



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

---



ΤΟΜΕΑΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
Εργαστήριο Κλινικής Βακτηριολογίας, Παρασιτολογίας, Ζωονόσων και  
Γεωγραφικής Ιατρικής

**Διδακτορική Διατριβή**

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΣΠΟΡΑΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΥ ΤΗΣ  
ΤΟΞΟΠΛΑΣΜΩΣΗΣ ΣΕ ΥΓΙΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΝΕΑΡΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΥΠΡΟ**

**Μάριου Λιασίδη  
Ιατρού-Γυναικολόγου**

**ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2016**

**PhD Thesis**

**Study of the geographical distribution and the prevalence of toxoplasmosis  
in healthy young females in Cyprus**

**Dr Marios Liassides  
Obstetrician Gynecologist**

**UNIVERSITY OF CRETE  
MEDICAL SCHOOL  
November, 2016**

**Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στο**

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
Εργαστήριο Κλινικής Βακτηριολογίας,  
Παρασιτολογίας, Ζωνόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής.  
Ηράκλειο, Κρήτη, Ελλάδα.**

**Υποψήφιος Διδάκτορας Μάριος Λιασίδης**  
**7-9 Αντισθένους**  
**3086 Λεμεσός, Κύπρος**  
**Τηλ.:00357 25381277 email:m.liassides@cytanet.com.cy**

**ΤΡΙΜΕΛΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ**

**Επ. Καθ. κ. Μαρία Αντωνίου ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ**  
**Επικ. Καθ. κ. Διαμαντής Κοφτερίδης**  
**Αναπλ. Καθ. κ. Εμμανουήλ Γαλανάκης**

**Αφιερώνω την εργασία αυτή στους γονείς μου**  
**τη γυναίκα μου**  
**τα παιδιά μου**

# 1. Περιεχόμενα

1. Περιεχόμενα .....	4
2. Πίνακας Συντμήσεων.....	7
3. Μονάδες μέτρησης .....	8
4. Ευρετήριο Εικόνων .....	9
5. Ευρετήριο Πινάκων.....	11
6. Ευχαριστίες .....	12
7. Εφταμελής εξεταστική επιτροπή.....	14
8. Σύντομο βιογραφικό σημείωμα υποψήφιου .....	15
9. Στόχος του ερευνητικού έργου.....	18
10. Σύνοψη του ερευνητικού έργου .....	19
11. Abstract .....	21
12. Σημασία του ερευνητικού έργου .....	22
13. Εισαγωγή.....	23
13.1 Το Παράσιτο <i>Toxoplasma gondii</i> .....	23
13.2 Ανακάλυψη του Παρασίτου <i>Toxoplasma gondii</i> .....	25
13.3 Ξενιστές του Παρασίτου <i>Toxoplasma gondii</i> .....	26
13.4 Μορφές του Παρασίτου <i>Toxoplasma gondii</i> .....	26
13.5 Κύκλος Ζωής του Παρασίτου <i>Toxoplasma gondii</i> .....	32
13.6 Μόλυνση από το Παράσιτο <i>Toxoplasma gondii</i> .....	37
13.7 Η Νόσος τοξοπλάσμωση.....	41
13.8 Επιδημιολογία της τοξοπλάσμωσης .....	43
13.9 Η τοξοπλάσμωση ανά το παγκόσμιο.....	46
13.10 Η Τοξοπλάσμωση στην Ελλάδα.....	47

13.11	Η τοξοπλάσμωση στην Κύπρο.....	49
13.12	Ομάδες Υψηλού Κινδύνου και επιπτώσεις από την τοξοπλάσμωση .....	50
13.13	Τοξοπλάσμωση και εγκυμοσύνη.....	52
13.14	Αίτια - Παράγοντες κινδύνου .....	58
13.15	Εργαστηριακή Διάγνωση του παρασίτου <i>Toxoplasma gondii</i> .....	59
13.16	Πρόληψη.....	62
14.	Μεθοδολογία .....	64
14.1	Περιοχή μελέτης .....	64
14.2	Ηθικά ζητήματα .....	64
14.3	Επαφή με τα Λύκεια .....	66
14.4	Ενημέρωση μαθητών / μαθητριών και των γονέων τους.....	67
14.5	Εξασφάλιση συγκατάθεσης μαθητριών και γονέων/κηδεμόνων τους.....	67
14.6	Αιμοληψία και συμπλήρωση ερωτηματολογίου .....	68
14.7	Το ερωτηματολόγιο .....	68
14.8	Ορολογικός έλεγχος των δειγμάτων με τη μέθοδο ELISA .....	69
14.9	Μοριακή τεχνική, PCR, καλλιέργεια του παράσιτου .....	70
14.10	Γνωστοποίηση ορολογικών αποτελεσμάτων στους ενδιαφερόμενους.....	70
14.11	Ορολογικά, έναντι του Τοξοπλάσματος, αποτελέσματα εγκύων.....	71
14.12	Οροεπιδημιολογική μελέτη σε αιγοπρόβατα .....	72
14.13	Στατιστική ανάλυση και χαρτογράφηση των αποτελεσμάτων.....	72
15.	Αποτελέσματα .....	74
15.1	Αποτελέσματα ορολογικών εξετάσεων μαθητριών 16-18 ετών .....	74
15.2	Αποτελέσματα ορολογικών εξετάσεων εγκύων .....	79
15.3	Αποτελέσματα ορολογικών εξετάσεων αιγοπροβάτων.....	81

15.4	Αποτελέσματα τρωκτικών.....	83
15.5	Συνολικά ορολογικά αποτελέσματα μελέτης.....	85
15.6	Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων .....	87
16.	Συζήτηση.....	91
17.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	103
18.	Παραρτήματα.....	112
18.1	Αίτηση προς Επιτροπή Βιοηθικής Κύπρου.....	112
18.2	Απόφαση Επιτροπής Βιοηθικής Κύπρου .....	113
18.3	Αίτηση προς Υπουργείο Παιδείας Κύπρου .....	115
18.4	Απάντηση Υπουργείου Παιδείας .....	117
18.5	Ενημερωτικό υλικό για Λύκεια .....	118
18.6	Επιστολή στον/στην διευθυντή/τρια Λυκείου .....	122
18.7	Έντυπο συγκατάθεσης μαθήτριας για αιμοληψία .....	123
18.8	Ερωτηματολόγιο: μαθητριών Λυκείου .....	124
18.9	Απάντηση προς οροθετική μαθήτρια με τα εργαστηριακά ευρήματα.....	127
18.10	Απάντηση προς οροαρνητική μαθήτρια .....	128
	με τα εργαστηριακά ευρήματα.....	128
18.11	Στοιχεία αιγοπροβάτων .....	130
18.12	Δημοσίευση εργασίας στο θέμα της διατριβής.....	132

## 2. Πίνακας Συντμήσεων

<b>Σύντμηση</b>	<b>Περιγραφή</b>
Ab	Antibody
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CO <sub>2</sub>	Carbon dioxide
ddH <sub>2</sub> O	Double-distilled water
dH <sub>2</sub> O	Distilled water
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DNTPs	Deoxynucleotides
FBS	Fetal Bovine Serum
FITC	Fluorescein Isothiocyanate
GIS	Geographic Information System
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
<i>in vitro</i>	Μελέτη που πραγματοποιείται εκτός ζωντανού οργανισμού
KDa	KiloDalton
NaCl	Sodium Chloride
p	Propability
PBS	Phosphate Buffer Saline
RNA	Ribonucleic Acid
RPMI	Roswell Park Memorial Institute medium
RT	Θερμοκρασία δωματίου
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
WHO	World Health Organisation
x <sup>2</sup>	Chi-square

### 3. Μονάδες μέτρησης

Σύντμηση	Περιγραφή
%	Ποσοστό επί τοις εκατό
°C	Βαθμός θερμοκρασίας της κλίμακας Celsius
cm	Centimeter
gr	Gram
IU	International Unit
mg	Milligram
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
nm	Nanometer
μg	Microgram
μl	Microliter



## 4. Ευρετήριο Εικόνων

Εικόνα	Τίτλος	σελίδα
1.	Σχηματική αναπαράσταση ταχυζωιδίου του παράσιτου <i>Toxoplasma gondii</i> όπου φαίνεται η εσωτερική δομή και τα οργάνια του πρωτόζωου οργανισμού.	24
2.	Scanning electron microscopy των ταχυζωιδίων του <i>Toxoplasma gondii</i> .	24
3.	Ψευδοκύστη σε ιστό που περιέχει βραδυζωΐδια του <i>Toxoplasma gondii</i> .	27
4.	Το παράσιτο <i>Toxoplasma gondii</i> σε κύτταρα πνεύμονα γουρουνιού.	27
5.	α) Εμβρυοφόρες ωκύστες Τοξοπλάσματος από κόπρانا γάτας. β) Εμβρυοφόρες και άωρες ωκύστες Τοξοπλάσματος από κόπρانا γάτας.	28
6.	Τρόπος μετακίνησης των Apicomplexa, όπως το <i>T. gondii</i> .	30
7.	Ο κύκλος ζωής του παρασίτου <i>Toxoplasma gondii</i> .	33
8.	Οι μολυσματικές μορφές του <i>T. gondii</i> .	36
9.	Τύποι <i>Toxoplasma gondii</i> στην Ευρώπη και την Ανατολική Μεσόγειο.	39
10.	Η διείσδυση του <i>T. gondii</i> στο κύτταρο – ξενιστή.	40
11.	Γεωγραφική κατανομή Τοξοπλάσματος στα τρωκτικά στην Κύπρο το 2010.	50
12.	Πιθανότητα διαπλακουντικής μετάδοσης του <i>T. gondii</i> κατά τη διάρκεια της κύησης και μόλυνσης του νεογνού και πρόκλησης συγγενών ανωμαλιών.	53
13.	Υπολογισμός πιθανού κινδύνου διαπλακουντικής μετάδοσης και πρόκλησης σοβαρών συγγενών ανωμαλιών από το <i>T. gondii</i> κατά τη διάρκεια της κύησης, ανάλογα με το στάδιο της κύησης κατά το οποίο συντελέστηκε η μόλυνση της εγκύου.	54

14.	Κινητική παραγωγής αντισωμάτων μετά από μόλυνση με <i>T. gondii</i> .	55
15.	Παρακολούθηση και χειρισμός εγκύου για αποφυγή συγγενούς τοξοπλάσμωσης.	61
16.	Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη. Οι κουκίδες αναφέρονται στις πόλεις και στα χωριά κατοικίας των μαθητριών.	66
17.	Ο τίτλος του τεστ IgG avidity, αυξάνεται χρονικά μετά τη λοίμωξη.	74
18.	Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη και τα Λύκεια στα οποία φοιτούσαν.	76
19.	Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη (κουκίδες) και το ποσοστό οροθετικότητας των μαθητριών που εξετάστηκαν ανά επαρχία (πίτες).	78
20.	Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη (κουκίδες) και το ποσοστό οροθετικότητας των εγκύων γυναικών που εξετάστηκαν ανά επαρχία (πίτες) κατά τα έτη 2009-2011.	81
21.	Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη (κουκίδες) και το ποσοστό οροθετικότητας των αιγοπροβάτων που εξετάστηκαν ανά επαρχία (πίτες).	83
22.	Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη (κουκίδες) και το ποσοστό οροθετικότητας των τρωκτικών που εξετάστηκαν ανά επαρχία (πίτες).	84
23.	Αποτελέσματα οροθετικότητας έναντι του <i>Toxoplasma gondii</i> , για τα 1,056 κορίτσια που εξετάστηκαν την χρονική περίοδο 2009-2011 σε σχέση με τα αποτελέσματα οροθετικότητας των εγκύων γυναικών, των προβάτων και κατσικιών και των τρωκτικών στις πέντε επαρχίες της Κύπρου.	86
24.	Νεογνό με συγγενή τοξοπλάσμωση	93

## 5. Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας	Τίτλος	σελίδα
1.	Τα Λύκεια από όλη την Κύπρο που πήραν μέρος στη μελέτη.	65
2.	Οροθετικότητα έναντι του Τοξοπλάσματος, μαθητριών 16-18 ετών, στις πέντε επαρχίες της Κύπρου.	75
3.	Η οροθετικότητα, έναντι του Τοξοπλάσματος, μαθητριών (16-18 ετών), στα δεκαοκτώ Λύκεια που πήραν μέρος στη μελέτη.	77
4.	Οροθετικότητα έναντι του Τοξοπλάσματος, εγκύων, στις πέντε επαρχίες της Κύπρου.	80
5.	Οροθετικότητα έναντι του Τοξοπλάσματος, προβάτων και κατσικιών, στις πέντε επαρχίες της Κύπρου.	82
6.	Συνολικά αποτελέσματα οροθετικότητας έναντι του <i>Toxoplasma</i> .	85
7.	Οροθετικότητα έναντι του Τοξοπλάσματος, μαθητριών 16-18 ετών, σύμφωνα με τις διατροφικές τους συνήθειες.	89-90

## 6. Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες προς την επιβλέπουσα, Επίκουρο Καθηγήτρια Παρασιτολογίας κυρία Μαρία Αντωνίου, για την καθοδήγηση και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε όλα αυτά τα χρόνια.

Ειδικά θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου και την ευγνωμοσύνη μου στην Βασιλική Χριστοδούλου, Κτηνιατρικό Λειτουργό DVM, PhD των Κτηνιατρικών Υπηρεσιών Κύπρου, για την πολύτιμη βοήθειά της στα Γεωγραφικά Συστήματα Πληροφόρησης αλλά και για την βοήθειά της στην οργάνωση της δειγματοληψίας προβάτων και αιγών, την εξέταση των δειγμάτων, την επεξεργασία και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων στα ζώα.

Ευχαριστώ ειλικρινά τις ιατρούς Μαρία Θωμά, Άντρη Ευριπίδου, Άλκηστη Βίκτωρος, Σοφία Κυρατζή, Μαρία Βαλτούδη και Γεωργία Λαού, το χημικό Γιώργο Μιπή, τους βιολόγους Σάββα Ζάκο και Έλενα Ηλιάδου, τις νοσηλεύτριες Μαρία Καλημέρα, Λουμίλα Μπορόβοβα, Λι Τονκ, και Μαντώνα Τσιλίδου, τον δάσκαλο Κλείτο Καλημέρα και την γραμματέα μου Μαρία Ανδρέου Stephenson, τους κτηνιάτρους που βοήθησαν στις δειγματοληψίες προβάτων και αιγών για την συνεργασία και το έργο τους, που χωρίς αυτούς η εκπόνηση του έργου θα ήταν αδύνατη. Είμαι επίσης ευγνώμων σε όλες τις καθηγήτριες/ές βιολογίας και στις διευθύντριες/ές των Λυκείων (Φρέϊτα Τερζιάν, Σταύρο Γρηγορίου, Ανδρέα Σοφοκλέους, Δημήτρη Δημητριάδη, Ροδούλα Αβραάμ, Σάββα Κόκκινο, Μαρίκα Δημητρίου, Άννα Φιλίππου, Έλενα Κωνσταντίνου, Ανδρονίκη Κλώνη, Δημήτριο Παπανεάρχου, Στέλλα Πετράκη, Σωτηρούλα Κωνσταντίνου, Σωτήρη Φλουρή, Άντρη Μαυρουδή, Μέλια Παπαδοπούλου, Θεοχάρη Μασούρα, Νίκη Μεσαρίτη, Στέλλα Μάρκου, Σταύρο Τσαγγαρίδη, Μαρία Σκούρου, Μαρία Χατζηγιάννη, Φρόσω Παπαγεωργίου, Μαρία Ιασονίδου, Πάτερ Ισαάκ, Γεωργία Χατζηγέρου, Μέλπω Μουαίμη και Άννα Σεργίου) που βοήθησαν στην οργάνωση της ενημέρωσης των μαθητριών και μαθητών αλλά και των γονέων τους για το έργο μας και στη βοήθειά τους κατά τη διάρκεια των δειγματοληψιών από τις μαθήτριες. Βέβαια, και στους συλλόγους γονέων των σχολείων χρωστώ ένα μεγάλο ευχαριστώ για τη στήριξη και βοήθειά τους αλλά και τη θετική και θερμή υποδοχή μας στις βραδινές συναντήσεις που διοργάνωσαν και μας έδωσαν την ευκαιρία να τους ενημερώσουμε.

Διδακτορική Διατριβή Μάριου Λιασίδα, 2016

Όμως, θέλω να ευχαριστήσω με όλη μου την καρδιά τα κορίτσια που πήραν μέρος στη μελέτη και να τους ευχηθώ ένα λαμπρό και επιτυχημένο μέλλον και εγκυμοσύνες ασφαλείς από το Τοξόπλασμα.

Θα ήταν παράλειψή μου, να μην ευχαριστήσω στους κτηνιάτρους Μιχάλη Παπαπροδρόμου και Απόστολο Μαζέρη για τη χορήγηση των αποτελεσμάτων της υπηρεσίας τους, που αφορούσαν στις αποβολές των ζώων που οφείλονταν στο Τοξόπλασμα. Επίσης ευχαριστώ θερμά τις τεχνικούς Αντιγόνη Πέτρου, Ελένη Τσιντίδου και Κατερίνα Ελευθερίου για τη βοήθειά τους.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στην γυναίκα και τα παιδιά μου, που στάθηκαν δίπλα μου, με υπομονή και αγάπη, σε όλη τη διάρκεια της προσπάθειάς μου αυτής.

Και τέλος, ευχαριστώ τα S & M BIOHEALTH LABORATORIES και την Πολυκλινική Ζωοδόχου Πηγής για την χρηματοδότηση του ερευνητικού έργου.

## **7. Εφταμελής εξεταστική επιτροπή**

**Επ. Καθηγήτρια. κα Μαρία Αντωνίου ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ**

**Αναπλ. Καθηγητής. κ. Εμμανουήλ Γαλανάκης**

**Επ. Καθηγής. κ. Διαμαντής Κοφτερίδης**

**Αναπλ. Καθηγητής. κ. Ιωάννης Ματαλλιωτάκης**

**Ομότιμος Καθηγητής κ. Γεώργιος Κρεατσάς**

**Καθηγητής κ. Ευθύμιος Δεληγεώρογλου**

**Καθηγητής κ. Γεώργιος Γαλάζιος**

## 8. Σύντομο βιογραφικό σημείωμα υποψήφιου

<b>Όνομα:</b>	Μάριος Λιασίδης
<b>Ημερομηνία Γέννησης:</b>	03 <sup>η</sup> Ιουνίου, 1952
<b>Τόπος Γέννησης:</b>	Δρούσια, Πάφος, Κύπρος
<b>Υπηκοότητα:</b>	Κυπριακή
<b>Διεύθυνση:</b>	Εργασία: Αντισθένους 7 - 9 Κάψαλος, 3086 Λεμεσός Κύπρος Τηλέφωνο: +357-25-381277 Φαξ: +357-25-335128 Mobile: +357-99627750 Email: <a href="mailto:mliasides@yahoo.com">mliasides@yahoo.com</a> Οικία: Αντισθένους 7 - 9 Κάψαλος, 3086 Λεμεσός Κύπρος Τηλέφωνο: +357-25-338190
<b>Εκπαίδευση:</b>	Έγγαμος, πατέρας τεσσάρων παιδιών
<b>20/11/2007-σήμερα</b>	Υποψήφιος διδάκτορας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης
<b>1981-1986</b>	Ειδικότητα στη Μαιευτική και Γυναικολογία Νοσοκομείο, St' VitzentsHospital, Rheda Wiederbrück Νοσοκομείο, St' Sixtus Hospital, Haltern Westfahlen Δυτική Γερμανία Επιμελητής επί διαίτας στη διάρκεια της ειδικότητας
<b>1984</b>	Μικροχειρουργική (με υποτροφία) για ένα τετράμηνο Πειραματικό Ινστιτούτο Μικροχειρουργικής

Leuven, Βέλγιο

**1979-1980**

Παιδοχειρουργική Κλινική  
Νοσοκομείον Αγλαΐα Κυριακού  
Αθήνα, Ελλάδα  
Παθολογική και Χειρουργική Κλινική  
Γενικόν Νοσοκομείον Λευκωσίας, Κύπρος

**1972-1978**

Πτυχίο Ιατρικής  
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο  
Αθηνών,  
Ελλάδα

**1970-1972**

(Στρατιωτική Υπηρεσία)

**1964-1970**

1) Λιασίδειον Κολλέγιον Πάφου  
2) 7<sup>ο</sup> Παγκρατίου Αθηνών  
3) Ζωγράφειον Γυμνάσιον Αρρένων  
Αθηνών

**Γλώσσες:**

Ελληνικά, Αγγλικά, Γερμανικά

### **Άλλη Επαγγελματική Εκπαίδευση:**

Ενεργός Συμμετοχή σε Κυπροελλαδικά και Κυπριακά συνέδρια Γενικής Χειρουργικής, Μαιευτικής και Γυναικολογίας και Βιοϊατρικής Ηθικής.

Επίσης παρακολούθηση συνεδρίων άλλου ιατρικού ενδιαφέροντος.

### **Επαγγελματική σταδιοδρομία:**

**1987- μέχρι σήμερα** Μαιευτική και Γυναικολογία στο Ιδιόκτητο Ιδιωτικό Νοσοκομείο (Ζωοδόχου Πηγής) στη Λεμεσό. Στα πλαίσια της άσκησης της ειδικότητας μου της Μαιευτικής και Γυναικολογίας εφαρμόζω με επιτυχία τη Μικροχειρουργική και τις χειρουργικές ενδοσκοπικές μεθόδους λαπαροσκόπησης και υστεροσκόπησης.

