoliko dana od akvizicije infekcije. Koncentracija specifičnih IgM antitela u serumu dostiže plato druge odnosno treće nedelje bolesti da bi nakon mesec dana počela da opada i u periodu od 6 meseci od početka infekcije više se ne otkrivaju u cirkulaciji (**Slika 5**). Ponekad se specifična IgM antitela mogu detektovati u krvi čak i nekoliko godina nakon primarne infekcije (161). Shodno tome, samo prisustvo specifičnih IgM antitela u serumu nije dovoljno za dijagnozu akutne infekcije. Uporedo sa sintezom IgM antitela, u akutnoj fazi infekcije počinju da se sintetišu IgA antitela pa zajedno predstavljaju markere akutne infekcije (**Slika 5**). Sa druge strane, sinteza specifičnih IgG antitela počinje u periodu kada IgM antitela dostižu svoj pik, odnosno oko druge/treće nedelje bolesti, dostižući plato obično nakon dva meseca kada njihova koncentracija u serumu počinje postepeno da opada (**Slika 5**), mada ostaju detektabilna u cirkulaciji do kraja života inficirane osobe govoreći u prilog prethodnog kontakta sa parazitom. Samo detekcija specifičnih IgG antitela nikada nije dovoljna da se potvrdi/isključi aktivna faza infekcije. Zato postoji širok spektar dodatnih testova, usavršavanih poslednjih nekoliko decenija, koji omogućavaju da se otkrije status infekcije u trenutku ispitivanja.



Slika 5. Kinetika specifičnih antitela tokom infekcije *T. gondii* (Preuzeto iz Robert-Gangneux F, Darde ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. Clin Microbiol Rev. 2012;25:264 – 296 (48))

Sabin-Feldman dye test (DT) prvi put je opisan davne 1948. godine od strane Alberta Sabina i Harry Feldmana (10). Bio je prvi test koji se koristio za laboratorijsku potvrdu *T. gondii* infekcije i još uvek se smatra zlatnim standardom u serološkoj dijagnostici toksoplazmoze. DT je visoko senzitiv i specifičan kvantitativan test za detekciju specifičnih IgG antitela u kome se kao antigen koriste živi tahizoiti uzgajani u laboratorijskim miševima, odnosno kulturama ćelija. Princip testa zasnovan je na

osobini tahizoita da se u odsustvu specifičnih antitela oboje metilenskim plavim, dok u prisustvu antitela nastaje antigen-antitelo kompleks koji aktivira sistem komplementa i dovodi do lize parazita, odnosno njihove neobojenosti. Međutim, zbog zametnosti same procedure ali i rizika od laboratorijske infekcije, primena DT je danas svedena mahom na referentne laboratorije.

Indirektni imunofluorescentni test (*Indirect fluorescent antibody test, IFAT*) je ekonomičniji i lakši za izvođenje od DT. Test se bazira na principu da se specifična antitela u serijski razblaženim uzorcima vezuju za fiksirane intaktne tahizoite. Kompleks antigen-antitelo se potom otkriva pomoću fluorescein izotiocijanata obeleženih anti-humanih IgG ili IgM antitela, zbog čega test zahteva primenu fluorescentnog mikroskopa. Rezultate testa je lako uočiti, ali je interpretacija rezultata subjektivna i dugo traje (162). IFAT ima nižu senzitivnost u odnosu na DT test, i neretka je pojava lažno pozitivnih rezultata u serumima koji sadrže antinuklearna antitela ili reumatoidni faktor, pre svega kod pacijenata obolelih od autoimunih bolesti (sistemski lupus, reumatoidni artritis) (163, 164).

Modifikovani test direktne aglutinacije (*Modified agglutination test, MAT; High sensitivity direct agglutination test, HSDA*). Test direktne aglutinacije ne zahteva posebnu opremu ili konjugate, a korisiti se u otkrivanju specifičnih IgG antitela koja reaguju sa antigenom kojeg predstavljaju formalizirani tahizoiti (165). Test su inicijalno razvili Fulton i Turk davne 1959. godine (166) ali je prošao kroz nekoliko modifikacija da bi se postigla zadovoljavajuća specifičnost i senzitivnost (167, 168). Naime, na početku svoje primene ovim testom nije bilo moguće uspešno detektovati niske koncentracije specifičnih antitela te su lažno negativni rezultati bili česti, ali i lažno pozitivni jer je usled interferencije sa nespecifičnim imunoglobulinima dolazilo do lažne aglutinacije. Samim tim, rane forme ovog testa su pokazivale manji stepen senzitivnosti i specifičnosti u odnosu na DT. Modifikacije su išle u pravcu izmene antigena radi povećanja stepena senzitivnosti i primene merkaptotetanol (2ME) u cilju uklanjanja nespecifičnih imunoglobulina i posledičnog povećanja specifičnosti. Od početka njegove primene, davne 1974. godine do današnjih dana, test je našao široku primenu ne samo u dijagnostici infekcije već i u oblasti skrining programa i prevencije toksoplazmoze (ranog otkrivanja serokonverzije kod trudnica). Imajući u vidu da u testu nema antiseruma odnosno konjugata, MAT je našao široku primenu u otkrivanju specifičnih antitela i u uzorcima seruma životinja. Prošavši kroz više faza modifikacije, MAT je dostigao nivo senzitivnosti od 96% i specifičnosti od 98% što potvrđuje da se radi o dobrom skrining testu (169) koji se veoma lako izvodi u laboratorijskim uslovima.

Test indirektna hemaglutinacije (IHA) (170, 171).

Test fiksacije komplementa (CF test) (171).

Imunosorbentni aglutinacioni test (*Immunosorbent agglutination assay, ISAgA*) je visoko specifičan test koji se koristi za otkrivanje specifičnih IgM, IgA i IgE antitela (172). ISAgA koristi formalizirane tahizoite kao antigen, kao i test direktne aglutinacije i smatra se jednim od najosetljivijih komercijalno dostupnih seroloških testova za dijagnostiku toksoplazmoze. Međutim, test zahteva visok stepen stručnosti pošto nije automatizovan i zbog toga se jedino radi u referentnim centrima za toksoplazmozu obično kod novorođenčadi kod kojih se sumnja na kongenitalno nastalu infekciju (173). U tehničkom smislu test predstavlja kombinaciju testa direktne aglutinacije i „double-sandwich” ELISA testa. Princip testa sastoji se u vezivanju specifičnih antitela u uzorku seruma za odgovarajuće humano monoklonsko antitelo, kada nakon dodavanja antigena dolazi do aglutinacije. Slično testu aglutinacije rezultati se lako očitavaju, a slično ELISA testu, ISAgA testom se ne dobijaju lažno pozitivni rezultati usled prisustva reumatoidnog faktora ili antinuklearnih antitela.

Enzimski imunosorbentni test (*Enzyme-immunosorbent assay, EIA; Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA; Enzyme-linked fluorescent immunoassay, ELFA*) je test koji ima najširu primenu u dijagnostici toksoplazmoze. Voller i sar. su EIA test prvi put upotrebili u dijagnostici

toksoplazmoze (174). Za razliku od ostalih dijagnostičkih testova koji koriste cele tahizoite kao antigen, u EIA testu se koriste solubilni antigeni (citoplazmatske i membranske antigenske determinante). ELISA i ELFA koji detektuju specifična IgG, IgM, IgA i IgE antitela u humanom serumu su dva najčešće korišćena tipa EIA. Ovi testovi su dostupni kao komercijalni kitovi i automatizovani su. Danas su dostupni autoanalizatori koji koriste hemiluminiscentni metod detekcije. Hemiluminiscencija se koristi za kvantitativno merenje titra specifičnih IgM i IgG antitela uz pomoć antigena koji se nalazi na magnetnim mikročesticama i omogućava vezivanje specifičnih antitela (175). EIA su brzi i jeftini testovi koji su poslednjih nekoliko godina modifikovani da bi se izbegla pojava lažno pozitivnih rezultata usled reakcije sa reumatoidnim faktorom ili antinukleusnim antitelima razvojem „*antibody capture*” ili „*double-sandwich*” ELISA za detekciju specifičnih IgM (176-178) i IgA antitela (172, 179). Glavni nedostatak samog testa je loša standardizacija usled varijabilnosti u kvalitetu antigena koja utiče na interpretaciju rezultata. Uprkos širokoj globalnoj distribuciji komercijalnih kitova za detekciju IgM antitela, ovi testovi i dalje imaju često nižu specifičnost, a prijavljeni rezultati se često loše interpretiraju. Zamena tahizoitnih antigena rekombinantnim antigenima može da poboljša reproducibilnost testa i da smanji unakrsnu reaktivnost utičući na specifičnost samog testa.

ELISA test za određivanje aviditeta specifičnih IgG antitela je test koji se koristi za utvrđivanje stadijuma infekcije, odnosno za razlikovanje akutne (nedavno stečene) od hronične (latentne) infekcije parazitom *T. gondii*. Test je zasnovan na merenju funkcionalnog afiniteta specifičnih IgG antitela (180) koji se ogleda u jačini veza formiranih između specifičnih IgG antitela i antigena. Specifična IgG antitela koja se stvaraju na početku infekcije imaju niži afinitet vezivanja za antigen u odnosu na antitela koja se stvaraju nedeljama/mesecima kasnije. Usled antigen stimulisane selekcije B-limfocita dolazi do sazrevanja imunološkog odgovora i samim tim sazrevanja funkcionalnog afiniteta slobodnih IgG antitela pa se u hroničnoj infekciji detektuju specifična IgG antitela visokog aviditeta. Odnosno, porast aviditeta označava formiranje čvršćih veza između IgG antitela i antigenske determinante, i to vodoničnih, elektrostatičkih i van der Waalsovih veza, koje urea, kao denaturišući protein, razlaže, razdvajajući antigen-antitelo kompleks (181). Rezultat se interpretira kao indeks aviditeta, koji predstavlja odnos titra IgG antitela, odnosno optičke gustine u prisustvu i odsustvu agensa za denaturaciju proteina. Nije utvrđen nijedan univerzalni prag vrednosti iznad koga se može tvrditi da je indeks aviditeta visok, tako da većina laboratorija, odnosno proizvođača komercijalnih testova, koristi sopstvenu interpretaciju rezultata. Prisustvo visokog indeksa aviditeta je indikator hronične infekcije jer isključuje infekciju koja se dogodila u poslednjih 3 do 5 meseci (zavisi koji se komercijalni test koristi). Sa druge strane, nizak indeks aviditeta nije tako jasan pokazatelj nedavno nastale infekcije jer nizak indeks aviditeta može trajati i do godinu dana usled sporog sazrevanja istog (181). Pored toga, pojedinci mogu imati i graničan indeks aviditeta pa se interpretacija samih rezultata mora dopuniti ostalim serološkim testovima. Ovi testovi su našli najširu primenu kod trudnica koje pri prvom serološkom ispitivanju imaju pozitivan titar specifičnih IgG i IgM antitela, posebno tokom prvog trimestra trudnoće. U takvim slučajevima visok indeks aviditeta dozvoljava da se isključi infekcija *T. gondii* u prethodnih tri do pet meseci. Samim tim je razumljivo da ovaj test ima posebno važnu primenu u zemljama koje nemaju skrining program. Takođe, pokazano je i da visok indeks aviditeta specifičnih IgG antitela takođe isključuje nedavno nastalu infekciju kod većine osoba sa pozitivnim nalazom specifičnih IgM antitela (182).

1.7.2.2. Kvalitativni serološki testovi

Uporedna analiza IgM/IgG imunoloških profila majke i novorođenčeta Western blot tehnike - Western blot (WB). Značaj WB testa su još davne 1985. godine isticali Remington i sar. navodeći da je dragocen u dijagnostici KT (183). Princip testa se bazira na upoređivanju imunološkog profila majke i novorođenčeta (upoređivanje bendova u klasi specifičnih IgM/IgG antitela), odnosno otkrivanju novosintetisanih specifičnih IgM antitela u serumu novorođenčeta jer se ova antitela ne prenose pasivno iz majčine krvi, ali i neosintezu u IgG klasi (184-186).

2. Ciljevi istraživanja

Tokom posljednje četiri decenije u svetu je primećen pad prevalencije toksoplazmoze. Trend opadanja prevalencije toksoplazmoze beleži i Srbija. Kako su dosadašnja epidemiološka istraživanja u Srbiji vršena u populaciji žena generativnog doba i/ili trudnica, ostala je velika nepoznanica kolika je prevalencija infekcije u opštoj populaciji, koji se faktori rizika ističu kao najznačajniji i koje mere prevencije mogu biti primenjene u budućnosti u cilju kontrole prokuženosti populacije ovim parazitom. S tim u vezi ciljevi ovog istraživanja bili su:

- Određivanje prevalencije toksoplazmoze i faktora rizika u opštoj populaciji.
- Sagledavanje faktora rizika za nastanak toksoplazmoze, sa posebnim osvrtom na one koje je moguće modifikovati.
- Sagledavanje rizika za toksoplazmozu kod trudnica, kao specifične ugrožene grupe.

3. Materijal i metode

3.1. Dizajn istraživanja

Istraživanje je sprovedeno kao hibridna studija sastavljena od dve studije prevalencije (preseka) u periodu od decembra 2017. do februara 2019. godine. Prvom studijom preseka bili su obuhvaćeni dobrovoljni davaoci krvi (1095 ispitanika), oba pola, sa prebivalištem na teritoriji Beograda koji su u periodu od decembra 2017. do jula 2018. godine darivali krv u Institutu za transfuziju krvi Srbije u sklopu redovnih akcija darivanja krvi.

Prva studija prevalencije

Kriterijumi za uključivanje u studiju

U studiju se uključene osobe koje su ispunjavale sledeće kriterijume: osobe uzrasta 18-65 godina, bez akutnih ili hroničnih oboljenja kod kojih je lekarskim pregledom i proverom krvne slike utvrđeno da davanje krvi neće ugroziti ni davaoca, niti osobu koja bi tu krv primila. S obzirom da su dosadašnjim istraživanjima u Srbiji bile obuhvaćene samo žene generativnog doba i trudnice, u odabiru reprezentovanog uzorka u ovom istraživanju uključeno je gotovo podjednako muških ispitanika koliko i ženskih.

Kriterijumi za isključivanje iz studije

Ispitanici koji su imali akutna ili hronična oboljenja koja predstavljaju kontraindikaciju za darivanje krvi nisu bili uključeni u studiju. Takođe, kriterijumi za isključivanje ispitanika bili su i neadekvatno popunjeni epidemiološki upitnici, nepotpisan informisani pristanak, kompromitovan uzorak krvi (nedovoljno seruma za ispitivanje, serumi koji nisu adekvatno obeleženi ili propisno čuvani).

Druga studija prevalencije

Drugu studiju preseka činilo je 300 konsekutivno odabranih trudnica sa prebivalištem na teritoriji Beograda, koje su u periodu od novembra 2018. godine do februara 2019. godine dolazile u Institut za transfuziju krvi Srbije zbog rutinskog ispitivanja krvne grupe i Rh faktora pre porođaja.

Sve osobe uključene u istraživanje bile su upoznate sa ciljevima studije i tek nakon potpisivanja informisanog pristanka od strane ispitanika pristupalo se uzorkovanju krvi. Svi ispitanici kod kojih je bila postavljena sumnja na akutnu toksoplazmozu bili su o tome obavesteni i tom prilikom bile su im predočene mogućnosti za dalju dijagnostiku i lečenje.

Istraživanje je odobreno od strane Etičkih komiteta Instituta za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu (odluka broj EO122/2017), kao i Instituta za transfuziju krvi Srbije (odluka broj 6270.1).

Celokupna dijagnostika toksoplazmoze (planiranje istraživanja, ispitivanje statusa infekcije *T. gondii* i analiza dobijenih podataka) izvodila se u Nacionalnoj referentnoj laboratoriji za toksoplazmozu (NRLT) u Institutu za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu.

3.2. Instrumenti prikupljanja podataka-upitnici

Svi ispitanici - dobrovoljni davaoci krvi i trudnice - intervjuisani su od strane lekara u Institutu za transfuziju krvi Srbije, nakon kliničkog pregleda, korišćenjem upitnika kao istraživačkog instrumenta. Upitnik je sadržao sledeće celine:

1. **osnovni demografski podaci:** pol, uzrast (davaoci krvi stratifikovani u 5 grupa: 18-29, 30-39, 40-49, 50-59, >60 godina, kao i trudnice (20-24, 25-29, 30-34, 35-39, >40 godina), mesto stanovanja, zanimanje, nivo obrazovanja (osnovno, srednje, više/visoko obrazovanje), opština stanovanja (gradske ili prigradske opštine Beograda), podatak da li žive u kući sa dvorištem ili u stanu;
2. **podaci koji se odnose na stil života i ishrane:** konzumiranje mesa, konzumiranje sirovog mesa i/ili nedovoljno termički obrađenog mesa, vrste mesa (pileće, praseće, jagnjeće, goveđe), kontakt sa mačkama (kontakt sa vlastitom i uličnom mačkom) i kontakt sa zemljom (rad u bašti, voćnjaku, povrćnjaku);
3. **podaci iz lične anamneze** o postojanju limfadenopatije (cervikalne, aksilarne, ingvinalne) i povišene temperature (do 37,5 °C) u poslednjih godinu dana;
4. **podaci o rezultatima prethodnih ispitivanja na infekciju *T. gondii*,** ukoliko su rađena iz medicinskih ili ličnih razloga (samo trudnice);
5. **podaci iz ginekološko-akušerske anamneze kod žena u reproduktivnom periodu** (bilo da su žene davaoci krvi ili trudnice) o prethodnim ishodima trudnoće (spontani pobačaj, prevremeni porođaj i mrtvorodenost).

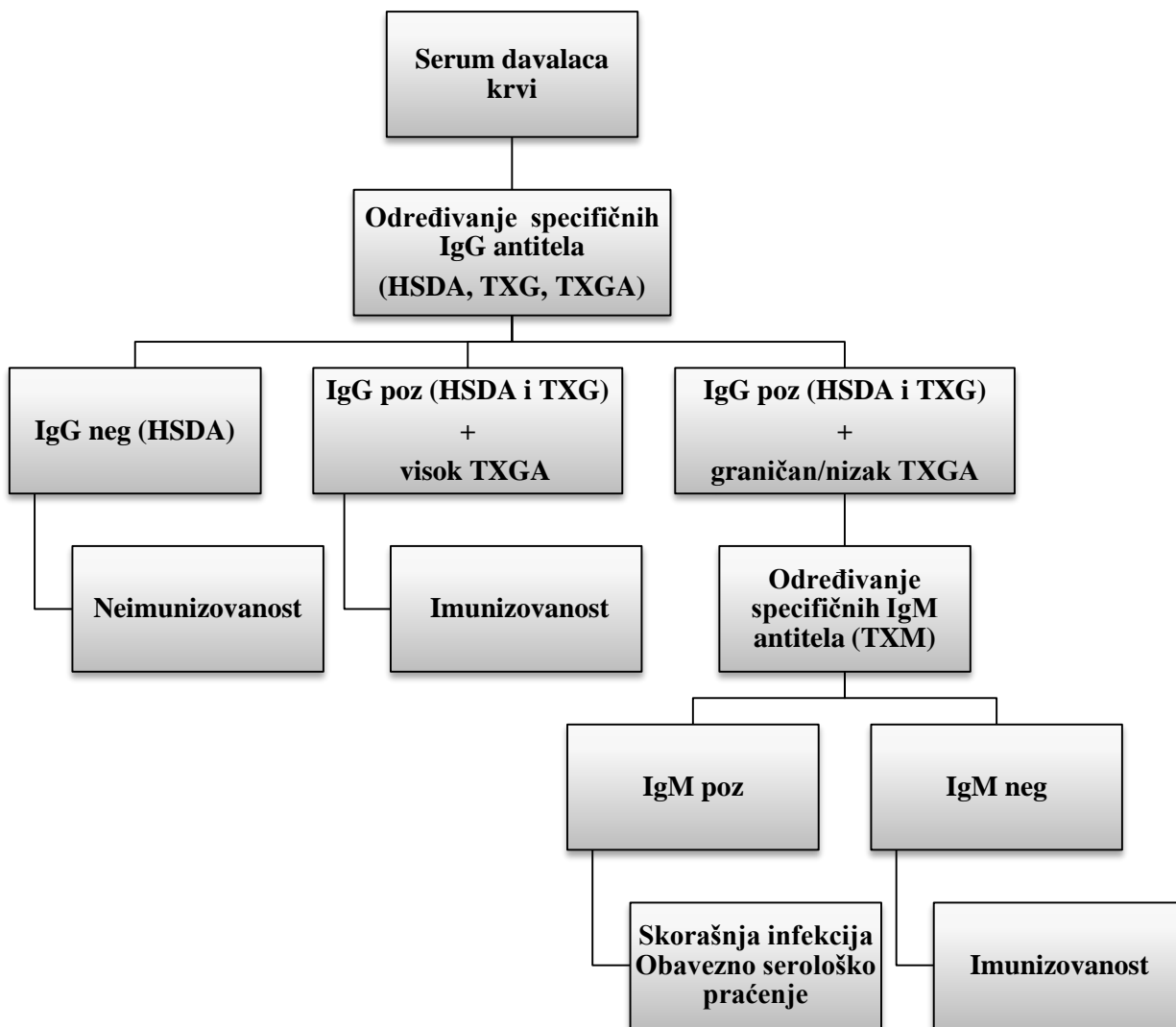
Osim osnovnih demografskih podataka i podatka o vrsti mesa koje se konzumira, sva pitanja imala su dihotomnu formu (da ili ne). U skladu sa time, smatrali smo da su ispitanici bili izloženi faktoru rizika ako su davali potvrđan odgovor.

3.3. Ispitivanje serološkog statusa infekcije *T. gondii*

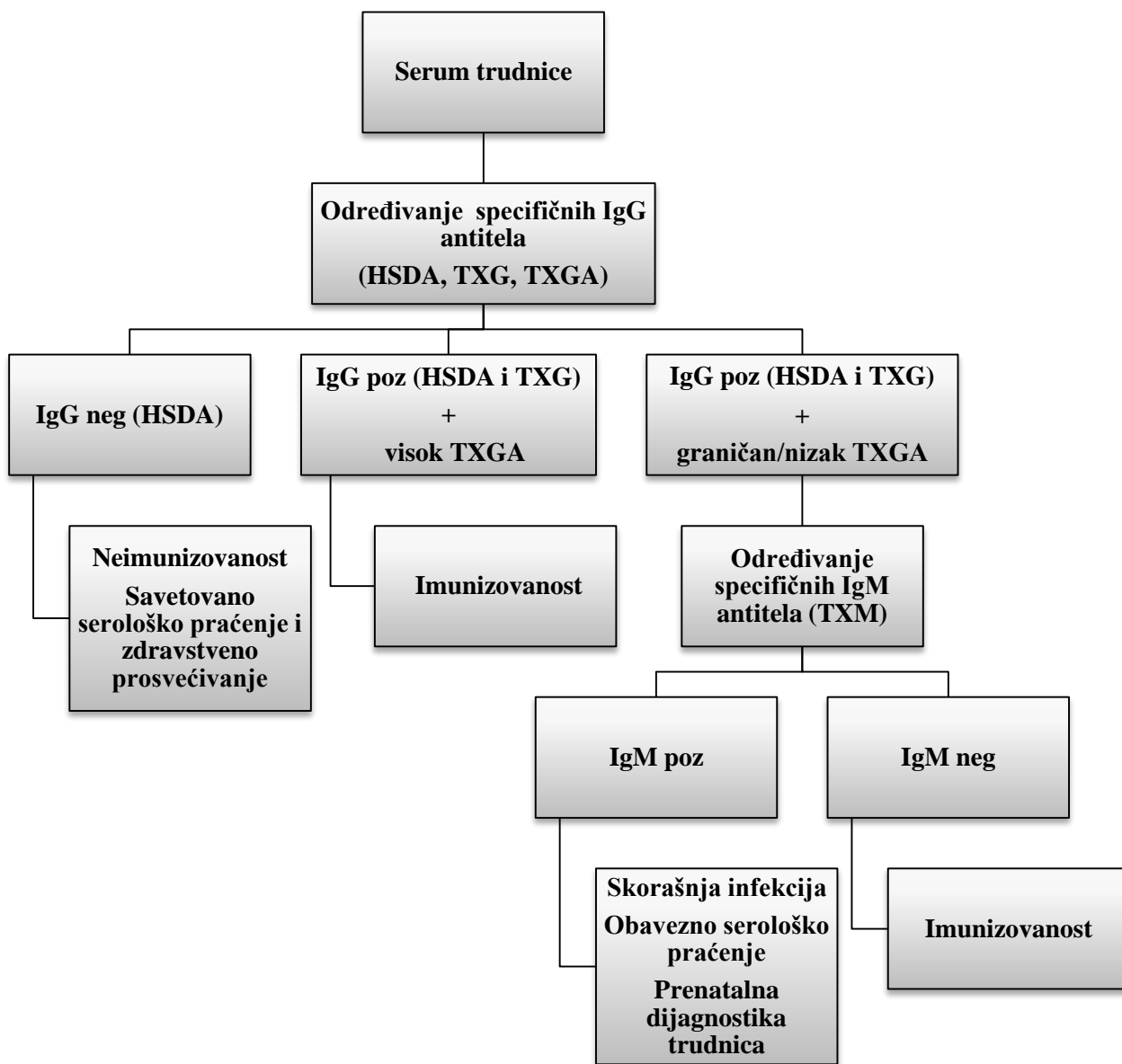
Nakon uzorkovanja u Institutu za transfuziju krvi Srbije, krv se se dopremala u NRLT u Institutu za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu gde se vršila dalja obrada i ispitivanje uzoraka. Puna krv (davalaca krvi i trudnice) centrifugirana je na 2500 obrtaja u trajanju od 10 min na sobnoj t° radi izdvajanja seruma (supernatanta) u kome je rađena dalja serološka analiza.

Po postupku centrifugiranja i izdvajanja, serum se čuvao na -20 °C do početka ispitivanja.

Ispitivanje u cilju dijagnostike toksoplazmoze rađeno je uz poštovanje odgovarajućeg algoritma za dijagnostiku toksoplazmoze koji je shematski prikazan (**Slika 6, Slika 7**).



Slika 6. Shematski prikaz algoritma dijagnostike infekcije *T. gondii* kod davalaca krvi



Slika 7. Shematski prikaz algoritma dijagnostike infekcije *T. gondii* kod trudnica

U istraživanju su se koristili sledeći kvantitativni serološki testovi:

- Za detekciju specifičnih IgG antitela: *High sensitivity direct agglutination* (HSDA) test prema *in-house* protokolu; TXG-VIDAS (*bioMérieux*, Marcy-l'Étoile, Francuska);
- Za određivanje aviditeta specifičnih IgG antitela: TXGA-VIDAS (*bioMérieux*, Marcy-l'Étoile, Francuska);
- Za detekciju specifičnih IgM antitela: TXM-VIDAS (*bioMérieux*, Marcy-l'Étoile, Francuska)

Na osnovu rezultata seroloških analiza određivala se prevalencija infekcije *T. gondii* u ispitivanoj populaciji i utvrđivalo se da li je u pitanju akutna infekcija ili stanje imunizovanosti.

Indirektne (serološke) metode za dijagnostiku infekcije *T. gondii*

Nakon centrifugiranja izdvojeni serum je analiziran indirektnim (serološkim) testovima prema logaritmu prikazanom shematski (**Slika 6**, **Slika 7**). U analizi su korišćeni isključivo kvantitativni serološki testovi kojima je prvobitno rađen skrining na prisustvo specifičnih IgG antitela. Odsustvo specifičnih IgG antitela u serumu nije zahtevalo dalju analizu jer su ti ispitanici smatrani neimunizovanim u trenutku ispitivanja.

Uzorak u kojem su detektovana specifična IgG antitela podvrgnut je daljoj analizi u cilju procene stanja imunizovanosti odnosno neimunizovanosti ispitanika i statusa infekcije kod ispitanika imunizovanih parazitom *T. gondii*. Serumi, posebno trudnica, su analizirani serološkim testovima u najkraćem roku (uglavnom istog dana po pristizanju u NRLT) da bi ispitanici bili pravovremeno obavešteni ukoliko se dijagnostikuje akutna faza infekcije.

Serološki testovi za dijagnostiku infekcije *T. gondii*

Testovi za detekciju specifičnih IgG antitela

HSDA (visoko osetljiv test direktne aglutinacije) - modifikacija testa direktne aglutinacije prema *in house* protokolu

Kao prvi korak u utvrđivanju statusa infekcije, serumi svih ispitanika su analizirani u HSDA. HSDA je služio kao serološki skrining test za detekciju niskih titrova specifičnih IgG antitela, a nastao je modifikacijom direktnog testa aglutinacije (167).

Kao antigen u ovom testu se koriste celi, inaktivisani tahizoiti RH soja, fiksirani formalinom, što povećava senzitivnost testa. U cilju dostizanja adekvatne specifičnosti testa, odnosno uklanjanja specifičnih/nescifičnih imunoglobulina u reakcionu smešu dodavan je pufer 2-merkaptetanol u koncentraciji od 0,016 g/ml (2ME) koji se inhibitorno vezuje za IgM klasu antitela. Sama reakcija izvodila se u mikrotitracionim pločama (96 reakcionih mesta (bunarčića) sa U dnom), pri čemu je kiselost reakcije neutralisana razblaživanjem antigena u baznom BABS puferu (eng. *Bovine albumin buffered saline*, BABS (prilog 1)) i razblaživanjem svakog seruma pH-neutralnim (pH 7,4) fosfatnim puferom (eng. *Phosphate-buffered saline*, PBS (prilog 1)).

Serumi su ispitivani u dva razblaženja, odnosno serijski su razblaživani u PBS puferu, pri čemu je početno razblaženje iznosilo 1:20. Nakon ukapavanja razblaženog uzorka seruma u reakcionu bunarčić dodavan je antigen (razblažen u BABS). Nakon ukapavanja antigena u reakcionu bunarčić, mikrotitraciona ploča postavljena je na automatsku mešalicu (1-2 minuta) da bi nakon toga bila inkubirana 18-20 h na temperaturi od 32 °C do krajnjeg očitavanja rezultata. U svakoj reakciji bile su korišćene i negativna (PBS pufer) i pozitivna kontrola (laboratorijski standard pripremljen prema referentnom serumu Svetske Zdravstvene Organizacije (SZO)). Vidljiva aglutinacija pri razblaženju seruma (titru) \geq 1:20 smatrana je pozitivnim rezultatom testa i takvi uzorci su dalje analizirani, dok u

slučaju odsustva specifičnih IgG antitela u uzorku dolazi do taloženja tahizoita na dnu bunarčića u vidu kompaktnog dugmeta.