Στον διαγνωστικό τομέα χρησιμοποιώ τις δυνατότητες της χρήσης υπερήχων και κολποσκόπησης.

Εξασφάλιση στα εργαστήρια του νοσοκομείου, πέραν των συμβατικών διαγνωστικών αναλύσεων, και της δυνατότητας χρήσης πρωτοποριακών μεθόδων μοριακής βιολογίας (PCR) για τη διάγνωση ιογενών και άλλων λοιμώξεων.

Διδακτορική Διατριβή Μάριου Λιασίδα, 2016



### **Συμμετοχή σε Επιστημονικές Εταιρείες ή Ιατρικούς Συλλόγους και άλλες Επιστημονικές Δραστηριότητες**

- 1) Πρόεδρος της Παγκύπριας Μαιευτικής και Γυναικολογικής Εταιρείας
- 2) Πρόεδρος της Κυπριακής Εταιρείας Παιδικής και Εφηβικής Γυναικολογίας
- 3) Μέλος του Εκτελεστικού Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Παιδικής & Εφηβικής Γυναικολογίας
- 4) Διορισμένο από την Κυβέρνηση Μέλος του Ενιαίου Φορέα Εξώδικης Επίλυσης Διαφορών Χρηματοοικονομικής Φύσης
- 5) Αντιπρόεδρος της Κολποσκοπικής Εταιρείας Κύπρου
- 6) Αντιπρόεδρος της Κυπριακής Εταιρείας Οστεοπόρωσης
- 7) Μέλος του Διοικητικού Συμβουλίου και Υπεύθυνος της Επιστημονικής Επιτροπής του Ιατρικού Συλλόγου Λεμεσού
- 8) Μέλος της Εθνικής Επιτροπής Βιοηθικής Κύπρου (2008-2015)

Συμμετοχή στην οργάνωση των πρώτων συνεδρίων Βιοϊατρικής Ηθικής στην Κύπρο στα πλαίσια της Ένωσης Ορθοδόξων Επιστημόνων Λεμεσού.

Οργάνωση ιατρικών συνεδρίων και εκπαιδευτικών σεμιναρίων που απευθύνονται σε όλες τις ιατρικές ειδικότητες σε επαρχιακή και παγκύπρια βάση.

Διαλέξεις σε μαθητές Γυμνασίων και Λυκείων που αφορούν την υγιεινή του σώματος και τις διαφυλικές σχέσεις.

Τακτική Ραδιοφωνική παρουσίαση ιατρικών θεμάτων.

## 9. Στόχος του ερευνητικού έργου

Στην Κύπρο, παρόλο που υπάρχουν πολλές μαρτυρίες μαιευτήρων, παιδιάτρων και μικροβιολόγων για προβλήματα στην εγκυμοσύνη λόγω Τοξοπλάσμωσης, δεν υπάρχουν επιστημονικά δεδομένα σχετικά με το θέμα. Έχουν καταγραφεί αρκετές αποβολές, από οροθετικές έναντι του παράσιτου γυναίκες, χωρίς να έχουν πραγματοποιηθεί εργαστηριακοί έλεγχοι για την εξακρίβωση εάν επρόκειτο για οξεία ή παλιά λοίμωξη και άρα πραγματικής πιθανότητας να είχε μολυνθεί το έμβρυο από το παράσιτο αυτό και να ευθυνόταν για την αποβολή.

Στόχος της μελέτης ήταν:

α) η σφαιρική αξιολόγηση της παρούσας κατάστασης στην Κύπρο όσον αφορά στην τοξοπλάσμωση

β) η ενημέρωση του κοινού, κυρίως της γενιάς που σύντομα θα φέρει στον κόσμο παιδιά, για τους κινδύνους από το Τοξόπλασμα ώστε να συμβάλει στην πρόληψη συγγενούς τοξοπλάσμωσης αλλά και στην αποφυγή αδικαιολόγητων τερματισμών κύησης, και

γ) η αξιολόγηση των τρόπων μόλυνσης του πληθυσμού από το Τοξόπλασμα. Για τους σκοπούς αυτούς, πραγματοποιήθηκαν ενημερωτικές ομιλίες σε Λύκεια σε παιδιά, καθηγητές αλλά και στους συλλόγους γονέων, για το θέμα της τοξοπλάσμωσης. Την ενημέρωση ακολούθησε επιδημιολογική μελέτη, σε όλη την Κύπρο, σε κορίτσια 16-18 ετών και σε αιγοπρόβατα (μια σημαντική οδός μόλυνσης του ανθρώπου από το παράσιτο). Τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με ορολογικά δεδομένα, των ίδιων ετών, εγκύων γυναικών από τα νοσοκομεία της χώρας, όπως και ορολογικών αποτελεσμάτων τρωκτικών, από μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2000-2003. Το σημαντικό θέμα ήταν ο εντοπισμός των πιθανών τρόπων επαφής των κατοίκων με το παράσιτο για τη διακοπή της επιδημιολογικής αλυσίδας της νόσου. Το ερωτηματολόγιο που συμπλήρωναν τα κορίτσια την ημέρα της αιμοληψίας είχε αυτό το σκοπό, να διερευνηθούν δηλαδή οι παράγοντες που βοηθούν την Κύπρια να έρθει σε επαφή με το παράσιτο.

## 10. Σύνοψη του ερευνητικού έργου

Το *Toxoplasma gondii*, ένα υποχρεωτικά ενδοκυττάριο πρωτόζωο παράσιτο, έχει μεγάλο αντίκτυπο στην υγεία ανθρώπων και ζώων, σε όλο τον κόσμο. Δύο ομάδες ατόμων βρίσκονται κατά κύριο λόγο σε υψηλό κίνδυνο για την τοξοπλάσμωση: έμβρυα, των οποίων οι μητέρες μολύνονται κατά τη διάρκεια της κύησης και ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς (ως επί το πλείστον με λοίμωξη HIV).

Αυτή είναι η πρώτη μελέτη της τοξοπλάσμωσης στον ανθρώπινο πληθυσμό και σε μικρά μηρυκαστικά που γίνεται στην Κύπρο, παρόλο που πιστεύεται ότι υπάρχουν επιπτώσεις από την παρασίτωση αυτή στην εγκυμοσύνη. Ο επιπολασμός σε μαθήτριες 16-18 χρονών βρέθηκε να είναι 6,5% (95% CI 4,3% έως 8,7%) ενώ σχεδόν τριπλασιάζεται σε γυναίκες κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας (19-38 ετών), και αγγίζει το 40.1% στα αιγοπρόβατα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ένα σημαντικό ποσοστό των γυναικών εμφανίζουν ορομετατροπή στην ευαίσθητη ηλικία των 19-38 ετών θέτοντας τα έμβρυα σε υψηλό κίνδυνο διαπλακουντειακής μετάδοσης και λοιπών συνεπειών, εάν η γυναίκα έρθει σε επαφή με το παράσιτο κατά τη διάρκεια της κύησης. Τα ποσοστά αυτά δηλώνουν την αναγκαιότητα εφαρμογής προγράμματος εκπαίδευσης σε θέματα υγείας. Τα μέτρα αυτά θα πρέπει να απευθύνονται στο μαθητικό κυρίως πληθυσμό και θα πρέπει να παρέχουν τις απαραίτητες πληροφορίες και κατάλληλα μέτρα υγιεινής που απαιτούνται σε σχέση με τις εξωτερικές δραστηριότητες και τη σωστή επεξεργασία των τροφίμων από τις νεαρές γυναίκες, για να αποφεύγεται η επαφή τους με το παράσιτο. Παράλληλα, ενθαρρύνοντας ή προσφέροντας δωρεάν τις απαραίτητες ορολογικές δοκιμασίες για την ανίχνευση λοίμωξης από το *T. gondii* πριν από την εγκυμοσύνη θα μειώσει τον κίνδυνο συγγενούς τοξοπλάσμωσης.

Η μελέτη διαπίστωσε ότι οι παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από τοξόπλασμα, σε κορίτσια νεαρής ηλικίας, βρέθηκε ότι σχετίζονται με τη διαμονή σε αγροτική περιοχή και τον τρόπο ζωής. Επίσης, η οροθετικότητα, έναντι του Τοξοπλάσματος, στις έγκυες γυναίκες και στα αιγοπρόβατα, συνδέεται με την περιοχή της κατοικίας. Το περιβάλλον στην Κύπρο ενδέχεται να είναι, σε μεγάλο βαθμό, μολυσμένο με ωκύστες του *T. gondii* γεγονός που επιβεβαιώνεται και από την υψηλή οροθετικότητα (27,9%) των τρωκτικών έναντι του Τοξοπλάσματος

και από το ότι ένας μεγάλος πληθυσμός γάτων (δεσποτιζόμενων και αδέσποτων) βρίσκεται σε αγροτικές και αστικές περιοχές οι οποίες, γάτες, χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των τρωκτικών. Οι γάτες, ο μοναδικός τελικός ξενιστής του παράσιτου, όταν μολυνθούν ελευθερώνουν ωκύστες με τα κόπρανά τους μολύνοντας το περιβάλλον (νερό, έδαφος, λαχανικά και παραγωγικά και άγρια ζώα από τα οποία μολύνεται ο άνθρωπος και άλλα ζώα). Το γεγονός ότι οι κλιματολογικές και εδαφολογικές συνθήκες στο νησί ευνοούν την επιβίωση των ωκύστεων για μεγάλο χρονικό διάστημα, επιβαρύνει την κατάσταση.

Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να διερευνηθούν οι διαφορές μεταξύ των επαρχιών που οδηγούν σε διαφορετικά ποσοστά οροθετικότητας μεταξύ των ανθρώπων, μηρυκαστικών και τρωκτικών, ώστε να μπορούν να αναπτυχθούν πολιτικές, που θα βοηθήσουν στην πρόληψη της λοίμωξης και μείωση της περιβαλλοντικής μόλυνσης. Επιπλέον, ο έλεγχος των πληθυσμών των γατιών και τρωκτικών θα μειώσει την περιβαλλοντική μόλυνση. Παράλληλα, η κατάλληλη διαχείριση για τη διάθεση των ζωικών υποπροϊόντων των σφαγείων είναι απαραίτητη για να διασφαλιστεί η εξάλειψη των πιθανών απειλών για τη δημόσια υγεία, την σωστή διαβίωση των ζώων και του περιβάλλοντος.

## 11. Abstract

The protozoan parasite *Toxoplasma gondii* has a large impact on human and animal health, worldwide. Two groups of people are at high risk for toxoplasmosis: embryos, whose mothers become infected during gestation and immunosuppressed patients. This is the first study of toxoplasmosis in the human population and in small ruminants in Cyprus and the risk factors associated with the infection. Estimated seropositivity in 16-18 year old female students was 6.5% which nearly tripled in women 19-38 years old, placing the embryos at high risk for transplacental transmission and sequelae if their mothers seroconvert during gestation. It was evident from the study that contamination of the environment by *Toxoplasma oocysts* is huge and oocyst survival is favored by climatic conditions: a big population of free-roaming cats is present; high seropositivity in the rodent (27.9%) and in the sheep and goat (40.1%) populations was recorded. The risk factors for infection of young girls appeared to be rural living and human practices. Health education, especially in the young generation is very important and cost effective for preventing infection and controlling cat and rodent populations will reduce environmental contamination, essential for the elimination of potential threats to public health and animal welfare.

## 12. Σημασία του ερευνητικού έργου

Το έργο αυτό, για πρώτη φορά μελετά την επιδημιολογική εικόνα της τοξοπλάσμωσης, μιας πολύ σημαντικής παρασίτωσης στην Κύπρο. Προσπαθεί να εξετάσει την ηλικία και τον τρόπο με τον οποίο το παράσιτο έρχεται σε επαφή με τον πληθυσμό, στο νησί. Η Κύπρος αποτελεί ένα σημαντικό χώρο επιδημιολογικής μελέτης μια και αποτελεί ένα κλειστό οικοσύστημα με σταθερούς παράγοντες που εμπλέκονται στην επιδημιολογική αλυσίδα νόσων.

Υπάρχουν προφορικές μαρτυρίες από γυναικολόγους και παιδίατρους στην Κύπρο για προβλήματα σε εγκυμοσύνες και νεογνά που σχετίζονται με λοίμωξη από Τοξόπλασμα. Παρόλα αυτά, η τοξοπλάσμωση στον ανθρώπινο πληθυσμό, καθώς και στους τρόπους με τους οποίους μολύνονται οι άνθρωποι δεν είχε μελετηθεί ποτέ ώστε να μπορεί να επέμβει η πολιτεία καθοδηγητικά για την πρόληψη περιστατικών που θα οδηγούσαν σε συγγενείς λοιμώξεις με κοινωνικές και οικονομικές συνέπειες.

Η μελέτη αυτή σκοπό είχε την πληροφόρηση του ευαίσθητου πληθυσμού του νησιού (άτομα νεαρής ηλικίας τα οποία αναμένεται ότι σύντομα θα κυοφορήσουν) για τους τρόπους μετάδοσης του παράσιτου στον άνθρωπο και τα προβλήματα τα οποία μπορεί να προκύψουν από οξεία λοίμωξη από Τοξόπλασμα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.

Τα πορίσματα της μελέτης έδειξαν ότι η πληροφόρηση σε άτομα αυτής της ηλικίας είναι σκόπιμη, μια και ένα σημαντικό ποσοστό των γυναικών εμφανίζουν ορομετατροπή, έναντι του τοξοπλάσματος, στην ευαίσθητη, για την αναπαραγωγή, ηλικία των 19-38 ετών.

Η γνώση που προέκυψε από την μελέτη, όσον αφορά στους παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από το Τοξόπλασμα, προσφέρει σημαντικές πληροφορίες για τους τρόπους με τους οποίους μπορεί να αποφευχθεί η παρασίτωση, τρόποι οι οποίοι γνωστοποιήθηκαν στα Υπουργεία Υγείας και Παιδείας.

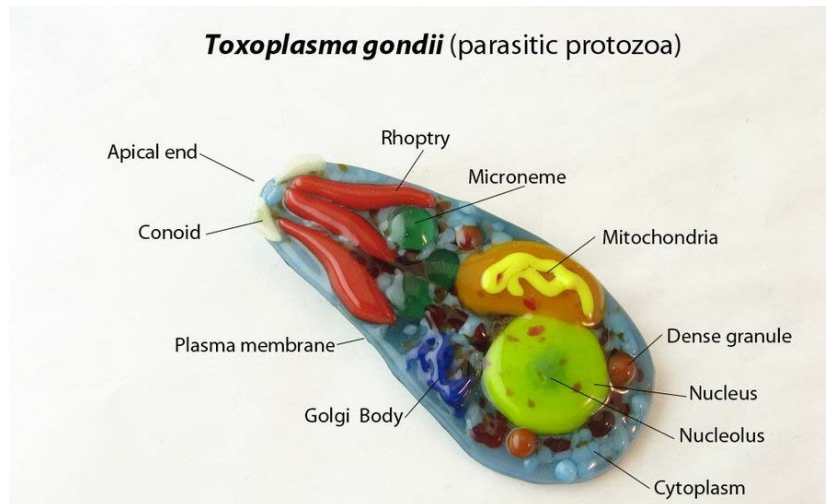
## 13. Εισαγωγή

### 13.1 Το Παράσιτο *Toxoplasma gondii*

Το *T. gondii* ανήκει στο βασίλειο των Eukaryotae, φύλο Apicomplexa, ομοταξία Coccidia, τάξη Eimeriida, οικογένεια Sarcocystidae και γένος *Toxoplasma* (Levine et al., 1980) και το όνομά του περιγράφει τη μορφή του σώματός του: Τόξο-πλάσμα (Εικόνα 1, 2).

Το *T. gondii* είναι ένα ευρέως διαδεδομένο κοκκιδιακό πρωτοζωικό παράσιτο ανθρώπων και ζώων (Levine et al., 1980). Είναι ευκαιριακό παθογόνο, άρα δεν προκαλεί σοβαρή νόσο, παρά, κάτω από συνθήκες ανοσοκαταστολής. Θεωρείται ένα από τα πιο σημαντικά ζωονοσικά παράσιτα που μολύνουν τον άνθρωπο (Hill, Chirukandoth & Dubey, 2005). Είναι υποχρεωτικό ενδοκυττάριο παράσιτο και προσβάλλει όλα σχεδόν τα κύτταρα του διάμεσου ξενιστή του (και του ανθρώπου). Χρησιμοποιεί τη γάτα (και όλα τα μέλη της οικογένειας των Αιλουροειδών) σαν τελικό ξενιστή, όπου δηλαδή αναπαράγεται σεξουαλικά. Το *T. gondii* είναι το μοναδικό γνωστό είδος του γένους *Toxoplasma* (Levine et al., 1980). Ουσιαστικά μολύνει όλα τα είδη ζώων: φυτοφάγα, παμφάγα, σαρκοφάγα αλλά ακόμα και αρθρόποδα μπορεί να μεταφέρουν μηχανικά τις μολυσματικές ωκύστες του, βοηθώντας στην γεωγραφική εξάπλωσή του.

Επιπλέον, το παράσιτο αυτό έχει σημαντική οικονομική βαρύτητα παγκοσμίως αφού προκαλεί αποβολές σε κτηνοτροφικά ζώα, όπως τα πρόβατα (Dubey and Beattie, 1998), τα κατσίκια (Dantas de Medeiros et al., 2014) και τα άλογα (Güçlü et al., 2007).



**Εικόνα 1.** Σχηματική αναπαράσταση ταχυζωιδίου του παράσιτου *Toxoplasma gondii* όπου φαίνεται η εσωτερική δομή και τα οργανίδια του πρωτόζωου οργανισμού. Το σχήμα, σαν τόξο, τού δίνει και το όνομά του ([by trilobiteglassworks Watch. Artisan Crafts / Glass / Ornaments & Objects](http://www.trilobiteglassworks.com)©2013-2015 trilobiteglassworks).



**Εικόνα 2.** Τα ταχυζωίδια του *Toxoplasma gondii*. (Scanning electron microscopy. Διαθέσιμο στο δικτυακό τόπο: <http://princessplasmid.tumblr.com/>)



## 13.2 Ανακάλυψη του Παρασίτου *Toxoplasma gondii*

Η ανακάλυψη του παρασίτου *T. gondii* έγινε ταυτόχρονα από δυο ερευνητικά ιδρύματα. Συγκεκριμένα, η ανακάλυψή του πραγματοποιήθηκε στο Ίδρυμα Pasteur της Τυνησίας το 1908 από τους Nicole & Manceaux ερευνώντας το άγριο τρωκτικό *Ctenodactylous gondis* και την ίδια χρονιά στη Βραζιλία από τον Splendore ο οποίος μελετούσε στο εργαστήριο ένα κουνέλι (Ferguson, 2009· Kim & Weiss, 2008). Το όνομα του γένους *Toxoplasma* προέρχεται από την ελληνική λέξη τόξο και πλάσμα, το οποίο αναφέρεται στο τοξοειδές σχήμα των εξωκυτταρικών μορφών του παρασίτου όπως παρουσιάζονται in vitro (Εικόνα 2), ενώ το όνομα του είδους *gondii* προέρχεται από το τρωκτικό στο οποίο πρωτοανακαλύφθηκε (Ferguson, 2009· Kim & Weiss, 2008). Οι δύο ονομασίες *Toxoplasma* και *gondii* προτάθηκαν από τους Nicole & Manceaux το 1909 (Ferguson, 2009).

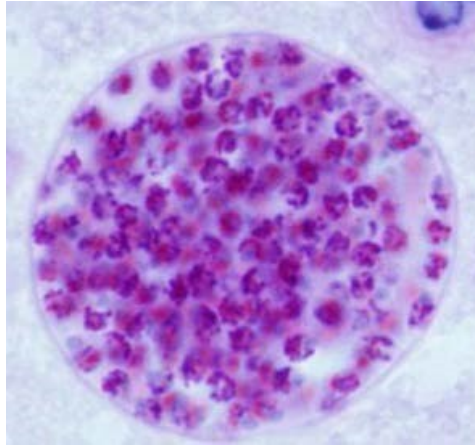
Το *T. gondii* απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1923 από τον Janku, σε αυτοψία, από τον αμφιβληστροειδή παιδιού (Ferguson, 2009). Οι Wolf, Cowen & Paige το 1939 κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το παράσιτο *T. gondii* είναι ένας σημαντικός παράγοντας νόσου για τον άνθρωπο (Weiss & Dubey, 2009). Τη δεκαετία 1960 και 1970 επιβεβαιώθηκε και προσδιορίστηκε ότι το *T. gondii* αποτελεί ένα κοκκιδιακό παράσιτο (Kim & Weiss, 2008). Επίσης, τη δεκαετία του 1970 επισημάνθηκε από πολλούς ερευνητές, όπως οι Dubey και Frenkel, οι οποίοι εργάζονταν ανεξάρτητα, ότι η γάτα αποτελεί τον τελικό ξενιστή του παρασίτου *T. gondii* (Kim & Weiss, 2008).