Enzimski imunotest za kvantitativnu detekciju IgG antitela specifičnih za *T. gondii*, VIDAS® Toxo IgG II, TXG (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francuska)

Serumi koji su bili pozitivni u HSDA su dalje analizirani automatizovanim enzimskim imunotestom, VIDAS® Toxo IgG II (TXG) za kvantitativno određivanje specifičnih IgG antitela pomoću mini VIDAS aparata. Ovaj komercijalni test bazira se na kombinaciji *sandwich-ELISA* i ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) metode koja omogućava završnu fluorescentnu detekciju antitela. Kit se sastoji od seta plastičnih pipeta (eng. *solid phase receptable*, SPR) i plastičnih test-traka (stripova). Stripovi sadrže specijalizovane bunarčiće u kojima su unapred fabrički ukapani svi reagensi neophodni za izvođenje testa (ispirać, konjugat, rastvarač i supstrat). Svaka pipeta (SPR) presvučena je antigenom (membranske i citoplazmatske determinante RH soja) koji vezuje specifična IgG antitela ukoliko postoje u serumu, a potom se za taj kompleks vezuju mišija monoklonska anti-humana IgG antitela konjugovana alkalnom fosfatazom. U sledećoj fazi reakcije nakon dodavanja 4-metil-umbeliferil fosfata kao supstrata dolazi do hidrolize pod uticajem alkalne fosfataze i oslobađa se krajnji fluorescentni produkt, 4-metil umbeliferon. Jačina fluorescencije detektovana mini VIDAS aparatom proporcionalna je koncentraciji specifičnih IgG antitela koja se izražava u internacionalnim jedinicama po ml uzorka (IU/ml). Rezultati testa se izražavaju prema uputstvu proizvođača (**Tabela 1**).

Tabela 1. Tumačenje TXG testa za određivanje specifičnih IgG antitela

Nalaz testa (IU/ml)	Tumačenje nalaza
<4	Negativan
4-8	Graničan
≥ 8	Pozitivan

Enzimski imunotest za određivanje aviditeta specifičnih IgG antitela u humanom serumu, VIDAS® Toxo IgG avidity, TXGA (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francuska)

Uzorak u kome je TXG testom detektovana koncentracija specifičnih IgG antitela ≥ 8 IU/ml dalje je analiziran automatizovanim enzimskim imunotestom, VIDAS® Toxo IgG avidity (TXGA) radi utvrđivanja indeksa aviditeta IgG antitela, odnosno utvrđivanja faze infekcije. Uzorak u kome je koncentracija specifičnih IgG antitela > 15 IU/ml, prethodno se mora razblažiti puferom koji se nalazi u sastavu TXGA komercijalnog kita.

Princip testa se bazira na određivanju funkcionalnog afiniteta specifičnih IgG antitela za vezivanje antigena *T. gondii*, odnosno na osobini uree (protein-denaturišući agens) da lako razlaže veze koje sa antigenom formiraju antitela niskog aviditeta (nastala u akutnoj fazi infekcije), dok ne utiče na veze antigena sa antitelima visokog aviditeta, detektovanim u kasnijim fazama infekcije.

Kao i TXG test, TXGA predstavlja kombinaciju *sandwich* ELISA i ELFA testa koja omogućava fluorescentnu detekciju rezultata reakcije na mini VIDAS aparatu. Takođe, svaki komercijalni kit se sastoji od seta plastičnih pipeta (eng. *solid phase receptable*, SPR) i plastičnih test-traka (stripova) koji za razliku od TXG testa dolaze u paru (referentni i test strip) pa se reakcija odigrava paralelno u oba stripa. U referentnom stripu dolazi samo do ispiranja, a u test stripu osim ispiraća nalazi se i urea. Tokom ispiranja u referentnom stripu se uklanjaju nespecifična antitela, dok specifična antitela ostaju čvrsto

vezana za antigen (SPR). Za razliku od referentnog, u test stripu ispirać (urea) dovodi do disocijacije antigen-antitelo veze eliminišući antitela niskog aviditeta, pri čemu antitela sa visokim aviditetom ostaju vezana. Naredni koraci u analizi su isti kao u TXG testu. U završnoj fazi reakcije nakon dodavanja 4-metil-umbeliferil fosfata dolazi do hidrolize pod uticajem alkalne fosfataze i oslobađa se krajni fluorescentni product, 4-metil umbeliferon. Jačina fluorescencije očitava se na 450 nm i proporcionalna je koncentraciji specifičnih IgG antitela prikazanih kao odnos antitela visokog aviditeta (test traka) i ukupnih specifičnih antitela (referentna traka). Rezultat se izražava kao indeks aviditeta na osnovu uputstva proizvođača (**Tabela 2**), pri čemu visok indeks aviditeta specifičnih IgG antitela isključuje infekciju nastalu u poslednja četiri meseca.

Tabela 2. Tumačenje TXGA testa za određivanje aviditeta specifičnih IgG antitela

Nalaz testa (indeks aviditeta)	Tumačenje nalaza
<0,200	Nizak
0,200-0,300	Graničan
≥ 0,300	Visok

Enzimski imunotest za kvantitativnu detekciju IgM antitela specifičnih za *T. gondii*, VIDAS® Toxo IgM, TXM (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francuska)

Ukoliko je u uzorku seruma ispitanika (davalaca krvi/trudnica) utvrđen graničan ili nizak indeks aviditeta specifičnih IgG antitela, u cilju potvrde, odnosno isključivanja akutne faze infekcije u tom uzorku bi bila određivana specifična IgM antitela koja predstavljaju marker akutne infekcije.

TXM je trijažni automatizovani test koji je u ovom istraživanju korišćen za kvantitativno određivanje specifičnih IgM antitela mini VIDAS aparatom. Za razliku od TXG testa, na unutrašnjoj strani SPR pipeta nalaze se poliklonska anti- μ imunoglobulinska antitela koja vezuju ukupna IgM antitela. Ukoliko su u uzorku prisutna specifična IgM antitela, ona se izdvajaju vezivanjem za mišja monoklonska anti-P30 antitela (solubilna antigenska determinanta *T. gondii*). Mišja monoklonska anti-P30 antitela su konjugovana alkalnom fosfatazom koja u završnoj fazi dovodi do hidrolize 4-metil-umbeliferil fosfata i oslobađanja 4-metil umbeliferona, kao krajnjeg fluorescentnog produkta reakcije. Jačina fluorescencije proporcionalna je koncentraciji specifičnih IgM antitela u uzorku, izraženoj u formi indeksa na osnovu uputstva proizvođača (**Tabela 3**).

Tabela 3. Tumačenje TXM testa za određivanje specifičnih IgM antitela

Nalaz testa (indeks)	Tumačenje nalaza
<0,55	Negativan
0,55-0,65	Graničan
≥ 0,65	Pozitivan

3.4. Statistička analiza

Podaci su statistički analizirani primenom adekvatnih metoda deskriptivne i analitičke statistike. Rezultati su izraženi kao srednje vrednosti \pm (SD) za kontinuirane varijable, a procenat se koristio za prikazivanje vrednosti kategoričkih varijabli. Značajnost razlike kategoričkih varijabli ispitana je primenom univarijantne regresione analize. Varijable koje su se pokazale značajnim u univarijantnim modelima regresije, odnosno čija je p vrednost bila manja od 0,05 bile su uključene u multivarijantni model, sa infekcijom *T. gondii* kao ishodnom varijablom. Rezultati multivarijantnog modela regresije su prikazani kao odnos šansi (OR) sa 95% intervalom poverenja (95% CI) korišćenjem *Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit* testa.

Analize su urađene u statističkom paketu SPSS for windows 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4. Rezultati istraživanja

4.1. Rezultati istraživanja studije preseka dobrovoljnih davalaca krvi

4.1.1. Osnovni demografski podaci

U populaciji koja je obuhvaćena studijom preseka ispitano je ukupno 1095 davalaca krvi sa teritorije Beograda koji su u periodu od decembra 2017. do jula 2018. godine dobrovoljno darivali krv u Institutu za transfuziju krvi Srbije. U Tabeli 4 predstavljene su osnovne demografske karakteristike ispitanika. Iz priložene tabele može se videti da je odnos ispitanika po polu bio približno isti, žene su činile 49,4% (541) a muških ispitanika bilo je 50,6% (554). Ispitanici su bili uzrasta od 18 do 65 godina raspoređeni u pet uzrasnih grupa (18-29, 30-39, 40-49, 50-59, >60), prosečne starosti 39,38 (Standardna devijacija -SD 11,89). Nije bilo značajne razlike ispitanika po polu ni u jednoj uzrasnoj grupi ($p=0,215$) (**Grafikon 1**).

Na osnovu zanimanja navedenih u upitnicima, ispitanici su bili raspoređeni prema nivou obrazovanja u tri kategorije (osnovno, srednje, više/visoko obrazovanje). U odnosu na mesto stanovanja bili su raspoređeni u dve kategorije; oni koji žive u gradskim, centralnim opštinama Beograda (Stari grad, Vračar, Savski venac, Zvezdara, Palilula, Novi Beograd, Zemun, Voždovac, Čukarica, Rakovica) i prigradskim opštinama Beograda (Sopot, Mladenovac, Lazarevac, Barajevo, Grocka, Surčin, Obrenovac). U kući sa dvorištem živelo je 38,6% ispitanika, dok je preostalih 61,4% živelo u stanu/kući bez dvorišta.

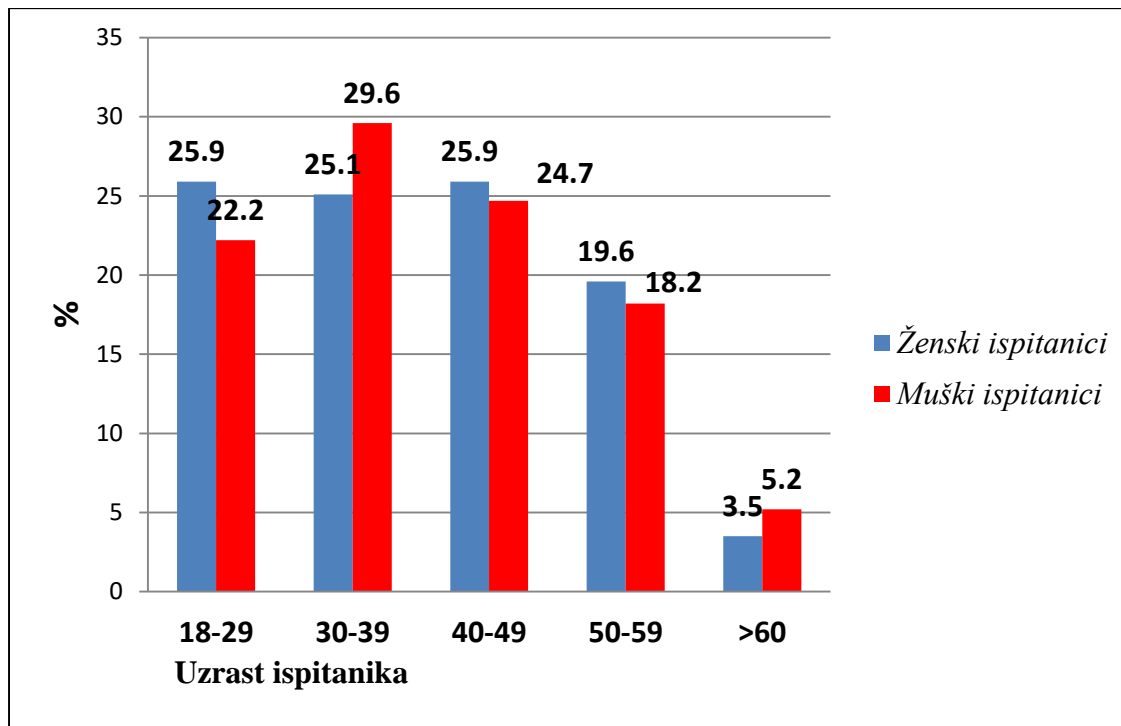
Tabela 4. Osnovne demografske karakteristike ispitanika

Demografske karakteristike (broj ispitanika (N))	Broj (n)	Procenat (%)
Pol (N =1095)		
Ženski	541	49,4
Muški	554	50,6
Uzrast (god.) (N =1095)		
18-29	263	24,0
30-39	300	27,4
40-49	277	25,3
50-59	207	18,9
>60	48	4,4
Nivo obrazovanja^a (N =999)		
Osnovno	58	5,8
Srednje	520	52,1
Više/Visoko	421	42,1
Opština stanovanja (N =1095)		
Prigradska	132	12,1
Gradska	963	87,9
Uslovi stanovanja^b (N =1092)		
Kuća sa dvorištem	422	38,6
Stan/Kuća bez dvorišta	670	61,4

*Napomena:

a- 96 ispitanika nije odgovorilo na postavljeno pitanje

b- 3 ispitanika nisu odgovorila na postavljeno pitanje



Grafikon 1- Uzrast ispitanika po polu

4.1.2. Podaci koji se odnose na navike u ishrani i stil života dobrovoljnih davalaca krvi

Na pitanje o konzumaciji mesa u ishrani, odgovorilo je 1094 ispitanika. Od tog broja 24 (2,2%) je navelo da uopšte ne konzumira meso. Konzumacija mesa po vrstama mesa, kao i konzumacija svežeg ili nedovoljno termički obrađenog (NTO) mesa (nedovoljno prženo/pečeno meso, presne kobasice, džigericu) prikazana je u tabeli 5. Skoro polovina ispitanika koji konzumiraju meso (48,0%) je navela da najčešće konzumira pileće meso, a 61,2% da konzumira sveže ili NTO meso (**Tabela 5**).

U odnosu na pol, 69,7% muških ispitanika je konzumiralo sveže/NTO meso, a 55,4% ženskih ispitanika dalo je potvrđan odgovor na isto pitanje ($p < 0,001$) (**Tabela 6**). Distribucija ispitanika u odnosu na uzrasne grupe i konzumiranje NTO mesa, ukazuje da nema statistički značajne razlike među uzrasnim grupama u pogledu navika konzumiranja NTO mesa ($p = 0,118$) (**Grafikon 2**), kao ni među grupama sa različitim nivoima obrazovanja ($p = 0,185$) (**Grafikon 3**).

Tabela 5. Navike ispitanika u ishrani

Navike u ishrani (broj ispitanika (N))	Broj (n)	Procenat (%)
Konzumiranje mesa^a(N =1094)		
Da	1070	97,8
Ne	24	2,2
Vrsta mesa^b (N =1066)		
Goveđe	73	6,8
Svinjsko	226	21,2
Jagnjeće	11	1,0
Pileće	512	48,0
Više od jedne vrste mesa	244	22,9
Konzumiranje svežeg ili NTO mesa^c (N =1068)		
Da	670	61,2
Ne	398	36,3

*Napomena:

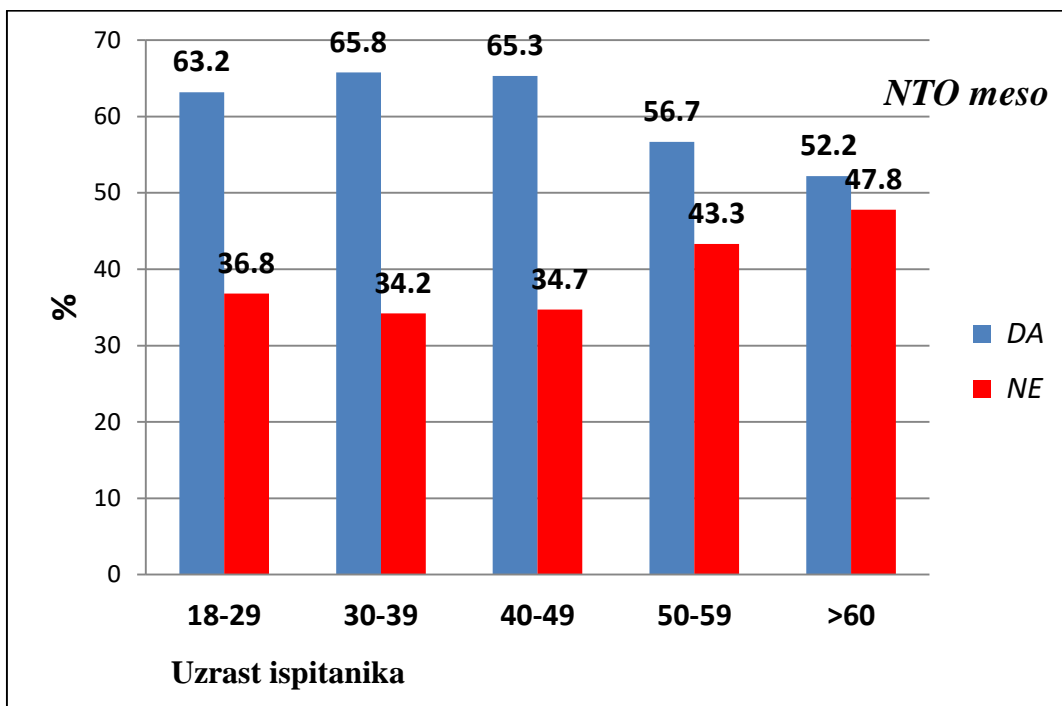
a- 1 ispitanik nije odgovorio na postavljeno pitanje

b- 4 ispitanika nisu odgovorila na postavljeno pitanje

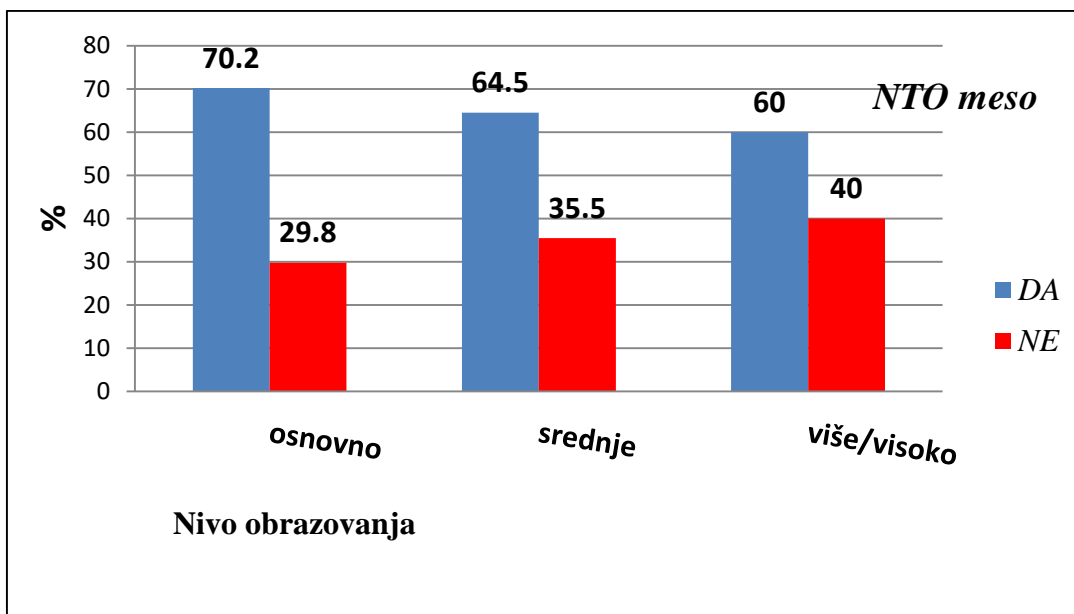
c- 2 ispitanika nisu odgovorila na postavljeno pitanje

Tabela 6. Konzumiranje svežeg/NTO mesa po polu

Pol	Broj (n)	Procenat (%)
Ženski	Da (288)	55,4
	Ne (232)	44,6
Muški	Da (382)	69,7
	Ne (166)	30,3



Grafikon 2- Konzumiranje svežeg/NTO mesa prema uzrastu ispitanika



Grafikon 3- Konzumiranje svežeg/NTO mesa prema nivou obrazovanja ispitanika

Stil života ispitanika koji može biti faktor rizika za nastanak toksoplazmoze (kontakt sa zemljom i mačkom) prikazan je u tabeli 7.

Tabela 7. Stil života ispitanika

Stil života (broj ispitanika (N))	Broj (n)	Procenat (%)
Kontakt sa zemljom^a (N =1090)		
Da	313	28,7
Ne	777	71,3
Kontakt sa mačkom (N =1095)		
Da	305	27,9
Ne	790	72,1
Kontakt sa vlastitom mačkom (N =1095)		
Da	161	14,7
Ne	934	85,3
Kontakt sa uličnom mačkom (N =1095)		
Da	214	19,5
Ne	881	80,5

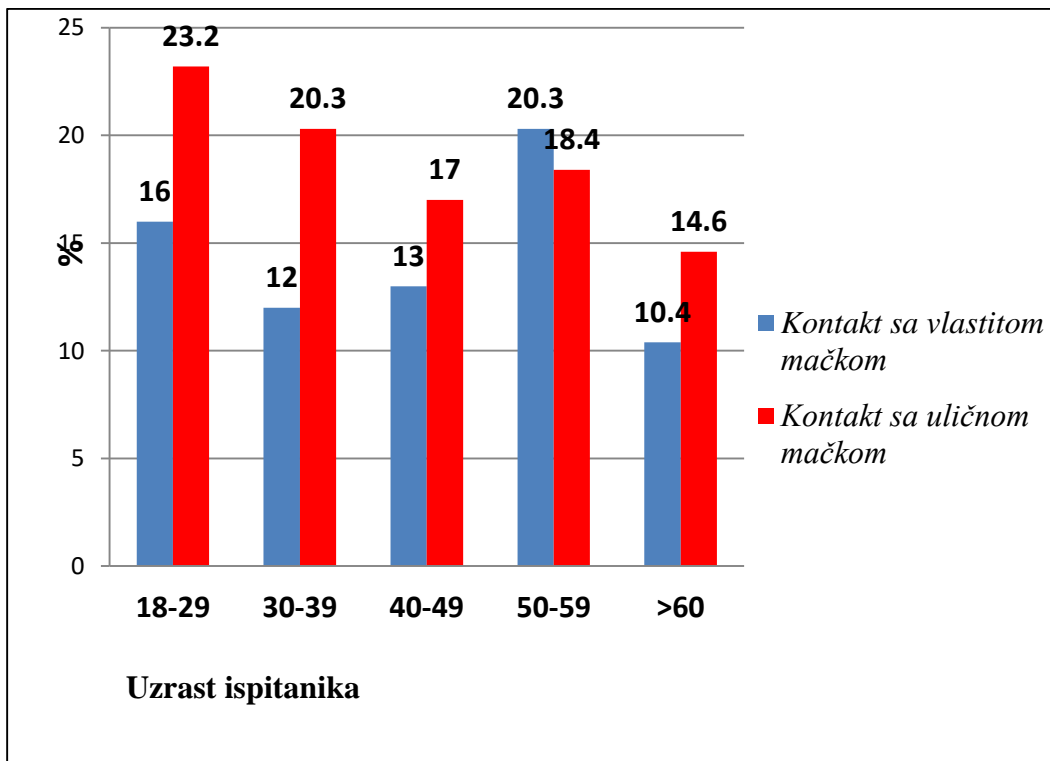
*Napomena:

a- 5 ispitanika nije odgovorilo na postavljeno pitanje

Samo 161 (14,7%) ispitanik prijavio je da ima mačku kao kućnog ljubimca, dok je 214 (19,5%) ispitanika istaklo da ima kontakt sa mačkama koje žive na ulici, bez vlasnika, odnosno, 305/1095 (27,9%) ispitanika je imalo kontakt sa mačkom (kućnom i/ili uličnom mačkom) (**Tabela 7**). Među ženskim ispitanicima, 14,2% se izjasnilo da su vlasnice mačke, naspram 15,2% muških ispitanika ($p=0,664$) (**Tabela 8**). Da imaju kontakt sa uličnim mačkama istaklo je 21,4% ispitanica, a 17,7% među muškim ispitanicima ($p=0,117$) (**Tabela 8**). Najviše kontakta sa uličnim mačkama (23,2%) imali su najmlađi ispitanici (18-29 godina), a u uzrasnoj grupi od 50-59 godina bilo je najviše vlasnika mačaka (20,3%) (**Grafikon 4**). Kontakt sa zemljom (rad u bašti, voćnjaku, povrtnjaku) prijavilo je 28,7% ispitanika odnosno, 313/1090 (**Tabela 7**), pri čemu je potvrđan odgovor dalo 33,5% muških ispitanika, odnosno 23,9% ženskih ispitanika ($p<0,001$) (**Tabela 9**). Kontakt sa zemljom su prevashodno prijavljivali ispitanici u starijim uzrasnim kategorijama ($p<0,001$) (**Grafikon 5**), a u odnosu na nivo obrazovanja, kontakt sa zemljom su najčešće imali ispitanici sa osnovnom školom (37,9%) ($p<0,001$) (**Grafikon 6**).

Tabela 8. Kontakt sa mačkom po polu ispitanika

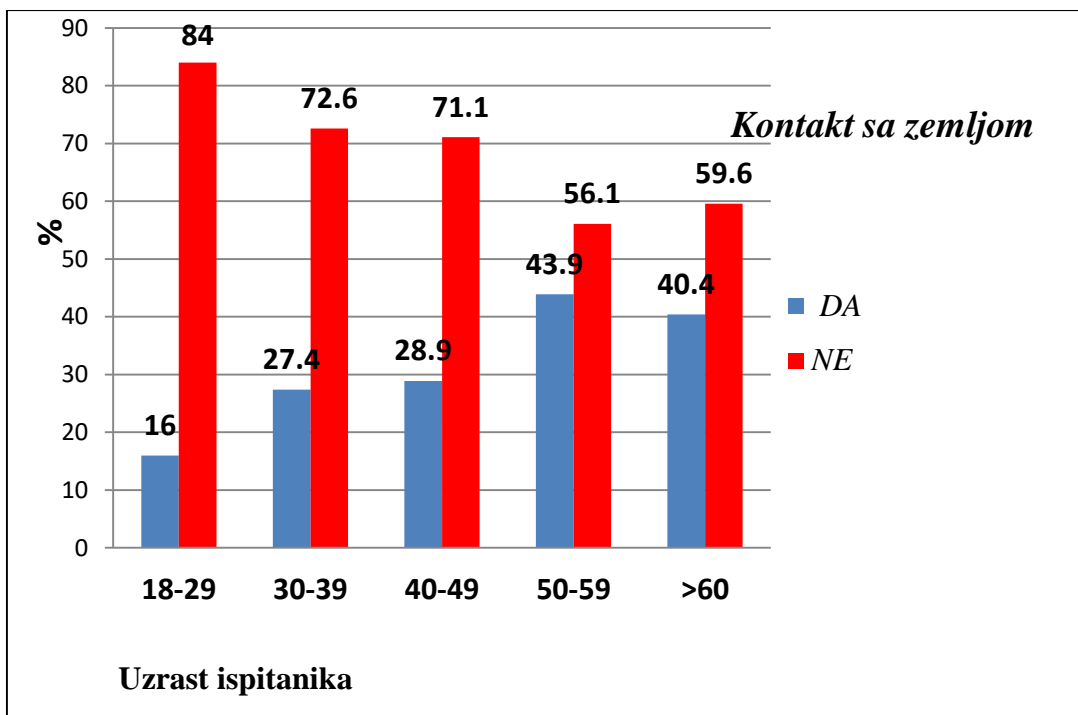
Pol	Broj (n)	Procenat (%)
Ženski		
Kontakt sa vlastitom mačkom		
Da	77	14,2
Ne	464	85,8
Kontakt sa uličnom mačkom		
Da	116	21,4
Ne	425	78,6
Muški		
Kontakt sa vlastitom mačkom		
Da	84	15,2
Ne	470	84,8
Kontakt sa uličnom mačkom		
Da	98	17,7
Ne	456	82,3



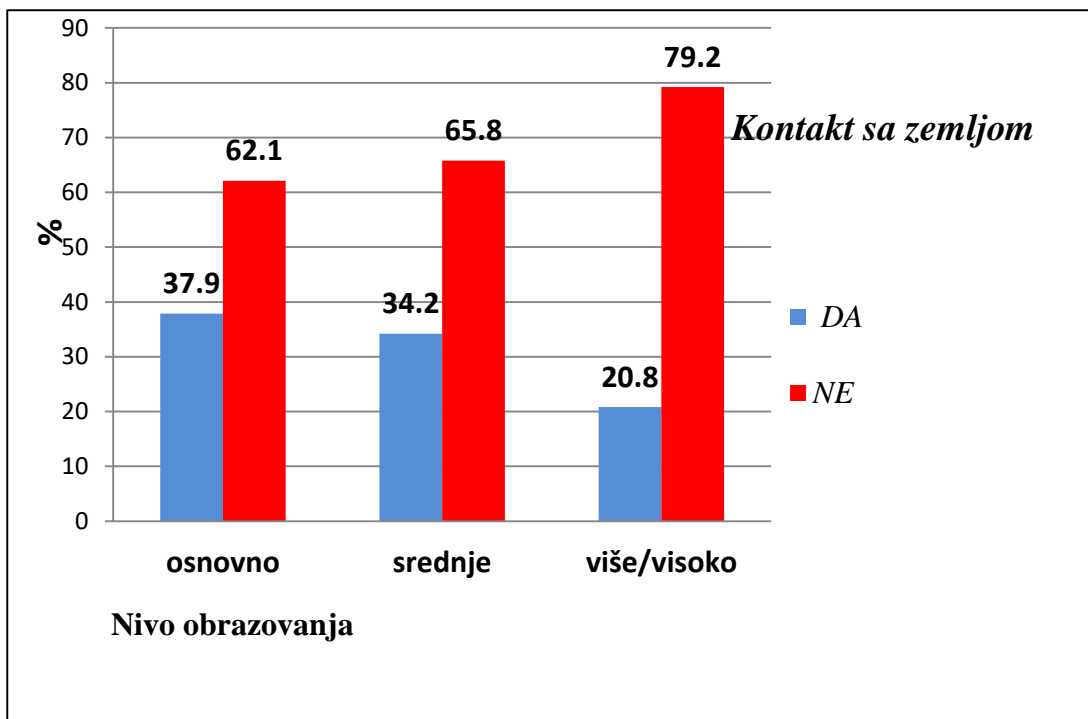
Grafikon 4- Kontakt sa vlastitom/uličnom mačkom prema uzrastu ispitanika

Tabela 9. Kontakt sa zemljom po polu ispitanika

Pol	Broj (n)	Procenat (%)
Ženski	Da (129)	23,9
	Ne (411)	76,1
Muški	Da (184)	33,5
	Ne (366)	66,5



Grafikon 5- Kontakt sa zemljom prema uzrastu ispitanika



Grafikon 6- Kontakt sa zemljom prema nivou obrazovanja ispitanika

*Napomena: 100 ispitanika nije odgovorilo na postavljena pitanja

4.1.3. Podaci koji se odnose na ličnu anamnezu dobrovoljnih davalaca krvi

Od ukupnog broja ispitanika samo 16 (1,5%) je navelo da je imalo limfadenopatiju (cervikalne, aksilarne i/ili ingvinalne limfne žlezde), 19 je prijavilo povišenu temperaturu (do 37,5 °C) (Tabela 10), a dva ispitanika su imala oba simptoma u toku godine koja je prethodila ispitivanju. Od šest ispitanica koje su prijavile limfadenopatiju, dve su u anamnezi navele spontani pobačaj, dok u grupi sa povišenom temperaturom od njih 8 nijedna nije prijavila spontani pobačaj. Limfadenopatija i povišena temperatura nisu primećene u grupi žena koje su u anamnezi navele prevremeni porođaj ili mrtvorodenost.