### 13.3 Ξενιστές του Παρασίτου *Toxoplasma gondii*

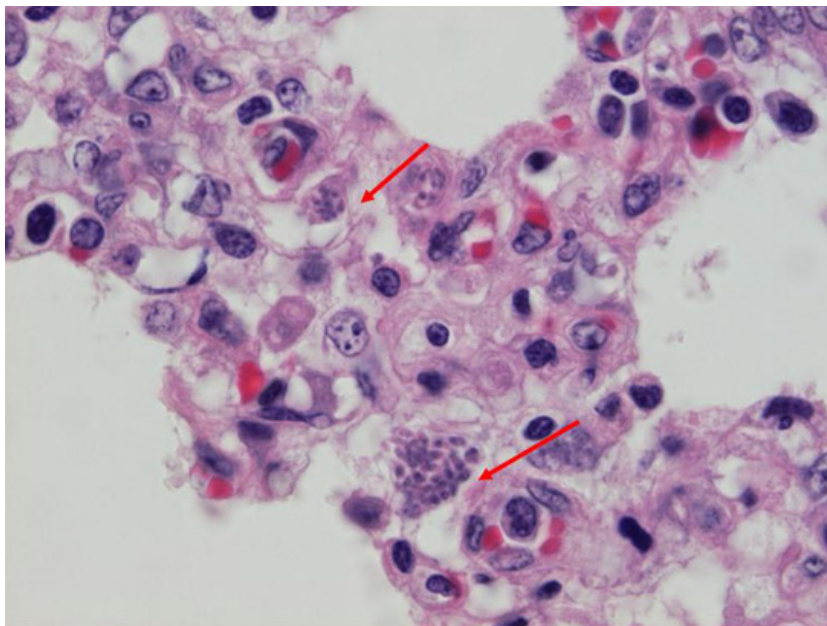
Ξενιστές ονομάζονται οι οργανισμοί οι οποίοι φιλοξενούν το παράσιτο. Ως τελικός ξενιστής, ορίζεται αυτός στον οποίο γίνεται ο σεξουαλικός πολλαπλασιασμός του παρασίτου και για το *T. gondii* είναι η γάτα και άλλα μέλη της οικογένειας Felidae (η γάτα και η οικογένειά της). Ενδιάμεσοι ξενιστές είναι όλα τα άλλα είδη ζώων, μαζί και ο άνθρωπος, στα οποία όμως δε γίνεται εγγενής πολλαπλασιασμός του παρασίτου (Frenkel, 1973).

### 13.4 Μορφές του Παρασίτου *Toxoplasma gondii*

Υπάρχουν τρία στάδια στον βιολογικό κύκλο του παρασίτου *T. gondii*. Και τα τρία είναι μολυσματικά για τον άνθρωπο: α) τα ταχυζωΐδια, τα οποία πολλαπλασιάζονται με γρήγορους ρυθμούς και τα οποία εισβάλλουν στα κύτταρα του ξενιστή, μολύνοντάς τα (Εικόνα 1,2), β) τα βραδυζωΐδια, τα οποία πολλαπλασιάζονται με πολύ αργούς ρυθμούς και τα οποία βρίσκονται προφυλαγμένα σε ψευδοκύστες σε ιστούς του ξενιστή (Εικόνα 3,4), και γ) τα σποροζωΐδια, τα οποία βρίσκονται στο περιβάλλον προστατευμένα στην ωοκύστη (Εικόνα 5). Τα ταχυζωΐδια είναι το στάδιο το οποίο πετυχαίνει τη διασπορά του παρασίτου στον ξενιστή, ικανό να μολύνει όλα τα είδη εμπύρηνων κυττάρων. Μέσα στα κύτταρα πολλαπλασιάζεται μέσα σε κενοτόπια.

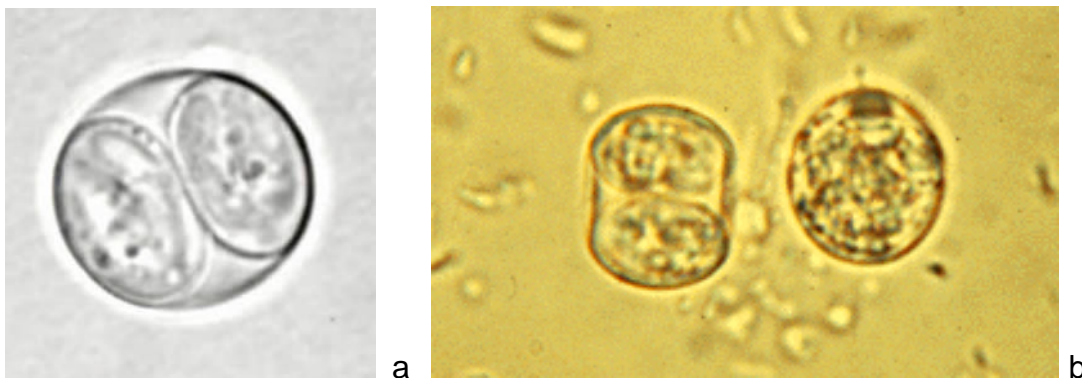


**Εικόνα 3.** Ψευδοκύστη σε ιστό που περιέχει βραδυζωίδια του *Toxoplasma gondii*. Μικροσκόπιο φωτός μετά από χρώση Giemsa (Διαθέσιμο στο δικτυακό τόπο: <http://scitechdaily.com/microscopic-parasite-toxoplasma-gondii-linked-to-personality-changes/>).



**Εικόνα 4.** Το παράσιτο *Toxoplasma gondii* σε κύτταρα πνεύμονα γουρουνιού. Μικροσκόπιο φωτός μετά από χρώση Giemsa. Τα κόκκινα βέλη υποδεικνύουν ψευδοκύστες του *Toxoplasma gondii* που περιέχουν βραδυζωίδια. (Διαθέσιμο στο δικτυακό τόπο: <http://scitechdaily.com/microscopic-parasite-toxoplasma-gondii-linked-to-personality-changes/>).

Σεξουαλική αναπαραγωγή του παράσιτου πραγματοποιείται μόνο στη γάτα και στα άλλα αιλουροειδή, στον εντερικό σωλήνα των οποίων παράγονται οι ωκύστες (Εικόνα 5) που ελευθερώνονται με τα κόπρανά τους στο περιβάλλον, μολύνοντάς το. Μολυσμένες γάτες μπορούν να ελευθερώσουν περισσότερες από 100 εκατομμύρια ωκύστες, αλλά μόνο μια φορά στη ζωή τους (Dubey JP, Frenkel JK), όταν μολυνθούν για πρώτη φορά τρώγοντας μολυσμένα ποντίκια, πουλιά ή όχι καλά ψημένο κρέας. Ωστόσο, κατά το διάστημα των 2-3 εβδομάδων κατά το οποίο αποβάλλονται οι ωκύστες, εκατοντάδες εκατομμύρια ωκύστες μολύνουν το περιβάλλον, στο οποίο μπορούν να επιβιώσουν μέχρι και 2 χρόνια. Μία, λοιπόν, και μόνο μολυσμένη γάτα, αποτελεί σοβαρό κίνδυνο για όλα τα θερμόαιμα ζώα στην περιοχή όπου ζει, αλλά και στην ευρύτερη περιοχή γιατί η βροχή μπορεί να μεταφέρει τις ωκύστες σε ποτάμια και λίμνες, που το νερό τους χρησιμοποιείται για ύδρευση και έτσι να φτάσει στο ποτήρι μας, μιας και οι ωκύστες δε σκοτώνονται από το χλώριο και δεν κατακρατούνται από τα συνηθισμένα φίλτρα νερού (Weiss & Kim, 2014).



**Εικόνα 5.** a) Εμβρυοφόρες ωκύστες Τοξοπλάσματος από κόπρανα γάτας. ([www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Image\\_Library.htm](http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Image_Library.htm)). b) Εμβρυοφόρες και άωρες ωκύστες Τοξοπλάσματος από κόπρανα γάτας. <http://research.vet.upenn.edu/Hosts/Toxoplasma gondii/tabid/7808/Default.aspx>

Η άωρη ωκύστη, που αποβάλλεται με τα κόπρανα του τελικού ξενιστή στο περιβάλλον, περιέχει δύο ζυγωτά. Η ώριμη ωκύστη εξελίσσεται από την άωρη στο περιβάλλον, σε 2-3 ημέρες, και περιέχει 2 σποροκύστες, η καθεμιά από τις οποίες περιέχει 4 σποροζωΐδια (Εικόνα 5). Τα σποροζωΐδια είναι η μολυσματική μορφή του παράσιτου για τα θηλαστικά. Θα ελευθερωθούν από τις ωκύστες

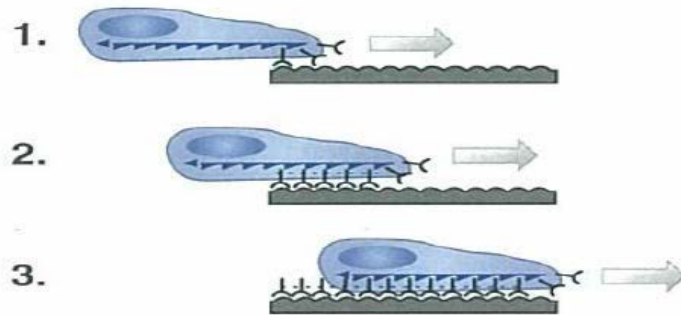
μετά από την κατάποση και θα εξελιχθούν σε ταχυζωΐδια τα οποία θα μολύνουν οποιοδήποτε κύτταρο του διάμεσου ξενιστή, θηλαστικού, και θα διασπαρθούν σε όλο το σώμα. Τέλος, η ψευδοκύστη του τοξοπλάσματος αναπτύσσεται μέσα σε μυϊκό, νευρικό και άλλους ιστούς του ενδιάμεσου ξενιστή (Εικόνα 3,4) και είναι αποτέλεσμα της πίεσης του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή (μέσω των αντισωμάτων). Κάθε μια περιέχει μέχρι και 60,000 μεροζωΐδια, που ονομάζονται επίσης κυστοζωΐδια ή βραδυζωΐδια. (Frenkel, 1973).

Τα βραδυζωΐδια αναπτύσσονται βραδέως (εξ ου και το όνομά τους) και παραμένουν ζωντανά στην ψευδοκύστη ακόμα και μετά το θάνατο του διάμεσου ξενιστή (για μερικές εβδομάδες), περιμένοντας να φαγωθεί από έναν άλλο ξενιστή (τελικό ή διάμεσο) για να συνεχίσει τον κύκλο ζωής του.

Έτσι, το *T. gondii* περιλαμβάνει τρεις μολυσματικές μορφές οι οποίες εμπλέκονται σε έναν πολύπλοκο κύκλο ζωής: τα *ταχυζωΐδια*, τα *βραδυζωΐδια* (ιστικές κύστες) και τα *σποροζωΐδια* (ωοκύστες) (Hill et al., 2005; Montoya & Liesenfeld, 2004).

Ο όρος *ταχυζωΐδιο* περιγράφει τη μορφή του παράσιτου η οποία πολλαπλασιάζεται γρήγορα μέσα σε σχεδόν οποιοδήποτε κύτταρο του ενδιάμεσου ξενιστή και στα επιθηλιακά κύτταρα του τελικού ξενιστή, τη γάτα. Τα ταχυζωΐδια έχουν διαστάσεις  $3 \times 7$  μm, έχουν σχήμα μισοφέγγαρου με μυτερό πρόσθιο άκρο καθώς και στρογγυλεμένο οπίσθιο άκρο (Εικόνα 1,2). Η υπερδομή του παρασίτου *T. gondii* περιλαμβάνει διάφορα οργανίδια και κυτταρικά έγκλειστα σωμάτια. Σε αυτά συμπεριλαμβάνονται το επίπαγο, οι κορυφαίοι δακτύλιοι, οι πολικοί δακτύλιοι, το κωνοειδές, οι rhoptries, τα micronemes, ο μικροπόρος, το μιτοχόνδριο, οι υπό - επίπαγοι μικροσωληνίσκοι, το αδρό και λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, το σύστημα Golgi, τα ριβοσώματα, ο πυρήνας, τα πυκνά κοκκία, τα κοκκία αμυλοπηκτίνης και ένα οργανίδιο περιβεβλημένο από πολλές μεμβράνες το οποίο μοιάζει με πλαστίδιο και ονομάζεται Golgi adjunct. Ο πυρήνας, ο οποίος βρίσκεται συνήθως κεντρικά του κυττάρου, περιέχει μάζες χρωματίνης και ένα κεντρικό πυρηνίδιο (Εικόνα 1). Επίσης, παρά το ότι το παράσιτο είναι ευκαρυωτικός οργανισμός και διαθέτει μιτοχόνδρια, ριβοσώματα και σύστημα Golgi, παραμένει ένα υποχρεωτικό ενδοκυτταρικό παράσιτο, απαιτώντας ενδοκυτταρικό περιβάλλον για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό του (Hill et al., 2005).

Τα ταχυζωΐδια του παρασίτου *T. gondii* κινούνται χρησιμοποιώντας έναν μηχανισμό όπως το πέλμα του τρακτέρ, ολισθαίνοντας, και ο ίδιος μηχανισμός επιτρέπει την ενεργό του είσοδο μέσα στα κύτταρα-ξενιστές (Εικόνα 6). Δεν υπάρχουν εμφανή οργανίδια κίνησης όπως βλέφαρα, μαστίγια, ή ψευδοπόδια που απαντώνται στα άλλα Πρωτόζωα.



**Εικόνα 6.** Τρόπος μετακίνησης των Apicomplexa, όπως το *T. gondii*. Από το Schaechter's Mechanisms of Microbial Disease, 2013, Wolters Kluwere, Fifth Edition.

Το βραδυζωΐδιο του *T. gondii* είναι η μορφή του παρασίτου η οποία πολλαπλασιάζεται αργά (βραδύ) μέσα σε ιστικές κύστες (Dubey, 2008). Η ιστική κύστη αναπτύσσεται μέσα στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου - ξενιστή, καθώς τα βραδυζωΐδια πολλαπλασιάζονται με ενδογένεια (Dubey et al., 1998).

Το μέγεθος των ιστικών κύστεων ποικίλει από διάμετρο 5  $\mu\text{m}$  σε νεαρές κύστες, οι οποίες περιέχουν μόνο δύο βραδυζωΐδια, μέχρι διάμετρο 70  $\mu\text{m}$  σε ώριμες κύστες οι οποίες περιέχουν εκατοντάδες βραδυζωΐδια (Dubey et al., 1998). Το τοίχωμα της ιστικής κύστης είναι ελαστικό και λεπτό, και περικλείει πολυάριθμα βραδυζωΐδια με μορφή μισοφέγγαρου, διαστάσεων περίπου  $1,5 \times 7 \mu\text{m}$  (Dubey et al., 1998) (Εικόνα 3). Αποτελείται από συνδυασμό υλικών του ξενιστή και του παρασίτου, και επικαλύπτεται από κοκκιώδες υλικό το οποίο γεμίζει και το κενό μεταξύ των βραδυζωΐδιων (Dubey et al., 1998). Οι ιστικές κύστες στον εγκέφαλο είναι συνήθως σφαιρικές και σπάνια φτάνουν τα 70  $\mu\text{m}$  σε διάμετρο, ενώ οι κύστες στους σκελετικούς μύες και το μυοκάρδιο είναι επιμήκεις, με μήκος μέχρι 100  $\mu\text{m}$  (Dubey et al., 1998) (Εικόνα 3).

Οι ωοκύστες του παρασίτου *T. gondii* περιέχουν τα σποροζωΐδια. Οι μη σπορώδεις ωοκύστες (άωρες) έχουν μάλλον σφαιρικό σχήμα, με διαστάσεις περίπου  $10 \times 12 \mu\text{m}$ . Επιπλέον, δεν περιέχουν πολικά κοκκία και το ζυγωτό σχεδόν γεμίζει την ωοκύστη. Κατά την έκκρισή τους στο περιβάλλον, οι ωοκύστες είναι μη μολυσματικές και απαιτείται σπορογονία ώστε να μετατραπούν σε μολυσματικές ωοκύστες οι οποίες είναι ελλειψοειδείς, με διαστάσεις  $11 \times 13 \mu\text{m}$ . Κάθε ωοκύστη περιέχει δύο ελλειψοειδείς σποροκύστες με διαστάσεις  $6 \times 8 \mu\text{m}$ , ενώ κάθε σποροκύστη περιέχει 4 σποροζωΐδια. Η ωοκύστη περικλείεται από μια μεμβράνη. Κατά τη σπορογονία, ο πυρήνας της ωοκύστης διαιρείται δύο φορές, δίνοντας 4 πυρήνες, ενώ δημιουργείται δεύτερη μεμβράνη. Μετά τη διαίρεση του κυτταροπλάσματος, σχηματίζονται δύο σφαιρικοί σποροβλάστες ο καθένας με δύο πυρήνες. Στη συνέχεια της σπορογονίας, οι σποροβλάστες επιμηκύνονται σχηματίζοντας τις σποροκύστες με διαστάσεις  $6 \times 8 \mu\text{m}$  (Εικόνα 5). Οι δύο εξωτερικές μεμβράνες των σποροβλαστών αποτελούν το εξωτερικό στρώμα του σποροκυστεϊκού τοιχώματος και η κυτταρική μεμβράνη της κυτταροπλασματικής μάζας αποτελεί το εσωτερικό στρώμα. Τελικά, δημιουργούνται 4 σποροζωΐδια μέσα σε κάθε σποροκύστη. (Hill et al., 2005).

Η σπορογονία ευνοείται από υψηλότερες θερμοκρασίες (2-3 ημέρες στους  $24^{\circ}\text{C}$ , και 14-21 ημέρες στους  $11^{\circ}\text{C}$ ), αλλά δε λαμβάνει χώρα κάτω από τους  $4^{\circ}\text{C}$  ή πάνω από τους  $37^{\circ}\text{C}$  (Tenter, Heckeroth & Weiss, 2000). Η βιωσιμότητα των ωοκύστεων παρατείνεται με την αυξημένη υγρασία, και σε υγρό χώμα μπορούν να επιβιώσουν μέχρι 24 μήνες, δημιουργώντας μια δεξαμενή για τους ενδιάμεσους ξενιστές (Tender et al., 2000). Σε εργαστηριακές συνθήκες, οι σπορώδεις ωοκύστες έχουν επιβιώσει στους  $4^{\circ}\text{C}$  μέχρι 54 μήνες, και στους  $-10^{\circ}\text{C}$  για 106 ημέρες (Tender et al., 2000). Παρά το γεγονός αυτό, σκοτώνονται μέσα σε 1-2 λεπτά σε θερμοκρασία  $55-60^{\circ}\text{C}$ , ενώ λόγω της αδιαπερατότητας τους είναι ανθεκτικές στα συνήθη απολυμαντικά (Tender et al., 2000).

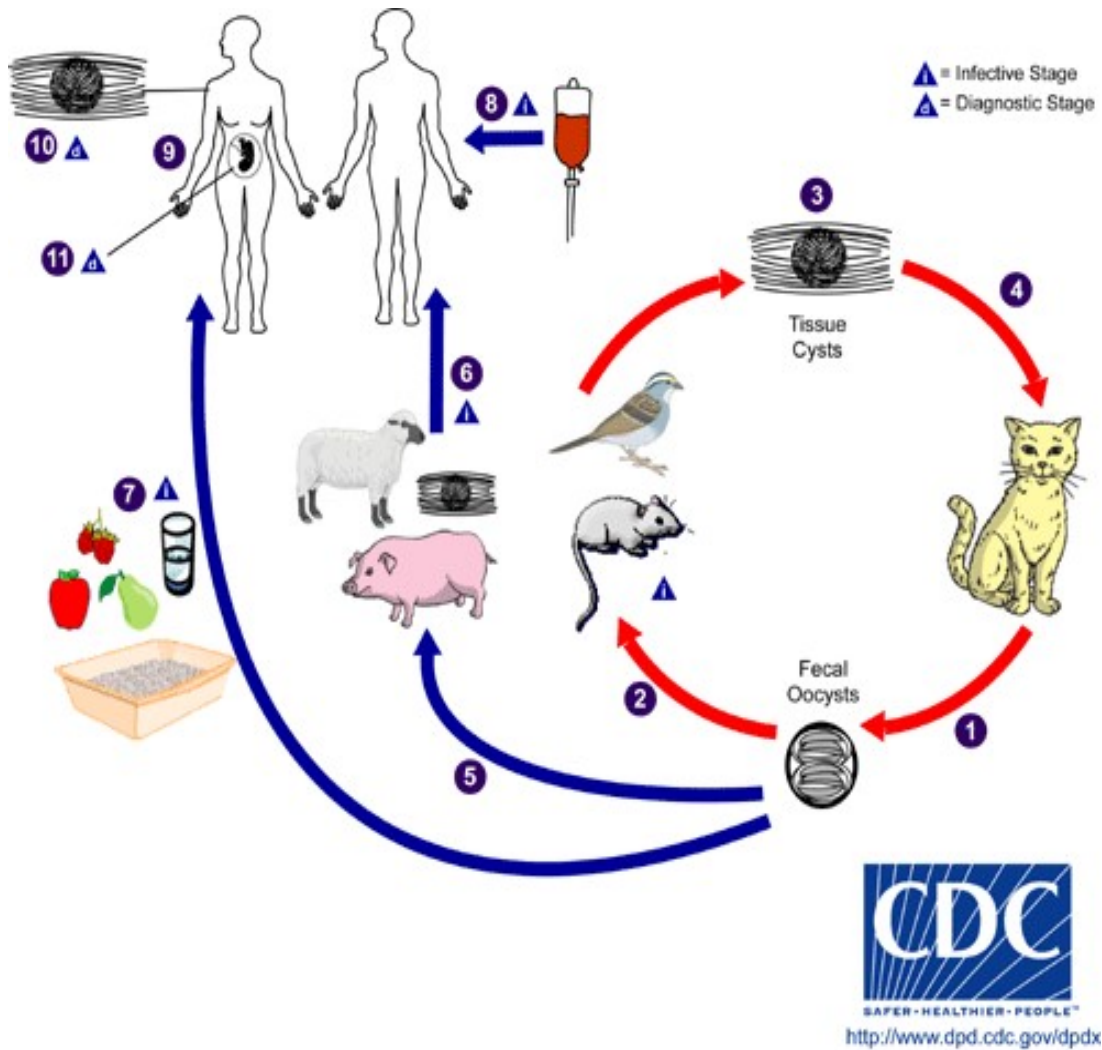
## 13.5 Κύκλος Ζωής του Παρασίτου *Toxoplasma gondii*

Αξιοσημείωτη πρόοδος έχει επιτευχθεί για την κατανόηση του κύκλου ζωής του *T. gondii* από την περίοδο που έχει ανακαλυφθεί (Kim & Weiss, 2008). Όμως, πολλά παραμένουν άλυτα, τα οποία αφορούν στον αναπτυξιακό κύκλο του παρασίτου και τη στενή σχέση που υπάρχει μεταξύ του και των ξενιστών του (Kim & Weiss, 2008).