Tabela 10. Lična anamneza ispitanika

Lična anamneza (broj ispitanika (N))	Broj (n)	Procenat (%)
Limfadenopatija (N=1095)		
Da	16	1,5
Ne	1079	98,5
Povišena t (N=1095)		
Da	19	1,7
Ne	1076	98,3

4.1.4. Podaci iz ginekološko-akušerske anamneze davalaca krvi ženskog pola

U vreme ispitivanja, čak 67,8% davalaca krvi ženskog pola (367/541) bile su uzrasta od 18 do 45 godina, odnosno nalazile su se u reproduktivnom periodu (**Tabela 11**). Od ukupnog broja ispitanica, 54,8% (290/529) prijavilo je da je imalo prethodne trudnoće (**Tabela 11**). Prethodne trudnoće su se kod 69 (13,1%) ispitanica završile spontanim pobačajem, kod 15 (2,8%) prevremenim porođajem, a 4 ispitanice (0,8%) su navele mrtvorođenost kao ishod prethodnih trudnoća. Jedna ispitanica je prijavila sva tri ishoda trudnoće (spontani pobačaj, prevremeni porođaj, mrtvorođenost), jedna je u anamnezi navela spontani pobačaj i mrtvorođenost, a sedam ispitanica je prijavilo spontani pobačaj i prevremeni porođaj kao ishode prethodnih trudnoća.

Tabela 11. Podaci ginekološko-akušerske anamneze ispitanica

Ginekološko-akušerski podaci (broj ispitanica (N))	Broj (n)	Procenat (%)
Reproduktivni period (N=541)		
Da	367	67,8
Ne	174	32,2
Prethodne trudnoće^a (N=529)		
Da	290	54,8
Ne	239	45,2
Spontani pobačaj^b (N=528)		
Da	69	13,1
Ne	459	86,9
Prevremeni porođaj^c (N=529)		
Da	15	2,8
Ne	514	97,2
Mrtvorođenost^d (N=529)		
Da	4	0,8
Ne	525	99,2

*Napomena:

a- 12 ispitanica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

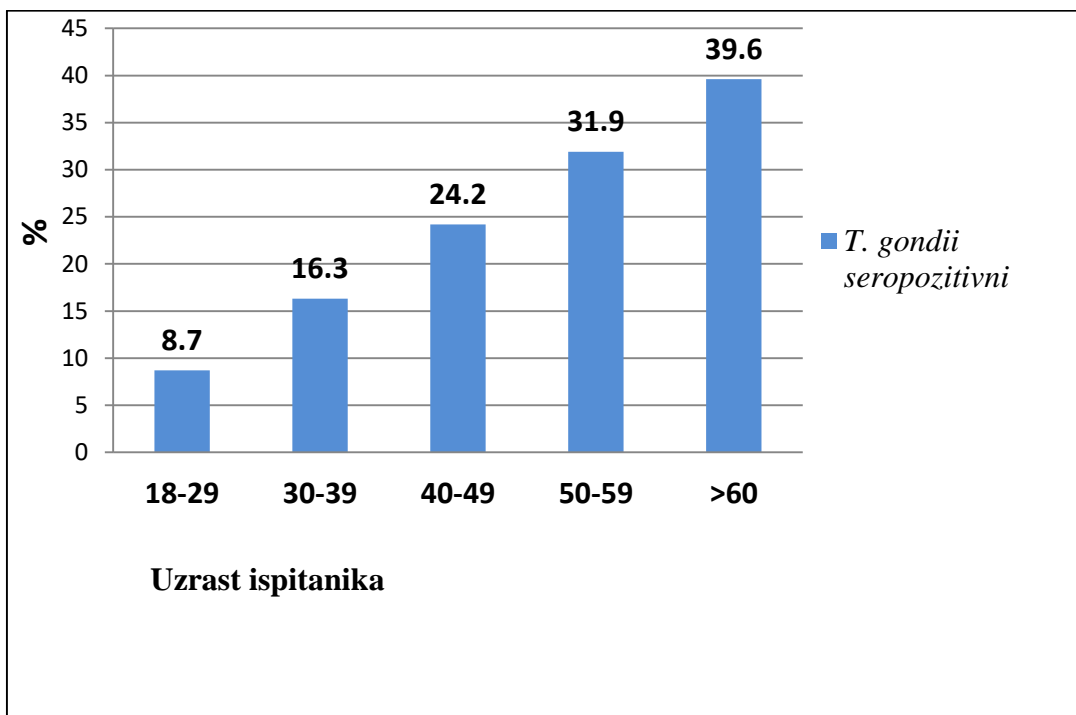
b- 13 ispitanica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

c- 12 ispitanica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

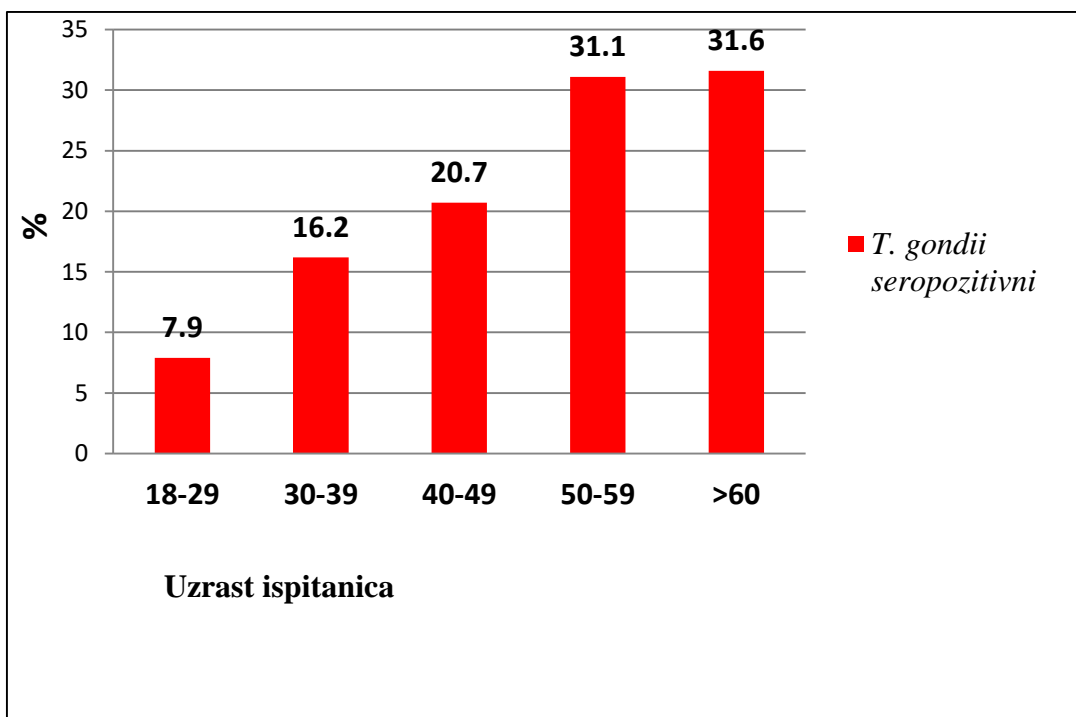
d- 12 ispitanica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

4.1.5. Prevalencija infekcije *T. gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi

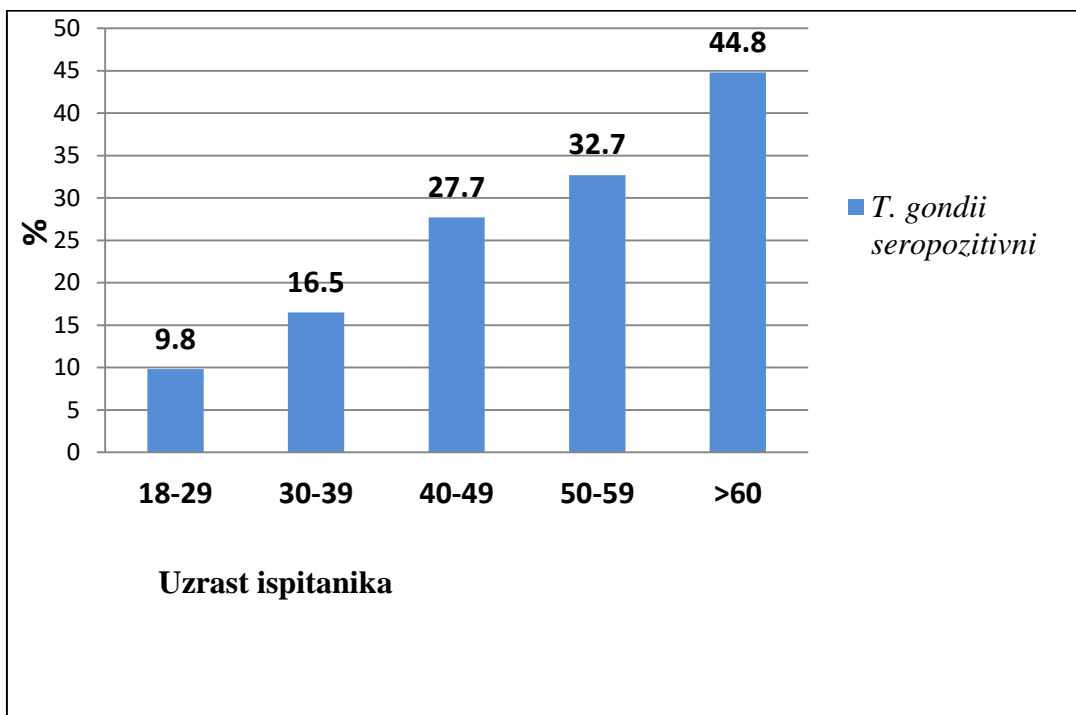
Prevalencija infekcije *T. gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi iznosi 20,5% (224/1095) pri čemu prevalencija toksoplazmoze kod ispitanika ženskog pola iznosi 18,7% (101/541) a kod ispitanika muškog pola 22,2% (123/554). Prevalencija toksoplazmoze u populaciji davalaca krvi linearno raste od 8,7% u najmlađoj uzrasnoj kategoriji (18-29 godina) do 39,6% u najstarijoj (>60 godina) (**Grafikon 7**). Kod osoba ženskog pola prevalencija sa godinama života raste linearno od 7,9% (18-29 godina) do 31,6% (>60 godina) (**Grafikon 8**), odnosno od 9,8% (18-29 godina) do 44,8% (>60 godina) u grupi ispitanika muškog pola (**Grafikon 9**). Takođe, dobijeni rezultati ukazali su da viši nivo obrazovanja davalaca krvi je povezan sa nižom prevalencijom toksoplazmoze, odnosno u grupi sa osnovnim obrazovanjem prevalencija toksoplazmoze je iznosila 25,9%, sa srednjim 21,9% i sa visokim 15,9% (**Grafikon 10**).



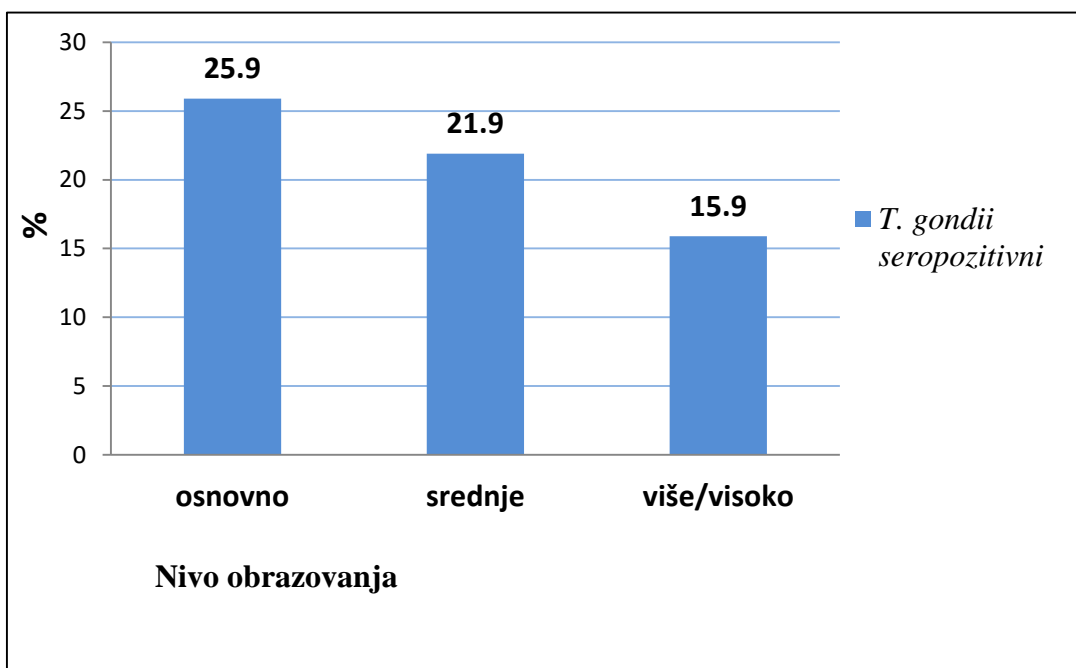
Grafikon 7- Prevalencija infekcije *T. gondii* davalaca krvi prema uzrastu ispitanika



Grafikon 8- Prevalencija infekcije *T. gondii* davalaca krvi ženskog pola prema uzrastu



Grafikon 9- Prevalencija infekcije *T. gondii* davalaca krvi muškog pola prema uzrastu



Grafikon 10- Prevalencija infekcije *T. gondii* prema nivou obrazovanja davalaca krvi

4.1.6. Status infekcije *T. gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi

Rezultati serološkog ispitivanja potvrdili su da se svih 224 seropozitivnih davalaca krvi u trenutku ispitivanja nalazilo u hroničnoj fazi infekcije *T. gondii*. Ispitanici pozitivni u skrining testu, HSDA (**Tabela 12**) bili su pozitivni i u TXG testu sa rasponom titra specifičnih IgG antitela od 8 do 776 IU/ml ($82,06 \pm 97,559$). Indeks aviditeta bio je graničan kod svega 4 (1,8%), a visok kod preostalih 220 ispitanika (98,2%) (**Tabela 13**). Najniža zabeležena vrednost indeksa aviditeta TXGA testom iznosila je 0,205 a najviša 0,739 ($0,520 \pm 0,098$). Uzorci seruma ispitanika sa graničnim aviditetom specifičnih IgG antitela ispitivani su na prisustvo specifičnih IgM antitela. Na osnovu negativnih rezultata TXM testa, odnosno odsustvo specifičnih IgM antitela u sva 4 uzorka, isključena je mogućnost nedavno nastale infekcije kod ispitanika sa granično avidnim specifičnim IgG antitelima.

Tabela 12. Rezultati HSDA testa u populaciji davalaca krvi

Titar	Broj ispitanika (n)
1:20	5
1:40	27
> 40	192

Tabela 13. Rezultati ispitivanja aviditeta specifičnih IgG antitela kod seropozitivnih davalaca krvi

	Broj ispitanika (n)	Faza infekcije <i>T. gondii</i>
Nizak (< 0,200)	/	/
Graničan (0,200-0,300)	4	Hronična
Visok (> 0,300)	220	Hronična

4.1.7. Rezultati univarijantne i multivarijantne regresione analize u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi

Obradom demografskih podataka univarijantnom regresionom analizom (**Tabela 14**) primećeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti infekcije među uzrasnim kategorijama (**OR=1,8, 95% CI: 1,05-3,19; OR=3,1, 95% CI: 1,79-5,24; OR=4,9, 95% CI: 2,82-8,39; OR=5,2, 95% CI: 2,15-12,71**), i u odnosu na opštinu stanovanja (**OR=2,1, 95% CI: 1,31-3,41**). Rezultati pokazuju da je infekcija *T. gondii* zastupljenija kod ispitanika starije životne dobi, jer se registruje postepeno i kontinuirano povećanje prevalencije od 8,7% u najmlađoj do 39,6% u najstarijoj uzrasnoj grupi (**Grafikon 7**). Takođe, infekcija *T. gondii* češće je detektovana kod davalaca krvi koji žive u prigradskim opštinama, u odnosu na stanovnike gradskih opština Beograda. Sa druge strane, nije utvrđena statistički značajna razlika u prevalenciji infekcije u odnosu na pol ($p=0,148$), nivo obrazovanja ($p=0,495$, $p=0,062$), niti uslove stanovanja ispitanika ($p=0,056$) (**Tabela 14**).

Tabela 14. Univarijantna regresiona analiza demografskih karakteristika davalaca krvi kao faktora rizika za nastanak infekcije *T. gondii*

Demografske karakterisitke davalaca krvi	Ukupno n (%)	<i>T. gondii</i> seronegativni n (%)	<i>T. gondii</i> seropozitivni n (%)	OR (95% CI)	p
Uzrast (god.)	1095 (100,0)	871 (100,0)	224 (100,0)		
18-29	263 (24,0)	240 (27,6)	23 (10,3)	Ref.	
30-39	300 (27,4)	251 (28,8)	49 (21,9)	1,8 (1,05-3,19)	0,08
40-49	277 (25,3)	210 (24,1)	67 (29,9)	3,1 (1,79-5,24)	< 0,001
50-59	207 (18,9)	141 (16,2)	66 (29,5)	4,9 (2,82-8,39)	< 0,001
>60	48 (4,4)	29 (3,3)	19 (8,5)	5,2 (2,15-12,71)	< 0,001
Pol	1095 (100,0)	871 (100,0)	224 (100,0)		
Ženski	541 (49,4)	440 (50,5)	101 (45,1)	1,1 (0,76-1,50)	0,148
Muški	554 (50,6)	431 (49,5)	123 (54,9)		
Opština stanovanja	1095 (100,0)	871 (100,0)	224 (100,0)		
Prigradska	132 (12,1)	88 (10,1)	44 (19,6)	2,1 (1,31-3,41)	< 0,001
Gradska	963 (87,9)	783 (89,9)	180 (80,4)		
Nivo obrazovanja	999 (100,0)	803 (100,0)	196 (100,0)		
Osnovno	58 (5,8)	43 (5,4)	15 (7,7)	Ref.	0,495
Srednje	520 (52,1)	406 (50,6)	114 (58,2)	0,9 (0,50-1,82)	0,062
Više/Visoko	421 (42,1)	354 (44,1)	67 (34,2)	0,8 (0,42-1,66)	
Uslovi stanovanja	1092 (100,0)	868 (100,0)	224 (100,0)		
Kuća sa dvorištem				0,9 (0,66-1,31)	0,056
Stan/Kuća bez dvorišta	422 (38,6)	323 (37,2)	99 (44,2)		
	670 (61,4)	545 (62,8)	125 (55,8)		

*Napomena: OR (odds ratio): unakrsni odnos; CI (confidence interval): interval poverenja

U **Tabeli 15** prikazani su podaci koji se odnose na stil života, odnosno poznate puteve širenja infekcije koji se mogu dovesti u vezu sa nastankom toksoplazmoze primenom univarijantne analize. Kontakt sa zemljom je identifikovan kao statistički visoko značajan faktor rizika za nastanak infekcije (**OR= 1,9, 95%CI: 1,38-2,56**). Rezultat ukazuje na to da je veći broj inficiranih osoba u grupi ispitanika koji imaju direktan kontakt sa zemljom (dvorište, bašta, povrtnjak, voćnjak). Za razliku od kontakta sa zemljom, kontakt sa mačkom (p=0,109) nije bio prediktor infekcije, niti kontakt sa vlastitom mačkom (p=0,390), kao ni kontakt sa uličnim mačkama (p=0,324) (**Tabela 15**). Takođe, rezultati ovog istraživanja su pokazali da konzumiranje mesa (p=0,580), pa čak ni NTO mesa ne spada u značajne faktore rizika za nastanak infekcije *T. gondii* (p=0,147), kao ni određena vrsta mesa koja se koristi u svakodnevnoj ishrani (**Tabela 15**).

Tabela 15. Univarijantna regresiona analiza podataka koji se odnose na stil života i ishrane davalaca krvi kao faktora rizika za nastanak infekcije *T. gondii*

Stil života i ishrane davalaca krvi	Ukupno n (%)	<i>T. gondii</i> seronegativni n (%)	<i>T. gondii</i> seropozitivni n (%)	OR (95% CI)	p
Kontakt sa zemljom	1090 (100,0)	868 (100,0)	222 (100,0)	Ref.	
Da	313 (28,7)	225 (25,9)	88 (39,6)	1,9 (1,38-2,56)	< 0,001
Ne	777 (71,3)	643 (74,1)	134 (60,4)		
Kontakt sa mačkom	1095 (100,0)	871 (100,0)	224 (100,0)		
Da	305 (27,9)	233 (26,8)	72 (32,1)	1,3 (0,94-1,78)	0,109
Ne	790 (72,1)	638 (73,2)	152 (67,9)		
Kontakt sa vlastitom mačkom	1095 (100,0)	871 (100)	224 (100,0)		
Da	161 (14,7)	124 (14,2)	37 (16,5)	1,2 (0,79-1,78)	0,390
Ne	934 (85,3)	747 (85,8)	187 (83,5)		
Kontakt sa uličnom mačkom	1095 (100,0)	871 (100)	224 (100,0)		
Da	214 (19,5)	165 (18,9)	49 (21,9)	1,2 (0,84-1,72)	0,324
Ne	881 (80,5)	706 (81,1)	175 (78,1)		
Konзумiranje mesa	1094 (100,0)	870 (100,0)	224 (100,0)		
Da	1070 (97,8)	18 (2,1)	218 (97,3)	0,8 (0,30-1,96)	0,580
Ne	24 (2,2)	852 (97,9)	6 (2,7)		
Konзумiranje NTO mesa	1068 (100,0)	850 (100)	218 (100,0)		
Da	670 (62,7)	524 (61,6)	146 (67,0)	1,3 (0,92-1,73)	0,147
Ne	398 (37,3)	326 (38,4)	72 (33,0)		
Vrsta mesa	1070 (100,0)	852 (100,0)	218 (100,0)		
Goveđe	74 (6,9)	58 (6,8)	16 (7,3)	Ref.	
Svinjsko	227 (21,2)	169 (19,8)	58 (26,6)	1,2 (0,66-2,33)	0,496
Jagnjeće	11 (1,0)	7 (0,8)	4 (1,8)	2,1 (0,54-7,97)	0,289
Pileće	513 (47,9)	427 (50,1)	86 (39,4)	0,7 (0,40-1,33)	0,304
Više od jedne vrste mesa	245 (22,9)	191 (22,4)	54 (24,8)	1,0 (0,55-1,92)	0,939

*Napomena: OR (odds ratio): unakrsni odnos; CI (confidence interval): interval poverenja

Statističkom analizom anamnestičkih podataka ispitanika (**Tabela 16**) nije pronađena značajnost u pojavi limfadenopatije i povišene temperature (do 37,5 °C) sa nastankom infekcije tokom perioda od godinu dana koji je prethodio trenutku ispitivanja ($p=0,287$, $p=0,133$).

Tabela 16. Univarijantna regresiona analiza podataka iz lične anamneze davalaca krvi

Lična anamneza davalaca krvi	Ukupno n (%)	<i>T. gondii</i> seronegativni n (%)	<i>T. gondii</i> seropozitivni n (%)	OR (95% CI)	p
Limfadenopatja	1095 (100,0)	868 (100,0)	224 (100,0)		
Da	16 (1,5)	11 (1,3)	5 (2,2)	1,8 (0,61-5,19)	0,287
Ne	1079 (98,5)	860 (98,7)	219 (97,8)		
Temperatura ($\leq 37,5$ °C)	1095 (100,0)	871 (100,0)	224 (100,0)		
Da	19 (1,7)	233 (26,8)	1 (0,4)	0,2 (0,03-160)	0,133
Ne	1076 (98,3)	638 (73,2)	223 (99,6)		

*Napomena: OR (odds ratio): unakrsni odnos; CI (confidence interval): interval poverenja

Analizirajući podatke iz ginekološko-akušerske anamneze (**Tabela 17**) ustanovljeno je da ispitanice mlađe od 45 godina imaju 60% manju šansu da se inficiraju *T. gondii* (**OR= 0,4, 95% CI: 0,29-0,69**) u odnosu na žene u koje nisu u reproduktivnom periodu. Sa druge strane, ta značajnost ne postoji između žena koje su rađale i onih koje nisu ($p=0,059$). Infekcija *T. gondii* je bila skoro dva puta češća kod ispitanica koje su u anamnezi navele spontani pobačaj u odnosu na one koje nisu imale spontani pobačaj (**OR= 1,9, 95% CI: 1,05-3,37**), a tri puta češća kod onih koje su imale prevremeni porođaj (**OR= 3,1, 95% CI: 1,09-9,04**). Međutim mrtvorodenost kao ishod trudnoće nije značajno povezan sa seropozitivnosti *T. gondii* ($p=0,130$).

Tabela 17. Univarijantna regresiona analiza podataka iz ginekološko-akušerske anamneze ispitanica

Ginekološko-akušerski podaci	Ukupno n (%)	<i>T. gondii</i> seronegativne n (%)	<i>T. gondii</i> seropozitivne n (%)	OR (95% CI)	p
Reproduktivni period	541 (100,0)	440 (100,0)	101 (100,0)		
Da	367 (67,8)	314 (71,4)	53 (52,5)	0,4 (0,29-0,69)	p<0,001
Ne	174 (32,2)	126 (28,6)	48 (47,5)		
Prethodne trudnoće	529 (100,0)	433 (100,0)	96 (100,0)		
Da	290 (54,8)	229 (52,9)	61 (63,5)	1,6 (0,98-2,45)	$p=0,059$
Ne	239 (45,2)	204 (47,1)	35 (36,5)		
Spontani pobačaj	528 (100,0)	432 (100,0)	96 (100,0)		
Da	69 (13,1)	50 (11,6)	19 (19,8)	1,9 (1,05-3,37)	p=0,033
Ne	459 (86,9)	382 (88,4)	77 (80,2)		
Prevremeni porođaj	529 (100,0)	433 (100,0)	96 (100,0)		
Da	15 (2,8)	9 (2,1)	6 (6,2)	3,1 (1,09-9,04)	p=0,034
Ne	514 (97,2)	424 (97,9)	90 (93,8)		
Mrtvorodenost	529 (100,0)	433 (100,0)	96 (100)		
Da	4 (0,8)	2 (0,5)	2 (2,1)	4,6 (0,64-32,97)	$p=0,130$
Ne	525 (99,2)	421 (99,5)	94 (97,9)		

*Napomena: OR (odds ratio): unakrsni odnos; CI (confidence interval): interval poverenja

Multivarijantnom regresionom analizom potvrđeno je da su uzrast ispitanika (**OR=1,9, 95 % CI: 1,13-3,28; OR=3,2, 95 % CI: 1,91-5,35; OR=4,6, 95 % CI: 2,71-7,89; OR=6,8, 95 % CI: 3,27-14,24**), opština stanovanja (**OR=2,2, 95% CI: 1,43–3,34**) kao i kontakt sa zemljom nezavisni prediktori infekcije *T. gondii* raste linearno sa 1,9 na 6,8 puta od najmlađe uzrasne grupe (18-29 godina) do nastarije (>60 godina). Takođe, osobe koje žive u prigradskim opštinama Beograda imaju 2,2 puta veću šansu da dobiju toksoplazmozu u odnosu na one koju žive u gradskim opštinama Beograda. Ispitanici koji imaju kontakt sa zemljom imaju 1,4 puta veću šansu da se inficiraju *T. gondii* u odnosu na one koji ne dolaze u kontakt sa zemljom.

Tabela 18. Multivarijantna regresiona analiza faktora rizika za nastanak infekcije *T. gondii* kod davalaca krvi

Ispitivane varijable	95% CI	p
Uzrast		
18-29	Ref.	
30-29	1,9 (1,13–3,28)	0,016
40-49	3,2 (1,91–5,35)	< 0,001
50-59	4,6 (2,71–7,89)	< 0,001
>60	6,8 (3,27–14,24)	< 0,001
Opština stanovanja		
Prigradska	2,2 (1,43–3,34)	< 0,001
Gradska		
Kontakt sa zemljom		
Da	1,4 (1,01-1,94)	0,046
Ne		

*Napomena: CI (confidence interval): interval poverenja

4.2. Rezultati istraživanja studije preseka u populaciji trudnica

4.2.1. Osnovni demografski podaci

Drugom studijom preseka u okviru ovog istraživanja obuhvaćeno je 300 trudnica sa prebivalištem na teritoriji Beograda koje su dolazile u Institut za transfuziju krvi Srbije u periodu od novembra 2018. godine do februara 2019. godine zbog rutinskog ispitivanja krvne grupe i Rh faktora pre porođaja. Prosečna gestacijska starost trudnica bila je 24,3 (SD 10,41) gestacijskih nedelja. U tabeli 19 prikazane su osnovne demografske karakteristike ispitanica. Prosečna starost trudnica bila je 31,14 godina (SD 4,796), a kao i davaoci krvi, bile su raspoređene u pet uzrasnih kategorija (20-24, 25-29, 30-34, 35-39, >40), pri čemu je najmlađa trudnica imala 20 a najstarija 44 godine.

Na osnovu zanimanja navedenih u upitnicima, trudnice su kao i davaoci krvi, bile raspoređene prema nivou obrazovanja u tri kategorije (osnovno, srednje, više/visoko obrazovanje), a prema mestu stanovanja u dve kategorije - one koje žive u gradskim (Stari grad, Vračar, Savski venac, Zvezdara, Palilula, Novi Beograd, Zemun, Voždovac, Čukarica, Rakovica) i prigradskim opštinama Beograda (Sopot, Mladenovac, Lazarevac, Barajevo, Grocka, Surčin, Obrenovac). U kući sa dvorištem živelo je 37,7% ispitanica, dok je preostalih 62,3% ispitanica navelo da živi u stanu/kući bez dvorišta.