Το παράσιτο *T. gondii* παρουσιάζει δύο φάσεις στον κύκλο ζωής του (Dubey, 2009). Η πρώτη πραγματοποιείται αποκλειστικά στο έντερο του τελικού ξενιστή, δηλαδή της γάτας (ο αμφιγονικός κύκλος), και η δεύτερη πραγματοποιείται στους ενδιάμεσους ξενιστές, δηλαδή στα ζώα και τους ανθρώπους που έχουν μολυνθεί (μονογονικός κύκλος) (Dubey, 2009). Πρόσφατα δεδομένα μας υποδεικνύουν ότι διαφορετικά στελέχη του παρασίτου *T. gondii* βασίζονται στους δύο κύκλους (Hill et al., 2005).

Ο αμφιγονικός κύκλος ζωής του *T. gondii* είναι ο κλασικός κοκκιδιακός κύκλος, ο οποίος περιλαμβάνει τη γαμετογένεση, τη δημιουργία ζυγώτη, και την ανάπτυξη ωκύστεων οι οποίες αποβάλλονται με τα κόπρανα του τελικού ξενιστή. Ο τελικός ξενιστής μολύνεται και αποβάλλει ωκύστες μετά από κατάποση οποιασδήποτε από τις τρεις μολυσματικές μορφές του παρασίτου, δηλαδή ταχυζωιδίων, βραδυζωιδίων ή σποροζωιδίων (ωκύστεων). (Hill et al., 2005)





**Εικόνα 7.** Ο κύκλος ζωής του παρασίτου *Toxoplasma gondii*. Από το CDC.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί στο σημείο αυτό ότι μόνο ο κύκλος ο οποίος προκαλείται από την κατάποση ιστικών κύστεων έχει μελετηθεί με λεπτομέρεια στη γάτα. Μετά την κατάποση ιστικών κύστεων από τις γάτες, το κυτταρικό τους τοίχωμα διαλύεται με την επίδραση πρωτεολυτικών ενζύμων στο στομάχι και στο λεπτό έντερο. Τα απελευθερωμένα βραδυζωΐδια διαπερνούν τα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου, και ξεκινά η ανάπτυξη πολυάριθμων γενεών του παρασίτου. (Hill et al., 2005).

Ο αμφιγονικός κύκλος ξεκινά μετά την ανάπτυξη των μονογονικών αυτών σταδίων, 2 ημέρες μετά την αρχική μόλυνση, με την δημιουργία μακρογαμετοκυττάρων και μικρογαμετοκυττάρων. Η διαίρεση των

μικρογαμετοκυττάρων οδηγεί στη δημιουργία μέχρι 21 μικρογαμετών οι οποίοι θα γονιμοποιήσουν τους μακρογεμέτες και θα οδηγήσουν στη δημιουργία του ζυγώτη. Μετά τη γονιμοποίηση, ένα ωοκυστικό τοίχωμα σχηματίζεται γύρω από το ζυγώτη. Στη συνέχεια, τα μολυσμένα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου διαρρηγνύονται και οι μη σπορώδεις ωοκύστες ελευθερώνονται μέσα στην εντερική κοιλότητα όπου τελικά εκκρίνονται στο περιβάλλον μέσω των κοπράνων του τελικού ξενιστή. (Hill et al., 2005) (Εικόνα 5).

Η σπορογονία λαμβάνει χώρα έξω από τον τελικό ξενιστή και έχει σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη μολυσματικών ωοκύστεων. Ο τελικός ξενιστής αποβάλλει μέχρι και 10 εκατομμύρια ωοκύστες την ημέρα, για 1-3 εβδομάδες, αλλά μόνο μία φορά στη ζωή του, όταν αρχίσει να κυνηγά και μολυνθεί για πρώτη φορά από το παράσιτο. Τα μέλη της οικογένειας Felidae, αποβάλλουν ωοκύστες στο περιβάλλον 3-10 ημέρες μετά την κατάποση βραδυζωιδίων, 18 ημέρες μετά την κατάποση σποροζωιδίων σε ωοκύστες ή αφού περάσουν 13 ημέρες από την κατάποση ταχυζωιδίων. (Hill et al., 2005) (Εικόνα 7).

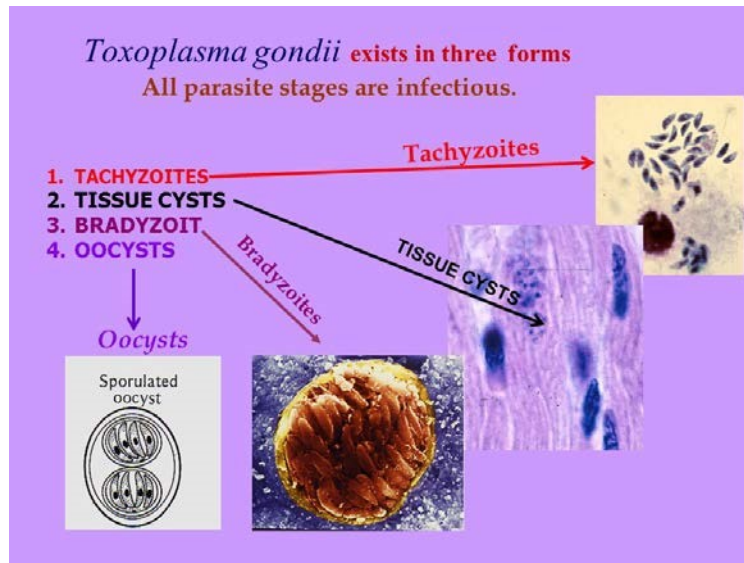
Ο *μονογονικός κύκλος ζωής*, στον ενδιάμεσο ξενιστή, αποτελεί το δεύτερο μέρος του κύκλου ζωής του παρασίτου *T. gondii*. Η κατάποση ωοκύστεων ή ιστικών κύστεων από τον ενδιάμεσο ξενιστή, συνοδεύεται από την απελευθέρωση των μολυσματικών μορφών του παρασίτου (σποροζωιδίων και βραδυζωιδίων αντίστοιχα) στον εντερικό τους αυλό. Ο ενδιάμεσος ξενιστής μπορεί να μολυνθεί και από ταχυζωίδια από το αίμα άλλου μολυσμένου ενδιάμεσου ξενιστή (Εικόνα 8) (Weiss & Kim, 2014).

Στους ενδιάμεσους ξενιστές, το παράσιτο ακολουθεί δύο φάσεις μονογονικής ανάπτυξης. Στην πρώτη φάση, οι μολυσματικές μορφές εισβάλλουν σε μεγάλο αριθμό διαφορετικών ειδών κυττάρων, τα οποία φέρουν πυρήνα, και πολλαπλασιάζονται με επαναλαμβανόμενη ενδογένεια, σχηματίζοντας ταχυζωίδια, τη μονογονική μορφή του παρασίτου. Τα ταχυζωίδια εξαπλώνονται διαρρηγνύοντας τα κύτταρα που έχουν μολύνει και εισβάλλοντας σε γειτονικά κύτταρα. Σε διάστημα 7-40 ημερών μετά τη μόλυνση, με την επίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή, τα ταχυζωίδια της τελευταίας γενιάς εισέρχονται στη δεύτερη φάση ανάπτυξης του παρασίτου, η οποία καταλήγει στην δημιουργία ιστικών κύστεων. Μέσα στις ιστικές κύστες, τα βραδυζωίδια πολλαπλασιάζονται αργά με ενδογένεια. Οι ιστικές κύστες σχηματίζονται σε

μεγαλύτερο ποσοστό σε νευρικούς και μυϊκούς ιστούς. Εντοπίζονται, επίσης, σε μικρότερο ποσοστό, στα σπλάχνα, τους πνεύμονες, το ήπαρ και τους νεφρούς. (Dubey et al., 1998)

Οι ιστικές κύστες είναι το τελικό στάδιο ανάπτυξης του παρασίτου στον ενδιάμεσο ξενιστή, και είναι άμεσα μολυσματικές μορφές (Weiss & Kim, 2014). Σε κάποιους από τους ενδιάμεσους ξενιστές μπορούν να παραμείνουν για όλη τη διάρκεια της ζωής τους αλλά ο μηχανισμός της επιβίωσής τους δεν είναι γνωστός (Warren, 1993). Κάποιοι ερευνητές πιστεύουν ότι περιοδικά οι ιστικές κύστες καταρρέουν, τα βραδυζωίδια μετατρέπονται σε ταχυζωίδια τα οποία προσβάλλουν νέα κύτταρα και δημιουργούν πάλι βραδυζωίδια σε καινούριες ιστικές κύστες (Weiss & Kim, 2014). Αυτό πιθανόν εξηγεί το γεγονός ότι άτομα με χρόνια τοξοπλάσμωση μπορεί να εμφανίσουν IgM αντισώματα χωρίς να έχουν επαναμολυνθεί από το παράσιτο, και χωρίς συμπτωματολογία.

Τα ταχυζωίδια, τα βραδυζωίδια και τα σποροζωίδια είναι μολυσματικά για τους ενδιάμεσους αλλά και για τους τελικούς ξενιστές (Εικόνα 8). Οι ενδιάμεσοι ξενιστές μπορεί να μολυνθούν με μια από τις πιο κάτω οδούς: οριζόντια μετάδοση μέσω κατάποσης μολυσματικών ωκύστεων από το περιβάλλον, όπως από ελλιπώς πλυμένα λαχανικά, οριζόντια μετάδοση μέσω κατάποσης ιστικών κύστεων οι οποίες εμπεριέχονται σε ωμό ή όχι καλά μαγειρεμένο κρέας και κάθετη μετάδοση ταχυζωιδίων μέσω του πλακούντα. Σε κάποιους ξενιστές έχει αναφερθεί και η μετάδοση ταχυζωιδίων μέσω μητρικού γάλακτος. (Dubey et al., 1998).



**Εικόνα 8.** Οι μολυσματικές μορφές του *T. gondii*. Από: [https://www.google.gr/search?q=toxoplasma+gondii&rlz=1C1GGGE\\_\\_GR565GR565&espv=2&biw=1920&bih=955&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjM5MLVzK7NAhWHDBoKHV8IDBwQ\\_AUIBigB#imgsrc=7truV7ZW5pQMM%3A](https://www.google.gr/search?q=toxoplasma+gondii&rlz=1C1GGGE__GR565GR565&espv=2&biw=1920&bih=955&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjM5MLVzK7NAhWHDBoKHV8IDBwQ_AUIBigB#imgsrc=7truV7ZW5pQMM%3A)

Είναι σημαντικό να τονιστεί ξανά ότι στα περιττώματα των γατιών, στο περιβάλλον, οι σποροκύστες αρχικά είναι μη μολυσματικές γιατί απαιτείται σπορογονία ώστε να μετατραπούν σε μολυσματικές ωκύστες (απαιτούνται 1-5 ημέρες ανάλογα με τη θερμοκρασία και την υγρασία). Οι ωκύστες μπορούν να επιβιώσουν και να παραμείνουν μολυσματικές στο έδαφος μέχρι και δύο έτη (Ferguson et al., 1978; Dubey et al., 1998).

## 13.6 Μόλυνση από το Παράσιτο *Toxoplasma gondii*

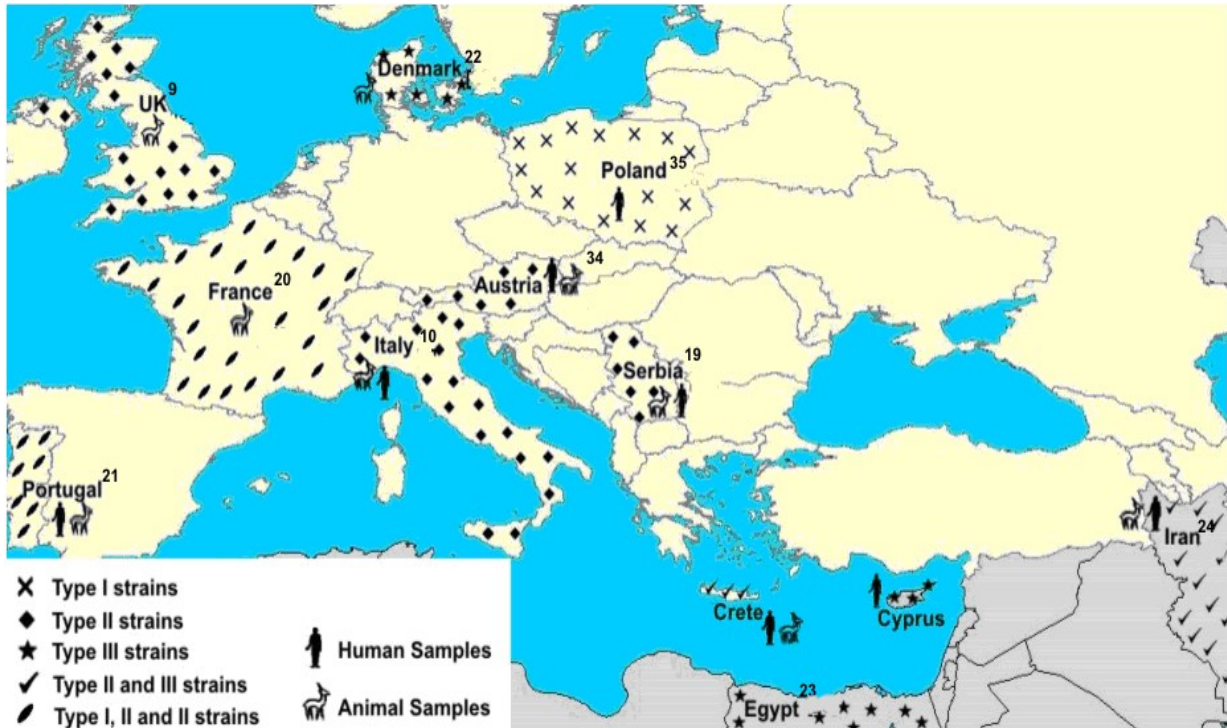
Το παράσιτο *T. gondii* μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στη συμπεριφορά του ξενιστή (Vyas, Kim, Giacomini, Boothroyd & Sapolsky, 2007) και μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία του εγκεφάλου (Vyas et al, 2007). Μολύνει τον εγκέφαλο προκειμένου να ξεφύγει επιθέσεις του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή (Vyas et al, 2007). Στην αρχή παραμένει αδρανές ως κύστη περιβεβλημένη από κυτταρικό τοίχωμα ενώ στη συνέχεια μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία του εγκεφάλου καθιστώντας τον αντιπαραγωγικό για την επιβίωσή του (Vyas et al, 2007). Μοιάζει δηλαδή με ιό που προσβάλλει ηλεκτρονικό υπολογιστή, διεισδύει στο νευρικό σύστημα του εγκεφάλου και αλλάζει την καλωδίωση του συστήματος (Vyas et al, 2007).

Πρόσφατες ερευνητικές ανακαλύψεις έχουν συνδέσει το *T. gondii* με διαταραχή ελλειμματικής προσοχής - υπερκινητικότητα, ιδεοψυχαναγκαστική διαταραχή, αλλαγή συμπεριφοράς, κατάθλιψη, άγχος, σχιζοφρένια ενώ έχει παρατηρηθεί θετική συσχέτιση μεταξύ χρόνιας λοίμωξης από το παράσιτο *T. gondii* και των νόσων Πάρκινσον και Αλτσχάιμερ (Webster, Kaushik, Bristow & McConkey, 2013). Ακόμα λοίμωξη από το παράσιτο συσχετίστηκε με απόπειρες αυτοκτονίας και υψηλά ποσοστά αυτοκινητιστικών ατυχημάτων.

Οι Yolken και Torrey (2008, στο Weiss & Dubey, 2009) αναφέρουν, βασιζόμενοι σε έρευνες και μελέτες συμπεριφοράς ζώων, ότι η χρόνια μόλυνση με το παράσιτο αλλοιώνει τη συμπεριφορά τρωκτικών ώστε να γίνονται ευκολότερη λεία για τις γάτες.

Όλες αυτές αλλοιώσεις στη συμπεριφορά ανθρώπων και ζώων, μπορούν να ερμηνευτούν με το γεγονός ότι το *T. gondii* προτιμά να εγκαθίσταται κυρίως στον εγκέφαλο του διάμεσου ξενιστή του, όπου παραμένει για όλη τη ζωή του σε μορφή ψευδοκύστεων (Weiss & Kim, 2014). Έχει διαπιστωθεί ότι το *T. gondii* παράγει ένα ένζυμο που επηρεάζει την παραγωγή ντοπαμίνης (νευροδιαβιβαστής που εμπλέκεται στην ψυχολογική διάθεση, κοινωνικότητα, προσοχή, διαταραχές ύπνου) και ακόμη ότι η θεραπεία της τοξοπλάσμωσης απαλύνει τα συμπτώματα της σχιζοφρένειας (Weiss & Kim, 2014).

Παρά το γεγονός ότι το παράσιτο *T. gondii* είναι το μοναδικό γνωστό μέχρι σήμερα είδος του γένους *Toxoplasma* (Tenter & Johnson, 1997), τα τελευταία χρόνια, η ανάπτυξη καινούργιων μοριακών τεχνικών έχουν οδηγήσει στην αναγνώριση διαφορών μολυσματικότητας σε διαφορετικούς γονότυπους του παράσιτου (Saeij JP, et al . 2007). Αυτή η διαφοροποίηση βασίστηκε στις παρατηρήσεις σημαντικής διαφοράς στη μόλυνση των διάφορων στελεχών του παράσιτου σε ενδιάμεσους ξενιστές και σε ιστοκαλλιέργειες (Howe, Honopé, Derouin & Sibley, 1997). Κάποια στελέχη είναι άκρως λοιμογόνα, ικανά να προκαλέσουν οξεία και συχνά θανατηφόρο τοξοπλάσμωση, ενώ άλλα προκαλούν χρόνια λοίμωξη με τη δημιουργία ιστικών κύστεων στον εγκέφαλο και στους μυϊκούς ιστούς των μολυσμένων ξενιστών (Weiss & Kim, 2014). Έχει διαπιστωθεί ότι το παράσιτο *T. gondii* περιλαμβάνει τρεις γενεαλογικές γραμμές (Howe et al., 1997) χωρίς εμφανείς δομικές διαφορές μεταξύ τους (Weiss & Kim, 2014). Τα στελέχη του παράσιτου έχουν τυποποιηθεί ανάλογα με τη μολυσματικότητα τους σε ποντίκια: Τύπος I, πολύ λοιμογόνα, σε περίπτωση που λιγότερα από 100 ταχυζωΐδια είναι ικανά να προκαλέσουν θάνατο σε ποντίκια μετά από ενδοπεριτοναϊκό ενοφθαλμισμό σε λιγότερο από μια εβδομάδα. Τύπος II, το στέλεχος θεωρείται λοιμογόνο σε περίπτωση που απαιτούνται περισσότερα από 1000 ταχυζωΐδια για τον ίδιο σκοπό (Weiss & Kim, 2014). Όλα τα λοιμογόνα στελέχη ανήκουν στον τύπο I (Howe et al., 1997). Τα στελέχη που φαίνεται να κυριαρχούν σε ασθενείς με HIV ανήκουν στον τύπο II, ενώ στον τύπο III ανήκουν στελέχη τα οποία προέρχονται κυρίως από μολύνσεις ζώων (Howe et al., 1997). Στην Κύπρο μόνο ένα στέλεχος του *Toxoplasma gondii* έχει μελετηθεί (από ένα παιδί με λεμφανεδοπάθεια) και βρέθηκε να ανήκει στον γονότυπο III. Στην Κρήτη μελέτες στο θέμα αυτό ανέδειξαν τους τύπους II και III, με τον τύπο III να είναι ο πιο διαδεδομένος (Εικόνα 9) (Messaritakis et al., 2008).