Tabela 19. Osnovne demografske karakteristike trudnica

Demografske karakteristike (broj trudnica (N))	Broj (n)	Procenat (%)
Uzrast (god.) (N =300)		
20-24	27	9,0
25-29	78	26,0
30-34	132	44,0
35-39	44	14,7
> 40	19	6,3
Nivo obrazovanja^a (N =280)		
Osnovno	18	6,4
Srednje	117	41,8
Više/Visoko	145	51,8
Opština stanovanja (N =300)		
Prigradska	31	10,3
Gradska	269	89,7
Uslovi stanovanja (N =300)		
Kuća sa dvorištem	113	37,7
Stan/Kuća bez dvorišta	187	62,3

*Napomena:

a- 20 ispitanica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

4.2.2. Podaci koji se odnose na navike u ishrani i stil života trudnica

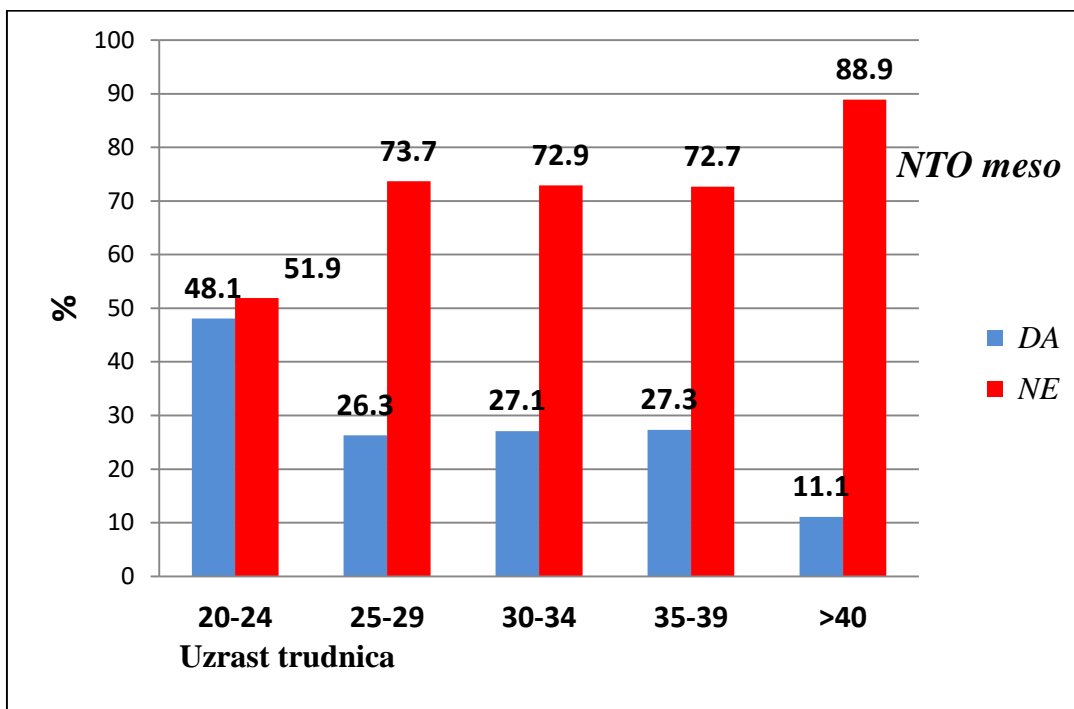
Na pitanje o konzumaciji mesa u ishrani, odgovorile su sve trudnice koje su učestvovala u istraživanju. Od tog broja samo tri trudnice (1,0%) su navele da uopšte ne konzumiraju meso. Konzumacija mesa po vrstama mesa, kao i konzumacija svežeg ili nedovoljno termički obrađenog (NTO) mesa (nedovoljno prženo/pečeno meso, presne kobasice, džigericu) prikazana je u tabeli 20. U grupi trudnica koje su konzumirale meso, najčešće su u ishrani koristile pileće meso (58,9%), a samo 28,2% (82/291) trudnica jeavelo da u ishrani koristi sveže ili nedovoljno termički obrađeno meso (**Tabela 20**).

Distribucija trudnica u odnosu na uzrasne grupe i konzumiranje NTO mesa, ukazuje da nema statistički značajne razlike među uzrasnim grupama u pogledu navika konzumiranja NTO mesa ($p=0,086$) (**Grafikon 11**), ali u grupi sa različitim nivoima obrazovanja, najviše NTO mesa se konzumiralo među osobama sa osnovnom školom ($p=0,013$) (**Grafikon 12**).

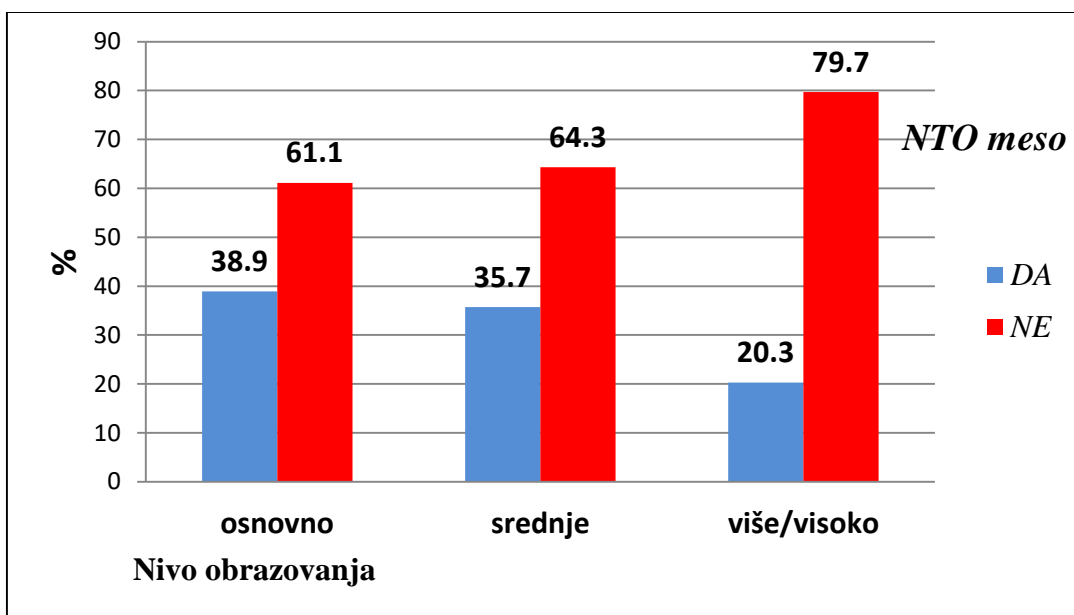
Tabela 20. Navike trudnica u ishrani

Navike u ishrani (broj trudnica (N))	Broj (n)	Procenat (%)
Konzumiranje mesa (N=300)		
Da	297	99,0
Ne	3	1,0
Vrsta mesa (N=297)		
Govede	22	7,4
Svinjsko	59	19,9
Jagnjeće	2	0,7
Pileće	175	58,9
Više od jedne vrste mesa	39	13,1
Konzumiranje svežeg ili NTO mesa^a (N=291)		
Da	82	28,2
Ne	209	71,8

*Napomena: a- 6 ispitanica nije odgovorilo na postavljeno pitanje; NTO (nedovoljno termički obrađeno) meso



Grafikon 11- Konzumiranje svežeg/NTO mesa prema uzrastu trudnica



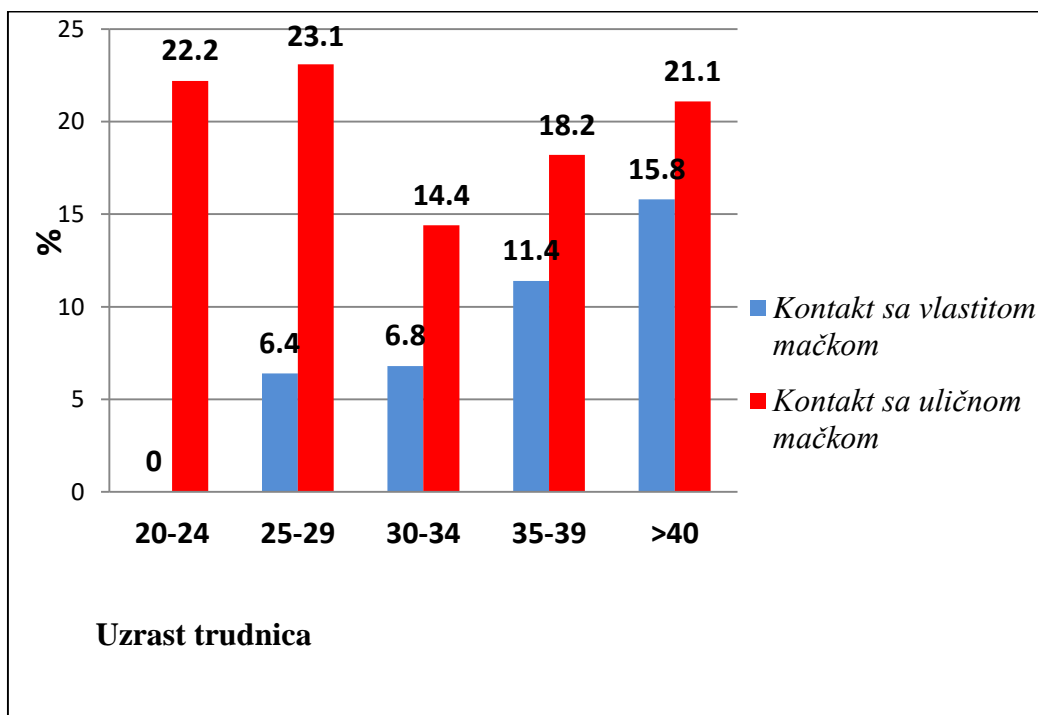
Grafikon 12- Konzumiranje svežeg/NTO mesa prema nivou obrazovanja trudnica

Stil života trudnica koji može biti faktor rizika za nastanak toksoplazmoze (kontakt sa zemljom i mačkom) prikazan je u tabeli 21.

Tabela 21. Stil života trudnica

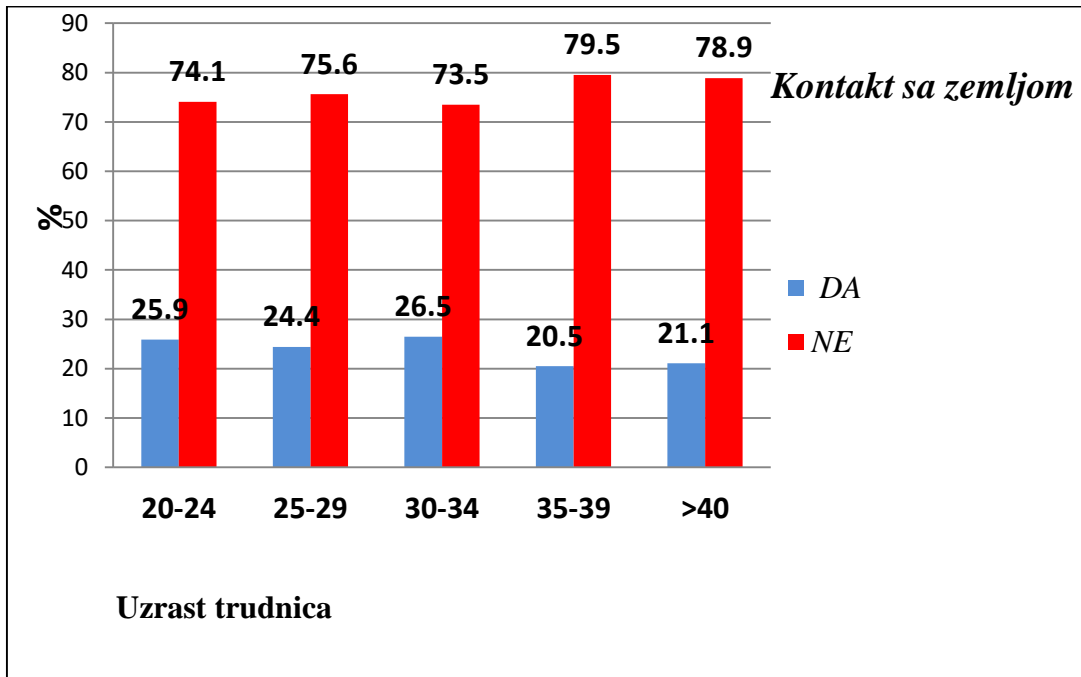
Stil života (broj trudnica (N))	Broj (n)	Procenat (%)
Kontakt sa zemljom (N=300)		
Da	74	24,7
Ne	226	75,3
Kontakt sa mačkom (N=300)		
Da	69	23,0
Ne	231	77,0
Kontakt sa vlastitom mačkom (N=300)		
Da	22	7,3
Ne	278	92,7
Kontakt sa uličnom mačkom (N=300)		
Da	55	18,3
Ne	245	81,7

Samo 22 (7,3%) ispitane trudnice su navele da imaju mačke kao kućne ljubimce, a 55 od njih 300 (18,3%) je navelo da dolazi u kontakt sa uličnim mačkama, bez vlasnika, odnosno, 69/300 imalo je kontakt sa mačkom (kućnom i/ili uličnom mačkom) (**Tabela 21**). U najmlađoj uzrasnoj grupi (20-24 godine) nijedna trudnica se nije izjasnila kao vlasnica mačke, ali je zato 22,2% trudnica bilo u kontaktu sa uličnim mačkama, za razliku od najstarije uzrasne kategorije (>40 godina) u kojoj je bilo najviše vlasnica mačaka (15,8%) (**Grafikon 13**).

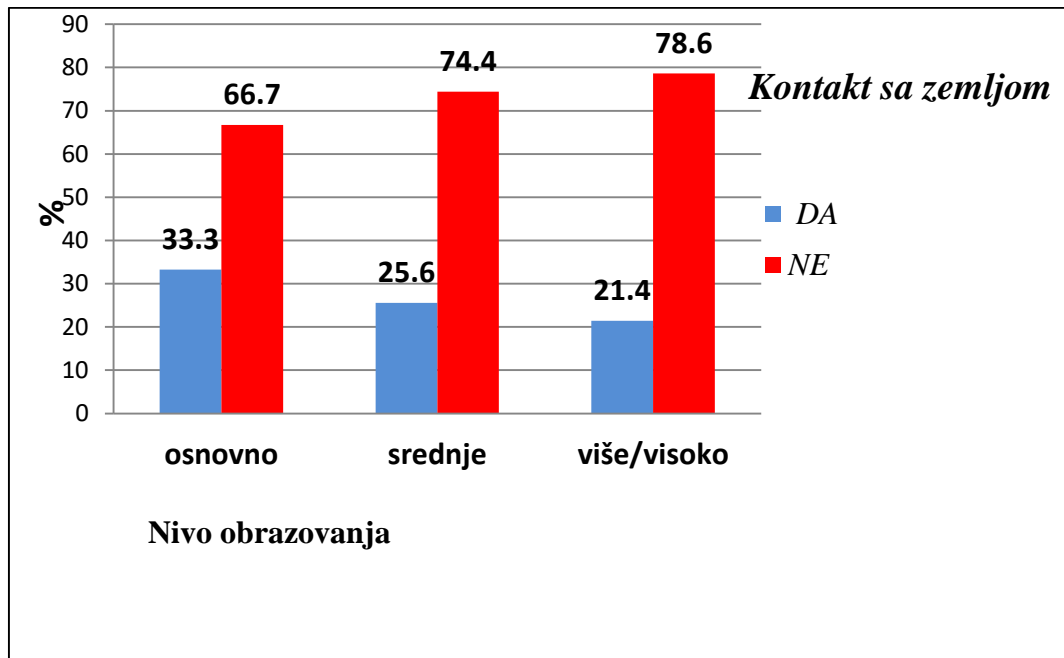


Grafikon 13- Kontakt sa vlastitom/uličnom mačkom prema uzrastu trudnica

Kontakt sa zemljom (rad u bašti, voćnjaku, povrtnjaku) prijavilo je 24,7% (74/300) ispitanica (**Tabela 21**). Kontakt sa zemljom u uzrasnim grupama trudnica nije pokazao statističku značajnost ($p=0,935$) (**Grafikon 14**), a u odnosu na nivo obrazovanja kontakt sa zemljom bio je najzastupljeniji kod trudnica sa osnovnom školom (33,3%) mada bez statističke značajnosti u odnosu na druge nivoe obrazovanja ($p=0,454$) (**Grafikon 15**).



Grafikon 14- Kontakt sa zemljom prema uzrastu trudnica



Grafikon 15- Kontakt sa zemljom prema nivou obrazovanja trudnica

*Napomena: 20 trudnica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

4.2.3. Podaci koji se odnose na ličnu anamnezu trudnica

Od 299 anketiranih trudnica, 13 trudnica (4,3%) je dalo podatak da je imalo limfadenopatiju (uvećane cervikalne, aksilarne i/ili ingvinalne limfne žlezde). Od 291 anketirane trudnice, 19 je prijavilo povišenu temperaturu (do 37,5 °C) (6,5%) (**Tabela 22**), a dve trudnice su imale oba simptoma infekcije u prethodnih godinu dana. Među šest ispitanica koje su imale limfadenopatiju, dve su u anamnezi navele spontani pobačaj, dve prevremeni porođaj a jedna mrtvorodenost, dok u grupi sa povišenom temperaturom od njih 19, dve su imale spontani pobačaj i dve prevremeni porođaj; nijedna nije prijavila mrtvorodenost.

Tabela 22. Lična anamneza trudnica

Lična anamneza (broj trudnica (N))	Broj (n)	Procenat (%)
Limfadenopatija^a (N=299)		
Da	13	4,3
Ne	286	95,7
Povišena t^b ($\leq 37,5$ °C) (N=291)		
Da	19	6,5
Ne	272	93,5

*Napomena:

a- 1 ispitanica nije odgovorila na postavljeno pitanje

b- 9 ispitanica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

4.2.4. Podaci iz ginekološko-akušerske anamneze trudnica

Od ukupnog broja ispitanica, 53,5% (151/282) prijavilo je u trenutku ispitivanja da im je to bila prva trudnoća (**Tabela 23**). Prethodni porođaji su se kod 42 (15,3%) trudnice završili spontanom pobačajem, kod 8 (2,9%) prevremenim porođajem, a 4 trudnice (1,5%) su prijavile mrtvorodenost. Dve trudnice su navele i spontani pobačaj i prevremeni porođaj. U istraživanju su učestvovala trudnice različitih gestacijskih starosti, od 5 do 39 gestacijske nedelje ($24,32 \pm 10,414$) pri čemu je 25 od njih 239 (10,5%) istaklo da je pre istaživanja ispitivano na toksoplazmozu kada je kod samo jedne trudnice utvrđena seropozitivnost, dok su se preostale izjasnile kao seronegativne (**Tabela 24**).

Tabela 23. Ginekološko-akušerska anamneza trudnica

Ginekološko-akušerski podaci (broj trudnica (N))	Broj (n)	Procenat (%)
Prva trudnoća^a (N=282)		
Da	151	53,5
Ne	131	46,5
Trimestar trudnoće^b (N=296)		
I	72	24,3
II	57	19,3
III	167	56,4
Spontani pobačaj^c (N=274)		
Da	42	15,3
Ne	232	84,7
Prevremeni porodaj^d (N=275)		
Da	8	2,9
Ne	267	97,1
Mrtvorodenost^e (N=273)		
Da	4	1,5
Ne	269	98,5

*Napomena:

a- 18 trudnica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

b- 4 trudnice nisu odgovorile na postavljeno pitanje

c-26 trudnica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

d- 25 trudnica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

e- 27 trudnica nije odgovorilo na postavljeno pitanje

Tabela 24. Razlog prethodnog ispitivanja na infekciju *T. gondii* trudnica^a

	Broj (n)
Početak trudnoće	9
Priprema za vantelesnu oplodnju (VTO)	5
Vlasnica mačke	3
Patologija u trudnoći	3
Limfadenopatija^b	1
Bez posebnog razloga	3
Ukupno	24

*Napomena:

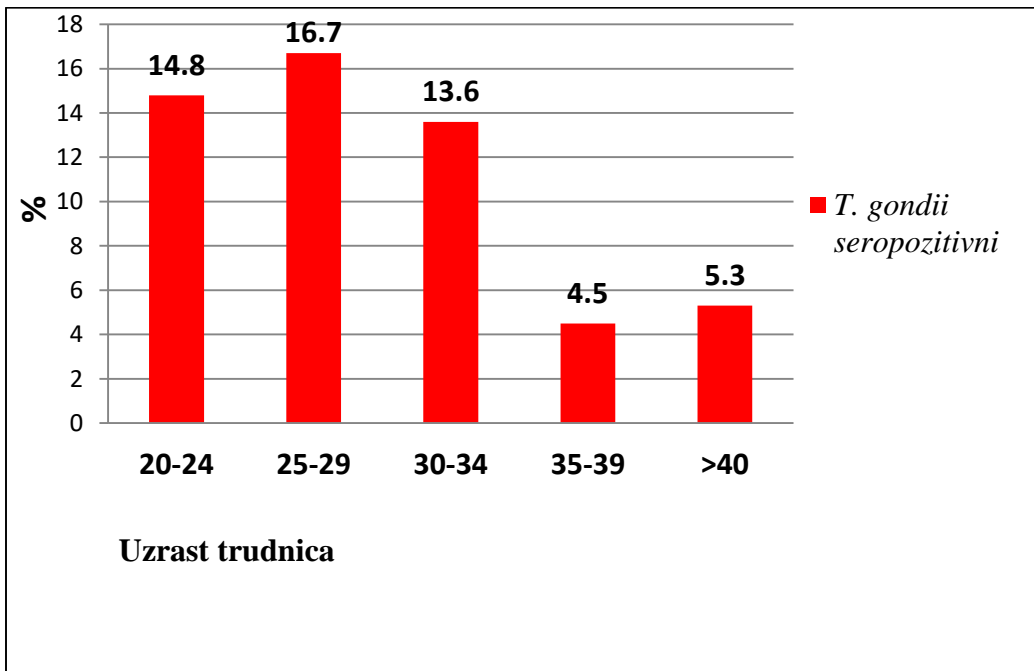
jedna ispitanica bila pozitivna pre istraživanja (stara infekcija)

a-jedna ispitanica nije odgovorila na pitanje;

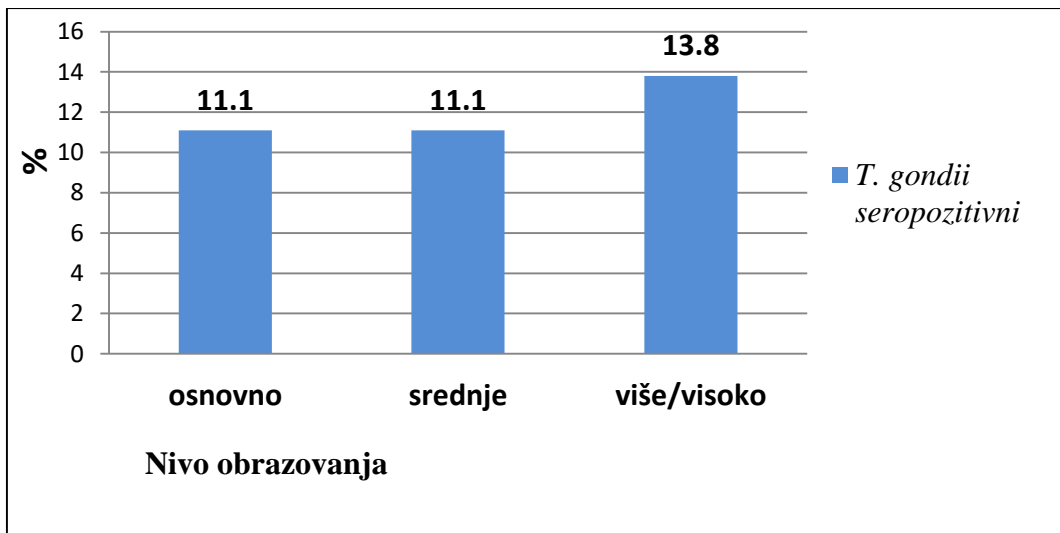
b-imala je limfadenopatiju 10 godina pre istraživanja

4.2.5. Prevalencija infekcije *T. gondii* u populaciji trudnica

Prevalencija infekcije *T. gondii* u populaciji trudnica iznosi 12,7% (38/300). Najviša vrednost prevalencije zabeležena je u uzrasnoj grupi od 25-29 godina (16,7%) a najniža u uzrastu od 35-39 godina (4,5%) (**Grafikon 16**), ali za razliku od dobrovoljnih davalaca krvi nema lineranog porasta prevalencije sa porastom starosti trudnica ($p=0,296$). Analizirajući prevalenciju toksoplazmoze u odnosu na nivo obrazovanja trudnica, u grupi sa osnovnim i srednjim obrazovanjem prevalencija iznosi 11,1%, i nije se značajno razlikovala u grupi trudnica sa visokim stepenom obrazovanja (13,8%), što je takođe razlika u odnosu na populaciju davalaca krvi ($p=0,795$) (**Grafikon 17**).



Grafikon 16- Prevalencija infekcije *T. gondii* trudnica prema uzrastu



Grafikon 17- Prevalencija infekcije *T. gondii* trudnica prema nivo obrazovanja

4.2.6. Status infekcije *T. gondii* u populaciji trudnica

Od 38 seropozitivnih trudnica sve su se u trenutku ispitivanja nalazile u hroničnoj fazi infekcije *T. gondii*. Serumi trudnica pozitivni u skrining testu, HSDA (Tabela 25), bili su pozitivni i u TXG testu sa rasponom titra specifičnih IgG antitela od 10 do 294 IJ/ml ($65,26 \pm 62,547$). Aviditet specifičnih IgG antitela bio je visok kod većine seropozitivnih trudnica (94,7%) a graničan i nizak svega kod po jedne trudnice (2,6%) (Tabela 26). Najniža zabeležena vrednost indeksa aviditeta specifičnih IgG antitela TXGA testom iznosila je 0,062 a najviša 0,670 ($0,518 \pm 0,111$). U serumima trudnica sa niskim i sa granično avidnim specifičnim IgG antitelima analizirana su i specifična IgM antitela TXM testom, čiji je negativan rezultat u oba slučaja isključio mogućnost akutne infekcije, iako su obe navele povišenu t ($do 37,5\text{ }^{\circ}\text{C}$) na početku trudnoće. Međutim, kako su obe ispitanice bile u odmaklim trudnoćama u trenutku ispitivanja, prema važećem protokolu dijagnostike kongenitalne toksoplazmoze Nacionalne referentne laboratorije za toksoplazmozu, obe su bile serološki praćene do porođaja (trudnica sa niskim aviditetom specifičnih IgG antitela praćena je od 26gn, a trudnica sa graničnim aviditetom od 36gn). Rezultati seroloških analiza obe trudnice do kraja trudnoće ukazivali su na hroničnu infekciju *T. gondii* bez rizika za nastanak kongenitalne toksoplazmoze.

Tabela 25. Prikaz rezultata HSDA testa u populaciji trudnica

Titar	Broj trudnica (n)
1:20	0
1:40	0
> 40	38

Tabela 26. Prikaz rezultata određivanja indeksa aviditeta specifičnih IgG antitela kod seropozitivnih trudnica

Indeks aviditeta	Broj ispitanika	Status <i>T. gondii</i> infekcije
Nizak (< 0,200)	1 ^a	Hronična
Graničan (0,200-0,300)	1 ^b	Hronična
Visok (> 0,300)	36	Hronična

*Napomena:

a- specifična IgM antitela negativna

b- specifična IgM antitela granična

4.2.7. Rezultati univarijantne i multivarijantne regresione analize u populaciji trudnica

U **Tabeli 27** prikazani su osnovni demografski podaci kao prediktori infekcije za nastanak toksoplazmoze trudnica. Jedino su se uslovi stanovanja pokazali kao statistički značajn faktor rizika (**OR=0,4, 95% CI: 0,22-0,87**), odnosno 60% je manja šansa da se oboli od toksoplazmoze ukoliko se živi u stanu, odnosno, u kući bez dvorišta (**Tabela 27**). Sa druge strane, statistička značajnost u učestalosti infekcije ne postoji u odnosu na uzrast, nivo obrazovanja ($p=1,00$, $p=0,754$), kao i na opštinu stanovanja ($p=0,086$) (**Tabela 27**).

Tabela 27. Univarijantna regresiona analiza demografskih karakteristika trudnica kao faktora rizika za nastanak infekcije *T. gondii*

Demografske karakterisitke trudnica	Ukupno n (%)	<i>T. gondii</i> seronegativne n (%)	<i>T. gondii</i> seropozitivne n (%)	OR (95% CI)	p
Uzrast (god.)	300 (100)	262 (100)	38 (100)		
20-24	27 (9,0)	23 (8,8)	4 (10,5)	Ref.	
25-29	78 (26,0)	65 (24,8)	13 (34,2)	1,2 (0,34-3,89)	0,822
30-34	132 (44,0)	114 (43,5)	18 (47,4)	0,9 (0,28-2,93)	0,872
35-40	44 (14,7)	42 (16,0)	2 (5,3)	0,3 (0,05-1,61)	0,152
> 40	19 (6,3)	18 (6,9)	1 (2,6)	0,3 (0,03-3,11)	0,326
Nivo obrazovanja	280 (100)	245 (100)	35 (100)		
Osnovno	18 (6,4)	16 (6,5)	2 (5,7)	1,0 (0,20-4,85)	1,00
Srednje	117 (41,8)	104 (42,4)	13 (37,1)	1,3(0,27-5,99)	0,754
Više/Visoko	145 (51,8)	125 (51,0)	20 (57,1)		
Opština stanovanja	300 (100)	262 (100)	38 (100)		
Prigradska	31 (10,3)	24 (9,2)	7 (18,4)	2,2 (0,89-5,62)	0,086
Gradska	269 (89,7)	238 (90,8)	31 (81,6)		
Uslovi stanovanja	300 (100)	262 (100)	38 (100)		
Kuća sa dvorištem	113 (37,7)	92 (35,1)	21 (55,3)	0,4 (0,22-0,87)	0,019
Stan/Kuća bez dvorišta	187 (62,3)	170 (64,9)	17 (44,7)		

*Napomena: OR (odds ratio): unakrsni odnos; CI (confidence interval): interval poverenja

U **Tabeli 28** prikazani su podaci koji se odnose na stil života, odnosno izloženosti mogućim putevima širenja infekcije kod trudnica. Univarijantna analiza je pokazala da izloženost ispitivanim putevima širenja nije dovela do statistički značajane razlike u učestalosti infekcije u ispitivanoj populaciji.

Tabela 28. Univarijantna regresiona analiza podataka koji se odnose na stil života i ishrane trudnica kao faktora rizika za nastanak infekcije *T. gondii*

Stil života i ishrane trudnice	Ukupno n (%)	<i>T. gondii</i> seronegativni n (%)	<i>T. gondii</i> seropozitivni n (%)	OR (95% CI)	p
Kontakt sa zemljom	300 (100,0)	262 (100,0)	38 (100,0)		
Da	74 (24,7)	60 (22,9)	14 (36,8)	1,9 (0,96-4,03)	0,066
Ne	226 (75,3)	202 (77,1)	24 (63,2)		
Kontakt sa mačkom	300 (100,0)	262 (100,0)	38 (100,0)		
Da	69 (23,0)	59 (22,5)	10 (26,3)	1,2 (0,56-2,68)	0,604
Ne	231 (77,0)	203 (77,5)	28 (73,7)		
Vlasnica mačke	300 (100,0)	262 (100,0)	38 (100,0)		
Da	22 (7,3)	17 (6,5)	5 (13,2)	2,2 (0,76-6,13)	0,149
Ne	278 (92,7)	245 (93,5)	33 (86,7)		
Kontakt sa uličnom mačkom	300 (100,0)	262 (100,0)	38 (100,0)		
Da	55 (18,3)	48 (18,3)	7 (18,4)	1,0 (0,42-2,42)	0,988
Ne	245 (81,7)	214 (81,7)	31 (81,6)		
Konзумiranje mesa	300 (100,0)	262 (100,0)	38 (100,0)		
Da	297 (99,0)	259 (98,9)	38 (100,0)	0,4 (0,04-4,23)	0,468
Ne	3 (1,0)	3 (1,1)	0 (0)		
NTO meso	291 (100,0)	253 (100,0)	38 (100,0)		
Da	82 (28,2)	73 (28,9)	9 (23,7)	0,8 (0,35-1,70)	0,510
Ne	209 (71,8)	180 (71,1)	29 (76,3)		
Vrsta mesa	297 (100,0)	259 (100,0)	38 (100,0)		
Goveđe	22 (7,4)	16 (6,2)	6 (15,8)	Ref.	
Svinjsko	59 (19,9)	51 (19,7)	8 (21,1)		
Jagnjeće	2 (0,7)	1 (0,4)	1 (2,6)		
Pileće	175 (58,9)	158 (61,0)	17 (44,7)		
Više od jedne vrste mesa	39 (13,1)	33 (12,7)	6 (15,8)		
				0,4 (0,13-1,39)	0,154
				2,7 (0,14-49,76)	0,511
				0,3 (0,10-0,83)	0,021
				0,5 (0,13-1,74)	0,267

*Napomena: OR (odds ratio): unakrsni odnos; CI (confidence interval): interval poverenja

Analizom podataka, iz lične (**Tabela 29**) i ginekološko-akušerske anamneze ispitivanih trudnica (**Tabela 30**) ne nalazimo nijedan simptom i faktor rizika koji se dovodi u vezu sa infekcijom *T. gondii*.

Tabela 29. Univarijantna regresiona analiza podataka iz lične anamneze trudnica

Podatak	Ukupno n (%)	<i>T. gondii</i> seronegativne n (%)	<i>T. gondii</i> seropozitivne n (%)	OR (95% CI)	p
Limfadenopatja	299 (100,0)	261 (100,0)	38 (100,0)		
Da	13 (4,3)	12 (4,6)	1 (2,6)	0,6 (0,07-4,44)	0,584
Ne	226 (95,7)	249 (95,4)	37 (97,3)		
Povišena temperatura	291 (100,0)	256 (100,0)	35 (100,0)		
Da	19 (6,5)	15 (5,9)	4 (11,4)	2,1 (0,65-6,64)	0,220
Ne	272 (93,5)	241 (94,1)	31 (88,6)		

*Napomena: OR (odds ratio): unakrsni odnos; CI (confidence interval): interval poverenja

Tabela 30. Univarijantna regresiona analiza podataka iz ginekološko-akušerske anamneze trudnica

Podatak	Ukupno n (%)	<i>T. gondii</i> seronegativne n (%)	<i>T. gondii</i> seropozitivne n (%)	OR (95% CI)	p
Prva trudnoća	282 (100,0)	249 (100,0)	33 (100,0)		
Da	151 (53,5)	130 (52,2)	21 (63,6)	1,6 (0,76-3,39)	0,219
Ne	131 (46,5)	119 (47,8)	12 (36,4)		
Trimestar trudnoće	296 (100,0)	258 (100,0)	38 (100,0)	Ref.	
I	72 (24,3)	59 (22,9)	13 (34,2)	0,5 (0,19-1,51)	0,236
II	57 (19,3)	51 (19,8)	6 (15,8)		
III	167 (56,4)	148 (57,4)	19 (50,0)		
Uredan tok trudnoće	194 (100,0)	169 (100,0)	25 (100,0)		
Da	183 (94,3)	160 (94,7)	23 (92,0)	0,5 (0,19-1,51)	0,236
Ne	11 (5,7)	9 (5,3)	2 (8,0)		
Spontani pobačaj	274 (100,0)	242 (100,0)	32 (100,0)		
Da	42 (15,3)	39 (16,1)	3 (9,4)	0,6 (0,27-1,25)	0,168
Ne	232 (84,7)	203 (83,9)	29 (90,6)		
Prevremeni porođaj^a	275 (100,0)	243 (100,0)	32(100,0)		
Da	8 (2,9)	8 (3,3)	0 (0,0)	NR	0,999
Ne	267 (97,1)	235 (96,7)	32 (100)		
Mrtvorodenost	273 (100,0)	241 (100,0)	32(100,0)		
Da	4 (1,5)	3 (1,2)	1 (3,1)	2,6 (0,26-25,37)	0,422
Ne	269 (98,5)	238 (98,8)	31 (96,7)		

*Napomena: OR (odds ratio): unakrsni odnos; CI (confidence interval): interval poverenja

a- NR-nije rađeno

Multivarijantnom regresionom analizom potvrđeno je da su uslovi stanovanja trudnica (**OR=0,4, 95 % CI: 0,19-0,83**), i konzumiranje pilećeg mesa (**OR=0,3, 95% CI: 0,94-0,83**) nezavisni prediktori infekcije (**Tabela 31**). Trudnice imaju 60% manja šanse da obole od toksoplazmoze ukoliko žive u stanu/kući bez dvorišta u odnosu na trudnice koje žive u kući sa dvorištem. Odnosno trudnice imaju 70% manje šanse da obole od toksoplazmoze ukoliko jedu piletinu u odnosu na drugu vrstu mesa.

Tabela 31. Multivarijantna regresiona analiza faktora rizika za nastanak infekcije *T. gondii* kod trudnica

Ispitivane varijable	95% CI	p
Uslovi stanovanja		
Kuća sa dvorištem	0,4 (0,19–0,83)	0,013
Stan/Kuća bez dvorišta		
Vrsta mesa	Ref.	
Goveđe	0,4 (0,11–1,23)	0,104
Svinjsko	3,9 (0,20–73,66)	0,370
Jagnjeće	0,3 (0,94–0,83)	0,021
Pileće	0,5 (0,13–1,79)	0,279
Više od jedne vrste mesa		

*Napomena: CI (confidence interval): interval poverenja

4.3. Udruženi rezultati istraživanja svih ispitanica: trudnica i davalaca krvi ženskog pola

U ovom delu istraživanja, posmatrane su samo osobe ženskog pola i to negravidne žene iz populacije davalaca krvi i trudnice. Ukupno je bilo 841 pripadnica ženskog pola i to 541 (64,3%) žena koje nisu bile gravidne i 300 (35,7%) trudnica. Demografske karakteristike ispitanica prikazane su u tabeli 32. Trudnice su bile značajno mlađe ($p < 0,001$), imale su viši nivo obrazovanja ($p < 0,001$), veći procenat njih je živeo u prigradskom naselju ($p = 0,001$) i u kući sa dvorištem ($p = 0,023$) u odnosu na ispitanice davaoce krvi (Tabela 32).

Tabela 32. Demografske karakteristike negravidnih žena, davalaca krvi i trudnica

Demografske karakteristike	Negravidne žene, davaoci krvi n (%)	Trudnice n (%)	Ukupno n (%)	p
Ukupno	541 (64,3)	300 (35,7)	841 (100,0)	
Prosečan uzrast	39,2±12,0	31,1±4,8	36,3±10,7	<0,001
Uzrast (god.)				
18-24	78 (14,4)	27 (9,0)	105 (12,5)	<0,001
25-29	62 (11,5)	78 (26,0)	140 (16,6)	
30-34	65 (12,0)	132 (44,0)	197 (23,4)	
35-39	71 (13,1)	44 (14,7)	115 (13,7)	
>40	265 (49,0)	19 (6,3)	284 (33,8)	
Nivo obrazovanja^a				
Osnovno	33 (6,5)	18 (6,4)	51 (6,5)	0,683
Srednje	229 (44,9)	117 (41,8)	346 (43,8)	
Više/Visoko	248 (48,6)	145 (51,8)	393 (49,7)	
Opština stanovanja^b				
Prigradska	25 (4,6)	31 (10,3)	56 (6,7)	0,001
Gradska	516 (95,4)	269 (89,7)	785 (93,3)	
Uslovi stanovanja^c				
Kuća sa dvorištem	162 (30,0)	113 (37,7)	275 (32,7)	0,023
Stan/Kuća bez dvorišta	378 (70,0)	187 (62,3)	565 (67,3)	

*Napomena:

a- 31 negravidna žena, davalac krvi i 20 trudnica nisu odgovorile na postavljeno pitanje

b- 3 negravidne žene, davoci krvi nisu odgovorile na postavljeno pitanje

c-1 negravidna žena, davalac krvi nije odgovorila na postavljeno pitanje

Stil života i ishrane ispitanica prikazani su u tabeli 33. Konzumiranje mesa u obe populacije je bilo slično. Trudnice su češće konzumirale goveđe, svinjsko i pileće meso ($p < 0,001$) ali značajno manje svežeg/NTO mesa ($p < 0,001$) u odnosu na negravidne žene, davaoce krvi. Sa druge strane, negravidne žene su češće bile vlasnice mačaka u odnosu na trudnice ($p = 0,003$). Statističke značajnosti nije bilo u kontaktu sa zemljom, kao ni u kontaktu sa mačkama, odnosno kontaktu sa uličnim mačkama.

Tabela 33. Stil života i ishrane negravidnih žena, davalaca krvi i trudnica

Stil života i ishrane	Negravidne žene, davaoci krvi n (%)	Trudnice n (%)	Ukupno n (%)	p
Konzumiranje mesa^a				
Da	521 (96,5)	258 (98,9)	779 (97,3)	0,055
Ne	19 (3,5)	3 (1,1)	22 (2,7)	
Vrsta mesa^b				<0,001
Goveđe	33 (6,3)	22 (8,5)	55 (7,1)	
Svinjsko	50 (9,6)	59 (22,9)	109 (14,0)	
Jagnjeće	4 (0,8)	2 (0,8)	6 (0,8)	
Pileće	320 (61,4)	175 (67,8)	495 (63,5)	
Više od jedne vrste mesa	114 (21,9)	0 (0)	114 (14,6)	
Konzumiranje svežeg ili NTO mesa^c				<0,001
Da	287 (55,3)	71 (28,0)	358 (46,3)	
Ne	232 (44,7)	183 (72,0)	415 (53,7)	
Kontakt sa zemljom^d				0,801
Da	129 (23,9)	74 (24,7)	203 (24,2)	
Ne	411 (76,1)	226 (75,3)	637 (75,8)	
Kontakt sa mačkom				0,076
Da	155 (28,7)	69 (23,0)	224 (26,6)	
Ne	386 (71,3)	231 (77,0)	617 (73,4)	
Kontakt sa vlastitom mačkom				0,003
Da	77 (14,2)	22 (7,3)	99 (11,8)	
Ne	464 (85,8)	278 (92,7)	742 (88,2)	
Kontakt sa uličnom mačkom				0,283
Da	116 (21,4)	55 (18,3)	171 (20,3)	
Ne	425 (78,6)	245 (81,7)	670 (79,7)	

*Napomena:

a- 1 negravidna žena, davalac krvi i 39 trudnica nisu odgovorile na postavljeno pitanje

b- 1 negravidna žena, davalac krvi i 39 trudnica nisu odgovorile na postavljeno pitanje

c- 3 negravidne žene, davaoci krvi i 43 trudnice nisu odgovorile na postavljeno pitanje

d- 1 negravidna žena, davalac krvi nije odgovorila na postavljeno pitanje

Od ukupnog broja žena, 139 su bile seropozitivne, odnosno ukupna prevalencija infekcije *T. gondii* kod osoba ženskog pola iznosila je 16,5% (139/841) (Tabela 34) i to 18,7% (101/541) kod negravidnih žena davalaca krvi i 12,7% (38/300) kod trudnica.

Povezanost demografskih karakteristika i prisustva/odsustva infekcije *T. gondii* kod svih žena prikazana je u tabeli 34. Najviša seroprevalencija *T. gondii* zabeležena je kod žena starijih od 40 godina, a najniža kod žena uzrasta 18-24 godine ($p < 0,001$). Najviša prevalencija (19,6%) zapažena je kod žena sa završenom osnovnom školom, mada razlika nije bila statistički značajna u odnosu na ostale nivoe obrazovanja. Viša prevalencija infekcije *T. gondii* uočena je kod ispitanica koje su živele u prigradskim

opštinama Beograda (19,6%) u odnosu na gradske (16,3%) kao i u kući sa dvorištem (19,6%) u odnosu na stan/kuću bez dvorišta (15,0%), ali razlike nisu bile statistički značajne.

Tabela 34. Seroprevalencija infekcije *T.gondi* u odnosu na demografske karakteristike svih žena u istraživanju

Demografske karakteristike svih ispitanica	Ukupan broj žena (n)	Broj seropozitivnih žena (n)	Seroprevalencija (%)	p
Ukupno	841	139	16,5	
Uzrast (god.)				<0,001
18-24	105	10	9,5	
25-29	140	18	12,9	
30-34	197	28	14,2	
35-39	115	14	12,2	
>40	284	69	24,3	
Nivo obrazovanja^a				0,578
Osnovno	51	10	19,6	
Srednje	346	58	16,8	
Više/Visoko	393	58	14,8	
Opština stanovanja				0,312
Prigradska	56	11	19,6	
Gradska	785	128	16,3	
Uslovi stanovanja				0,058
Kuća sa dvorištem	275	54	19,6	
Stan/Kuća bez dvorišta	565	85	15,0	

*Napomena:

a- 13 seropozitivnih žena nije odgovorilo na postavljeno pitanje

Na dalje su posmatrani faktori rizika za nastanak infekcije *T. gondii* i to najpre kod svih žena, a zatim posebno kod negravidnih žena, davalaca krvi i posebno kod trudnica.

Kod svih žena, prema univarijantnoj logističkoj regresiji izdvojili su se stariji uzrast (**OR=3,0, 95% CI: 1,50-6,17**) i kontakt sa zemljom (**OR=1,6, 95% CI: 1,11-2,45**) kao faktori rizika. Žene starije od 40 godina češće su obolele od toksoplazmoze u odnosu na mlađe ispitanice, kao i one koje su dolazile u kontakt sa zemljom (dvorište, bašta, povrtnjak, voćnjak), u odnosu na one koje nisu imale kontakt (**Tabela 35**). Takođe, ispitanice koje su konzumirale pileće meso su imale manje šanse da obole od toksoplazmoze (**OR=0,5, 95% CI: 0,24-0,90**) u odnosu na one koje su konzumirale ostale vrste mesa, a među trudnicama koje su bile u III trimestru trudnoće bilo je manje seropozitivnih na *T. gondii* u odnosu na ostale trimestre trudnoće i stanje negraviditeta (**OR=0,6, 95% CI: 0,33-0,94**) (**Tabela 35**). Nezavisni faktori rizik, prema multivarijantnoj analizi bili su samo stariji uzrast (**OR=2,7, 95% CI: 1,33-5,51**) i kontakt sa zemljom (**OR=1,5, 95% CI: 1,03-2,32**) (**Tabela 35**).

Tabela 35. Univarijantna i multivarijantna regresiona analiza faktora rizika za nastanak infekcije *T. gondii* kod svih ispitanica

	Univarijantna regresiona analiza		Multivarijantna regresiona analiza	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Uzrast (god.)				
18-24	Ref.		Ref.	
25-29	1,4 (0,62-3,18)	0,419	1,3 (0,57-2,98)	0,536
30-34	1,6 (0,73-3,38)	0,245	1,5 (0,68-3,18)	0,320
35-39	1,3 (0,56-3,11)	0,530	1,2 (0,50-2,89)	0,676
>40	3,0 (1,50-6,17)	0,002	2,7 (1,33-5,51)	0,006
Opština stanovanja				
Prigradska	1,4 (0,73-2,75)	0,309		
Gradska				
Nivo obrazovanja				
Osnovno	Ref.			
Srednje	0,8 (0,39-1,74)	0,615		
Više/Visoko	0,7 (0,34-1,50)	0,367		
Uslovi stanovanja				
Kuća sa dvorištem	0,7 (0,50-1,06)	0,094		
Stan/Kuća bez dvorišta				
Kontakt sa zemljom				
Da	1,6 (1,11-2,45)	0,014	1,5 (1,03-2,32)	0,037
Ne				
Kontakt sa mačkom				
Da	1,2 (0,83-1,84)	0,296		
Ne				
Vlasnica mačke				
Da	1,4 (0,85-2,40)	0,183		
Ne				
Kontakt sa uličnom mačkom				
Da	1,0 (0,66-1,63)	0,865		
Ne				
Konzumiranje mesa				
Da	0,7 (0,24-1,83)	0,431		
Ne				
Konzumacija NTO mesa				
Da	1,4 (0,95-1,99)	0,093		
Ne				
Vrsta mesa				
Goveđe	Ref.			
Svinjsko	0,6 (0,28-1,35)	0,229		
Jagneće	1,5 (0,24-8,88)	0,678		
Pileće	0,5 (0,24-0,90)	0,023		
Više od jedne vrste mesa	0,7 (0,36-1,52)	0,411		

Limfadenopatja Da Ne	0,9 (0,26-3,07)	0,851		
Povišena temperatura ($\leq 37,5$ °C) Da Ne	1,2 (0,43-3,14)	0,757		
Prethodne trudnoće Da Ne	1,2 (0,86-1,83)	0,247		
Spontani abortus Da Ne	1,4 (0,82-2,27)	0,233		
Prevremeni porođaj Da Ne	1,9 (0,74-4,93)	0,183		
Mrtvorodenost Da Ne	3,2 (0,76-13,61)	0,113		
Trimestar trudnoće Bez trudnoće I II III	Ref. 1,0 (0,51-1,82) 0,5 (0,21-1,23) 0,6 (0,33-0,94)	0,900 0,133 0,030		

*Napomena: OR (odds ratio): unakrsni odnos; CI (confidence interval): interval poverenja

Kod žena davalaca krvi, prema univarijantnoj logističkoj regresiji, izdvojili su se stariji uzrast (**OR=4,1, 95% CI: 1,72-9,96**), spontani pobačaj (**OR=1,9, 95% CI: 1,05-3,37**) i prevremeni porođaj (**OR=3,14, 95% CI: 1,09-9,04**) kao nezavisni faktori infekcije (**Tabela 36**). Odnosno, žene starije od 40 godina imale su veću šansu da obole od toksoplazmoze od mlađih ispitanica. Takođe, više seropozitivnih žena na *T. gondii* bilo je grupi onih koje su prijavile spontani pobačaj i prevremeni porođaj u odnosu na one koje nisu (**Tabela 36**). Nezavisni faktor rizika kod žena davalaca krvi, prema multivarijantnoj logističkoj regresiji, bio je samo stariji uzrast (**OR=3,7, 95% CI: 1,53-8,94**). Kod trudnica, kao nezavisni faktori rizika za infekciju *T. gondii* izdvojili su se konzumacija pilećeg mesa i život u stanu/kući bez dvorišta, gorenavedeno u odeljku 4.2.7 (**Tabela 27 do 31**).

Tabela 36. Univarijantna i multivarijantna regresiona analiza faktora rizika za nastanak infekcije *T. gondii* kod ispitanica davalaca krvi

	Univarijantna regresiona analiza		Multivarijantna regresiona analiza	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Uzrast (god.)				
18-24	Ref.		Ref.	
25-29	1,0 (0,31-3,62)	0,935	0,8 (0,21-2,91)	0,716
30-34	2,2 (0,75-6,37)	0,153	1,9 (0,62-5,55)	0,266
35-39	2,4 (0,86-6,90)	0,092	2,3 (0,82-6,54)	0,115
>40	4,1 (1,72-9,96)	0,001	3,7 (1,53-8,94)	0,004
Opština stanovanja				
Prigradska	1,1 (0,40-2,99)	0,861		
Gradska				
Nivo obrazovanja				
Osnovno	Ref.			
Srednje	0,8 (0,32-1,81)	0,540		
Više/Visoko	0,6 (0,24-1,35)	0,198		
Uslovi stanovanja				
Kuća sa dvorištem	0,9 (0,54-1,36)	0,516		
Stan/Kuća bez dvorišta				
Kontakt sa zemljom				
Da	1,5 (0,95-2,49)	0,077		
Ne				
Kontakt sa mačkom				
Da	1,2 (0,75-1,91)	0,455		
Ne				
Vlasnica mačke				
Da	1,2 (0,64-2,13)	0,608		
Ne				
Kontakt sa uličnom mačkom				
Da	1,0 (0,61-1,73)	0,926		
Ne				
Konsumiranje mesa				
Da	0,6 (0,22-1,79)	0,388		
Ne				

Konsumacija NTO mesa Da Ne	1,5 (0,96-2,39)	0,076		
Vrsta mesa Goveđe Svinjsko Jagnjeće Pileće Više od jedne vrste mesa	Ref. 0,9 (0,31-2,49) 1,0 (0,09-11,47) 0,6 (0,25-1,39) 0,9 (0,35-2,16)	0,229 0,678 0,228 0,761		
Limfadenopatja Da Ne	1,8 (0,34-9,19)	0,504		
Povišena temperatura ($\leq 37,5$ °C) Da Ne	0,6 (0,07-5,08)	0,655		
Prethodne trudnoće Da Ne	1,5 (0,98-2,45)	0,059		
Spontani pobačaj Da Ne	1,9 (1,05-3,37)	0,033		
Prevremeni porodaj Da Ne	3,14 (1,09-9,04)	0,034		
Mrtvorodenost Da Ne	3,2 (0,76-13,61)	0,130		

*Napomena: OR (odds ratio): unakrsni odnos; CI (confidence interval): interval poverenja

5. Diskusija

Toksoplazmoza je jedna od najznačajnijih zoonoza koja se manifestuje širokim spektrom kliničkih entiteta od kojih su najozbiljniji kongenitalna toksoplazmoza i toksoplazmoza kod imunosuprimiranih pacijenata, ali i očna toksoplazmoza kod imunokompetentnih pacijenata. Takođe, toksoplazmoza je jedna od globalno najzastupljenijih zoonoza kojom je hronično inficirana približno trećina humane populacije. Ovaj podatak je izveden na osnovu rezultata brojnih epidemioloških istraživanja sprovedenih proteklih decenija širom sveta, usmerenih na detekciju antitela specifičnih za *T. gondii* koja predstavljaju indirektan pokazatelj infekcije, odnosno imunološki dokaz kontakta organizma sa ovim parazitom. Međutim, metodološka heterogenost ovih istraživanja (u smislu selekcije ispitanika i referentnog serološkog testa za detekciju specifičnih antitela) rezultirala je velikim varijacijama u podacima o prevalenciji toksoplazmoze širom sveta, čak i u sprovedenim epidemiološkim istraživanjima najbogatijoj Evropi.

Ozbiljnost kliničkih manifestacija i potencijalnih posledica infekcije *T. gondii*, prevashodno u tzv. vulnerabilnim kategorijama populacije, nameću važnost pravovremene dijagnostike i adekvatnog lečenja, ali pre svega toga, značaj prevencije. Naime, toksoplazmoza je bolest koju je moguće sprečiti. Upravo podaci o prokuzenosti opšte populacije jedne zemlje i faktorima rizika za infekciju *T. gondii* omogućavaju definisanje skupa preventivnih mera specifičnih za određenu zemlju, grad ili region. Osnovni preduslov za takav poduhvat je selekcija reprezentativnog uzorka opšte populacije, odnosno dovoljnog broja zdravih odraslih ispitanika u kojima će se određivati status infekcije *T. gondii*. Na upravo takvim temeljima izgrađeno je istraživanje predstavljeno u ovoj disertaciji.

Prevalencija toksoplazmoze određena u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi, predstavnika zdrave odrasle populacije Beograda, iznosi 20,5%, odnosno 16,5% u ukupnoj populaciji žena (gravidne i negravidne) i 12,7% u populaciji trudnica. Prevalencija toksoplazmoze u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi u našem istraživanju (20,5%) upadljivo je niža od prosečnih 33% koja je nađena u sistematskom pregledu literature i meta analizi koje su obuhvatile 43 rada sa uključenih skoro 21 hiljadu dobrovoljnih davalaca krvi u periodu januar 1980. do juna 2015. godine. (187). Najviša prevalencija bila je u Africi (46%) a najniža u Aziji (29%). Slično je i kada se posmatra samo populacija trudnica. Prevalencija infekcije *T. gondii* od 12,7% još upadljivije je niža od prosečnih 33,8% nedavno utvrđenih pregledom literature i meta-analizom dostupnih podataka o prevalenciji kod trudnica na globalnom nivou (43). Razlike se možda mogu objasniti uticajem različitih uslova sredine, različitim načinom ishrane i higijenskim navikama, kao i korišćenjem testova drugačije senzitivnosti i specifičnosti u istraživanjima.

Pad prevalencije infekcije *T. gondii* u Srbiji je, kao i u svetu, (33, 188) postepen, sistematičan i održiv nekoliko decenija unazad. Ovim istraživanjem određene prevalencije u ispitivanim populacijama dobrovoljnih davalaca krvi i trudnica u Beogradu predstavljaju najniže prevalencije toksoplazmoze zabeležene u Srbiji tokom poslednje četiri decenije. Naime, na osnovu rezultata istraživanja sprovedenih u Nacionalnoj referentnoj laboratoriji za toksoplazmozu u Srbiji u populaciji žena generativnog doba/trudnica može se uočiti da je prevalencija toksoplazmoze drastično opala sa 85% tokom 1988. godine na 31% u 2007. godini (54, 55). Takođe, jasan pad prevalencije toksoplazmoze ističu i rezultati nedavno sprovedenog retrospektivnog istraživanja u Vojvodini na više od 20.000 ispitanika predstavnika opšte populacije, koji su prethodnih 14 godina testirani u Institutu za javno zdravlje Vojvodina na druge virusološke markere (189). U tom istraživanju od 2008. do 2021. godine prevalencija infekcije *T. gondii* smanjila se sa 30,9% na 20%. Naime, pad je zabeležen u periodu od 2008-2015. godine, da bi od 2015-2021. godine dalji pad izostao a vrednost prevalencije toksoplazmoze se održala na nekih 20% (189), što je u skladu sa rezultatom ovog istraživanja. Trend opadanja prevalencije toksoplazmoze tokom poslednjih nekoliko decenija zabeležen je i u drugim državama regiona (53). Zbog kliničkog značaja kongenitalne toksoplazmoze, najveći broj epidemioloških istraživanja u regionu Balkana, ali i čitave

Evrope, bio je fokusiran na žene u generativnom dobu, dozvoljavajući analizom sukcesivnih podataka formiranje slike o kretanju prevalencije toksoplazmoze u ovoj populaciji i njenom padu. U Hrvatskoj, u populaciji žena generativnog doba u periodu od 2005. do 2009. godine prevalencija toksoplazmoze iznosila je 29,1% (190) da bi samo jednu deceniju pre, prevalencija toksoplazmoze u populaciji zdravih žena iznosila 38,1% (191). U Sloveniji se tokom nepune dve decenije prevalencija toksoplazmoze kod žena generativnog doba prepolovila sa 52% na 25% zahvaljujući obaveznom serološkom skriningu trudnica (192, 193). Pad prevalencije infekcije *T. gondii* zabeležen je i u Grčkoj u opštoj populaciji sa 37% na 24,1%, kao i u populaciji žena generativnog doba (15-39 godina) sa 35,6% na 20% od 1984. godine do 2004. godine (194). Posmatrajući region, u poređenju sa susednim zemljama, prevalencija toksoplazmoze trudnica u Srbiji je niža u odnosu na Rumuniju (55,8%) (195). Takođe, prevalencija toksoplazmoze kod trudnica u Srbiji je niža u i u odnosu na Sloveniju (25%) (193) i Severnu Makedoniju (20,4%) (196). Treba napomenuti da su rezultati za Sloveniju i Severnu Makedoniju, publikovani pre više od decenije, pa izostaje podatak o mogućem padu prevalencije *T. gondii* u međuvremenu. Sa druge strane, poredeći sa istraživanjem u našoj zemlji, prevalencija toksoplazmoze trudnica je slična vrednosti u istraživanju koje je obuhvatilo trudnice u Severnobačkom okrugu u periodu od 2007. do 2011. godine (14,2%) (197). Iznenadujuće, viša prevalencija infekcije među davaocima krvi u odnosu na Srbiju zabeležena je i u susednoj državi, Bosni i Hercegovini (30,6%) u istraživanju koje je sprovedeno samo nekoliko godina ranije (198).

Rezultati istraživanja u regionu ukazuju na to da je prevalencija toksoplazmoze sada u Srbiji jedna od najnižih u ovom delu Evrope, ali je situacija drugačija prilikom poređenja sa vanevropskim zemljama. Kada se poredi prevalencija infekcije *T. gondii* kod naših trudnica (12,7%) sa prevalencijom u drugim evropskim zemljama, zapaža se da je ona značajno niža od 33,1% koja je zabeležena u Francuskoj tokom 2016. godine (199). Sa druge strane, prevalencija trudnica u našem istraživanju slična je prevalenciji zabeleženoj u Italiji za period od 2013-2017. godine (13,8%) (200), i nešto viša u odnosu na prevalenciju infekcije *T. gondii* u Norveškoj (9,3%) (201). Znatno više prevalencije među davaocima krvi nego u našem istraživanju zabeležene su u nekim zemljama Evrope, tj. u Portugalu (38,1%) (202) i Češkoj Republici (32,1%) (203). Upoređujući prevalenciju određenu u našem uzorku populacije dobrovoljnih davalaca krvi sa rezultatima brojnih drugih istraživanja sprovedenih među davaocima širom sveta, pokazano je da je prevalencija toksoplazmoze među davaocima u Egiptu (59,6%) (204), Tunisu (44,4%) (205), Novom Zelandu (42,9%) (206), Saudijskoj Arabiji (40%) (207), i Iranu (31,8%) (208) znatno viša nego u Srbiji. Slični podaci kao u Srbiji dobijeni su u istraživanjima sprovedenim u Čileu (21,2%) (209), Indiji (20,3%) (210) i Turskoj (19,5%) (211). Međutim, značajno nižu prevalenciju nego u ovom istraživanju imaju Meksiko (13,5%) (212), Tajland (9,6%) (213), Tajvan (9,3%) (214) i Kina (4,8%) (215).

Značajne razlike u prevalenciji toksoplazmoze u populaciji davalaca krvi u odnosu na populaciju trudnica zabeležene su ne samo u ovom, već i u drugim istraživanjima. Na primer, u Egiptu je prevalencija toksoplazmoze kod davalaca krvi 59,6% (204), a kod zdravih trudnica svega 8,3% (216). U Saudijskoj Arabiji prevalencija toksoplazmoze, poredeći populacije davalaca krvi i trudnica, iznosi 40% (207) u odnosu na 28,5% (217). U Indiji u populaciji trudnica prevalencija infekcije *T. gondii* je u periodu od 2005-2006. godine iznosila 15,3% (218) u poređenju sa 20,3% u populaciji davalaca krvi u istraživanju sprovedenom samo godinu dana ranije u južnom delu Indije (210). U Portugalu je prevalencija infekcije *T. gondii* kod davalaca krvi 38,1% (202), dok je u populaciji trudnica niža i iznosi 21,9% (219). Objašnjenje možda treba tražiti u činjenici da populacija davalaca krvi predstavlja opštu populaciju ispitanika različitih uzrasta, a da populaciju trudnica čine mlađe žene. Ovo je moguće objašnjenje i za diskrepancu u prevalenciji u uzoračkim populacijama obuhvaćenim ovim istraživanjem, mada treba istaći da je sadašnja prevalencija toksoplazmoze u Srbiji jedna od nižih na tlu Evrope, što prethodnih decenija nije bio slučaj. Dalje analizirajući razlike u prevalenciji kod trudnica u odnosu na

davao ce krvi, treba napomenuti da se rutinski serološki skrining u Srbiji ne sprovodi, tako da je većina trudnica ispitivanih u Nacionalnoj referentnoj laboratoriji za toksoplazmozu prethodnih decenija bila selektovana na osnovu laboratorijskih ili kliničkih indikacija. Verovatno je da je u klinički selekcionisanom materijalu trudnica prevalencija viša u odnosu na zdravu populaciju trudnica i davalaca krvi. Takođe, malobrojna su istraživanja rađena u Srbiji u drugim populacijama i uglavnom su se odnosila na ispitanike ispitivane u NRL za toksoplazmozu koja se infekcijom *T. gondii* bavi od 60-ih godina XX veka.