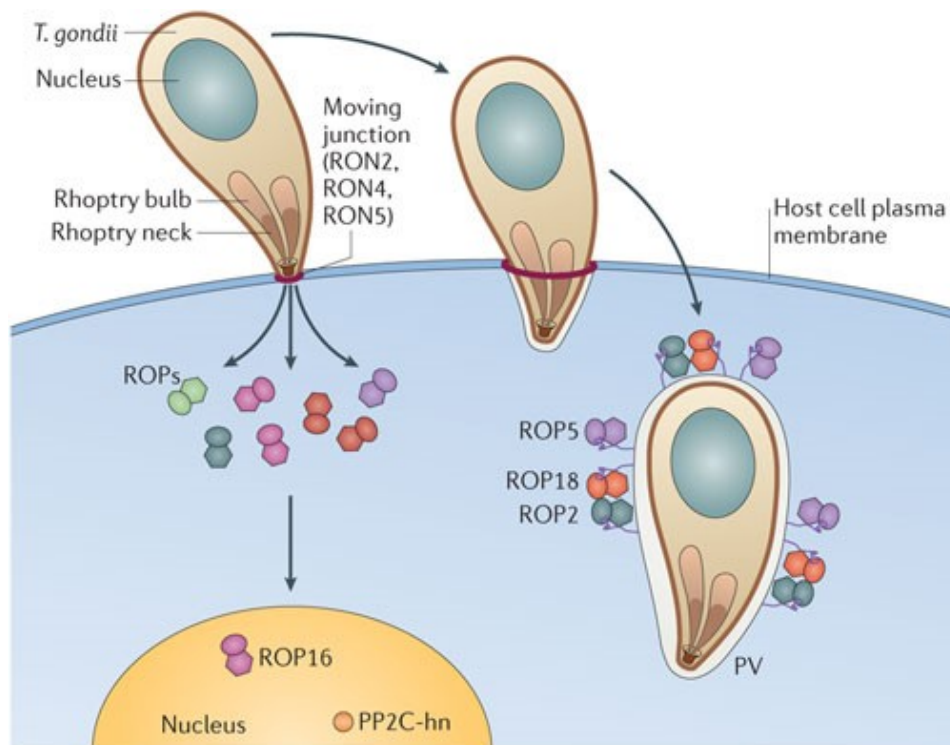
**Εικόνα 9.** Τύποι *Toxoplasma gondii* στην Ευρώπη και την Ανατολική Μεσόγειο. (Messaritakis et al., 2008.)

Το *T. gondii* είναι το μοναδικό παράσιτο ανάμεσα στα Apicomplexa, με εξαιρετικά ευρύ φάσμα ειδικότητας σε κύτταρα και ιστούς. Είναι ικανό να διεισδύσει ενεργά και να πολλαπλασιαστεί μέσα σε όλα τα εμπύρνηνα κύτταρα θηλαστικών, ενώ μπορεί να μολύνει εμπύρνηνα ερυθροκύτταρα πτηνών, ανώριμα ερυθροκύτταρα θηλαστικών, κυτταρικές καλλιέργειες εντόμων και ψαριών, ακόμα και φυτικούς πρωτοπλάστες (Weiss & Kim, 2014).

Το αρχικό βήμα της ενεργούς διείσδυσης του παρασίτου είναι η αναγνώριση και η προσκόλληση στο κύτταρο - ξενιστή (Weiss & Kim, 2014). Αρχικά, το παράσιτο επιτίθεται στην επιφάνεια του κυττάρου του ξενιστή (Blader & Saeij, 2009). Κατά τη συνάντηση των δύο το παράσιτο ελέγχει τη μεμβράνη του ξενιστή για την εξεύρεση κατάλληλου σημείου διείσδυσης με τον κορυφαίο πόλο του (Weiss & Kim, 2014).

Η διείσδυση του παρασίτου στα κύτταρα - ξενιστές, περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα: (1) προσκόλληση στο κύτταρο, (2) προβολή του κωνοειδούς, (3) δημιουργία κοιλώματος στην πλασματική μεμβράνη του κυττάρου, (4) δημιουργία κινούμενης ένωσης η οποία κινείται προς τα πίσω κατά μήκος του παρασίτου

καθώς εισβάλλει στο κύτταρο, (5) μερική εξωκυττάρωση των micronemes και των rhoptries και (6) ολίσθηση του παρασίτου μέσα στο παρασιτοφόρο κενοτόπιο (Εικόνα 10). Η διαδικασία της ενεργής διείσδυσης διαρκεί 15-40 δευτερόλεπτα, ένα τέταρτο του χρόνου της φαγοκυττάρωσης (Kasper & Mineo, 1994).



**Εικόνα 10.** Η διείσδυση του *T. gondii* στο κύτταρο – ξενιστή (Hunter & Sibley, 2012).

Το παρασιτοφόρο κενοτόπιο αποτελείται από την πλασματική μεμβράνη του κυττάρου, χωρίς τα ενδο - μεμβρανικά μόρια. Λίγα λεπτά μετά τη διείσδυση, τα ταχυζωίδια μετατρέπουν τη νεοσχηματισθείσα μεμβράνη του παρασιτοφόρου κενοτοπίου με πρωτεΐνες του παρασίτου και στη συνέχεια σχηματίζονται πόροι οι οποίοι επιτρέπουν τη διάχυση φορτισμένων μορίων και προς τις δύο κατευθύνσεις. Συνολικά, οι μετατροπές αυτές δημιουργούν περιβάλλον φιλικό προς το παράσιτο, επιτρέποντας τον πολλαπλασιασμό του (Εικόνα 10) (Werk, 1985).

Μετά τη διείσδυση, ακολουθεί μια περίοδος πριν αρχίσει ο πολλαπλασιασμός του παρασίτου. Τα ταχυζωίδια πολλαπλασιάζονται μονογονικά μέσα στο κύτταρο -  
 Διδακτορική Διατριβή Μάριου Λιασίδα, 2016



ξενιστή με επαναλαμβανόμενη ενδογένεια. Πιο σπάνια, πολλαπλασιάζονται με διχοτόμηση, ενώ το κύτταρο - ξενιστής διαρρηγνύεται όταν δεν μπορεί πλέον να στηρίξει την αύξηση των ταχυζωιδίων (Weiss & Kim, 2014).

## 13.7 Η Νόσος τοξοπλάσμωση

Η τοξοπλάσμωση επηρεάζει κυρίως δύο ομάδες ατόμων: τα έμβρυα και τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα (Weiss & Kim, 2014). Η νόσος διαχωρίζεται σε δύο φάσεις: (1) την οξεία φάση η οποία αναφέρεται στη διασπορά του παράσιτου στον ξενιστή (παρασιταίμια) και (2) στη λανθάνουσα φάση, η οποία χαρακτηρίζεται από τη διά - βίου παρουσία ιστικών κύστεων στο μολυσμένο ξενιστή (Dubey, 1991).

Η τοξοπλάσμωση είναι ασυμπτωματική (ορολογική) στο 85% των ανοσοϊκανών ατόμων που θα μολυνθούν, ενώ στο 15% τα άτομα μπορεί να αναπτύξουν καλοήγη τοξοπλάσμωση (αδενική). Σε ανοσοκατεσταλμένους η νόσος είναι πολύ σοβαρή και συχνά θανατηφόρος (ευκαιριακή νόσος).

Η τοξοπλάσμωση μπορεί να διαχωριστεί σε τέσσερις κατηγορίες: (1) την *επίκτητη τοξοπλάσμωση σε ανοσοεπαρκή άτομα* (2) τη *συγγενή τοξοπλάσμωση*, (3) την *οφθαλμική τοξοπλάσμωση σε ανοσοεπαρκή άτομα* και (4) την *οξεία ή επανενεργοποιημένη τοξοπλάσμωση σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα* (Weiss & Kim, 2014).

Η πρώτη κατηγορία τοξοπλάσμωσης είναι η *επίκτητη τοξοπλάσμωση σε ανοσοεπαρκή άτομα* η οποία διακρίνεται σε οξεία, χρόνια και ασυμπτωματική. Η οξεία θυμίζει ιογενή λοίμωξη εμφανίζοντας τα ακόλουθα συμπτώματα: διόγκωση λεμφαδένων στο 18% των περιπτώσεων, πυρετό, πόνο στις αρθρώσεις και τους μύς. Συνήθως, τα συμπτώματα υποχωρούν και η νόσος καθίσταται χρόνια. Σε αυτήν την περίπτωση η νόσος μπορεί να προκαλέσει σοβαρά προβλήματα στο νευρικό σύστημα και τους οφθαλμούς. Η ευαισθησία είναι γενική, αλλά ανοσία αναπτύσσεται γρήγορα και οι περισσότερες λοιμώξεις σε ανοσοεπαρκή άτομα είναι ασυμπτωματικές. Σοβαρές εκδηλώσεις της τοξοπλάσμωσης, όπως εγκεφαλίτιδα, σηπτικό σύνδρομο, μυοκαρδίτιδα ή ηπατίτιδα μπορούν να εκδηλωθούν, αλλά είναι πολύ σπάνιες σε ανοσοεπαρκή άτομα (Weiss & Kim, 2014).

Η δεύτερη κατηγορία είναι η *συγγενής τοξοπλάσμωση* η οποία συνδέεται με την εγκυμοσύνη. Εάν μία γυναίκα μολυνθεί από το *T. gondii*, νωρίς κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης της, υπάρχει πιθανότητα, 7%, να προκύψει μόλυνση του εμβρύου. Προσβολή του εμβρύου, σε συνδυασμό με μη επαρκή θεραπευτική αντιμετώπιση μπορεί να αποβεί μοιραία (αυτόματη αποβολή, ενδομήτριος θάνατος) ή να οδηγήσει στη γέννηση βρέφους με σοβαρές ανωμαλίες στο νευρικό σύστημα και τα σπλάγχνα. Τα προβλήματα που θα εκδηλωθούν εξαρτώνται από την ηλικία του εμβρύου κατά την οποία θα εκδηλωθεί η λοίμωξη. Παλαιά μόλυνση της μητέρας (πέραν των 5 εβδομάδων) είναι δυνατόν να οδηγήσει σε μόλυνση του εμβρύου μόνο σε περιπτώσεις αναζωπύρωσης της νόσου, όπως επί υποκείμενης αιτίας ανοσοκαταστολής. (Weiss & Kim, 2014).

Η *οφθαλμική τοξοπλάσμωση* σε ανοσοεπαρκή άτομα αποτελεί την τρίτη κατηγορία τοξοπλάσμωσης. Οποιοσδήποτε μπορεί να αναπτύξει οφθαλμική τοξοπλάσμωση αν μολυνθεί από το παράσιτο. Η οφθαλμική τοξοπλάσμωση θεωρείται γενικά αποτέλεσμα συγγενούς λοίμωξης με το παράσιτο *T. gondii*, η οποία εκδηλώνεται αργότερα στη ζωή. Σήμερα, υπάρχουν αρκετές καταγεγραμμένες περιπτώσεις στις οποίες η ανάπτυξη οφθαλμικών συμπτωμάτων, όπως αμφιβληστροειδίτιδα και χοριοαμφιβληστροειδίτιδα, συνδέονται με επίκτητη τοξοπλάσμωση (Weiss & Kim, 2014).

Η τέταρτη κατηγορία τοξοπλάσμωσης είναι η οξεία, ή επανενεργοποιημένη τοξοπλάσμωση, που εμφανίζεται σε ανοσοκατασταλμένα άτομα και αποτελεί ευκαιριακή λοίμωξη. Αν υπάρξει μόλυνση από το παράσιτο κατά τη διάρκεια ανοσοκαταστολής ή αν ο ασθενής ήταν φορέας του παρασίτου (με χρόνια τοξοπλάσμωση) πριν αναπτύξει ανοσοκαταστολή (π.χ. λοίμωξη με HIV) μπορεί να αναπτυχθεί σοβαρή νόσος που συχνά είναι θανατηφόρος (Ho-Yen, 1992). Σε αυτή την περίπτωση, μπορεί να εμφανιστεί Πνευμονική Τοξοπλάσμωση, Νεκρωτική μυοκαρδία, Εγκεφαλική Τοξοπλάσμωση (εστιακή, διάχυτη). Τα μέτρα που συστήνονται στα άτομα αυτής της κατηγορίας είναι παρόμοια με αυτά για τις εγκύους (Weiss & Kim, 2014).

## 13.8 Επιδημιολογία της τοξοπλάσμωσης

Η τοξοπλάσμωση αποτελεί μια από τις πιο διαδεδομένες ζωνοσόους στον κόσμο. Το 1948, η εισαγωγή της εξέτασης του μπλε του μεθυλενίου από τους Sabin και Feldman επέτρεψε την πραγματοποίηση ορολογικών μελετών σε ανθρώπους και ζώα, αποδεικνύοντας την ευρεία γεωγραφική διασπορά του παρασίτου (Sabin & Feldman, 1948). Από τότε, έχει υπολογιστεί ότι μέχρι και το ένα τρίτο του ανθρώπινου πληθυσμού έχει εκτεθεί στο παράσιτο (Tenter et al., 2000).

Τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά της νόσου φαίνεται να διαφέρουν σημαντικά από χώρα σε χώρα (Leroy & Hadjichristodoulou, 2005). Η εκτίμηση του επιπολασμού της νόσου διαφέρει μεταξύ διαφορετικών γεωγραφικών περιοχών της ίδιας χώρας και μεταξύ διαφορετικών εθνικών ομάδων οι οποίες ζουν στην ίδια περιοχή (Mahon & Manuselis, 2000; Tenter et al., 2000). Διαφορές στην επίπτωση της νόσου ανά χώρα φαίνεται να σχετίζονται με τα ζεστά και υγρά κλίματα, που ευνοούν την επιβίωση των ωοκύστεων για μήνες στο περιβάλλον (Tenter et al., 2000), διαφορές στις συνήθειες μαγειρέματος, στην ύπαρξη και διαχείριση των αδέσποτων γατών, στη διαχείριση των κτηνοτροφικών μονάδων, στο μέγεθος των πληθυσμών τρωκτικών σε μια περιοχή, στις κοινωνικό - οικονομικές συνθήκες διαβίωσης, στις αρχές δημόσιας υγιεινής, αν και ο ακριβής ρόλος όλων αυτών δεν έχει πλήρως διερευνηθεί (Leroy & Hadjichristodoulou, 2005).

Ακόμη, αυτή η διαφορά στον επιπολασμό της νόσου μπορεί να οφείλεται και σε άλλους παράγοντες όπως το είδος του κρέατος και των λαχανικών που καταναλώνονται, τα πλύσιμο των λαχανικών, τα πολιτιστικά έθιμα και η ποιότητα του νερού ύδρευσης και άρδευσης (Gangneux & Darde, 2012).

Το παράσιτο *T. gondii* μολύνει φυτοφάγα, παμφάγα και σαρκοφάγα ζώα, συμπεριλαμβανομένων και όλων των τάξεων των θηλαστικών (Warren, 1993). Παρά το γεγονός ότι η διαιώνιση της τοξοπλάσμωσης μπορεί να επιτευχθεί απουσία της γάτας, φαίνεται ότι η παρουσία των γατών είναι πρωτογενούς σημασίας στις περισσότερες περιοχές του κόσμου (Warren, 1993). Μάλιστα, υψηλός επιπολασμός έχει παρατηρηθεί σε μέρη χωρίς γάτες, ενώ χαμηλός επιπολασμός έχει καταγραφεί σε περιοχές με γάτες (Warren, 1993). Σε αυτά τα δεδομένα παίζει σημαντικό ρόλο και η ύπαρξη μικρών ή μεγάλων πληθυσμών

τρωκτικών σε μια περιοχή, τα οποία μπορούν να συντηρούν τον κύκλο ζωής του παράσιτου με καννιβαλισμό.

Τα τελευταία χρόνια, όσον αφορά τα ζώα της φάρμας, έχει παρατηρηθεί μείωση των κρουσμάτων τοξοπλάσμωσης (Kijlstra & Jongert, 2009). Αυτό οφείλεται στην καλύτερη οργάνωση που εφαρμόζεται στα αγροκτήματα και στη λήψη διαφόρων μέτρων που πραγματοποιούνται όπως εφαρμογή κανόνων υγιεινής, περιορισμός των ζώων μέσα στο αγρόκτημα και όχι εκτός του αγροκτήματος σε ελεύθερη βοσκή, καθάρισμα των αποθηκών από τρωκτικά, πουλιά και γάτες (Kijlstra & Jongert, 2009).

Στον άνθρωπο το παράσιτο *T. gondii* μεταδίδεται μέσω της πεπτικής και της συγγενούς οδού. Η πιθανότητα παρουσίας ιστικών κύστεων του παρασίτου στο κρέας το οποίο χρησιμοποιείται για ανθρώπινη κατανάλωση, είναι υψηλός. Στην Ευρώπη και την Αμερική το χοιρινό κρέας θεωρείται ως η κύρια πηγή μόλυνσης του ανθρώπου με το *T. gondii*. Πρόσφατες όμως μελέτες, δείχνουν δραματική μείωση της εμφάνισης του παρασίτου σε χοίρους, πιθανώς λόγω αλλαγών στις διαδικασίες παραγωγής. Αντίθετα, ζώα τα οποία εκτρέφονται σε βοσκοτόπια, όπως πρόβατα και αίγες, τα οποία είναι εκτεθειμένα σε περιβάλλον πιθανώς μολυσμένο με ωκύστες, παρουσιάζουν μεγάλα ποσοστά οροθετικότητας. Η κατάποση ζωικών προϊόντων μολυσμένων με ιστικές κύστες, καθώς και η κατανάλωση λαχανικών, νερού και άλλων τροφών μολυσμένων με ωκύστες είναι οι δύο κύριοι τρόποι μετάδοσης του παρασίτου *T. gondii* στους ανθρώπους (Tenter et al., 2000).

Στους ανθρώπους, η συχνότητα οροθετικότητας έναντι του παρασίτου *T. gondii* αυξάνεται με την ηλικία, ενώ δε φαίνεται να διαφέρει σημαντικά ανάμεσα στα δύο φύλα (Tenter et al., 2000). Σε χώρες όπως το Ελ-Σαλβαντόρ, η Ταϊτή και η Γαλλία η οροθετικότητα του πληθυσμού είναι πάνω από 90% κατά την τέταρτη δεκαετία της ζωής, ενώ ο αντίστοιχος αριθμός κυμαίνεται από 3-70% στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (Tenter et al., 2000). Γενικά, η συχνότητα μόλυνσης ποικίλει, ανάλογα με την πληθυσμιακή ομάδα και τη γεωγραφική περιοχή (Tenter et al., 2000). Η συχνότητα φαίνεται να είναι μικρότερη σε περιοχές με ψυχρές ή ζεστές ή άνυδρες κλιματικές συνθήκες (Tenter et al., 2000). Αυτή η αύξηση ωστόσο σχετίζεται με το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο της κάθε χώρας/κοινωνίας, εδαφολογικούς παράγοντες και καθαρότητα του νερού που παρέχεται από το

Δήμο προς κατανάλωση. Αυτοί οι παράγοντες επιτρέπουν την κατάποση ωκύστεων του παράσιτου που απαντώνται στη φύση και προέρχονται από τα κόπρανα μολυσμένων γατιών. Επίσης πολύ σημαντικό ρόλο παίζει η προσωπική υγιεινή των ατόμων και οι διατροφικές τους συνήθειες.

Ο κίνδυνος πρωτογενούς μόλυνσης μιας γυναίκας που κυοφορεί εξαρτάται από το ρυθμό απόκτησης πρωτογενούς μόλυνσης στο συγκεκριμένο γεωγραφικό χώρο, αλλά και από το ποσοστό των ανθρώπων οι οποίοι είναι οροαρνητικοί. Ο επιπολασμός των αντισωμάτων μπορεί να ποικίλει με το χρόνο μέσα στην ίδια ομάδα και επομένως περιοδικές μελέτες απαιτούνται για να προσδιοριστεί ο κίνδυνος μετάδοσης συγγενούς τοξοπλάσμωσης.

Σήμερα, ορο - επιπολασμός άνω του 50% σε γυναίκες οι οποίες βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία παρατηρείται σε χώρες της Δυτικής Ευρώπης (Γαλλία, Πορτογαλία, Ελβετία, Βέλγιο, Σλοβενία, Ιταλία, Αυστρία, Γερμανία), στην Αφρική (Δημοκρατία της Κεντρικής Αφρικής, Νιγηρία, Καμερούν, Τόγκο) καθώς και στην Κεντρική και Νότια Αμερική (Χιλή, Γουαδελούπη, Ελ - Σαλβαντόρ, Γουατεμάλα, Παναμά). Οι υψηλότερες συχνότητες μόλυνσης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης έχουν καταγραφεί στο Βέλγιο, την Ολλανδία, την Αυστρία, τη Γερμανία και τον Καναδά (Tenter et al., 2000). Στο Βέλγιο, την Ολλανδία και τη Γαλλία, βάση νόμου, μια γυναίκα θα πρέπει να εξετάζεται ορολογικά για τοξοπλάσμωση πριν μείνει έγκυος. Αυτό το μέτρο οδήγησε σε σημαντική μείωση του ποσοστού οροθετικότητας έναντι του παράσιτου, όπως για παράδειγμα στη Γαλλία από το 65% στο 45% (Benard et al., 2008).