Iako je akutna infekcija *T. gondii* kod odraslih imunokompetentnih osoba uglavnom asimptomatska ili ima blaži klinički tok (9, 11), primarno stečena toksoplazmoza kod imunokompromitovanih pacijenata može dovesti do smrtnog ishoda usled smanjene sposobnosti imunološkog odgovora da kontroliše infekciju (143). Takođe, fatalan ishod kod imunokompromitovanih osoba može nastati kao posledica reaktivacije latentne infekcije *T. gondii* (144, 220). Ovim istraživanjem, u kome su se uzorci krvi ispitivanih grupa prikupljali skoro dvanaest meseci nismo otkrili nijedan akutni slučaj infekcije, odnosno nije pokazano da postoji rizik od prenosa parazita putem transfuzije krvi. Mada, u pojedinim istraživanjima iako je period prikupljanja uzoraka bio znatno kraći, otkriveni su nosioci akutne infekcije nakon doniranja krvi. U Iranu je za dva meseca istraživanja, odnosno regrutovanja davalaca krvi tokom 2015. godine identifikovano 11,2% (16/380 ispitanika) osoba sa akutnom infekcijom *T. gondii* (221). Tako da iako su rezultati našeg istraživanja u skladu sa rezultatima *American association of blood banks* (AABB) koji su ukazali na minimalan rizik prenosa infekcije putem transfuzije krvi (222), taj rizik ne treba zanemariti, jer iako je nađena relativno niska prevalencija infekcije *T. gondii*, odnosno mali broj davalaca krvi je seropozitivan, i dalje veliki broj seronegativnih primalaca ostaje prijemčiv za infekciju *T. gondii*. U populaciji davalaca krvi, od 224 *T.gondii*-IgG pozitivna ispitanika, samo 4 su imale graničan indeks aviditeta specifičnih IgG antitela, ali u potpunom odsustvu specifičnih IgM antitela, čime je isključena akutna faza infekcije. Kod preostalih 220 ispitanika, visok indeks aviditeta specifičnih IgG antitela ukazivao je na infekciju stariju od 4 meseca (223). U populaciji trudnica, kao i u populaciji davalaca krvi, kod svih trudnica kod kojih su tokom ispitivanja detektovana antitela IgG klase specifična za *T. gondii*, potvrđena je hronična faza infekcije. Od 38 seropozitivnih trudnica dve su praćene do kraja gestacije zbog potencijalnog rizika za nastanak kongenitalne toksoplazmoze ploda jer su imale nizak indeks aviditeta odnosno, graničan indeks aviditeta specifičnih IgG antitela, iako specifična IgM antitela nisu detektovana. Visok aviditet specifičnih IgG antitela kod preostalih 36 trudnica u odsustvu specifičnih IgM antitela omogućio je potvrdu hronične faze infekcije te eliminaciju rizika od kongenitalne toksoplazmoze. Iako je u ovom istraživanju situacija bila uglavnom jasna što se tiče utvrđivanja statusa infekcije *T. gondii* u obe populacije, treba imati na umu i moguće varijetete imunskog odgovora, tzv. serološke neobičnosti. Naime, nije svaki nizak indeks aviditeta specifičnih IgG antitela odraz nedavno nastale infekcije, što je i pokazano kod jedne trudnice koju smo pratili do kraja trudnoće. Nizak indeks aviditeta se može detektovati mesecima ili pak godinama nakon primarne infekcije *T. gondii*, naravno uz odsustvo specifičnih IgM antitela (224, 225). Usporeno sazrevanje aviditeta specifičnih IgG antitela potvrđeno je kod 15,4% pacijenata u istraživanju koje su sprovedi Bobić i sar. (223). S obzirom da i dalje ostaje nepoznanica zašto se usporeno sazrevanje aviditeta sreće kod pojedinih trudnica, rezultati se uvek moraju oprezno tumačiti u skladu sa prisustvom/odsustvom IgM specifičnih antitela, dužine serološkog praćenja, rezultata ostalih primenjenih seroloških testova, zdravstvenog stanja trudnice. Mada, iako u ovom istraživanju nije bilo takvih slučajeva, fenomen tzv. rezidualnih IgM antitela takođe može otežavati dijagnostiku. Poznato je da su specifična IgM antitela, odnosno njihova detekcija u serumu ispitanika pokazatelj nedavno nastale infekcije. Specifična IgM antitela se obično detektuju prvih šest meseci od kontakta sa parazitom *T. gondii* kada počinju da opadaju i unutar godinu dana od primarne infekcije iščezavaju iz krvi. U pojedinim slučajevima tzv. rezidualna IgM antitela se mogu detektovati nekoliko godina nakon primarne

infekcije (226), odnosno, objavljen je slučaj prisustva specifičnih IgM antitela u serumu ispitanice 12 godina nakon kliničke manifestacije infekcije *T. gondii* (227).

Analizom demografskih podataka u grupi davalaca krvi u našem istraživanju, uočeno je da sa uzrastom raste i broj hronično inficiranih ispitanika, najverovatnije kao posledica kumulativnog efekta izlaganja parazitu tokom godina života. Dobijeni rezultati pokazuju linearni porast prevalencije davalaca krvi od 8,7% u najmlađoj uzrasnoj grupi (18-29 godine) do 39,6% u najstarijoj (> 60 godina). Linearni porast prevalencije sa godinama života zabeležen je kod oba pola. Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima drugih istraživanja sprovedenih kod davalaca krvi (187, 198, 205, 213) kao i sa prethodno sprovedenim istraživanjima u Srbiji u kojima je najviše inficiranih bilo upravo u najstarijem uzrastu (54, 59, 189). Takođe, u populaciji svih ispitanika ženskog pola (negravidne žene, davaoci krvi i trudnice) najviša prevalencija je bila u grupi najstarijih ispitanica (> 40 godina). Međutim, taj linearni porast sa godinama života izostaje u populaciji trudnica, slično kao i u istraživanju Csep i sar. (228). Objašnjenje možda treba tražiti u činjenici da su trudnice većinom mlađe žene.

Iako je ovim istraživanjem obuhvaćen uzorak zdrave odrasle populacije, oba pola, i uzorak trudnica koje predstavljaju vulnerabilnu grupu, deo opšte populacije ostaje i dalje neispitan, jer ni ova studija nije obuhvatila ispitanike mlađe od 18 godina kao ni najstarije stanovništvo (> 65 godina). Naime, u Vojvodini je nedavno objavljeno retrospektivno istraživanje koje je obuhvatilo opštu populaciju ispitanika tokom 14-godišnjeg perioda, oba pola, uzrasta od 1 do 88 godine života, ali ti ispitanici su bili klinički selektovani radi virusoloških testiranja u Institut za javno zdravlje Vojvodine (189). Tako da deo opšte zdrave populacije ostaje i dalje neispitan. S druge strane prednost ove studije je u tome što su prvi put u istraživanje uključeni muški ispitanici, koji su retko predmet ispitivanja, ne samo u Srbiji, nego i u drugim zemljama sveta, iako i oni mogu biti ugroženi infekcijom *T. gondii*, pre svega u stanjima imunosupresije. Pojedina istraživanja govore u prilog češće infekcije *T. gondii* u muškoj populaciji u odnosu na ženske ispitanike. U tim istraživanjima pokazano je da rizik od infekcije *T. gondii* raste sa povećanjem godina života (189, 198). U istraživanju sprovedenom u Nemačkoj istaknuto je takođe da muški ispitanici češće obolevaju od toksoplazmoze možda zbog drugačijih navika u ishrani; konzumiraju dvostruko više mesa u odnosu na ženske ispitanike (229). U drugom istraživanju je pokazano da muški ispitanici češće dolaze u kontakt sa *T. gondii* jer više vremena provode u obrađivanju bašte/povrtnjaka u odnosu na ženske ispitanike (4,5 u odnosu na 2,5 h) (230). Međutim, s obzirom da je u manjem broju studija analizirana muška u odnosu na žensku populaciju, značaj i rasprostranjenost određenih faktora rizika u populaciji muškaraca još uvek su nepoznanica.

U prethodnim istraživanjima u Srbiji sprovedenim u populaciji žena generativnog perioda (53, 54) infekcija se češće javljala kod ispitanica koje su živele u ruralnim sredinama, slično sadašnjem rezultatu koji ukazuje da je infekcija *T. gondii* češće detektovana u populaciji davalaca krvi koji žive u prigradskim opštinama. Sličan rezultat zabeležen je u nedavnom multicentričnom istraživanju kada je kao jedan od globalno vodećih faktora rizika za toksoplazmozu kod davalaca krvi identifikovan upravo život u ruralnim sredinama (187). Slično zapažanje postoji u istraživanju Kovačević i sar. u kome je istaknuto da je u opštoj populaciji Vojvodine jedan od vodećih faktora rizika bio upravo život u ruralnim sredinama (189). Takođe, kao značajan prediktor infekcije u ovom istraživanju pored života u ruralnoj sredini, istakao se kontakt sa zemljom, posebno u populaciji davalaca krvi (231) ali i u populaciji svih ispitanika ženskog pola (negravidnih žena, davalaca krvi i trudnica). Bilo da je u pitanju direktan kontakt sa zemljom (rad u bašti, voćnjaku, povrtnjaku), ili život u kući sa dvorištem, kao jedan od vodećih faktora rizika za nastanak toksoplazmoze u Srbiji, u ovom istraživanju navodi se kontakt sa kontaminiranom zemljom (231). Kako su mačke jedini izvor oocista koje mogu kontaminirati zemljište, naš rezultat ukazuje na mogućnost da je značajan broj mačaka u ovom regionu inficiran parazitom *T. gondii*. Ulične mačke imaju značajniji uticaj na kontaminaciju zemljišta, ali ne treba zanemariti ni uticaj kućnih mačaka.

Nekoliko istraživanja sprovedenih u SAD ukazalo je da čak 40-86% vlasnika dozvoljava svojim ljubimcima da povremeno izlaze iz stana, pa samim tim lakše dolaze u kontakt sa plenom (miševi, ptice) koji im (u formi prelaznog domaćina) može preneti toksoplazmozu (232-235) i posledično usloviti mogućnost da inficirane mačke putem fecesa kontaminiraju okolno zemljište oocistama *T. gondii*. Istraživanje rađeno u Beogradu pokazalo je da je prevalencija toksoplazmoze kod pacova iznosila 27,5% ističući značaj ovih prelaznih domaćina u daljem procesu širenja infekcije *T. gondii* (236) na stalne domaćine, mačke, koje imaju presudnu ulogu u kontaminaciji zemljišta. Naravno, nije izvesno da će svaki kontakt sa kontaminiranom zemljom dovesti do infekcije. To zavisi prvenstveno od broja oocista dospelih u zemlju putem mačijeg fecesa, a on je uslovljen incidencijom infekcije *T. gondii* kod mačaka i gustine naseljenosti tog područja ovim životinjama (67). Štetnost navike da se prilikom obrade zemljišta ne koristi zaštitna oprema ogleda se i u rezultatima ovog istraživanja koji nedvosmisleno pokazuju da je zemljište glavni izvor infekcije odraslog stanovništva u Srbiji. Iako u našoj zemlji nikada nije sprovedena studija koja bi imala za cilj utvrđivanje prevalencije infekcije *T. gondii* kod mačaka, rezultatima ovog ali i epidemioloških istraživanja prethodno sprovedenih u Srbiji, utvrđeno je da kontakt sa mačkom (uličnom ili kućnom) nije put širenja infekcije u humanoj populaciji (54, 59, 237). Poznato je da sprovođenjem adekvatnih higijenskih mera prilikom čišćenja mačijih posuda rizik od prenosa parazita postaje minimalan (238), kao i redovno čišćenje posuda jer oociste ne stižu da sporulišu.

S druge strane, rezultati brojnih istraživanja ukazuju na kontakt sa zemljom kao značajan faktor rizika za infekciju *T. gondii* u različitim populacijama (trudnice, HIV obolele osobe, zdravi pojedinci) (239-242). Oociste unutar tla se mogu lako prenositi na udaljene krajeve uticajem brojnih vektora (artropoda, kišnih glista, kiša, vetrova) (243) i usled velike otpornosti sporulisane oociste u odgovarajućoj sredini mogu preživeti i do dve godine (73). Oociste *T. gondii* otkrivene su u zemljištu u čak 28 od 34 istraživanja sprovedena širom sveta (244), govoreći u prilog široke rasprostranjenosti parazita u zemlji kao potencijalnom faktoru rizika. U urbanim područjima, stopa detekcije oocista u uzorcima ispitivanog zemljišta je od 1,1% na igralištima (245) do čak 94,1% u povrtnjacima (246), dok se na farmama stopa detekcije oocista u uzorku zemljišta kreće od 1% (247) do čak 100% (248). Istraživanje sprovedeno u Meksiku u populaciji trudnica, utvrdilo je postojanje korelacije između života u kući sa zemljanim podom i povećanog rizika od toksoplazmoze, u poređenju sa trudnicama koje su živele u stanovima (249). Takođe, u istraživanju sprovedenom u populaciji dece mlađe od 5 godina u Panami, igranje u parku, odnosno sa zemljom (ingestija zemlje tokom igre) identifikovano je kao faktor rizika za nastanak toksoplazmoze (245). Dokazano je i da ispitanici određenih zanimanja (poljoprivrednici) češće obolevaju od toksoplazmoze kao posledica direktnog kontakta sa zemljištem (250, 251). *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), studija sprovedena u periodu od 1988. do 1994. godine u SAD pokazala je da u dve etničke grupe postoji viša prevalencija infekcije kod ispitanika koji su radili poslove koji su bili povezani sa zemljom (37%, 34%) u odnosu na ispitanike koji su imali druga zanimanja (24%, 24%) (252). Da je kontakt sa zemljom značajan faktor rizika u nastanku toksoplazmoze pokazala je i Evropska multicentrična studija slučaja i kontrola u kojoj se 6 do 17% primarnih infekcija dovodilo u vezu sa ovim faktorom rizika (63). Takođe, druga američka studija ukazala je na povezanost činjenica da su osobe koje su bile inficirane parazitom *Toxocara canis*, češće dolazile u kontakt i sa parazitom *T. gondii*, što opet ukazuje na značaj zemljišta kao izvor infekcije (74). U Srbiji, u periodu od 1988-1997. godine sprovedena su dva istraživanja u grupi žena reproduktivnog doba u Beogradu koje su kontakt sa zemljom kao faktor rizika utvrdile jedino u najmlađoj uzrasnoj kategoriji (> 20 godina) (54, 59).

Veoma važan podatak proistekao iz našeg istraživanja jeste da konzumacija termički nedovoljno obrađenog mesa nije značajan faktor rizika, iako je tokom poslednje tri decenije upravo ovo bio vodeći faktor rizika za nastanak toksoplazmoze u našoj sredini (54, 55, 59, 237) ali i u svetu, prema podacima multicentričnog istraživanja (63). Bobić i sar. su prvo istraživanje sprovedeli u periodu od 1988-1991.

godine u populaciji žena generativnog perioda (1157 ispitanica) kod kojih je jedan od vodećih faktora rizika bila konzumacija termički nedovoljno obrađenog mesa (59). Takođe, u istraživanju koje su Bobić i sar. sprovedli u periodu od 1988-1997. godine, u populaciji žena uzrasta od 15-49 godina (2936 ispitanica) nalazimo isti rezultat, odnosno kao značajan faktor rizika ističe se konzumacija termički nedovoljno obrađenog mesa (54). U periodu od 2001-2005. godine u populaciji žena generativnog doba, kod kojih je bila dokazana akutna infekcija *T. gondii*, nedovoljno termički obrađeno meso opet je bilo najznačajniji izvor infekcije (55). Da bi se i poslednjim epidemiološkim istraživanjem rađenim u periodu od 2004-2008. godine potvrdilo da je upotreba termički nedovoljno obrađenog mesa, odnosno povećana konzumacija suhomesnatih proizvoda u zimskom periodu vodeći faktor rizika za razvoj toksoplazmoze simptomatskih ispitanika (237). Iz svega ovoga zaključujemo da je kontinuiran epidemiološki monitoring infekcije *T. gondii* dao uvid u to da je u periodu od gotovo 20 godina najznačajni izvor infekcije upravo bilo termički nedovoljno obrađeno meso. S obzirom da je naše istraživanje rađeno deset godina kasnije, pretpostavlja se da je ovakav nalaz, koji nedovoljno termički neobrađeno meso potiskuje kao vodeći faktor rizika, posledica smanjenja broja inficiranih životinja usled poboljšanja uslova uzgoja životinja na farmama i unapređenja higijenskih navika. Takođe, ne sme se zanemariti ni činjenica da u savremenom društvu gotovo sva domaćinstva danas imaju zamrzivače u kojima ciste mogu preživeti najviše 3 dana na temperaturi od $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$, čime se mnogostruko smanjuje rizik prenosa infekcije putem mesa (24). Treba pomenuti da je Organizaciji za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija (*Food and Agriculture Organization* (FAO)) objavila da je u 2013. godini potrošnja mesa u Srbiji bila 53kg po glavi stanovnika, a da je prosečna potrošnja u Evropi oko 80kg (253). Možda upravo ovaj podatak o manjoj prosečnoj potrošnji mesa u ishrani, pored gorenavedenih, ukazuje na jedan od mogućih uzroka pada prevalencije toksoplazmoze.

Sa druge strane, rezultati istraživanja su pokazali da konzumiranje pilećeg mesa u populaciji svih žena, posebno kod trudnica, povezano sa manjim rizikom od infekcije *T. gondii* u odnosu na konzumiranje drugih vrsta mesa (goveđe, jagnjeće, svinjsko). Poznato je da konzumiranje pilećeg mesa (prevažodno NTO mesa) može biti izvor infekcije, posebno ukoliko se u ishrani koriste pilići koji su odgajani na pašnjacima tzv. metodom slobodnog uzgoja (eng. *free-range*), jer lakše mogu doći u kontakt sa oocistama nego kada se uzgajaju na farmama u zatvorenim kontrolisanim sistemima (254). Poslednjih nekoliko decenija potrošnja mesa iz tzv. slobodnog uzgoja u Evropi je porasla i smatra se da će u budućnosti dovesti do rasta prevalencije infekcije *T. gondii* kod životinja koje se odgajaju u slobodnim sistemima u odnosu na one koje rastu u konvencionalnim (zatvorenim) sistemima (255). U istraživanju koje je Kijlstra sprovedla 2004. godine u Holandiji, ispitujući meso svinja odraslih na farmama sa slobodnim sistemom uzgoja jedan od potencijalnih faktora rizika bio je što su u tim sistemima životinje lakše dolazile u kontakt sa oocistama domaćih mačaka koje su živjele na farmi. U Srbiji nemamo novije dostupne podatke o prisustvu *T. gondii* u pilećem mesu jer su istraživanja uglavnom, kao i u svetu, više bila bazirana na ostalim vrstama mesa (goveđe, svinjsko, jagnjeće) (55). Poslednje poznato istraživanje rađeno je u periodu od 2000-2001. godine kada je u 32,3% (75/256) ispitanih uzoraka pilećeg mesa dokazano prisustvo cista *T. gondii* (256). Prema podacima Republičkog zavoda za statistiku za 2019. godinu prosečna potrošnja živinskog mesa u Srbiji po osobi (50,2 kg) viša je u odnosu na svinjsko (49,6 kg) i goveđe meso (16,8 kg) (257). S obzirom na visoku zastupljenost živinskog mesa u ishrani, logično je da ono prema našem istraživanju, prema rezultatima univarijantne za populaciju trudnica, a i multivarijantne regresione analize za populaciju svih žena, povezano sa manjim rizikom od nastanka infekcije *T. gondii*, jer zamenjuje u ishrani vrste mesa kojima se infekcija lakše prenosi (koja zahtevaju dužu termičku obradu). U budućnosti bi bilo poželjno uraditi istraživanje prevalencije toksoplazmoze u populaciji živine radi utvrđivanja jasnije epidemiološke slike, kao i uticaja načina uzgoja životinja na sam proces širenja infekcije.

Analizirajući ginekološko-akušerske podatke ispitanika ženskog pola u grupi davalaca krvi, primećeno je da je infekcija *T. gondii* manje zastupljena kod žena u reproduktivnom periodu, za razliku od starijih ispitanica. Takođe, toksoplazmoza je češće detektovana ako su ispitanice kao ishode prethodnih trudnoća navodile spontani pobačaj i/ili prevremeni porođaj što u prethodno sprovedenom istraživanju Bobić i sar. u periodu od 1988-1997. godine u Srbiji nije bio slučaj (54). Za razliku od žena davalaca krvi, u populaciji trudnica nije nađena povezanost infekcije *T. gondii* i ishoda prethodnih trudnoća (spontani pobačaj, prevremeni porođaj i mrtvorodenost) slično kao i u drugim istraživanjima u kojima izostaje povezanost toksoplazmoze i ishoda trudnoće (258, 259). Međutim, treba napomenuti da su se zabeležene životne navike u populaciji trudnica razlikovale u odnosu na populaciju ispitanica davalaca krvi. Trudnice su češće konzumirale različite vrste mesa (goveđe, svinjsko, pileće), ali znatno ređe NTO meso u odnosu na ispitanice u grupi davalaca krvi. Pretpostavka je da su trudnice bile informisane o važnosti izbegavanja upotrebe svežeg/nedovoljno termički obrađenog mesa u ishrani tokom trudnoće. Vlasnica mačaka je bilo više u populaciji ispitanica davalaca krvi nego među trudnicama, opet možda zbog svesti o riziku koji nosi kontakt sa mačkom u procesu prenošenja infekcije koja može uticati na ishod trudnoće. Prethodno istraživanje rađeno u Nacionalnoj referentnoj laboratoriji za toksoplazmozu ukazalo je da je čak 64% ispitivanih trudnica bilo informisano o toksoplazmozi (260), mogućem uticaju na trudnoću ali i o najpoznatijim putevima prenosa infekcije. Sa druge strane naše istraživanje ukazalo je da je samo 10,5% (25/239) trudnica tokom trudnoće ispitivano u cilju utvrđivanja statusa infekcije *T. gondii*. Ovaj podatak sugerise da je uticaj zdravstvenih radnika u procesu edukacije trudnica o značaju analiza i utvrđivanja statusa infekcije *T. gondii* neposredno pre i tokom trudnoće i dalje nedovoljan.

Pored navedenog, poznato je da kod osoba sa imunosupresijom (pacijenti podvrgnuti transplantaciji solidnih organa ili matičnih ćelija hematopoeze, pacijenti koji su na onkološkoj ili drugoj imunosupresivnoj terapiji, HIV obolele osobe), ukoliko se infekcija *T. gondii* ne otkrije na vreme i sledstveno ne leči, može ugroziti život. Kako je populacija imunosuprimiranih osoba u porastu u Srbiji, kao i u čitavom svetu, (261), na ovu kategoriju pacijenata treba obratiti posebnu pažnju. Uvođenje HAART terapijskih protokola kod HIV inficiranih pacijenata minimiziralo je nekada veoma brojne i ozbiljne komplikacije prouzrokovane toksoplazmozom kod ovih pacijenata, čime se fokus pomerio na drugu ugroženu kategoriju – primaoce organa i matičnih ćelija hematopoeze. Toksoplazmoza može ugroziti tok i ishod transplantacije hronično inficiranih primalaca (pre svega matičnih ćelija hematopoeze) kod kojih imunosupresija dovodi do reaktivacije latentne infekcije, ruptur cista i sledstvene parazitemije sa posledičnim nepredvidivim manifestacijama (cerebralna, pulmonalna ili diseminovana toksoplazmoza) (148). Transplantacija solidnih organa (srce, pluća, jetra, bubreg) hronično inficiranog davaoca neimunizovanom, seronegativnom a imunosuprimiranom primaocu može takođe rezultirati ekscistacijom parazita iz grafta i posledičnom akutnom posttransplantacionom toksoplazmozom. U transplantacionim centrima najčešće se rutinski primenjuju procedure pretransplantacionog serološkog skrininga budućih primalaca i davalaca organa/matičnih ćelija, dok je PCR monitoring toksoplazmoze kod primalaca još uvek privilegija retkih transplantacionih centara, u mnogim zemljama sveta (86). Zbog toga se toksoplazmoza nakon transplantacije retko pravovremeno otkriva, čime su otežane mogućnosti za njenu kontrolu i adekvatno lečenje. Takođe, poznato je i da se tahizoiti *T. gondii* mogu preneti sa akutno inficiranog donora (u fazi parazitemije) na primaoca, jer se može desiti da u trenutku doniranja krvi davalac bude asimptomatski nosilac infekcije (85). Međutim, iako će većina stanja povezanih sa imunosupresijom nekada u terapiji zahtevati transfuziju krvi, a za osobe lečene transplantacijom organa/matičnih ćelija transfuzija krvi ili komponenata krvi predstavlja višemesečnu kontinuiranu potrebu, jedinice i komponente krvi se u Srbiji ne ispituju na prisustvo parazita *T. gondii* (262).

U odnosu na faktore rizika potvrđene rezultatima ovog istraživanja, mogu se izdvojiti nekoliko mogućnosti za prevenciju infekcije *T. gondii* koje se sprovode ili bi mogle da se sprovode i u našoj zemlji.

Primarna prevencija koja se odnosi na stil života i navike u ishrani, posebno u populaciji trudnica, predstavlja jednu od važnih karika u procesu sprečavanja prenosa infekcije *T. gondii* (263). Pravilna upotreba mesa podrazumeva da se meso mora termički obrađivati (zavisno od tipa i vrste mesa) na temperaturi od 63 do 74°C ; ili meso mora biti zamrznuto na - 20°C najmanje 48 h pre konzumiranja; dimljeno meso ili čuvano u salamuri se posebno mora izbegavati u periodu planiranja i tokom trudnoće; prilikom obrade svežeg mesa potrebno je nositi zaštitne rukavice, a od značaja je i temeljno pranje kuhinjskog pribora. Veoma je važno da se prilikom rada u bašti, povrtnjaku, voćnjaku i tokom praznjenja maćijh posuda sa peskom (svakodnevno) nose rukavice i temeljno peru ruke nakon njihovog skidanja. Takođe, poželjno je da se maćke isključivo hrane komercijalnom ili konzerviranom, a ne sirovom hranom.

Pridržavanjem pravila primarne prevencije zajedno sa serološkim skriningom kao merom sekundarne prevencije, rizik od tokosplazmoze se značajno smanjuje, posebno rizik od nastanka kongenitalne toksoplazmoze u perikonceptualnom periodu ili tokom same gestacije.

U pojedinim evropskim zemljama, zahvaljujući rezultatima brojnih opsežnih epidemioloških istraživanja, organizovani su adekvatni (epidemiološkim podacima prilagođeni) programi prevencije toksoplazmoze trudnica, u skladu sa procenjenim rizikom od kongenitalne toksoplazmoze. Tako na primer, u Francuskoj, program mesečnog serološkog skrininga seronegativnih trudnica na toksoplazmozu se sprovodi još od 1978. godine jer je procenjeno da je rizik od kongenitalne infekcije veliki. U Austriji i Sloveniji se serološki skrining na toksoplazmozu radi jednom tokom svakog trimestra; u Velikoj Britaniji se sprovodi samo zdravstvena edukacija trudnica, dok se u Brazilu o nedavno planira uvođenje programa prevencije (264). U Srbiji bi, za početak, moglo da se sprovede metodološki slično istraživanje u velikom i za populaciju čitave zemlje reprezentativnom uzorku opšte populacije, koje bi na lokalnim nivoima uočilo faktore rizika koji bi se mogli modifikovati, kao i populacije koje su u većem riziku od infekcije *T. gondii* radi selektivnog serološkog testiranja tih populacija, usled ograničenih finansijskih sredstava. Naime, zahvaljujući ovom istraživanju, imamo jasniji uvid u stanje infekcije *T. gondii* kao i potencijalne faktore rizika u zdravim populacijama, što od početka ispitivanja toksoplazmoze u Srbiji nije bio slučaj (265).

Takođe, u ovom istraživanju je pokazano da je u III trimestru trudnoće bilo manje trudnica koje su bile u kontaktu sa parazitom *T. gondii* u odnosu na ranije trimestre trudnoće i u odnosu na negraviditet. Slično zapažanje postoji u istraživanju sprovedenom u Pakistanu kojim je ukazano da je seroprevalencija toksoplazmoze bila viša u ranijim trimestrima trudnoće u odnosu na III trimestar (266). Mada je poznato da u III trimestru trudnoće prenos tahizoita raste i do 90% (135, 136), takođe je poznato da je rizik od oštećenja ploda najmanji u odnosu na prva dva trimestra trudnoće. Možda se može zaključiti da su trudnice u poslednjem trimestru trudnoće ređe inficirane jer one koje imaju rizične oblike ponašanja se inficiraju parazitom *T. gondii* ranije u trudnoći.

Na kraju, mora se istaći da je ovo istraživanje paralelno obuhvatilo dve različite populacije (davalaca krvi i trudnica), te delimično može biti odraz epidemiološke situacije u Srbiji u pogledu toksoplazmoze. Takođe, dobijeni su novi upotpunjeni podaci o prisustvu infekcije *T. gondii* i faktorima rizika u prethodno više puta ispitivanoj populaciji trudnica, ali su oni ovog puta generisani u reprezentativnijem uzorku jer po prvi put uzoračku populaciju nisu sačinjavale trudnice koje su zbog patologije trudnoće i prethodnih laboratorijskih nalaza ispitivane u NRL. Rezultati su nam dali jasniji uvid u stanje prevalencije toksoplazmoze zdrave odrasle populacije i zdravih trudnica koji su u skladu sa evropskim i svetskim trendom višedecenijskog pada prevalencije infekcije *T. gondii*. Međutim, iako su ovi rezultati sada ohrabrujući, pretpostavka je da će u budućnosti klimatske promene imati nepredvidiv uticaj na promenu prevalencije infekcije *T. gondii*, moguće i u pravcu njenog porasta. Naime, tokom XX veka prosečna godišnja temperatura vazduha je u konstantnom porastu, posebno tokom poslednjih

nekoliko decenija (267). Poznato je da topliji vazduh može da zadrži više vlage nego hladniji, remeteći hidrološki ciklus, čime je omogućena lakša transmisija parazita *T. gondii*. Sa povećanjem temperature i vlažnosti vazduha oociste duže preživljavaju u spoljašnjoj sredini (268). Povećanje količine padavina, osim što utiče na povećanje vlažnosti vazduha, utiče i na lakše spiranje zemljišta vodom koja tako olakšava transmisiju parazita na tlu (37, 269) za razliku od suvog vazduha koji smanjuje otpornost, odnosno vijabilnost oocista u zemlji (270). Sveobuhvatno gledano, na verovatnoću izlaganja stalnih i prelaznih domaćina (domaće/divlje životinje) koji se mogu naći u humanoj ishrani oocistama *T. gondii* u spoljašnjoj sredini, utiču klimatski uslovi, odnosno bliska povezanost zemlje, temperature i vlažnosti vazduha. Samim tim, podaci o prevalenciji toksoplazmoze kod mačaka u Srbiji mogli bi da posluže kao indikator prisustva oocista u zemljištu dok bi ispitivanje prisustva oocista u uzorcima zemljišta širom naše zemlje moglo da pruži validniji uvid u raširenost i stvaran uticaj klimatskih promena na prisustvo parazita *T. gondii* u našem okruženju. Na taj način bi se omogućila korekcija i adaptacija mera primarne prevencije infekcije izazvane ovom ubikvitarnom zoonozom na nacionalnom (ili regionalnom) nivou ali i njihova aktuelizacija u skladu sa promenama u našem prirodnom okruženju.

Samim tim, nadovezujući se na prethodne činjenice, možda bi bilo dobro sagledati više mogućih faktora rizika za nastanak infekcije, odnosno puteve širenja infekcije *T. gondii* koji bi se mogli ispitivati u budućnosti. U ovom istraživanju izostaje podatak o konzumiranju svežeg voća/povrća u opštoj populaciji kao potencijalnom faktoru rizika za infekciju *T. gondii*. Do sada nijedno istraživanje u Srbiji nije obuhvatilo ovo polje iako je poznato da voće/povrće koje raste nisko pri zemlji može biti kontaminirano zemljom u kojoj obitavaju sporulisane oociste (77-79, 244). Sa druge strane, rađeno je istraživanje u kojem je nakon ispitivanja dvadeset uzoraka površinskih voda u tri uzorka detektovano prisustvo DNK fragmenata *T. gondii* (271). Otkrivanje *T. gondii* u rečnim vodama u Srbiji ukazuje na to da su ispitivane reke kontaminirane ovom protozooom, što ih čini potencijalnim izvorom infekcije. Jer površinske vode, kako je gore istaknuto, potencijalno mogu uzrokovati kontaminaciju zemlje (povećanje padavina) (37), odnosno kontaminaciju svežeg voća/povrća korišćenjem površinskih, nefiltriranih voda za navodnjavanje bašta, povrtnjaka (244). Samim tim, istraživanje i na ovom polju mora biti prošireno u cilju lakše kontrole potencijalnih faktora rizika.

Ohrabrujući podatak je i činjenica da za gotovo godinu dana istraživanja nisu otkriveni slučajevi akutne infekcije *T. gondii*. Sa druge strane čak i taj podatak ne umanjuje značaj otkrivanja hronične infekcije kod osoba koje su bile u kontaktu sa parazitom. Opravdanost skrining programa davalaca krvi upravo leži u činjenici da se na vreme obavesti osoba koja je bila u kontaktu sa parazitom *T. gondii* jer u stanjima potencijalne imunosupresije može doći do reaktivacije hronične infekcije, kao i da se na vreme otkrije svako akutno stanje koje primaocu krvi/krvnih produkata može ugroziti život.

Istraživanje koje bi se naknadno obavilo moralo bi da obuhvati populaciju mlađu od 18 i stariju od 65 godina u cilju prepoznavanja i otklanjanja potencijalnih faktora rizika, s posebnim osvrtom na stariju populaciju koja je deo vulnerabilne grupe. Takođe, istraživanje bi moglo biti prošireno na druge regione Srbije u cilju dobijanja uporedivih podataka i jasnijeg uvida u stanje infekcije *T. gondii* na teritoriji cele zemlje. Jasan zadatak zdravstvenih radnika morao bi biti edukacija ugroženih grupa, posebno trudnica i onih žena koje planiraju trudnoću, o značaju ispitivanja na *T. gondii* i pravovremenom otklanjanju rizika za nastanak kongenitalne infekcije kao i adekvatnog lečenja ukoliko do infekcije dođe. Najveći značaj u suzbijanju i kontroli toksoplazmoze, imala bi primarna prevencija koja bi podrazumevala dostupnost tačnim informacijama i adekvatan serološki skrining kao deo sekundarne prevencije. Prema rezultatima ovog istraživanja, mere primarne prevencije bi se najviše odnosile na izbegavanje kontakta sa zemljom, odnosno obavezno nošenje adekvatne zaštitne opreme prilikom aktivnosti koje podrazumevaju kontakt sa zemljom.

6. Zaključci

- Prevalencija infekcije *T. gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi iznosila je 20,5%. Prevalencija infekcije *T. gondii* u ukupnoj populaciji žena (gravidne i negravidne) iznosila je 16,5%, a u populaciji trudnica 12,7%.
- Nijedan akutni slučaj infekcije *T. gondii* nije otkriven tokom skoro dvanaest meseci prikupljanja uzoraka krvi.
- Kao nezavisni faktori rizika kod dobrovoljnih davalaca krvi, multivarijantnom analizom, izdvojili su se stariji uzrast, život u prigradskoj opštini Beograda i kontakt sa zemljištem.
- U populaciji trudnica faktor rizika za infekciju *T. gondii* bio je život u kući sa dvorištem dok je konzumacija pilećeg mesa, u odnosu na konzumaciju drugih vrsta mesa, bila povezana sa manjim rizikom od infekcije.
- U populaciji svih žena (negravidnih i gravidnih) faktori rizika za infekciju *T. gondii* bili su uzrast stariji od 40 godina i kontakt sa zemljištem, dok je među ispitanicama koje su konzumirale pileće meso u odnosu na druge vrste mesa bilo manje seropozitivnih na *T. gondii*.
- Infekcija *T. gondii* je češće detektovana kod žena davalaca krvi koje su u anamnezi navele istoriju spontanih pobačaja i prevremenih porođaja, dok je ređe detektovana kod trudnica u III trimestru trudnoće u odnosu na prva dva, ali i u odnosu na negravidne žene davaoce krvi.

7. Literatura

1. Nicolle C, Manceaux L. Sur une infection a corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. C R Acad Sci. 1908;147:736.
2. Splendore A. Un nuovo protozoa parassita deconigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'une malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell'uoma. Nota preliminare pel. Rev Soc Sci Sao Paulo. 1908;3:109-112.
3. Wolf A, Cowen D, Paige B. Human toxoplasmosis: occurrence in infants as an encephalomyelitis verification by transmission to animals. Science. 1939;89(2306):226-227.
4. JankuĚ J. Pathogenesa a pathologickaĚ anatomie tak nazvaneĚho vrozeneĚho kolobomu zĚluteĚ skvrny v oku normaĚneĚ velikeĚm a mikrophthalmickeĚm s naĚlezem parazitu v sĚĚtnici. CĚsk LeĚk CĚsk. 1923;39- 43:1021-7,1054-9,1081-5,1111-5,1138-44.
5. JankuĚ J. Die Pathogenese und Pathologische Anatomie des sogenannten angeborenen Koloboms des gelben Fleckes im normal groĚen sowie im mikrophthalmischen auge mit Parasitenbefund in der Netzhaut. CĚsk Parasitol. 1959;6:9-57.
6. Wilder HC. Toxoplasma chorioretinitis in adults. AMA Arch Ophthalmol. 1952;48:127-36.
7. Frenkel JK, Jacobs L. Ocular toxoplasmosis; pathogenesis, diagnosis and treatment. AMA Arch Ophthalmol. 1958;59(2):260-79.
8. Sim JCHR. Toxoplasmosis aquisita lymphonodosa: clinical and pathological aspects. Ann NY Acad Sci. 1956;185-206.
9. Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. Clin Infect Dis. 1992;15:211–222.
10. Sabin AB, Feldman HA. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (Toxoplasma). Science. 1948;108:660.
11. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet. 2004;363:1965-1976.
12. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. Toxoplasma gondii: from animals to humans. Int J Parasitol. 2000;30:1217–1258.
13. Sabin AB, Olitsky PK. Toxoplasma and Obligate Intracellular Parasitism. Science. 1937; 85(2205):336-338.
14. Weinman D, Chandler, AH. Toxoplasmosis in swine and rodents. Reciprocal oral infection and potential human hazard. Proc Soc Exp Biol Med. 1954;87:211–216.
15. Jacobs L, Remington JS, Melton ML. The resistance of the encysted form of Toxoplasma gondii. J Parasitol. 1960;46:11-21.

16. Desmonts G, Couvreur J, Alison F, Baudelot J, Gerbeaux J, Lelong M. Étude épidémiologique sur la toxoplasmose: de l'influence de la cuisson des viandes de boucherie sur la fréquence de l'infection humaine. *Rev Fr Étud Clin Biol.* 1965;10:952-958.
17. Hutchison WM. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. *Nature.* 1965;206:961-962.
18. Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol.* 1970;56(3):447-456.
19. Weiss LM, Kim K. *Toxoplasma gondii*: the model apicomplexan: perspectives and methods. Illustrated editors. Amsterdam: Academic Press; 2007. p. 367–86.
20. Goldman M, Carver RK, Sulzer AJ. Reproduction of *Toxoplasma gondii* by internal budding. *J Parasitol.* 1958;44(2):161-171.
21. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11:267-299.
22. Dubey JP, Miller NL, Frenkel JK. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *J Exp Med.* 1970;132(4):636–662.
23. Dubey JP. *Toxoplasma gondii*. In: Weiss LM, Kim K, editors. *The history and life cycle of Toxoplasma gondii*. 2nd ed. London: Academic Press; 2014. p. 1-17.
24. Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man*. Boca Raton: CRC Press; 1988.
25. Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol.* 1998;28:1019-1024.
26. Dubey JP. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. *J Parasitol.* 1996;82:957–960.
27. Dubey JP, Lunney JK, Shen SK, Kwok OCH, Ashford DA, Thulliez, P. Infectivity of low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts to pigs. *J Parasitol;* 1996;82:438–443.
28. Dubey JP. *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis*, and other tissue cystforming coccidia of humans and animals. In: Kreier JP, Baker JR, editor. *Parasitic protozoa*. San Diego: Academic Press; 1993. p. 1-158.
29. Murga SN, Nguyen TD, Atchade PS, Bigaignon G. Séro-épidémiologie de la toxoplasmose dans la population belge. *Bull Soc FrancÉ Parasitol.* 1993;11:181-188.
30. Ferguson DJ, Hutchison WM, Pettersen E. Tissue cyst rupture in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. An immunocytochemical and ultrastructural study. *Parasitol Res.* 1989;75(8):599–603.
31. Sanchez SG, Besteiro S. The pathogenicity and virulence of *Toxoplasma gondii*. *Virulence.* 2021;12(1):3095–3114.
32. Molan A, Nosaka K, Hunter M, Wang W. Global status of *Toxoplasma gondii* infection: systematic review and prevalence snapshots. *Trop Biomed.* 2019;36(4):898-925.

33. Pappas G, Roussos N, Falagas ME. Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol.* 2009;39:1385–94.
34. Yan C, Liang L-J, Zheng K-Y, Zhu X-Q. Impact of environmental factors on the emergence, transmission and distribution of *Toxoplasma gondii*. *Parasites Vector.* 2016;9:137.
35. Meerburg, BG, Kijlstra, A. Changing climate-changing pathogens: *Toxoplasma gondii* in North-Western Europe. *Parasitol Res.* 2009;105(1):17-24.
36. Dubey JP . *Toxoplasmosis of animals and humans.* 2nd ed. Boca Raton:CRC Press; 2010.
37. Patz JA, Graczyk TK, Geller N, Vittor AY. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. *Int J Parasitol.* 2000;30:1395-405.
38. Elmore SA, Jenkins EJ, Huyvaert KP, Polley L, Root JJ, Moore CG. *Toxoplasma gondii* in circumpolar people and wildlife. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012;12:1-9.
39. Afonso E, Germain E, Poulle ML, Ruelle S, Devillard S, Say L, et al. Environmental determinants of spatial and temporal variations in the transmission of *Toxoplasma gondii* in its definitive hosts. *Int J Parasitol. Parasites Wildl.* 2013;2:278-85.
40. Mazzillo FF, Shapiro K, Silver MW. A New Pathogen Transmission Mechanism in the Ocean: The Case of Sea Otter Exposure to the Land-Parasite *Toxoplasma gondii*. *PloS One.* 2013;8:e82477.
41. Ribeiro LA, Santos LK, Brito Jr PA, Maciel BM, Da Silva AV, Albuquerque GR. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in Brazilian oysters (*Crassostrea rhizophorae*). *Genet Mol Res.* 2015;14:4658-65.
42. Torgerson PR, Mastroiacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review. *Bull World Health Organ.* 2013;91:501-508.
43. Rostami A, Riahi SM, Contopoulos-Ioannidis DG, Gamble HR, Fakhri Y, Shiadeh MN, et al. Acute *Toxoplasma* infection in pregnant women worldwide: A systematic review and meta-analysis. *PloS Negl Trop Dis.* 2019;13(10):e0007807.
44. Wang ZD, Wang SC, Liu HH, Ma HY, Li ZY, Wei F, et al. Prevalence and burden of *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis. *Lancet HIV.* 2017;4(4):e177-e188.
45. Lai CH, Tizard IR, Ingram DG. The protective effect of milk diet on *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Can J Com Med.* 1975;39(2):191-193.
46. McCarthy SM, Davis CD. Prooxidant diet provides protection during murine infection with *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol.* 2003;89(5):886-94.

47. Gao XJ, Zhao ZJ, He ZH, Wang T, Yang TB, Chen XG, et al. *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in China. *Parasitology*. 2012;139(2):139-147.
48. Robert-Gangneux F, Darde ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25:264–296.
49. Jones JL, Kruszon-Moran D, Sanders-Lewis K, Wilson M. *Toxoplasma gondii* infection in the United States, 1999-2004, decline from the prior decade. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(3):405-10.
50. Shapiro K, Bahia-Oliveira L, Dixon B, Dumètre A, de Wit LA, VanWormer E, Villena I. Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food. *Food Waterborne Parasitol*. 2019;15:e00049.
51. Ferreira FP, Caldart ET, Freire RL, Mitsuka-Breganó R, Freitas FM, Miura AC, et al. The effect of water source and soil supplementation on parasite contamination in organic vegetable gardens. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2018;27(3):327-337.
52. Villena I, Ancelle T, Delmas C, Garcia P, Brezin AP, Thulliez P, et al. Toxosurv network and National Reference Centre for Toxoplasmosis. Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system. *Euro Surveill*. 2010;15(25):19600.
53. Bobic B, Nikolic A, Klun I, Djurkovic-Djakovic O. Kinetics of *Toxoplasma* infection in the Balkans. *Wien Klin Wochenschr*. 2011;123(Suppl 1):2–6.
54. Bobić B, Nikolić A, Djurković-Djaković O. Identification of risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* in Serbia as a basis of a programme for prevention of congenital toxoplasmosis. *Srp Arh Celok Lek*. 2003;131(3–4):162–7.
55. Bobić B, Nikolić A, Klun I, Vujanić M, Djurkovic–Djakovic O. Undercooked meat consumption remains the major risk factor for *Toxoplasma* infection in Serbia. *Parassitologia*. 2007;49(4):227-230.
56. Šibalić D, Radović M, Šulović V. Infection par *Toxoplasma gondii* pendant la grossesse et avant elle et les conséquences possibles sur le fœtus, In: Petrović Z, editors. *Proceedings of the Second European Multicolloquy of Parasitology*. Trogir, Croatia; 1975. p. 23-28.
57. Šibalić D. Études sur l'épidémiologie de la toxoplasmose en Serbie. *Acta Parasitol*. 1980; 11:5-13.
58. Djurković-Djaković O. *Toxoplasma* infection and pathological outcome of pregnancy. *Gynecol Obstet Invest*. 1995;40:36-41.
59. Bobić B, Jevremović I, Marinković J, Šibalić D, Djurković-Djaković O. Risk factors for *Toxoplasma* infection in a reproductive age female population in the area of Belgrade, Yugoslavia. *Eur J Epidemiol*. 1998;14(6):605-610.
60. Brkić S, Gajski G, Bogavac M, Marić D, Turkulov V, Tomić S. [Seroprevalence of toxoplasmosis in Vojvodina]. *Srp Arh Celok Lek*. 2010;138(5-6):333-6.

61. Pribakovic JA, Katanic N, Radevic T, Tasic MS, Kostic M, Stolic B, et al. Serological status of childbearing-aged women for *Toxoplasma gondii* and cytomegalovirus in northern Kosovo and Metohija. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019;17;52:e20170313.
62. Attias M, Teixeira DE, Benchimol M, Vommaro RC, Crepaldi PH, De Souza W. The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. *Parasit Vector*. 2020;13(1):588.
63. Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *BMJ*. 2000;321(7254):142-147.
64. Dubey JP. Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. *Am J Vet Res*. 1988;49: 910 –913.
65. Dubey JP, Kotula AW, Sharar A, Andrews CD, Lindsay DS. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J Parasitol*. 1990;76:201–204.
66. Afonso E, Thulliez P, Gilot-Fromont E. Local meteorological conditions, dynamics of seroconversion to *Toxoplasma gondii* in cats (*Felis catus*) and oocyst burden in a rural environment. *Epidemiol Infect*. 2010;138:1105–1113.
67. Dabritz HA, Miller MA, Atwill ER, Gardner IA, Leutenegger CM, Melli AC, Conrad PA. Detection of *Toxoplasma gondii*-like oocysts in cat feces and estimates of the environmental oocyst burden. *J Am Vet Med Assoc*. 2007;231(11):1676-84.
68. Dubey JP, Frenkel JK . Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J Protozool*. 1972;19:155–177.
69. Jones JL, Dubey JP. Waterborne toxoplasmosis-recent developments. *Exp Parasitol*. 2010;124:10 –25.
70. Dubey JP, Ferreira L, Martins J, Jones J. Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in different types of commercial cat litters. *J Parasitol*. 2011;97:751–754.
71. Frenkel JK, Ruiz A, Chinchilla M. Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg*. 1975;24:439–443.
72. Dubey JP. *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *J Parasitol*. 1998;84(4):862-865.
73. Dumetre A, Darde ML. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? *FEMS Microbiol Rev*. 2003;27:651–661.
74. Jones JL, Kruszon-Moran D, Won K, Wilson M, Schantz PM. *Toxoplasma gondii* and *Toxocara* spp. Co-infection. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;78:35–39.
75. Stagno S, Dykes AC, Amos CS, Head RA, Juranek DD, Walls K. An outbreak of toxoplasmosis linked to cats. *Pediatrics*. 1980;65:706-12.

76. dos Santos TR, Nunes CM, Luvizotto MC, de Moura AB, Lopes WD, da Costa AJ, Bresciani KD. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples from public schools. *Vet Parasitol.* 2010;171(1-2):53-7.
77. Kapperud G, Jenum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: Results of a prospective case-control study in Norway. *Am J Epidemiol.* 1996;144(4):405-412.
78. Berger F, Goulet V, Le Strat Y, Desenclos JC. Toxoplasmosis among pregnant women in France: risk factors and change of prevalence between 1995 and 2003. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 2009;57:241–248.
79. Liu Q, Wei F, Gao S, Jiang L, Lian H, Yuan B, et al. *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in China. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2009;103(2):162-166.
80. Dumètre A, Le Bras C, Baffet M, Meneceur P, Dubey JP, Derouin F, et al. Effects of ozone and ultraviolet radiation treatments on the infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. *Vet Parasitol.* 2008;53(3-4):209-13.
81. Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP, Engelstoft C, Schwantje H, Ribble CS. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Epidemiol Infect.* 1999;122(2):305-15.
82. De Moura L, Bahia-Oliveira LM, Wada MY, Jones JL, Tuboi SH, Carmo EH, et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:326–329.
83. Balasundaram MB, Andavar R, Palaniswamy M, Venkatapathy N. Outbreak of acquired ocular toxoplasmosis involving 248 patients. *Arch Ophthalmol.* 2010;128:28–32.
84. Jones JL, Dargelas V, Roberts J, Press C, Remington JS, Montoya JG. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in the United States. *Clin Infect Dis.* 2009;49(6):878–884.
85. Derouin F, Pelloux H, ESCMID Study Group on Clinical Parasitology. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clinical Microbiol Infect.* 2008;14(12):1089–1101.
86. Štajner T, Vujić D, Srbljanović J, Bauman N, Zečević Ž, Simić M, Djurković-Djaković, O. Risk of reactivated toxoplasmosis in haematopoietic stem cell transplant recipients: a prospective cohort study in a setting withholding prophylaxis. *Clin Microbiol Infect.* 2022;28(5):733.e1–733.e5.
87. Renoult E, Biava MF, Hulin C, Frimat L, Hestin D, Kessler M. Transmission of toxoplasmosis by renal transplant: a report of four cases. *Transplant Proc.* 1996;28:181-183.
88. Rogers NM, Peh CA, Faull R, Pannell M, Cooper J, Russ GR. Transmission of toxoplasmosis in two renal allograft recipients receiving an organ from the same donor. *Transpl Infect Dis.* 2008; 10:71-74.
89. Remington JS, Cavanaugh EN. Isolation of the encysted form of *Toxoplasma gondii* from human skeletal muscle and brain. *N Engl J Med.* 1965;273:308-1310.

90. Stinson EB, Bieber CP, Griep RB, Clark DA, Shumway NE, Remington JS. Infectious complications after cardiac transplantation in man. *Ann Intern Med.* 1971;74:22-36.
91. Ryning FW, McLeod R, Maddox JC, Hunt S, Remington JS. Probable transmission of *Toxoplasma gondii* by organ transplantation. *Ann Intern Med.* 1979;90:47-49.
92. Luft BJ, Naot Y, Araujo FG, Stinson EB, Remington JS. Primary and reactivated *Toxoplasma* infection in patients with cardiac transplants. Clinical spectrum and problems in diagnosis in a defined population. *Ann Intern Med.* 1983;99:27-31.
93. Israelski DM, Remington JS. Toxoplasmosis in the non-AIDS immunocompromised host. *Curr Clin Top Infect Dis.* 1993;13:322-56.
94. Montoya JG, Giraldo LF, Efron B, Stinson EB, Gamberg P, Hunt S, et al. Infectious complications among 620 consecutive heart transplant patients at Stanford University Medical Center. *Clin Infect Dis.* 2001;33(5):629-40.
95. Michaels MG, Wald ER, Fricker FJ, Del Nido PJ, Armitage J. Toxoplasmosis in pediatric recipients of heart transplants. *Clin Infect Dis.* 1992;14:847-851.
96. Robert Gangneux F, Amrein C, Lavarde V, Botterel F, Dupouy Camet J. Neosynthesized IgG detected by western blotting in *Toxoplasma* seropositive heart or lung transplant recipients. *Transpl Int.* 2000;13:448-452.
97. Kotton CN. Zoonoses in solid-organ and hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 2007;44:857–866.
98. Campbell AL, Goldberg CL, Magid MS, Gondolesi G, Rumbo C, Herold BC. First case of toxoplasmosis following small bowel transplantation and systematic review of tissue-invasive toxoplasmosis following noncardiac solid organ transplantation. *Transplantation.* 2006;81:408–417.
99. Peleg AY, Husain S, Kwak EJ et al. Opportunistic infections in 547 organ transplant recipients receiving alemtuzumab, a humanized monoclonal CD-52 antibody. *Clin Infect Dis.* 2007;44: 204–212.
100. Sulahian A, Nagues C, Garin YJF. Serodiagnosis of toxoplasmosis in patients with acquired or reactivating toxoplasmosis and analysis of the specific IgA antibody responses by ELISA, agglutination and immunoblotting. *Immunol Infect Dis.* 1993;3:63–69
101. Mechain B, Garin YJ, Robert-Gangneux F, Dupouy-Camet J, Derouin F. Lack of utility of specific immunoglobulin G antibody avidity for serodiagnosis of reactivated toxoplasmosis in immunocompromised patients. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000;7:703-705.
102. Chandrasekar PH, Momin F. Disseminated toxoplasmosis in marrow recipients: a report of three cases and a review of the literature. Bone Marrow Transplant Team. *Bone Marrow Transplant.* 1997;19(7):685-689.
103. McAuley J. Congenital toxoplasmosis. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2014;3(Suppl 1):S30–5.

104. Roth JA, Siegel SE, Levine AS, Berard CW. Fatal recurrent toxoplasmosis in a patient initially infected via a leukocyte transfusion. *Am J Clin Pathol.* 1971;56(5):601-5.
105. Siegel SE, Lunde MN, Gelderman AH, Halterman RH, Brown JA, Levine AS, Graw RG Jr. Transmission of toxoplasmosis by leukocyte transfusion. *Blood.* 1971;37(4):388-94.
106. Nelson JC, Kauffmann DJ, Ciavarella D, Senisi WJ. Acquired toxoplasmic retinochoroiditis after platelet transfusions. *Ann Ophthalmol.* 1989;21(7):253-4.
107. Sabin A B. Toxoplasmic encephalitis in children. *J Am Med Assoc.* 1941;116:801–807.
108. Gilbert RE, Freeman K, Lago EG, Bahia-Oliveira LM, Tan HK, Wallon M, et al; European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (EMSCOT). Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared with Europe. *PloS Negl Trop Dis.* 2008;2(8):e277.
109. Burnett AJ, Shortt SG, Isaac-Renton J, King A, Werker D, Bowie WR. Multiple cases of acquired toxoplasmosis retinitis presenting in an outbreak. *Ophthalmology.* 1998;105(6):1032-1037.
110. Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC Toxoplasma Investigation Team. *Lancet.* 1997;350(9072):173-177.
111. Carne B, Bissuel F, Ajzenberg D, Bouyne R, Aznar C, Demar M, et al. Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(11):4037-4044.
112. Holland, GN. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment Part I: epidemiology and course of disease. *Am J Ophthalmol.* 2003;136:973–988.
113. Glasner PD, Silveira C, Kruszon-Moran D, Martins MC, Burnier Júnior M, Silveira S, et al. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. *Am J Ophthalmol.* 1992;114(2):136-44.
114. Butler NJ, Furtado JM, Winthrop KL, Smith JR. Ocular toxoplasmosis. II: Clinical features, pathology and management. *Clin Exp Ophthalmol.* 2013;41:95–108.
115. Jakob E, Reuland MS, Mackensen F, Harsch N, Fleckenstein M, Lorenz HM, et al. Uveitis subtypes in a german interdisciplinary uveitis center—analysis of 1916 patients. *J Rheumatol.* 2009;36(1):127-36.
116. Khairallah M, Yahia SB, Ladjimi A, Messaoud R, Zaouali S, Attia S, et al. Jenzeri S, Jelliti B. Pattern of uveitis in a referral centre in Tunisia, North Africa. *Eye (Lond).* 2007;21(1):33-9.
117. Mets MB, Holfels E, Boyer KM, Swisher CN, Roizen N, Stein L, et al. Eye manifestations of congenital toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol.* 1996;122(3):309-24.
118. Delair E, Latkany P, Noble AG, Rabiah P, McLeod R, Brézin A. Clinical manifestations of ocular toxoplasmosis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2011;19(2):91-102.

119. Wakefield D, Cunningham ET Jr, Pavesio C, Garweg JG, Zierhut M. Controversies in ocular toxoplasmosis. *Ocul Immunol Inflamm*. 2011;19(1):2-9.
120. Dodds EM. Toxoplasmosis. *Curr Opin Ophthalmol* 2006;17:557–561.
121. Rothova A, de Boer JH, Ten Dam-van Loon NH, Postma G, de Visser L, Zuurveen SJ, et al. Usefulness of aqueous humor analysis for the diagnosis of posterior uveitis. *Ophthalmology*. 2008; 115(2):306–311.
122. Harper TW, Miller D, Schiffman JC, Davis JL. Polymerase chain reaction analysis of aqueous and vitreous specimens in the diagnosis of posterior segment infectious uveitis. *Am J Ophthalmol*. 2009;147(1):140–147.e2.
123. Holland GN, Lewis KG. An update on current practices in the management of ocular toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol*. 2002;134:102-114.
124. Eyles DE, Coleman N. Antibiotics in the treatment of toxoplasmosis. *Am J Trop Med Hyg*. 1953;2:64–69.
125. Rothova A, Meenken C, Buitenhuis HJ, Brinkman CJ, Baarsma GS, Boen-Tan TN, et al. Therapy for ocular toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol*. 1993;115(4):517-23.
126. Sabin AB. Toxoplasmosis. A recently recognized disease of human beings. *Adv Pediatr*. 1942; 1:1–53.
127. Prusa AR, Kasper DC, Pollak A, Gleiss A, Waldhoer T, Hayde M. The Austrian Toxoplasmosis Register, 1992-2008. *Clin Infect Dis*. 2015;60(2):e4–e10.
128. Logar J, Novak-Antolic Z, Zore A, Cerar V, Likar M. Incidence of congenital toxoplasmosis in the Republic of Slovenia. *Scand J Infect Dis*. 1992;24(1):105–108.
129. Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC, Maguire JH, Lynfield R, Stechenberg B, et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. The New England Regional *Toxoplasma* Working Group. *N Engl J Med*. 1994;330(26):1858-1863.
130. Lopez A, Dietz VJ, Wilson M, Navin TR, Jones JL. Preventing congenital toxoplasmosis. *MMWR Recomm Rep*. 2000;49(RR-2):59–68.
131. Roberts T, Frenkel JK. Estimating income losses and other preventable costs caused by congenital toxoplasmosis in people in the United States. *J Am Vet Med Assoc*. 1990;196(2):249-256.
132. Gilbert R, Tan HK, Cliffe S, Guy E, Stanford M. Symptomatic toxoplasma infection due to congenital and postnatally acquired infection. *Arch Dis Child*. 2006;91(6):495–498.
133. Varella IS, Canti IC, Santos BR, Coppini AZ, Argondizzo LC, Tonin C, Wagner MB. Prevalence of acute toxoplasmosis infection among 41112 pregnant women and the mother-to-child transmission rate in a public hospital in South Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104(2):383-388.

134. Couvreur J, Desmonts G, Tournier G, Szusterkac M. [A homogeneous series of 210 cases of congenital toxoplasmosis in 0 to 11-month-old infants detected prospectively]. *Ann Pediatr (Paris)*. 1984;31(10):815-819.
135. Desmonts G. Toxoplasmose acquise de la femme enceinte: estimation du risque de transmission du parasite et de toxoplasmose congénitale. *Lyon Méd*. 1982;248:115–23.
136. Desmonts G, Daffos F, Forestier F, Capella-Pavlovsky M, Thulliez P, Chartier M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Lancet*. 1985;8427:500-4.
137. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein J, editors. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 205-346.
138. Wilson CB, Remington, JS, Stagno S, Reynolds DW. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital *Toxoplasma* infection. *Pediatrics*. 1980;66(5):767–774.
139. Delhaes L, Ajzenberg D, Sicot B, Bourgeot P, Dardé ML, Dei-Cas E, Houfflin-Debargé V. Severe congenital toxoplasmosis due to a *Toxoplasma gondii* strain with an atypical genotype: case report and review. *Prenat Diagn*. 2010;30(9):902-905.
140. Peyron F, Garweg JG, Wallon M, Descloux E, Rolland M, Barth J. Long-term impact of treated congenital toxoplasmosis on quality of life and visual performance. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(7):597–600.
141. Wallon M, Peyron F, Cornu C, Vinault S, Abrahamowicz M, Kopp CB, Binquet C. Congenital toxoplasma infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years. *Clin Infect Dis*. 2013;56(9):1223-31.
142. Bénard A, Petersen E, Salamon R, Chêne G, Gilbert R, Salmi LR; European Toxo Prevention Study Group (EUROTOXO). Survey of European programmes for the epidemiological surveillance of congenital toxoplasmosis. *Euro Surveill*. 2008;13(15):18834.
143. Morris MI, Fischer SA, Ison MG. Infections Transmitted by Transplantation. *Infect Dis Clin North Am*. 2010;24:497–514.
144. Luft BJ. *Toxoplasma gondii*. In: Walzer PD, Genta RM, editors. *Parasitic infections in the compromised host*. New York: Marcel Dekker; 1989. p. 179–279.
145. Fernández-Sabé N, Cervera C, Fariñas MC, Bodro M, Muñoz P, Gurguí M, et al. Risk factors, clinical features, and outcomes of toxoplasmosis in solid-organ transplant recipients: a matched case-control study. *Clin Infect Dis*. 2012;54(3):355–361.
146. Sumi M, Aosai F, Norose K, Takeda W, Kirihara T, Sato K, et al. Acute exacerbation of *Toxoplasma gondii* infection after hematopoietic stem cell transplantation: five case reports among 279 recipients. *Int J Hematol*. 2013;98(2):214–222.