Έρευνες αναφέρουν ότι η συγκεκριμένη μόλυνση, παρά το γεγονός ότι στο 85% των περιπτώσεων δεν παρουσιάζει συμπτώματα, μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία άλλων παθήσεων δυσάρεστων για τα άτομα φορείς (Flegel et al., 2014). Για το λόγο αυτό, η τοξοπλάσμωση έχει χαρακτηριστεί ως πάθηση υψηλής επικινδυνότητας, κατηγορίας Β, από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας των ΗΠΑ (Kim & Weiss, 2008; Weiss & Dubey, 2009). Μία αναφορά στις ΗΠΑ σχετικά με τα νοσήματα και τους θανάτους που σχετίζονται με τα τρόφιμα, ανέφερε ότι περίπου 2,500,000 παθήσεις που σχετίζονται με τα τρόφιμα οφείλονταν σε παρασιτικά νοσήματα (Mead et al., 1999, στο Καποτάς, 2003). Από αυτές 225,000 οφείλονταν στο παράσιτο *T. gondii* (Mead et al., 1999, στο Καποτάς, 2003).

Το 15% των ατόμων που μολύνονται από το παράσιτο παρουσιάζουν συμπτώματα: λεμφαδενοπάθεια, Παρατεταμένη διόγκωση αδένων, Πυρετό, Εξάνθημα (άνευ κυνάγχης), Μυαλγίες, Κεφαλαλγίες. Η νόσος, σε αυτές τις περιπτώσεις, μοιάζει με: Λοιμώδη μονοπυρήνωση, Hodgkin (Montoya & Liesenfeld, 2004).

### 13.9 Η τοξοπλάσμωση ανά το παγκόσμιο

Η τοξοπλάσμωση απαντάται στο 30-50% του παγκόσμιου πληθυσμού, από την Αλάσκα μέχρι και την Αυστραλία, χωρίς γεωγραφικά όρια (Flegel et al., 2014, Hill et al., 2005). Οι στρατηγικές υγείας κάθε χώρας για την προστασία του πληθυσμού τους από το *T. gondii* διαφέρουν πολύ (Benard & Salmi, 2006).

Τα μικρότερα ποσοστά οροθετικότητας έναντι του Τοξοπλάσματος, εντοπίζονται σε χώρες της Άπω Ανατολής (1%) ενώ στην Ευρώπη τα ποσοστά κυμαίνονται από 10-60%. Υψηλά ποσοστά οροθετικότητας έναντι του παρασίτου εντοπίζονται στη Γαλλία (45%), όπου συνηθίζεται να τρώγεται το κρέας όχι πολύ καλά ψημένο (Jones et al., 2001). Επίσης, υψηλά ποσοστά του παρασίτου *T. gondii* παρουσιάζονται στις τροπικές περιοχές της Λατινικής Αμερικής όπου απαντάται μεγάλος αριθμός γάτων και όπου το κλίμα συμβάλει στη μετάδοση του παρασίτου (Jones et al., 2001). Σε αντίθεση, έρευνες στις Σκανδιναβικές χώρες και στην Αγγλία παρουσίασαν χαμηλά ποσοστά (Jones et al., 2001). Σε κάποιες περιοχές κάποιων χωρών έχουν καταγραφεί και ποσοστά οροθετικότητας μέχρι και 90%.

Στις ΗΠΑ τα ποσοστά κυμαίνονται από 11-22,5%. (Flegel et al., 2014), όπου περίπου το 85% των γυναικών που βρίσκονται σε ηλικία αναπαραγωγής είναι επιρρεπείς στη μόλυνση από *T. gondii* (Jones et al., 2001). Επιπλέον, κάθε χρόνο στις ΗΠΑ καταγράφονται 400 μέχρι 4000 περιπτώσεις συγγενούς τοξοπλάσμωσης (Jones et al., 2001). Μία έρευνα που πραγματοποιήθηκε από την Οικονομική Ερευνητική Υπηρεσία του Τμήματος Γεωργίας των ΗΠΑ παρουσίασε ότι από όλες τις περιπτώσεις συγγενούς Τοξοπλάσμωσης που εμφανίζονται κάθε χρόνο ο μισός οφείλονται στην κατανάλωση όχι καλά ψημένου κρέατος, μολυσμένου με το *T. gondii* (Jones et al., 2001).

Δύο επιδημίες τοξοπλάσμωσης, που συσχετίστηκαν με την κατανάλωση μολυσμένου με ωκύστες νερού είναι γνωστές (Benenson, Takafuji, Lemon, Διδακτορική Διατριβή Μάριου Λιασίδα, 2016

Greenup & Sulzer, 1982· Bowie, 1997, στο Καποτάς, 2003). Η πρώτη επιδημία εμφανίστηκε σε βρετανικά στρατεύματα στον Παναμά ενώ η δεύτερη στη βρετανική Κολούμπια στον Καναδά. Τα επιδημιολογικά στοιχεία έδειξαν ότι ο πιθανότερος τρόπος μόλυνσης ήταν η κατανάλωση νερού λίμνης και οι δεξαμενές του πόσιμου νερού αντίστοιχα, που είχαν μολυνθεί στις πηγές τους με ωοκύστες από οικιακές και άγριες γάτες.

### 13.10 Η Τοξοπλάσμωση στην Ελλάδα

Μέσα από την αναδίφηση της βιβλιογραφίας έχει διαπιστωθεί ότι στην Ελλάδα λίγες είναι οι ερευνητικές εργασίες που σχετίζονται με την τοξοπλάσμωση.

Το ποσοστό οροθετικότητας έναντι του *T. gondii* κυμαίνεται από το **4% (Λάρισα)**, μέχρι το **46% (Ζάκυνθος)** (Αντωνίου μη δημοσιευμένα αποτελέσματα). Στην Πάτρα, σε δείγμα 270 γυναικών που κυοφορούσαν και 86 γυναικών που είχαν πρόσφατα αποβάλει, το ποσοστό μόλυνσης με *T. gondii* βρέθηκε παρόμοιο και στις δύο ομάδες (51%), ενώ το ποσοστό μόλυνσης ήταν μεγαλύτερο στις γυναίκες που ζούσαν στην ύπαιθρο και στις γυναίκες που ανέφεραν ότι είχαν γάτα στο σπίτι τους (Decavalas et al., 1990).

Κατά την περίοδο 1991-1995, η μόλυνση γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία με *T. gondii* κυμαινόταν στο 30% σε δείγμα 1242 ατόμων (Gatoroulou et al., 1997), ενώ σε άλλη μελέτη, σε δείγμα 914 ατόμων, η μόλυνση με το παράσιτο βρέθηκε σε ποσοστό 37% (Lolis et al., 1996). Στη Βόρεια Ελλάδα παιδιά, από 6 μηνών μέχρι 15 ετών, τα οποία είχαν εισαχθεί στο νοσοκομείο για διάφορους λόγους, βρέθηκαν οροθετικά έναντι του *T. gondii* στο 11,1% (Frydas et al., 2000). Στο γενικό πληθυσμό των περιοχών Αιτωλοακαρνανίας και Φωκίδας το ποσοστό οροθετικότητας έναντι του *T. gondii* βρέθηκε να είναι 32,2% (Charvalos et al., 1995).

Όσον αφορά στην Κρήτη, το 1985 – 1987, το ποσοστό οροθετικότητας έναντι του *T. gondii* στα χωριά: Τυμπάκι Ηρακλείου (αγροτική περιοχή) και Ανώγεια Ρεθύμνου (κτηνοτροφική περιοχή), σε δείγμα 419 ατόμων, η οροθετικότητα των κατοίκων βρέθηκε: 45% στο Τυμπάκι και 33% στα Ανώγεια (Αντωνίου et al., 2002). Από το 1998-2003, στην περιοχή Ηρακλείου της Κρήτης, σε μελέτη 5532 γυναικών που κυοφορούσαν, βρέθηκε ότι το 29.5% ήταν οροθετικές έναντι του *T.*

*gondii* (Antonίου et al., 2004). Οι συγγραφείς της έρευνας αυτής ανέπτυξαν πρωτόκολλο για την παρακολούθηση και διαχείριση των γυναικών που κυοφορούν σε σχέση με πιθανή λοίμωξη από το παράσιτο για την αποφυγή αδικαιολόγητων τερματισμών κύησης (Antonίου et al., 2004).

Η αυξημένη οροθετικότητα έναντι του *T. gondii* στην Ελλάδα μπορεί να εξηγηθεί από την παρουσία ενός μεγάλου αριθμού αδέσποτων γατών σε αγροτικές αλλά και βιομηχανικές περιοχές της χώρας (Messaritakis et al., 2008). Τα ζώα αυτά κυνηγούν τρωκτικά και πουλιά με αποτέλεσμα να αποκτούν το παράσιτο και να ελευθερώνουν εκατομμύρια ωοκύστες στο περιβάλλον με τα περιττώματά τους (Messaritakis et al., 2008). Επίσης παρατηρούνται μεγάλοι πληθυσμοί τρωκτικών σε όλη τη χώρα, σημαντικά ζώα-παρακαταθήκη του παράσιτου στη φύση. Επιπλέον, η ελληνική δίαιτα αποτελείται από μεγάλες ποσότητες ωμών λαχανικών που μπορεί να περιέχουν ωοκύστες (Messaritakis et al., 2008).

Ακόμη, υπάρχει μεγάλη κατανάλωση κρέατος αιγοπροβάτων και χοιρινού, αλλά και πουλερικών, που είναι καλά τεκμηριωμένες πηγές του παρασίτου *T. gondii* αν δεν ψήνονται ικανοποιητικά. Η Ελληνική κουζίνα διαθέτει κρέατα ψημένα σε σουβλάκια και γύρο που μπορεί να μην είναι καλά ψημένα, αλλά και λουκάνικων και συντηρημένων κρεάτων (απάκι κ.α.) τα οποία δεν ψήνονται πάντα ικανοποιητικά (Messaritakis et al., 2008).

Παρά το γεγονός ότι πολλές κυήσεις βρίσκονται σε κίνδυνο λόγω του αυξημένου ποσοστού οροθετικότητας στο γενικό πληθυσμό της Ελλάδας, σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες δεν υπάρχουν υποχρεωτικά προγράμματα ορολογικού ελέγχου στη χώρα (Messaritakis et al., 2008). Η ανάγκη στρατηγικής για την παρακολούθηση των κυήσεων και την αποφυγή συγγενούς τοξοπλάσμωσης παραμένει επιτακτική (Messaritakis et al., 2008).

Πριν τη λήψη αποφάσεων για στρατηγικές πρόληψης, όπως πρωτογενής πρόληψη, προγεννητικός έλεγχος και νεογνικά ανιχνευτικά προγράμματα απαιτούνται πληροφορίες για την επίπτωση των γεννήσεων με συγγενή τοξοπλάσμωση καθώς και για τη σοβαρότητα της νόσου (Αππουραμάνη, 2006). Η πρωτογενής πρόληψη, στα πλαίσια συλλογής πληροφοριών για την υγεία είναι εφικτή, αλλά έχει υλοποιηθεί ελάχιστα στην Ελλάδα (Αππουραμάνη, 2006).



## 13.11 Η τοξοπλάσμωση στην Κύπρο

Η τοξοπλάσμωση όσον αφορά στην Κύπρο, παρά το γεγονός ότι θεωρείται μια σοβαρή πάθηση η οποία μπορεί να προκαλέσει προβλήματα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, δεν έχει ποτέ ερευνηθεί στον ανθρώπινο πληθυσμό. Παρά το γεγονός ότι από το 2004 η συγγενής τοξοπλάσμωση είναι υποχρεωτικά δηλούμενο νόσημα (Benard et al., 2008), δεν έχουν δηλωθεί ποτέ περιστατικά (Archive of the Unit for Surveillance and Control of Communicable diseases of the Medical and Public Health services, Ministry of Health, Cyprus. [accessed April 2016]).

Ωστόσο, η Spiramycin, ένα φάρμακο το οποίο δίνεται μόνο σε έγκυες με υποψία οξείας τοξοπλάσμωσης στην Κύπρο και το οποίο παρέχεται κεντρικά από τις φαρμακευτικές υπηρεσίες του Υπουργείου Υγείας της Κυπριακής Δημοκρατίας σε κρατικούς και ιδιώτες ιατρούς, έχει δοθεί σε έγκυες γυναίκες με υποψία οξείας τοξοπλάσμωσης σε νοσοκομεία του νησιού: έξι στη Λευκωσία, τρεις στη Λάρνακα και δυο στη Λεμεσό το 2015. Τα έτη 2010 έως 2015, δόθηκε θεραπεία για υποψία συγγενούς τοξοπλάσμωσης σε τουλάχιστον τέσσερα νεογνά στο νοσοκομείο Λεμεσού (Database of drug consumption of the Pharmaceutical services of the Ministry of Health in Cyprus [accessed April 2016]). Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι το πρόβλημα της τοξοπλάσμωσης δεν καταγράφεται.

Η μόνη ερευνητική εργασία η οποία πραγματοποιήθηκε στο νησί, σχετίζεται με το παράσιτο σε τρωκτικά όπου βρέθηκε ότι το 27,9% των ζώων ήταν οροθετικά έναντι στο *T. gondii* το οποίο ήταν το πιο κοινό παθογόνο ανάμεσα στα δέκα που είχαν μελετηθεί (Psaroulaki et al., 2010) (Εικόνα 11). Επίσης, μελετήθηκε ένα στέλεχος του *T. gondii* (από ένα παιδί με λεμφανεδοπάθεια) και βρέθηκε να ανήκει στον γονότυπο III (Messaritakis et al., 2008).



Τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα αποτελούν μία κατηγορία υψηλού κινδύνου προσβολής από το παράσιτο *T. gondii* (Blader & Saeij, 2009; Weiss & Dubey, 2009. Weiss & Kim, 2014). Σε ασθενείς, κυρίως άτομα με AIDS, αλλά και μετά από μεταμόσχευση οργάνου ή καρκίνο, η ασθένεια εμφανίζεται ως διάχυτη νόσος με βαριά κλινική εικόνα που συνήθως αφορά στο νευρικό σύστημα και συχνά καταλήγει σε θάνατο (Weiss & Kim, 2014). Τέτοια άτομα κινδυνεύουν λόγω επανενέργοποίησης της λοίμωξης (Weiss & Kim, 2014). Η τοξοπλάσμωση θεωρείται από τις πιο επικίνδυνες παθήσεις οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν στο θάνατο άτομα με AIDS (Luft & Remington, 1992, στο Hill et al., 2005). Σε αυτούς τους ασθενείς, παρά το γεγονός ότι η λοίμωξη μπορεί να επηρεάσει όλα τα όργανα (Jones et al., 2001), ο εγκέφαλος αποτελεί τον πιο συχνό στόχο του παράσιτου λόγω του τροπισμού των ιστικών κύστεων προκαλώντας τοξοπλάσμική εγκεφαλίτιδα (Luft & Remington, 1992, στο Hill et al., 2005). Τα συγκεκριμένα άτομα μπορούν να έχουν πονοκέφαλο, αποπροσανατολισμό, υπνηλία, αλλαγές στα αντανακλαστικά τους και σπασμούς (Hill et al., 2005). Η δεύτερη ομάδα υψηλού κινδύνου αφορά στα έμβρυα. Το *T. gondii* συχνά συνδέεται με την αυτόματη αποβολή, αποτελεί λόγο έκτρωσης και μια συγγενής λοίμωξη μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα ένα ευρύ φάσμα κλινικών συμπτωμάτων στο παιδί που θα γεννηθεί, όπως νοητική καθυστέρηση, μαθησιακές δυσκολίες, τύφλωση, επιληψία, αναιμία ακόμη και θάνατο (Hide et al., 2009; Kim & Weiss, 2008; Montoya & Liesenfeld, 2004; Desmonts and Couvreur, 1974 στο Hill et al., 2005; Jones et al., 2001). Η ήπια μορφή συγγενούς τοξοπλάσμωσης μπορεί να οδηγήσει σε περιορισμένη όραση ενώ η σοβαρή μορφή σε υδροκεφαλία, μικροκεφαλία, δημιουργία σπασμών, νευρολογικές εκδηλώσεις, έλλειψη ασβεστίου καθώς και καρδιακές και εγκεφαλικές ανωμαλίες (Hill et al., 2005, Chaudhry, Gad & Koren, 2014).

Ακόμη, πρόσφατα έχει εισηγηθεί ότι το σύνδρομο Down μπορεί να συνδέεται με συγγενή τοξοπλάσμωση (Prandota, 2011), όπως επίσης και η έλλειψη σιδήρου και ιωδίου τα οποία μπορεί να οδηγήσουν σε αρνητικά αποτελέσματα όσον αφορά στην ανάπτυξη του εμβρύου (Flegr, Prandota, Sovickova & Israili, 2014).

Η κοινωνικοοικονομική επίδραση της τοξοπλάσμωσης στον ανθρώπινο πόνο και στο κόστος φροντίδας των παιδιών με *T. gondii*, ειδικά των παιδιών με νοητική

καθυστέρηση και σοβαρά προβλήματα όρασης είναι τεράστια (Remington et al., 1995, στο Hill et al., 2005).

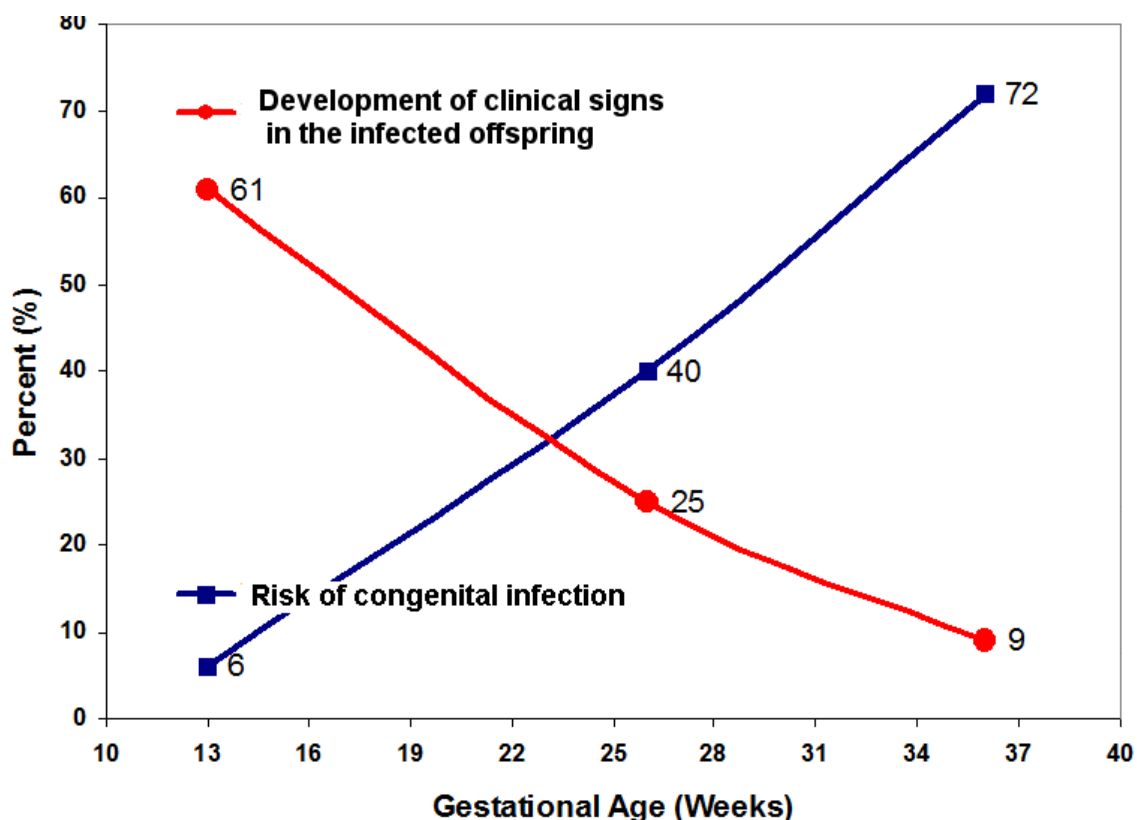
Οι επιπτώσεις από συγγενή τοξοπλάσμωση μπορεί να μην εμφανιστούν μέχρι και τη δεύτερη ή τρίτη δεκαετία της ζωής ενός ατόμου (Chaudhry et al., 2014· Jones et al., 2001). Για αυτό το λόγο είναι πολύ σημαντικό να πραγματοποιούνται στο παιδί, που γεννιέται από μητέρα με υποψία οξείας τοξοπλάσμωσης κατά την κύηση, κλινικές, ορολογικές και οφθαλμολογικές εξετάσεις μόλις γεννηθεί και για τον πρώτο τουλάχιστο χρόνο της ζωής του για να αποκλειστεί η λοίμωξη ή να δοθεί η κατάλληλη θεραπευτική αντιμετώπιση σε περίπτωση επιβεβαίωσης συγγενούς λοίμωξης (Chaudhry et al., 2014).

### **13.13 Τοξοπλάσμωση και εγκυμοσύνη**

Ο αριθμός των περιστατικών πρωτογενούς μόλυνσης από *T. gondii* κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης διαφέρουν πολύ από χώρα σε χώρα, και κυμαίνονται από 1 μέχρι 15 ανά 1.000 εγκυμοσύνες (Remington et al., 1995). Οι γυναίκες που μολύνονται με το παράσιτο πριν κυοφορήσουν έχουν πάρα πολύ μικρές πιθανότητες να μεταδώσουν το παράσιτο στο έμβryo (αν η μόλυνση έγινε περισσότερο από 5 εβδομάδες πριν τη σύλληψη), ενώ οι γυναίκες που μολύνονται με το παράσιτο κατά της διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να μεταδώσουν το παράσιτο στο έμβryo (Jones et al., 2001). Επίσης, κίνδυνο μετάδοσης του παρασίτου στο έμβryo έχουν και οι γυναίκες οι οποίες έχουν μολυνθεί με εξωτικά στελέχη του παράσιτου (που απαντώνται στην Αφρική και Ν. Αμερική) μέχρι 5 μήνες πριν τη σύλληψη. Επίσης, σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι ένα άτομο μπορεί να επαναμολυνθεί με Τοξόπλασμα από αυτά τα εξωτικά στελέχη (Chaudhry et al., 2014).

Η πιθανότητα προσβολής του εμβρύου σχετίζεται με το στάδιο της κύησης κατά τη νόσηση της μητέρας. Ο κίνδυνος μετάδοσης του παρασίτου από τη μητέρα στο έμβryo αυξάνεται με την πρόοδο της κύησης (15% για το πρώτο τρίμηνο, 30% για το δεύτερο τρίμηνο και 60% για το τρίτο τρίμηνο). Εντούτοις, η βαρύτητα των συμπτωμάτων της λοίμωξης του εμβρύου είναι αντιστρόφως ανάλογη με το χρόνο προσβολής. (Remington et al., 1995, στο Hill et al., 2005) (Εικόνα 12). Συνεπώς, είναι ζωτικής σημασίας ο ακριβής προσδιορισμός του χρόνου έναρξης

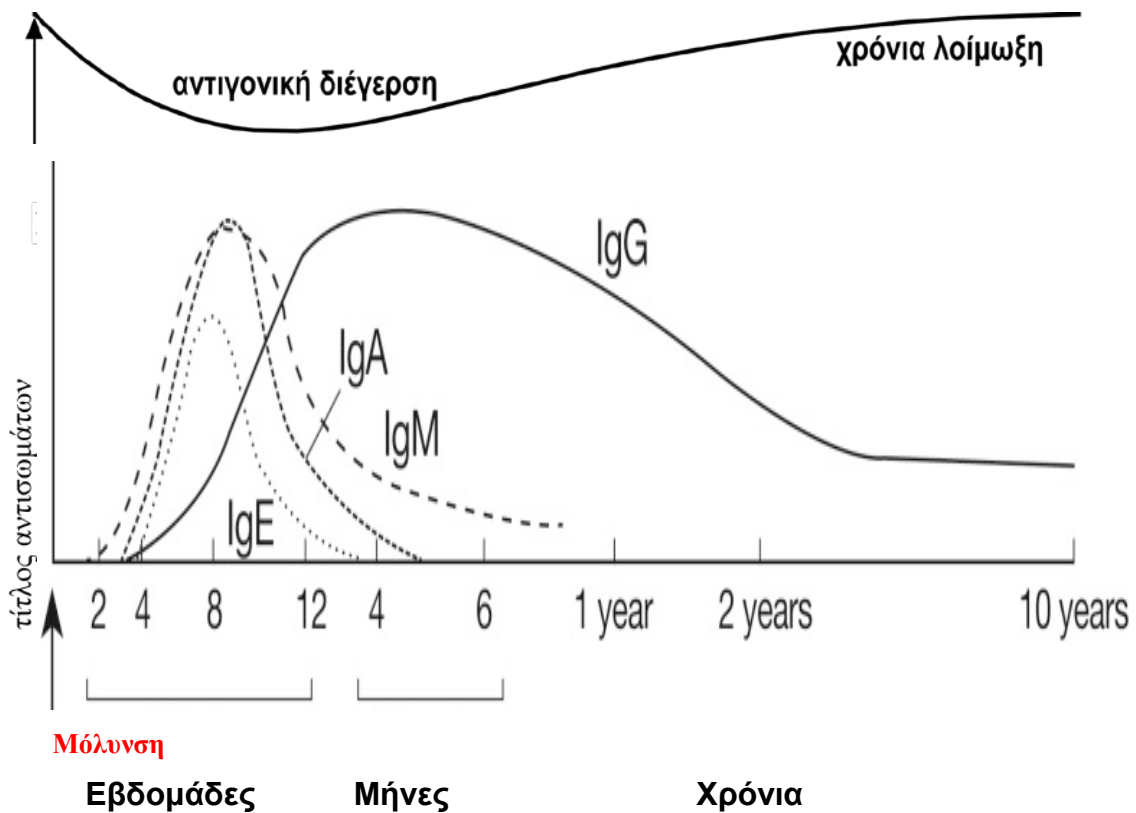
της λοίμωξης της εγκύου, ώστε να είναι δυνατός ο ακριβής υπολογισμός της πιθανότητας συγγενούς μόλυνσης και σοβαρής νεογνικής νόσου (Εικόνα 12, 13). Σε ανοσοεπαρκή άτομα, η μόλυνση από το παράσιτο *T. gondii* συνήθως οδηγεί σε ανοσία έναντι της τοξοπλάσμωσης (Εικόνα 14). Επομένως, εάν η μόλυνση σε μια έγκυο γυναίκα πραγματοποιηθεί τουλάχιστον 4-6 εβδομάδες πριν τη σύλληψη, η προστατευτική ανοσία θα πρέπει να αποτρέψει την κάθετη μετάδοση στο έμβρυο. Το παράσιτο στα άτομα αυτά βρίσκεται σε μορφή ψευδοκύστεων στο σώμα και δεν υπάρχει παρασιταιμία που θα έδινε τη δυνατότητα να φτάσει το παθογόνο στο έμβρυο και να το μολύνει. Επίσης, την προστατεύει και από επόμενες εκθέσεις στο παράσιτο, εκτός αν πρόκειται για τα εξωτικά στελέχη του Τοξοπλάσματος, τα οποία μπορούν να μολύνουν ξανά ένα άτομο (Εικόνα 12). Αντίθετα, σε ανοσοκατεσταλμένες γυναίκες, στις οποίες προϋπήρχε λοίμωξη με το παράσιτο, δεν επικρατεί ανοσία και το παράσιτο μπορεί να μεταδοθεί στα έμβρυά τους. (Tenter et al., 2000).



**Εικόνα 12.** Πιθανότητα διαπλακουντικής μετάδοσης του *T. gondii* κατά τη διάρκεια της κύησης και μόλυνσης του νεογνού και πρόκλησης συγγενών ανωμαλιών. Montoya and Remington, 2008.



**Εικόνα 13.** Υπολογισμός πιθανού κινδύνου διαπλακουντικής μετάδοσης και πρόκλησης σοβαρών συγγενών ανωμαλιών από το *T. gondii* κατά τη διάρκεια της κύησης, ανάλογα με το στάδιο της κύησης κατά το οποίο συντελέστηκε η μόλυνση της εγκύου (Τζουβάλη, 2004).



**Εικόνα 14.** Κινητική παραγωγής αντισωμάτων μετά από μόλυνση με *T. gondii*. Προσαρμογή από Joynson and Guy, 2001.

Τα συμπτώματα της συγγενούς τοξοπλάσμωσης είναι πιο σοβαρά εάν η μόλυνση λάβει χώρα νωρίς κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, με πιο σοβαρή εκδήλωση στο νεογνό, αυτή της εγκεφαλομελίτιδας, εγκεφαλικής αποτετάνωσης, υδροκεφαλίας, μικροκεφαλίας, μικροφθαλμίας, πνευματικής καθυστέρησης, νευρολογικών προβλημάτων. Αλλά και γενικευμένη τοξοπλάσμωση με σπασμούς, ηπατοσπληνομεγαλία, ίκτερο και εξάνθημα (Weiss & Kim, 2014).

Περίπου το 10% των συγγενών λοιμώξεων οδηγούν σε αυτόματη αποβολή ή έκτρωση από επιλογή, ενώ ένα επιπλέον 10-23% παρουσιάζουν κλινικά συμπτώματα κατά τη γέννηση (Alford, Stagno & Reynolds, 1974). Ακόμη, υπάρχει κίνδυνος το νεογνό να γεννηθεί νεκρό (Flegel et al., 2014).

Εάν η μόλυνση συμβεί αργά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, οι επιπτώσεις στο έμβρυο είναι λιγότερο σοβαρές, με τα περισσότερα νεογνά τα οποία μολύνθηκαν στο τρίτο τρίμηνο να είναι ασυμπτωματικά κατά τη γέννηση (Εικόνα 12). Εντούτοις, είναι δυνατό να παρουσιάσουν κλινικά συμπτώματα αργότερα, όπως χοριοαμφιβληστροειδίτιδα, τύφλωση, στραβισμό, ψυχοκινητικά συμπτώματα ή άλλα νευρολογικά συμπτώματα, παροξυσμούς, διανοητική καθυστέρηση και κώφωση. Υπολογίζεται ότι ένα στα τρία μολυσμένα έμβρυα με συγγενή τοξοπλάσμωση θα αναπτύξουν οφθαλμική βλάβη. (Weiss & Kim, 2014). Αφού γίνει διαπίστωση μόλυνσης από *T. gondii* σε γυναίκες που κυοφορούν, αυτές, μαζί με τον γυναικολόγο τους, θα πρέπει να λάβουν αποφάσεις σχετικά με την ανίχνευση της νόσου στο έμβρυο, την πιθανότητα χορήγησης θεραπευτικής αγωγής με πιθανές παρενέργειες ή την πιθανότητα τερματισμού της εγκυμοσύνης. Πρέπει να εκτιμήσουν το ρίσκο μετάδοσης του παρασίτου από τη μητέρα στο έμβρυο καθώς και τις κλινικές επιπτώσεις της συγγενούς τοξοπλάσμωσης (Εικόνα 13). Η ακριβής και γρήγορη διάγνωση συγγενούς τοξοπλάσμωσης επιτρέπει τη λήψη ενημερωμένης και υπεύθυνης απόφασης σχετικά με τη χορήγηση θεραπείας ή τον τερματισμό της εγκυμοσύνης. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται μεγάλος αριθμός μη απαραίτητων εκτρώσεων που οφείλονται στη δικαιολογημένη, μέχρι σήμερα, άγνοια και αβεβαιότητα για την κατάσταση του παιδιού που πρόκειται να γεννηθεί. (Weiss & Kim, 2014).

Μόλις αποδειχτεί η μόλυνση στην έγκυο, με εργαστηριακές μεθόδους, δίνεται θεραπεία με σπιραμυκίνη για να παρεμποδιστεί η μετάδοση του παρασίτου στο έμβρυο. Η σπιραμυκίνη σκοτώνει τα ταχυζωΐδια και, εφόσον χορηγηθεί έγκαιρα, μειώνει την πιθανότητα μετάδοσης της νόσου στο έμβρυο (Desmonts & COUNTEUR, 1986). Σε περίπτωση όμως που επιβεβαιωθεί η μετάδοση του παρασίτου στο έμβρυο, με εργαστηριακές μεθόδους (PCR αμνιακού υγρού), τότε χορηγείται πυριμεθαμίνη και σουλφαδιαζίνη μαζί με Folic acid για όλη τη διάρκεια της κύησης (Chaudhry et al., 2014). Το πρώτο τρίμηνο αποφεύγεται η χορήγηση πυριμεθαμίνης γιατί είναι τερατογόνος (Chaudhry et al., 2014). Ο μηχανισμός της κάθετης μετάδοσης του παρασίτου *T. gondii* δεν είναι ακόμα κατανοητός (Tenter et al., 2000). Η μετάδοση της μόλυνσης στο έμβρυο πραγματοποιείται αρχικά με μια γενικευμένη μόλυνση και στη συνέχεια η μόλυνση εντοπίζεται στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Hill et al., 2005). Ο εντοπισμός και άρα οι βλάβες που θα



προκύψουν είναι ανάλογες της ηλικίας του εμβρύου και συνεπώς του σταδίου ανάπτυξής του (Εικόνα 12).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι γυναίκες που βρίσκονται σε κατάσταση εγκυμοσύνης έχουν διπλάσια πιθανότητα να αποκτήσουν μόλυνση από *T. gondii* σε σύγκριση με τις γυναίκες που δεν κυοφορούν (Avelino, Campos et al., 2003, στο Leroy & Hadjichristodoulou, 2005). Ο κίνδυνος απόκτησης του παρασίτου μεγαλώνει ακόμη περισσότερο σε περίπτωση που η γυναίκα που κυοφορεί είναι έφηβη (Avelino, Campos et al., 2003, στο Leroy & Hadjichristodoulou, 2005). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στις μεταβολές που πραγματοποιούνται στο ανοσολογικό σύστημα λόγω της καταστολής των αντισωμάτων ή και στην ανισορροπία ορμονών που λαμβάνει χώρα κατά την περίοδο της κυοφορίας (Daunter, 1992).

Υπάρχουν ουσιώδεις διαφορές μεταξύ των διαφόρων χωρών ως προς το θέμα της εφαρμογής στρατηγικών για διαπίστωση ύπαρξης του παρασίτου *T. gondii* στην έγκυο (Joynson & Wreghitt, 2001). Ορισμένες χώρες έχουν επίσημο εθνικό στρατηγικό ιατρικό σχέδιο για την εμπόδιση μετάδοσης του παρασίτου και ως εκ τούτου υποχρεωτική προγεννητική εξέταση (Αυστρία, Γαλλία, Ιταλία, Λιθουανία, Σλοβενία). Άλλες χώρες εφαρμόζουν εξέταση αφού γεννηθεί το παιδί (Δανία), ενώ άλλες χώρες εφαρμόζουν προγράμματα, μη συστηματοποιημένα που δεν υπόκεινται σε κάποια επίσημη εθνική στρατηγική, τα οποία όμως προγράμματα δίνουν έμφαση σε διάφορες προγεννητικές ή μετά τη γέννηση εξετάσεις και έχουν στόχο την ενημέρωση των γυναικών που κυοφορούν και την εισήγηση τρόπων προστασίας από το παράσιτο (Βέλγιο, Κύπρος, Τσεχία, Φινλανδία, Γερμανία, Ελλάδα, Νορβηγία, Πολωνία, Πορτογαλία, Ελβετία) (Leroy et al., 2005, Benard et al., 2008).

Η εφαρμογή της μηνιαίας ορολογικής προγεννητικής εξέτασης κατά την εγκυμοσύνη και η βελτίωση στη προγεννητική διάγνωση έχουν οδηγήσει τα τελευταία χρόνια σε μια σημαντική μείωση στο ποσοστό της συγγενούς τοξοπλάσμωσης αλλά και άσκοπων τερματισμών κύησης σε ορισμένες χώρες (Wallon et al., 2013).

## 13.14 Αίτια - Παράγοντες κινδύνου

Υπάρχουν τρεις κύριοι τρόποι που μπορούν να προκαλέσουν τη μετάδοση του παρασίτου *T. gondii* σύμφωνα με τον Dubey, 2009: η επαφή με χώμα το οποίο είναι μολυσμένο με το παράσιτο *T. gondii* λόγω παρουσίας υπολειμμάτων περιττωμάτων γατών, η κατανάλωση όχι καλά ψημένου κρέατος το οποίο είναι μολυσμένο με το παράσιτο *T. gondii* και τέλος η μετάδοση του παρασίτου μέσω της εγκυμοσύνης.

Η κατανάλωση κρέατος, ειδικά αρνίσιου και χοιρινού, το οποίο δεν είναι ψημένο ικανοποιητικά, είναι ο κυριότερος παράγοντας κινδύνου απόκτησης του παρασίτου. Μία έρευνα, που πραγματοποιήθηκε στην Ευρώπη, έδειξε ότι η κατανάλωση μολυσμένου με *T. gondii* κρέατος ήταν ο σημαντικότερος παράγοντας μόλυνσης με το παράσιτο (30-63% των μολύνσεων), ενώ η επαφή με μολυσμένο χώμα είναι δεύτερος σημαντικός παράγοντας (6-17% των μολύνσεων) (Cook et al., 2000).

Παρά τον κυρίαρχο ρόλο που διαδραματίζει η γάτα στη μετάδοση του *T. gondii*, το παράσιτο έχει εντοπιστεί και σε ζώα τα οποία σε κανονικές καταστάσεις δεν έχουν έρθει σε επαφή με γάτες (Dubey, 2009). Ειδικότερα, το *T. gondii* έχει εντοπιστεί σε δελφίνια (Dubey et al., 2003) και σε αρκτικές αλεπούδες που ζουν στην περιοχή Svalbard του Αρκτικού Ωκεανού, περιοχή η οποία δεν κατοικείται από γάτες (Prestrud, Dubey, Asbakk, Fuglei & Su, 2008).

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η πιθανότητα να μολυνθείς με το παράσιτο *T. gondii* μέσω του αγγίγματος μιας γάτας είναι εξαιρετικά ελάχιστη έως ανύπαρκτη (Dubey, 1994) λόγω του γεγονότος ότι η γάτα καθαρίζει το σώμα της σχολαστικά κάθε μέρα, άρα δεν παραμένουν υπολείμματα κοπράνων στο τρίχωμά της. Δεδομένου ότι οι ωοκύστες του παρασίτου απαιτούν 2-3 ημέρες στο περιβάλλον (ανάλογα με τη θερμοκρασία και υγρασία) για να γίνουν μολυσματικές σποροκύστες, η πιθανότητα να παραμείνουν σποροκύστες στο τρίχωμα του ζώου για τόσο μεγάλο χρονικό διάστημα είναι μηδενική.

Εκτός από τους τρεις πιο πάνω κύριους τρόπους μετάδοσης του παρασίτου υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που μπορούν να προκαλέσουν τη μετάδοση του παρασίτου, όπως η κατανάλωση λαχανικών και φρούτων τα οποία είναι ωμά ή δεν είναι καλά πλυμένα (Leroy & Hadjichristodoulou, 2005) και έχουν λερωθεί με

μολυσματικές σποροκύστες. Ακόμη, η κατανάλωση ωμών μυδιών και άλλων μαλάκιων μπορεί να προκαλέσει μετάδοση του παρασίτου *T. gondii* (Flegr et al., 2014) γιατί τα ζώα αυτά τρέφονται φιλτράροντας το νερό της θάλασσας. Ωοκύστες του *T. gondii* μπορεί να παρασυρθούν από το νερό της βροχής ή τον άνεμο και να καταλήξουν στη θάλασσα. Μια και επιβιώνουν στο αλμυρό νερό, είναι δυνατόν να φαγωθούν από μαλάκια και να μολύνουν καταναλωτές άψητων τέτοιων ζώων.

Όμως, ωοκύστες μπορεί να καταλήξουν και σε λίμνες ή ποτάμια και να καταποθούν από εκδρομείς στη φύση, αλλά και από άτομα που υδρεύονται με νερό το οποίο έχει μολυνθεί από ωοκύστες, μια και οι ωοκύστες επιβιώνουν χλωρίωση αλλά και περνούν από τα συνηθισμένα φίλτρα νερού της υπηρεσίας εξυγίανσης ύδατος.

Ένας ακόμη τρόπος μετάδοσης του *T. gondii* είναι η μετάγγιση μολυσμένου με ταχυζωΐδια αίματος και ο κατά λάθος εμβολιασμός ταχυζωΐδιων μέσω μολυσμένων βελονών (Leroy & Hadjichristodoulou, 2005) (Flegr et al., 2014).

## 13.15 Εργαστηριακή Διάγνωση του παρασίτου

### *Toxoplasma gondii*

Οι πρόσφατες εξελίξεις στους τομείς της ανοσολογίας και της μοριακής βιολογίας επιτρέπουν την εφαρμογή πιο ευαίσθητων, ειδικών και γρήγορων εργαστηριακών μεθόδων διάγνωσης της παρασιτικής διασποράς, που μπορούν να υπερκεράσουν τις κλασικά χρησιμοποιούμενες μεθόδους (Καποτάς, 2003).

Αποτελεσματικές μέθοδοι για την ανίχνευση του παρασίτου *T. gondii* είναι η ανίχνευση αντισωμάτων στον ορό ή σε εκχυλίσματα κρέατος, η PCR (Αλυσιδωτή Αντίδραση της Πολυμεράσης) και ο υβριδισμός με τη χρήση DNA ιχνηλατών (Καποτάς, 2003). Η μόλυνση από το παράσιτο μπορεί να διαγνωστεί, επίσης, μέσω υπερήχων και αμνιοπαρακέντησης (Chaudhry et al., 2014).