147. Desoubeaux G, Cabanne É, Franck-Martel C, Gombert M, Gyan E, Lissandre S, et al. Pulmonary toxoplasmosis in immunocompromised patients with interstitial pneumonia: a single-centre prospective study assessing PCR-based diagnosis. *J Clin Pathol*. 2016;69(8):726–730.
148. Stajner T, Vasiljević Z, Vujić D, et al. Atypical strain of *Toxoplasma gondii* causing fatal reactivation after hematopoietic stem cell transplantation in a patient with an underlying immunological deficiency. *J Clin Microbiol*. 2013;51(8):2686-90.
149. Gajurel K, Dhakal R, Montoya JG. *Toxoplasma* prophylaxis in haematopoietic cell transplant recipients: a review of the literature and recommendations. *Curr Opin Infect Dis*. 2015;28(4):283–292.
150. Peacock JE Jr, Greven CM, Cruz JM, Hurd DD. Reactivation toxoplasmic retinochoroiditis in patients undergoing bone marrow transplantation: is there a role for chemoprophylaxis?. *Bone Marrow Transplant*. 1995;15(6):983–987.
151. Martino R, Bretagne S, Einsele H, Maertens J, Ullmann AJ, Parody R, et al. Early detection of *Toxoplasma* infection by molecular monitoring of *Toxoplasma gondii* in peripheral blood samples after allogeneic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*. 2005;40(1):67–78.
152. Matsuo Y, Takeishi S, Miyamoto T, Nonami A, Kikushige Y, Kunisaki Y, et al. Toxoplasmosis encephalitis following severe graft-vs.-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: 17 yr experience in Fukuoka BMT group. *Eur J Haematol*. 2007;79(4):317–321.
153. Edvinsson B, Lundquist J, Ljungman P, Ringdén O, Evengård B. A prospective study of diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection after bone marrow transplantation. *APMIS*. 2008;116(5):345–351.
154. Fricker-Hidalgo H, Bulabois CE, Brenier-Pinchart MP, Hamidfar R, Garban F, Brion JP, et al. Diagnosis of toxoplasmosis after allogeneic stem cell transplantation: results of DNA detection and serological techniques. *Clin Infect Dis*. 2009;48(2):e9–e15.
155. Burg JL, Grover CM, Pouletty P, Boothroyd JC. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1989;27(8):1787-1792.
156. Bretagne S. Molecular diagnostics in clinical parasitology and mycology: limits of the current polymerase chain reaction (PCR) assays and interest of the real-time PCR assays. *Clin Microbiol Infect*. 2003;9:505-511.
157. Hohlfeld P, Daffos F, Costa JM, Thuyllez P, Forestier F, Vidaud M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid. *N Engl J Med*. 1994;331:695-699.
158. Romand S, Wallon M, Franck J, Thulliez P, Peyron F, Dumon H. Prenatal diagnosis using polymerase chain reaction on amniotic fluid for congenital toxoplasmosis. *Obstet Gynecol*. 2001;97(2):296-300.
159. Desmonts GD, Couvreur J. Congenital toxoplasmosis: a prospective study of 378 pregnancies. *N Engl J Med*. 1974;290:1110-1116.

160. Robert-Gangneux F, Gavinet MF, Ancelle T, Raymond J, Tourte-Schaefer C, DupouyCamet J. Value of prenatal diagnosis and early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: retrospective study of 110 cases. *J Clin Microbiol.* 1999;37(9):2893–2898.
161. Gras L, Gilbert RE, Wallon M, Peyron F, Cortina-Borja M. Duration of the IgM response in women acquiring *Toxoplasma gondii* during pregnancy: implications for clinical practice and cross-sectional incidence studies. *Epidemiol Infect.* 2004;132(3):541–548.
162. Rorman, E, Zamir CS, Rilkis I, Ben-David H. Congenital toxoplasmosis—prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. *Reprod Toxicol.* 2006;21(4):458–472.
163. Araujo FG, Barnett EV, Gentry LO, Remington JS. False-positive anti-*Toxoplasma* fluorescent-antibody tests in patients with antinuclear antibodies. *Appl Microbiol.* 1971;22(3):270–275.
164. Hyde B, Barnett EV, Remington JS. Method for differentiation of nonspecific from specific toxoplasma IgM fluorescent antibodies in patients with rheumatoid factor. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1975;148(4):1184–1188.
165. Pelloux Y, Couzineau P, Baufine-Ducrocq H, Tayot JL, Jacquot D. La réaction d’agglutination directe des toxoplasmes. Role des immunoglobulines 19 S et 7 S. *Ann Biol Clin.* 1973;31:185-192.
166. Fulton JD, Turk JL. Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. *Lancet.* 1959;1068-1069.
167. Desmots G, Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *J Clin Microbiol.* 1980;11(6):562-568.
168. Dubey JP, Desmots G. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Equine Vete J.* 1987;48:1239-1243.
169. Johnson AM, Roberts H, Statham P, Munday BL. Serodiagnosis of acute toxoplasmosis in macropods: *Vet Parasitol.* 1989;34:25–33.
170. Jacobs L, Lunde MN. A hemagglutination test for toxoplasmosis. *J Parasitol.* 1957;43(3):308-314.
171. Welch PC, Masur H, Jones TC, Remington JS. Serologic diagnosis of acute lymphadenopathic toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 1980;142(2):256-264.
172. Stepick-Biek P, Thulliez P, Araujo FG, Remington JS. IgA antibodies for diagnosis of acute congenital and acquired toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 1990;162(1):270-273.
173. Dannemann BR, Vaughan WC, Thulliez P, Remington JS. Differential agglutination test for diagnosis of recently acquired infection with *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol.* 1990;28(9):1928–1933.
174. Voller A, Bidwell DE, Bartlett A, Fleck DG, Perkins M, Oladehin B. A microplate enzyme-immunoassay for toxoplasma antibody. *J Clin Pathol.* 1976;29(2):150-153.

175. Sickinger E, Gay-Andrieu F, Jonas G, Schultess J, Stieler M, Smith D, et al. Performance characteristics of the new ARCHITECT Toxo IgG and Toxo IgG Avidity assays. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;62(3):235-44.
176. Naot Y, Remington JS (1980): An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 1980;142(5):757-766.
177. Naot Y, Desmonts G, Remington JS (1981): IgM enzyme-linked immunosorbent assay test for the diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection. *J Pediatr.* 1981;98(1):32-36.
178. Siegel JP, Remington JS. Comparison of methods for quantitating antigen-specific immunoglobulin M antibody with a reverse enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol.* 1983;18(1):63-70.
179. Decoster A, Slizewicz B, Simon J, Bazin C, Darcy F, Vittu G, et al. Platelia-Toxo IgA, a new kit for early diagnosis of congenital toxoplasmosis by detection of anti-P30 immunoglobulin A antibodies. *J Clin Microbiol.* 1991;29(10):2291-2295.
180. Hedman K, Lappalainen M, Seppä I, Makela O. Recent primary *Toxoplasma* infection indicated by a low avidity of specific IgG. *J Infect Dis.* 1989;159(4):736-740.
181. Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2004;42:941-5.
182. Roberts A, Hedman K, Luyasu V, Zufferey J, Bessières MH, Blatz RM, et al. Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2001;20(7):467-474.
183. Remington JS, Araujo FG, Desmonts G. Recognition of different *Toxoplasma* antigens by IgM and IgG antibodies in mothers and their congenitally infected newborns. *J Infect Dis.* 1985;152:1020-4.
184. Rilling V, Dietz K, Krczal D, Knotek F, Enders G. Evaluation of a commercial IgG/IgM Western blot assay for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003;22:174-80.
185. Tissot Dupont D, Fricker-Hidalgo H, Brenier-Pinchart MP, Bost-Bru C, Ambroise-Thomas P, Pelloux H. Usefulness of Western blot in serological follow-up of newborns suspected of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003;22:122-5.
186. Magi B, Migliorini L. Western blotting for the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *New Microbiol.* 2011;34:93-5.
187. Foroutan-Rad M, Majidani H, Dalvand S, Daryani A, Kooti W, Saki J, et al. Toxoplasmosis in Blood Donors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Transfus Med Rev.* 2016;30:116-122.
188. Jones JL, Kruszon-Moran D, Elder S, Rivera HN, Press C, Montoya JG, McQuillan GM. *Toxoplasma gondii* Infection in the United States, 2011-2014. *Am J Trop Med Hyg.* 2018;98(2):551-557.

189. Kovačević G, Cvjetković IH, Patić A, Radovanov J, Kovačević, B. Negative trend in seroprevalence of anti-toxoplasma gondii IgG antibodies among the general population of the province of Vojvodina, Serbia, 2008-2021. *Parasitol Int.* 2023;92,102689.
190. Vilibic-Cavlek T, Ljubin-Sternak S, Ban M, Kolaric B, Sviben M, Mlinaric-Galinovic G. Seroprevalence of TORCH infections in women of childbearing age in Croatia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011;24(2):280–283.
191. Punda-Polić V, Tonkić M, Capkun V. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the female population of the County of Split Dalmatia, Croatia. *Eur J Epidemiol.* 2000;16(9):875–877.
192. Logar J, Novak-Antolič Ž, Zore A. Serological screening for toxoplasmosis in pregnancy in Slovenia. *Scand J Infect Dis.* 1995;27(2):163–4.
193. Logar J, Šoba B, Novak-Antolič Ž, Premru-Srsen T, Arnež M, Kraut A. Serological screening for toxoplasmosis of pregnant women in Slovenia in the period 2000–2007. *Toxoplasma Centennial Congress: From discovery to public health management; 2008 Sep 20-24; Búzios, Rio de Janeiro State, Brazil.* k; 2008 p. 43.
194. Diza E, Frantidou F, Souliou E, Arvanitidou M, Gioula G, Antoniadis, A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in northern Greece during the last 20 years. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11(9):719–723.
195. Olariu TR, Ursoniu S, Hotea I, Dumitrascu V, Anastasiu D, Lupu MA. Seroprevalence and Risk Factors of *Toxoplasma gondii* Infection in Pregnant Women from Western Romania. *Vector Borne Zoonotic Dis;* 2020;20(10):763–767.
196. Cvetković, D, Bobić B, Jankovska G, Klun I, Panovski N, Djurković-Djaković O. Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnant women in FYR of Macedonia. *Parasite.* 2010;17(3):183–186.
197. Hrnjaković Cvjetković V, Milošević T, Petrović D, Petrić J, Radovanov G, Kovačević A, et al. Seroprevalence of infection with *Toxoplasma gondii* among the residents of South Backa District, Serbia. *Arhiv veterinarske medicine.* 2019;12:33-41.
198. Bobić B, Milosavić M, Guzijan G, Djurković-Djaković O. First Report on *Toxoplasma gondii* Infection in Bosnia and Herzegovina: Study in Blood Donors. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016;16(12):807-9.
199. Robinson E, de Valk H, Villena I, Le Strat Y, Tourdjman M. National perinatal survey demonstrates a decreasing seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among pregnant women in France, 1995 to 2016: impact for screening policy. *Euro Surveill.* 2021;26(5):1900710.
200. Fanigliulo D, Marchi S, Montomoli E, Trombetta CM. *Toxoplasma gondii* in women of childbearing age and during pregnancy: seroprevalence study in Central and Southern Italy from 2013 to 2017. *Parasite.* 2020;27:2.

201. Findal G, Barlind R, Sandven I, Stray-Pedersen B, Nordbø SA, Samdal HH, Vainio K, Dudman SG, Jenum PA. Toxoplasma prevalence among pregnant women in Norway: a cross-sectional study. *APMIS*. 2015;123(4):321-5.
202. Rodrigues FT, Sousa AP, Escoval MA, Condeço J, Cardoso L, Lopes AP. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in blood donors in Portugal. *Transfus Apher Sci*. 2020;59(4):102777.
203. Svobodová V, Literák I. Prevalence of IgM and IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* in blood donors in the Czech Republic. *Eur J Epidemiol*. 1998;14(8):803-5.
204. Elsheikha HM, Azab MS, Abousamra NK, Rahbar MH, Elghannam DM, Raafat D. Seroprevalence of and risk factors for *Toxoplasma gondii* antibodies among asymptomatic blood donors in Egypt. *Parasitol Res*. 2009;104(6):1471-76.
205. Lachkhem A, Lahmar I, Galal L, Babba O, Mezhoud H, Hassine M, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among healthy blood donors in two locations in Tunisia and associated risk factors. *Parasite*. 2020;27:51.
206. Zarkovic A, McMurray C, Deva N, Ghosh S, Whitley D, Guest S. Seropositivity rates for *Bartonella henselae*, *Toxocara canis* and *Toxoplasma gondii* in New Zealand blood donors. *Clin Exp Ophthalmol*. 2007;35(2):131-34.
207. Makki SM, Abdel-Tawab AH. Anti-*Toxoplasma gondii* antibodies among volunteer blood donors in eastern Saudi Arabia. *J Egypt Soc Parasitol*. 2010;40(2):401-12.
208. Mansouri A, Adhami Mojarad MR, Badfar G, Abasian L, Rahmati S, Kooti W, et al. Epidemiology of *Toxoplasma gondii* among blood donors in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Transfus Apher Sci*. 2017;56(3):404-9.
209. Zamorano CG, Contreras MC, Villalobos S, Sandoval L, Salinas, P. [Seroepidemiological survey of human toxoplasmosis in Osorno, Region X, Chile, 1998]. *Bol Chil Parasitol*. 1999;54(1-2):33-6.
210. Sundar P, Mahadevan A, Jayshree RS, Subbakrishna DK, Shankar SK. *Toxoplasma* seroprevalence in healthy voluntary blood donors from urban Karnataka. *Indian J Med Res*. 2007; 126(1):50-55.
211. Yazar S, Eser B, Yay M. Prevalence of anti-*toxoplasma gondii* antibodies in Turkish blood donors. *Ethiop Med J*. 2006;44(3):257-61.
212. Alvarado-Esquível C, Rascón-Careaga A, Hernández-Tinoco J, Corella-Madueño MA, Sánchez-Anguiano LF, Aldana-Madrid, ML. Seroprevalence and Associated Risk Factors for *Toxoplasma gondii* Infection in Healthy Blood Donors: A Cross-Sectional Study in Sonora, Mexico. *Biomed Res Int*. 2016;9597276.
213. Pinlaor S, Ieamviteevanich K, Pinlaor P, Maleewong, W, Pipitgool V. Seroprevalence of specific total immunoglobulin (Ig), IgG and IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* in blood donors from Loei Province, Northeast Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2000;31(1):123-27.

214. Chiang TY, Hsieh HH, Kuo MC, Chiu KT, Lin WC, Fan CK, et al. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* Infection among healthy blood donors in Taiwan. *PLoS One*. 2012;7(10):e48139.
215. Yang SJ, Song RH. [Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in healthy voluntary blood donors from Shijiazhuang area]. *Chinese Journal of Schistosomiasis Control*. 2012;24(6):728- 30.
216. Kamal AM, Ahmed AK, Abdellatif MZ, Tawfik M, Hassan EE. Seropositivity of Toxoplasmosis in Pregnant Women by ELISA at Minia University Hospital, Egypt. *Korean J Parasitol*. 2015;53(5):605-610.
217. Elsafi SH, Al-Mutairi WF, Al-Jubran KM, Abu Hassan MM, Al Zahrani EM. Toxoplasmosis seroprevalence in relation to knowledge and practice among pregnant women in Dhahran, Saudi Arabia. *Pathog Glob Health*. 2015;109(8):377-82.
218. Khurana S, Bagga R, Aggarwal A, Lyngdoh V, Shivapriya Diddi K, Malla N. Serological screening for antenatal toxoplasma infection in India. *Indian J Med Microbiol*. 2010;28(2):143–146.
219. Lobo ML, Patrocínio G, Sevivas T, DE Sousa B, Matos O. Portugal and Angola: similarities and differences in *Toxoplasma gondii* seroprevalence and risk factors in pregnant women. *Epidemiol Infect*. 2017;145(1):30–40.
220. Daher D, Shaghlil A, Sobh E, Hamie M, Hassan ME, Moumneh MB, et al. Comprehensive Overview of *Toxoplasma gondii*-Induced and Associated Diseases. *Pathogens*. 2021;10(11):1351.
221. Saki J, Foroutan M, Khodkar I, Khodadadi A, Nazari L. Seroprevalence and molecular detection of *Toxoplasma gondii* in healthy blood donors in southwest Iran. *Transfus Apher Sci*. 2019;58(1):79–82.
222. American association of blood banks (AABB). *Transfusion*. 2009[cited 3 Jan 2021];49 [about 2 p.] Available from: https://www.aabb.org/docs/defaultsource/defaultdocumentlibrary/regulatory/eid/227s.pdf?sfvrsn=51e1708_2.
223. Bobić B, Klun I, Vujanić M, Nikolić A, Ivović V, Živković T, Djurković-Djaković O. Comparative and evaluation of three commercial *Toxoplasma*-specific IgG antibody avidity tests and significance in different clinical settings. *J Med Microbiol*. 2009;58(3):358-64.
224. Montoya JG, Huffman HB, Remington JS. Evaluation of the immunoglobulin G avidity test for diagnosis of toxoplasmic lymphadenopathy. *J Clin Microbiol*. 2004;42,10:4627-4631.
225. Stajner T, Bobic B, Klun I, Nikolic A, Srbljanovic J, Uzelac A, et al. Rajnpreht, I. Prenatal and Early Postnatal Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis in a Setting With No Systematic Screening in Pregnancy. *Medicine*. 2016;95(9), e2979.
226. Gras L, Gilbert RE, Wallon M, Peyron F, Cortina-Borja M. Duration of the IgM response in women acquiring *Toxoplasma gondii* during pregnancy: implications for clinical practice and cross-sectional incidence studies. *Epidemiol Infect*. 2004;132(3):541–548.

227. Bobić B, Šibalić D, Djurković-Djaković O. High levels of IgM antibodies specific for *Toxoplasma gondii* in pregnancy 12 years after primary toxoplasma infection. Case report. *Gynecol Obstet Invest.* 1991;31:182-184.
228. Csep A, Vaida LL, Negrutiu BM, Todor BI, Judea-Pusta CT, Buhaş C, Sava C. Research on demographic, clinical and paraclinical aspects in pregnant women infected with *Toxoplasma gondii*. *Exp Ther Med.* 2022; 23(2):123.
229. Wilking H, Thamm M, Stark K, Aebischer T, Seeber F. Prevalence, incidence estimations, and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in Germany: a representative, cross-sectional, serological study. *Sci Rep.* 2016;6:22551.
230. Fromont EG, Riche B, Rabilloud M. *Toxoplasma* seroprevalence in a rural population in France: detection of a household effect. *BMC Infect Dis.* 2009;9:76.
231. Stopić M, Štajner T, Marković-Denić Lj, Nikolić V, Djilas I, Srzentić S, Djurković-Djaković O, Bobić, B. Epidemiology of Toxoplasmosis in SERBIA: A Cross-Sectional Study on Blood Donors. *Microorganisms.* 2022;10(3):492.
232. Patronek GJ, Glickman LT, Beck AM, et al. Risk factors for relinquishment of cats to an animal shelter. *J Am Vet Med Assoc.* 1996;209(3):582-8.
233. DeFeo ML, Dubey JP, Mather TN, Rhodes RC 3rd. Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. *Am J Vet Res.* 2002;63(12):1714-7.
234. Clancy EA, Moore AS, Bertone ER. Evaluation of cat and owner characteristics and their relationships to outdoor access of owned cats. *J Am Vet Med Assoc.* 2003;222(11):1541-5.
235. Dabritz HA, Atwill ER, Gardner IA, Miller MA, Conrad PA. Outdoor fecal deposition by free-roaming cats and attitudes of cat owners and nonowners toward stray pets, wildlife, and water pollution. *J Am Vet Med Assoc.* 2006;229(1):74-8.
236. Vujanić M, Ivočić V, Kataranovski M., Nikolić A, Bobić B, Klun I, et al. Toxoplasmosis in naturally infected rodents in Belgrade, Serbia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11(8):1209–1211.
237. Bobić B, Klun, I, Nikolić A, Vujanić M, Zivković T, Ivočić V, Djurković-Djaković O. Seasonal variations in human *Toxoplasma* infection in Serbia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010;10(5):465–469.
238. Wallace MR, Rossetti RJ, Olson PE. Cats and toxoplasmosis risk in HIV-infected adults. *JAMA.* 1993;269(1):76-7.
239. Spalding SM, Amendoeira MR, Klein CH, Ribeiro LC. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in South of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38(2):173-7.
240. Jumaian NF. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnant women in Jordan. *East Mediterr Health J.* 2005;11(1-2):45-51.

241. Uneke CJ, Duhlińska DD, Njoku MO, Ngwu BA. Seroprevalence of acquired toxoplasmosis in HIV-infected and apparently healthy individuals in Jos, Nigeria. *Parassitologia*. 2005;47(2):233-6.
242. Jones JL, Muccioli C, Belfort R Jr, Holland GN, Roberts JM, Silveira C. Recently acquired *Toxoplasma gondii* infection, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(4):582-7.
243. Shapiro K, Bahia-Oliveira L, Dixon B, Dumètre A, de Wit LA, VanWormer E, Villena I. Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food. *Food Waterborne Parasitol*. 2019;15:e00049.
244. López Ureña N M, Chaudhry U, Calero Bernal R, Cano Alsua S, Messina D, Evangelista F, et al. Contamination of Soil, Water, Fresh Produce, and Bivalve Mollusks with *Toxoplasma gondii* Oocysts: A Systematic Review. *Microorganisms*. 2022;10(3):517.
245. Frenkel JK, Hassanein KM, Hassanein RS, Brown E, Thulliez P, Quintero-Nunez R. Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of children, cats, rodents, birds, and soil. *Am J Trop Med Hyg*. 1995;53:458–468.
246. Haghparast-Kenari B, Sarvi S, Sharif M, Ahmadpour E, Hosseini, SA, Daryani A. Isolation and Genotypic Characterization of *Toxoplasma gondii* Based on GRA6 Gene from Environmental Soil Samples in Mazandaran Province, North of Iran. *Iran J Parasitol*. 2020;15:158–167.
247. Liu XC, He Y, Han DG, Zhang ZC, Li K, Wang S, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in Chicken and Soil of Chicken Farms in Nanjing Region, China. *Infect Dis Poverty*. 2017;6:62.
248. Ito S, Tsunoda K, Tsutsumi Y, Matsui T, Nishikawa H. Detection and Confirmation of *Toxoplasma* Oocysts in the Soil. *Nihon Juigaku Zasshi*. 1975;37:549–554.
249. Alvarado-Esquivel C, Sifuentes-Alvarez A, Narro-Duarte SG, Estrada-Martínez S, Díaz-García JH, Liesenfeld O, et al. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in a public hospital in northern Mexico. *BMC Infect Dis*. 2006;6:113.
250. Weigel RM, Dubey JP, Dyer D, Siegel AM. Risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* for residents and workers on swine farms in Illinois. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1999;60(5):793–798.
251. Alvarado-Esquivel C, Liesenfeld O, Márquez-Conde JA, Estrada-Martínez S, Dubey JP. Seroepidemiology of infection with *Toxoplasma gondii* in workers occupationally exposed to water, sewage, and soil in Durango, Mexico. *J Parasitol*. 2010;96(5), 847–850.
252. Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, McQuillan G, Navin T, McAuley JB. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol*. 2001;154:357-365.
253. Ritchie H, Roser M. Meat and Dairy Production. *Our World In Data*. 2017 [cited 2022 Nov 28] Available from: <https://ourworldindata.org/meat-production>. .
254. Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. *Zoonoses Public Health*. 2010;57(1):60–73.

255. Kijlstra A, Eissen OA, Cornelissen J, Munniksmá K, Eijck I, Kortbeek T. *Toxoplasma gondii* infection in animal-friendly pig production systems. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:3165–3169.
256. Pavlović I, Ivanović S. Contamination of poultry meat with *Toxoplasma gondii*: Risk factor in occurrence of toxoplasmatic reaction in humans. *Vet Glasnik*. 2002;56(3-4):227-235.
257. Republički zavod za statistiku. Bilten. Anketa o potrošnji domaćinstva 2019. 2019 [cited 2022 Nov 28]; 63. Available from: <https://publikacije.stat.gov.rs/G2020/Pdf/G20205662.pdf>.
258. Sandoval-Carrillo AA, Vértiz-Hernández AA, Salas-Pacheco JM, González-Lugo OE, Antuna-Salcido EI, Salas-Pacheco SM, et al. *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: a cross-sectional study in Matehuala City, Mexico. *BMJ Open*. 2020;10(8):e033995.
259. Alvarado-Esquivel C, Terrones-Saldívar Mdel C, Hernández-Tinoco J, Muñoz-Terrones MD, Gallegos-González RO, Sánchez-Anguiano LF, et al. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in pregnant women in Aguascalientes City, Mexico: a cross-sectional study. *BMJ Open*. 2016;6(7):e012409.
260. Bobić B, Štajner T, Nikolić A, Klun I, Srbljanović J, Djurković-Djaković O. (2015). Toxoplasmosis and pregnancy: Reliability of internet sources of information. *Srpski arhiv*. 2015;143(7-8):438–445.
261. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Bonini C, Duarte RF, Dufour C, et al. Use of haploidentical stem cell transplantation continues to increase: the 2015 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. *Bone Marrow Transplant*. 2017;52(6):811-17.
262. Vučetić D, Jovičić M, Maslovarić I, Bogdanović S, Antić A, Stanojković Z, et al. Transfusion-transmissible infections among Serbian blood donors: declining trends over the period 2005–2017. *Blood Transfus*. 2019;17(5): 336–46.
263. Centers for Disease Control and Prevention. Toxoplasmosis. Prevention and Control. [homepage on the Internet] [updated 2018 Sep 27; cited 2022 Oct 2] Available from: www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/prevent.html.
264. Petersen E, Meroni V, Vasconcelos-Santos DV, Mandelbrot L, Peyron F. Congenital toxoplasmosis: Should we still care about screening? *Food Waterborne Parasitol*. 2022;27:e00162.
265. Šibalić D, Radović M. Contribution la connaissance de la fréquence de l'infection de *Toxoplasma gondii* chez l'homme dans la Serbia, GLAS CCLXXV. *Acc Serbe Sci Arts Cl Sci Med*. 1969;22.
266. Sadiqui S, Shah, S, Almagadam BS, Shakeela Q, Ahmad S. Distribution of *Toxoplasma gondii* IgM and IgG antibody seropositivity among age groups and gestational periods in pregnant women. *F1000Research*. 2018;7:182.
267. Nicholls N, Gruza GV, Jouzel J, Karl TR, Ogallo LA, Parker DE. Observed climate variability and change. In: Houghton JT, MeiraFilho LG, Callander BA, Harris N, Kattenberg A, Maskell K, editors. *Climate change 1995. The science of climate change*. Cambridge: Cambridge University Press; 1996. p. 133-92.

268. Afonso E, Thulliez P, Gilot-Fromont E. Transmission of *Toxoplasma gondii* in an urban population of domestic cats (*Felis catus*). *Int J Parasitol.* 2006;36(13):1373–1382.
269. Simon JA, Kurdzialewicz S, Jeanniot E, Dupuis E, Marnef F, Aubert D, et al. Spatial Distribution of Soil Contaminated with *Toxoplasma gondii* Oocysts in Relation to the Distribution and Use of Domestic Cat Defecation Sites on Dairy Farms. *Int J Parasitol.* 2017;47:357–367.
270. DeWit LA, Kilpatrick AM, VanWormer E, Croll DA, Tershy BR, Kim M, Shapiro K. Seasonal and Spatial Variation in *Toxoplasma gondii* Contamination in Soil in Urban Public Spaces in California, United States. *Zoonoses Public Health.* 2020;67:70–78.
271. Ćirković V, Uzelac A, Miličić D, Klun I, & Djurković-Djaković O. First detection of *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908) (Eucoccidiorida: Sarcocystidae) in river waters in Serbia. *Acta Zool Bulg.* 2020;72(15):79–83.

Prilog 1

Priprema BABS pufera za HSDA test: NaCl 7,012g, NaN₃ 1g, H₃BO₃ 3.092g, BSA 4g, destilovana voda 1L, koncentrovani NaOH za podešavanje pH vrednosti do 8,95.

Priprema PBS pufera za HSDA test: 10X koncentrovani NaCl 80g, KH₂PO₄ 2g, Na₂HPO₄ 11,5g, KCl 2g, destilovana voda 1L.

Publikovan rad kao rezultat istraživanja u okviru doktorske disertacije

Stopić M, Štajner T, Marković-Denić Lj, Nikolić V, Djilas I, Srzentić-Jovanović S, Djurković-Djaković O, Bobić, B. Epidemiology of Toxoplasmosis in SERBIA: A Cross-Sectional Study on Blood Donors. *Microorganisms*. 2022;10(3):492.

Biografija autora

Milena Blagojević (devojačko prezime Stopić), rođena je 31.10.1990. godine u Užicu gde je završila osnovnu i Srednju medicinsku školu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 2009. godine. Diplomirala je 2015. godine sa prosečnom ocenom 9,39. Obavezan lekarski staž obavila je u Kliničko-bolničkom centru „Zvezdara“ u Beogradu, a stručni ispit za doktora medicine je položila 2016. godine. Doktorske studije (modul epidemiologija) upisala je 2015. godine na Medicinskom fakultetu u Beogradu.

Od januara 2017. godine do oktobra 2019. godine bila je zaposlena u Institutu za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu i kao istraživač pripravnik Centra izuzetnih vrednosti za zoonoze prenošene hranom i vektorima (u okviru kojeg radi Nacionalna referentna laboratorija za toksoplazmozu) bila angažovana na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Srbije pod nazivom „Kontrola infekcije apikompleksnim patogenima: od novih mesta delovanja leka do predikcije“ (broj projekta III 41019, rukovodilac projekta dr Olgica Đurković-Đaković).

Od januara 2020. godine zaposlena je na odeljenju pedijatrije Doma zdravlja Zvezdara.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora Milena Blagojević

Broj indeksa EP-08/15

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Učestalost i faktori rizika za infekciju *Toxoplasma gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi i trudnica

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, 21. 6. 2023. godine

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Milena Blagojević

Broj indeksa EP-08/15

Studijski program Epidemiologija

Naslov rada Učestalost i faktori rizika za infekciju *Toxoplasma gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi i trudnica

Mentor Prof. dr Ljiljana Marković-Denić

Komentor V. N. Sar. dr Tijana Štajner

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao radi pohranjivanja u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktor nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

U Beogradu, 21. 6. 2023. godine

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Učestalost i faktori rizika za infekciju *Toxoplasma gondii* u populaciji dobrovoljnih davalaca krvi i trudnica

koje je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo (CC BY)

2. Autorstvo - nekomercijalno (CC BY-NC)

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)

5. Autorstvo - bez prerada (CC BY-ND)

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molim da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci. Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave)

Potpis autora

U Beogradu, 21. 6. 2023. godine

1. Autorstvo. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

5. Autorstvo – bez prerada. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.