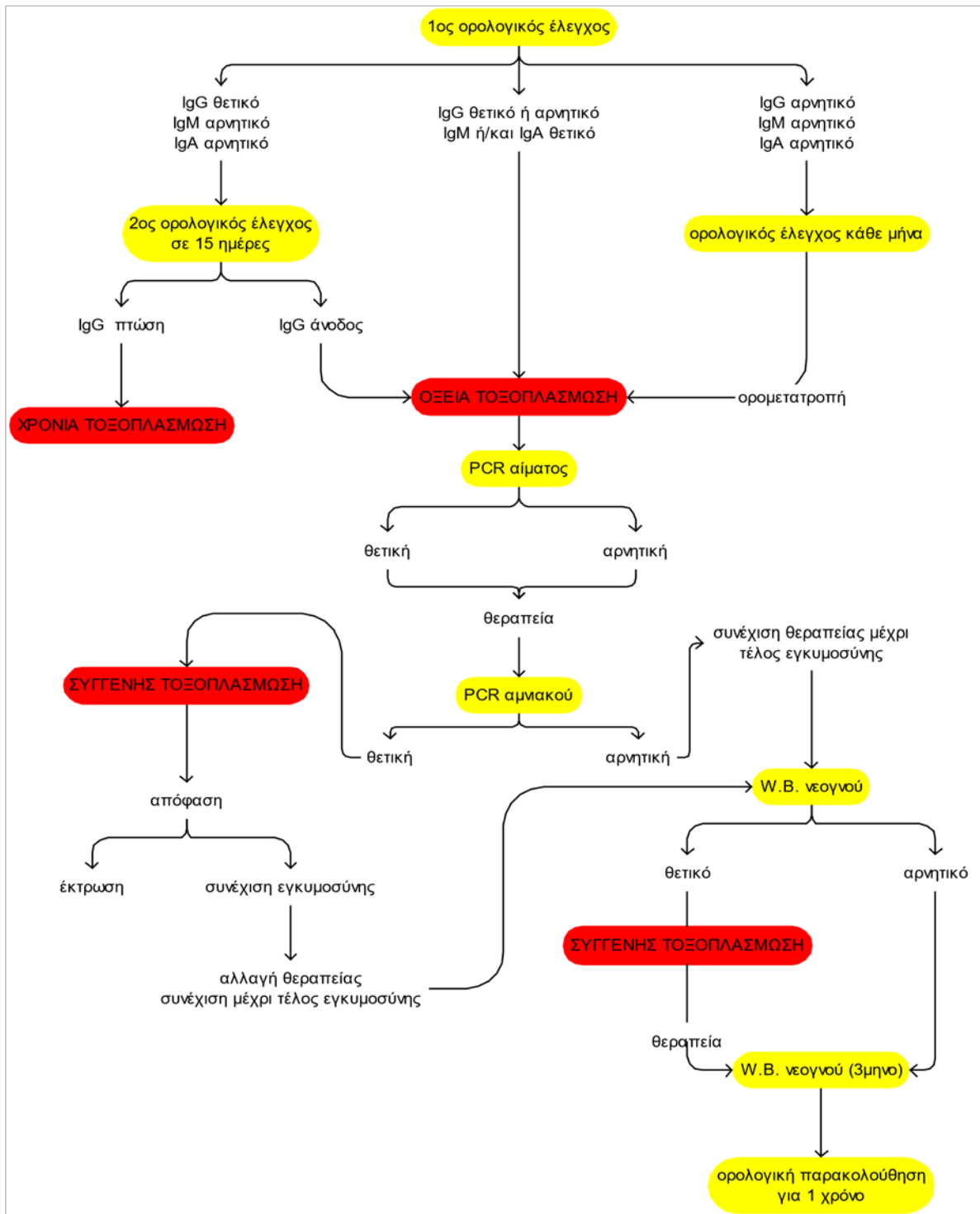
Σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς ανιχνεύονται αντιγόνα και γενετικό υλικό του παρασίτου (Weiss & Kim, 2014). Παρουσία IgG αντισωμάτων είναι ένδειξη παλιάς λοίμωξης, άρα υποδεικνύει την πιθανότητα αναζωπύρωσης της νόσου.

Ο πρώτος έλεγχος για να διαπιστωθεί αν η έγκυος έχει μολυνθεί από το *T. gondii* είναι τα ορολογικά τεστ για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι του παράσιτου (Roberts et al., 2001). Μέθοδοι αυτοί προσδιορίζουν τα IgM, IgG και IgA αντισώματα: το Sabin - Feldman dye test (IgG), IFAT (IgM, IgG) και ELISA (IgM, IgG και IgA). Τα IgM και IgA είναι ειδικά πρόσφατης λοίμωξης. Όμως, τα IgM αντισώματα μπορεί να παραμείνουν θετικά σε κάποια άτομα, για περισσότερο από 1 χρόνο (Roberts et al., 2001). Ο υψηλός τίτλος των IgM και IgG αντισωμάτων αλλά και η παρουσία IgA συνηγορεί σε πρόσφατη λοίμωξη (Roberts et al., 2001).

Οι μοριακές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση οξείας λοίμωξης είναι πολύ πιο ακριβείς αλλά ακριβές και απαιτείται εργαστηριακός εξοπλισμός και έμπειρο προσωπικό για την διεκπεραίωση τους. Η PCR είναι μία τεχνική με την οποία επιτυγχάνεται ο πολλαπλασιασμός μίας επιλεγμένης περιοχής του υποδιερεύνηση DNA με τη χρήση δύο ή περισσότερων ολιγονουκλεοτιδικών εναρκτών (primers). Έτσι, μια θετική PCR είναι ένδειξη ότι τα παράσιτο ευρίσκεται στο βιολογικό δείγμα αλλά δεν γνωρίζουμε αν είναι ζωντανό ή νεκρό.

Η θετική καλλιέργεια του παράσιτου από βιολογικό υλικό είναι βέβαια η χρυσή μέθοδος διάγνωσης και περαιτέρω επιτρέπει την τυποποίηση και μελέτη του παράσιτου, αλλά αυτή απαιτεί έμπειρο προσωπικό και εργαστηριακό εξοπλισμό. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιείται η κυτταρική σειρά MRC-5 η οποία καλλιεργείται σε shell-vials ώστε να χρησιμοποιηθεί για τον ενοφθαλμισμό βιολογικών δειγμάτων σε αυτά μετά από σχετική επεξεργασία (Τζουβάλη, 2004). Επίσης η καλλιέργεια του παράσιτου μπορεί να γίνει σε ποντίκια.

Η εξέταση του εμβρύου με υπέρηχο δίνει την δυνατότητα στον ιατρό να παρακολουθήσει την ομαλή ανάπτυξη του εμβρύου και να διαγνώσει έγκαιρα σημεία και αλλοιώσεις που οφείλονται σε διάφορους παράγοντες. Αλλοιώσεις που προκαλούνται από λοίμωξη του εμβρύου από το παράσιτο και μπορούν να εντοπιστούν με υπέρηχο είναι ορατές σαν ασβεστώσεις, μικροκεφαλία, υδροκεφαλία. Όταν σε μια έγκυο υπάρχει υποψία οξείας λοίμωξης (ορολογικά ευρήματα), τότε ο ιατρός θα πρέπει να την παρακολουθεί με υπέρηχο και να πραγματοποιεί παρατηρήσεις και μετρήσεις στο αναπτυσσόμενο έμβρυο για να εντοπίσει σωματομετρικά και άλλα χαρακτηριστικά που αποκλίνουν από το φυσιολογικό (Εικόνα 15).



**Εικόνα 15.** Παρακολούθηση και χειρισμός εγκύου για αποφυγή συγγενούς τοξοπλάσμωσης (Antoniou et al., 2004).

## 13.16 Πρόληψη

Είναι πολύ σημαντικό να λαμβάνονται τα απαραίτητα μέτρα, από εγκύους γυναίκες, για την αποφυγή μόλυνσης από το *T. gondii*. Για να αποφευχθεί η λοίμωξη ανθρώπων αλλά και γατιών, όλα τα κρέατα πρέπει να είναι καλά ψημένα πριν καταναλωθούν (Hill et al., 2005). Τα άτομα που έρχονται σε επαφή με το κρέας στη συνέχεια πρέπει να πλένονται προσεχτικά με σαπούνι και νερό πριν ασχοληθούν με άλλες εργασίες (Lopez, Dietz, Wilson, Navin & Jones, 2000).

Επίσης, όλα τα σκεύη που έρχονται σε επαφή με άψητο κρέας, όπως για παράδειγμα τα μαχαίρια, αλλά και οι επιφάνειες τις οποίες χρησιμοποιήσαμε για το κρέας πρέπει να πλένονται με σαπούνι και νερό (Dubey & Beattie, 1988, στο Hill et al., 2005).

Το *T. gondii*, όταν βρίσκεται στο κρέας, μπορεί να θανατωθεί όταν το τοποθετήσουμε σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες. Συγκεκριμένα, στην κατάψυξη, στους -10 με -13°C για τουλάχιστον 3 ημέρες (ανάλογα με το μέγεθος του τεμαχίου) το παράσιτο εξολοθρεύεται (Dubey, 1988). Επιπλέον, πρέπει να αποφεύγουμε να γευόμαστε το κρέας κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος (Hill et al., 2005).

Είναι καλό να χρησιμοποιούμε γάντια ενώ ασχολούμαστε με εργασίες στον κήπο έτσι ώστε να αποφύγουμε την επαφή μας με χώμα ή περιττώματα γατών τα οποία μπορεί να είναι μολυσμένα με το παράσιτο (Hill et al., 2005; Leroy & Hadjichristodoulou, 2005). Επίσης φρούτα και λαχανικά, πρέπει να πλένονται καλά πριν καταναλωθούν. Οι γυναίκες που βρίσκονται σε κατάσταση εγκυμοσύνης θα ήταν καλό να αποφεύγουν να έρθουν σε επαφή με γάτες χωρίς προφυλάξεις και σωστούς χειρισμούς (Hill et al., 2005).

Τα κατοικίδια ζώα πρέπει να τρέφονται μόνο με ξηρά τροφή ή καλά μαγειρεμένα φαγητά ή κονσέρβες (Hill et al., 2005). Το δοχείο που έχουμε για τη φυσική ανάγκη του κατοικίδιου ζώου μας πρέπει να καθαρίζεται καθημερινά γιατί οι ωοκύστες στα περιττώματα των γάτων μετά από 2-3 ημέρες γίνονται μολυσματικές. Είναι καλό ο καθαρισμός του δοχείου της γάτας να μην γίνεται από μια γυναίκα που κυοφορεί (Jones et al., 2001). Οι γυναίκες που κυοφορούν

πρέπει να προσέχουν ώστε οι γάτες τους να μη βγαίνουν εκτός σπιτιού και επίσης να μην υιοθετούν ή να αγγίζουν αδέσποτα γατιά (Jones et al., 2001).

Οι νεαρές γάτες μολύνονται όταν πρωτοξεκινάνε να κυνηγούν και έτσι είναι επικίνδυνο να πρωτομολυνθούν από το παράσιτο και να ελευθερώσουν σποροκύστες. Οι μεγαλύτερες σε ηλικία γάτες, αν τρεφόντουσαν εκτός σπιτιού, πιθανότατα να πέρασαν το στάδιο πρωτομόλυνσης και έτσι να μην μπορούν να ξαναγίνουν μολυσματικές για το Τοξόπλασμα, γεγονός που συμβαίνει μια φορά στη ζωή της γάτας.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι δεν υπάρχει κάποιο εμβόλιο το οποίο να μπορεί να εμποδίσει τη μετάδοση της τοξοπλάσμωσης στον άνθρωπο ή στη γάτα (Hill et al., 2005).

Από τη βιβλιογραφία έχει διαπιστωθεί ότι οι περισσότερες γυναίκες που κυοφορούν έχουν πολύ λίγες γνώσεις σχετικά με το *T. gondii* και τους κινδύνους που εγκυμονεί το παράσιτο για το έμβρυό τους (Pereboom et al., 2013). Η συγγενής τοξοπλάσμωση μπορεί να περιοριστεί μέσω ενημέρωσης των γυναικών που κυοφορούν ή των γυναικών που βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία για τους κινδύνους από λοίμωξη από το παράσιτο και τους τρόπους αποφυγής της λοίμωξης (Jones et al., 2001). Τα εκπαιδευτικά προγράμματα που έχουν ως θέμα την πρόληψη από το *T. gondii* έχουν αξιόλογη δυναμική παρέμβαση λόγω του χαμηλού κόστους και επειδή οι γυναίκες που κυοφορούν ενδιαφέρονται για την προστασία του εμβρύου τους (Jones et al., 2001). Ακόμη, είναι σημαντικό τα προγράμματα δημόσιας υγιεινής, κατά την πρώτη επίσκεψη στο γυναικολόγο, να περιλαμβάνουν ενημέρωση σχετικά με την πρόληψη της τοξοπλάσμωσης και των παραγόντων κινδύνου μετάδοσης του παρασίτου (Pereboom et al., 2013).

## 14. Μεθοδολογία

### 14.1 Περιοχή μελέτης

Το ερευνητικό έργο πραγματοποιήθηκε το 2008-2011, στα ελεγχόμενα από την Κυπριακή Δημοκρατία εδάφη της Κύπρου, έκτασης 5,896 Km<sup>2</sup> που κατανέμονται σε πέντε επαρχίες διαφορετικής έκτασης (Εικόνα 16). Στην Κυπριακή Δημοκρατία λειτουργούν 46 Λύκεια ([http://www.moec.gov.cy/etisia-ekthesi/pdf/annual\\_report\\_2013\\_gr.pdf](http://www.moec.gov.cy/etisia-ekthesi/pdf/annual_report_2013_gr.pdf)), με περίπου 21,170 μαθητές και μαθήτριες, ηλικίας 16-18 ετών (κατά την περίοδο διεξαγωγής της μελέτης). Περίπου 56% κορίτσια και 44% αγόρια.

Διεξήχθη πιλοτική μελέτη, κατά την οποία πήραν μέρος 100 μαθήτριες από 3 διαφορετικά Λύκεια, ώστε να καθοριστεί το επίπεδο οροθετικότητας και έτσι να τεθεί το στατιστικά αποδεχτό δείγμα για τη μελέτη αυτή. Η οροθετικότητα στο δείγμα αυτό ήταν 6%. Έτσι, ένας αριθμός Λυκείων επιλέχτηκε, με κλήρωση, ώστε να συμμετάσχει στη μελέτη το 40% των Λυκείων από κάθε επαρχία (Πίνακας 1, Εικόνα 16). Στόχος ήταν να εξεταστούν, ορολογικά, κορίτσια 16-18 ετών από ένα τυχαίο, γεωγραφικά αντιπροσωπευτικό, δείγμα από όλη την Κύπρο. Συνολικά, πήραν μέρος στη μελέτη 1,056 κορίτσια, που φοιτούσαν σε 18 Λύκεια και που ζούσαν σε 104 χωριά και πόλεις από τις 5 επαρχίες, η επιλογή των οποίων ήταν τυχαία (response rate 30%).

### 14.2 Ηθικά ζητήματα

Η επιτροπή βιοηθικής Κύπρου, μετά την μελέτη του πρωτοκόλλου (Παράρτημα 1), έδωσε την άδειά της για την πραγματοποίηση της έρευνας (άδεια: ΕΕΒΚ/ΕΠ/2007/2B) (Παράρτημα 2). Το Υπουργείο Παιδείας Κύπρου (Διεύθυνση δημοτικής εκπαίδευσης, Διεύθυνση μέσης εκπαίδευσης), ενημερώθηκε για το έργο αυτό και δόθηκε η άδεια και η βοήθειά του στην εκτέλεση του (7.19.46.7/9) και εξασφαλίστηκε άδεια πρόσβασης στα σχολεία της Κύπρου (Παράρτημα 3). Το

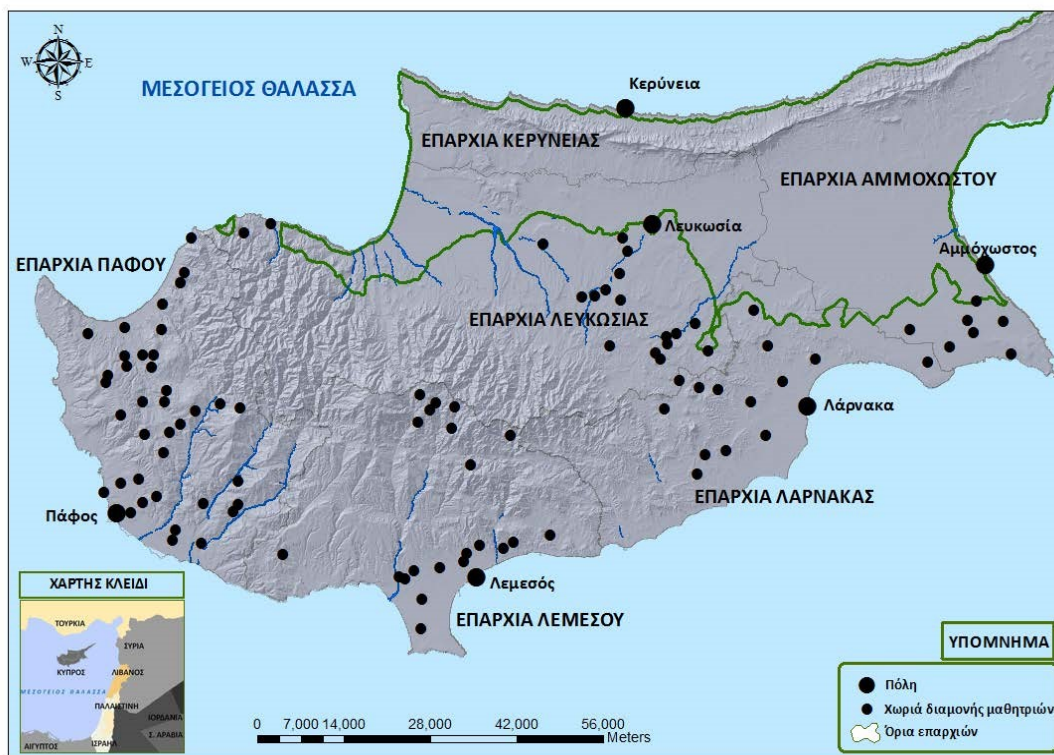


Υπουργείο Υγείας Κύπρου ενημερώθηκε για το έργο αυτό με κοινοποίηση της αίτησης προς το Υπουργείο Παιδείας, (Παράρτημα 3).

**Πίνακας 1.** Τα Λύκεια από όλη την Κύπρο που πήραν μέρος στη μελέτη. Σύνολο 1,056 κορίτσια.

<b>ΕΠΑΡΧΙΑ</b>	<b>ΛΥΚΕΙΟ</b>
<b>ΛΕΥΚΩΣΙΑ</b>	
<b>191 μαθήτριες</b>	<b>ΙΔΑΛΙΟΥ</b>
	<b>ΕΘΝΟΜ.ΚΥΠΡΙΑΝΟΥ</b>
	<b>ΑΓ. ΓΕΩΡΓΙΟΥ ΛΑΚΑΤΑΜΙΑΣ</b>
<b>ΛΕΜΕΣΟΣ</b>	
<b>259 μαθήτριες</b>	<b>ΛΑΝΙΤΕΙΟ</b>
	<b>ΛΙΝΟΠΕΤΡΑΣ</b>
	<b>ΑΓΙΟΥ ΙΩΑΝΝΗ</b>
	<b>ΑΓΡΟΥ</b>
	<b>ΑΓΙΟΥ ΑΝΤΩΝΙΟΥ</b>
<b>ΛΑΡΝΑΚΑ</b>	
<b>241 μαθήτριες</b>	<b>ΒΕΡΓΙΝΑΣ</b>
	<b>ΑΡΑΔΙΠΟΥ</b>
<b>ΠΑΦΟΣ</b>	
<b>232 μαθήτριες</b>	<b>ΑΓΙΟΥ ΝΕΟΦΥΤΟΥ</b>
	<b>ΧΡΥΣΟΧΟΥΣ</b>
	<b>ΠΟΛΕΜΙΟΥ</b>
	<b>ΤΕΧΝ.ΣΧΟΛΗ</b>
	<b>ΓΕΡΟΣΚΗΠΟΥ</b>
	<b>ΚΑΤΩ ΠΥΡΓΟΥ</b>
<b>ΑΜΜΟΧΩΣΤΟΣ</b>	
<b>133 μαθήτριες</b>	<b>ΠΑΡΑΛΙΜΝΙΟΥ</b>
	<b>ΦΡΕΝΑΡΟΥ</b>

Όλα τα κορίτσια πήραν μέρος στη μελέτη αφού συμπλήρωσαν το έντυπο συγκατάθεσης (Παράρτημα 7), το οποίο έντυπο έπρεπε να υπογράψουν και οι γονείς/κηδεμόνες τους. Αυτό έγινε αφού ενημερώθηκαν για το πρόγραμμα και τους στόχους του (Παράρτημα 5).



**Εικόνα 16.** Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη. Οι κουκίδες αναφέρονται στις πόλεις και στα χωριά κατοικίας των μαθητριών.

### 14.3 Επαφή με τα Λύκεια

Μετά την έγκριση του ερευνητικού έργου από την Εθνική Επιτροπή Βιοηθικής Κύπρου και την εξασφάλιση άδειας πρόσβασης στα σχολεία από το Υπουργείο Παιδείας, εστάλησαν επιστολές στους / στις διευθυντές / διευθύντριες των Λυκείων που επιλέχθηκαν, πρώτα για την πιλοτική μελέτη και αργότερα για την κύρια μελέτη. Έγιναν επίσης και τηλεφωνήματα για μια πιο άμεση επαφή. Με τις επιστολές αυτές (Παράρτημα 6) ενημερωνόντουσαν για τους σκοπούς και τη σημασία της μελέτης και ζητιόταν η συνεργασία με τους / τις καθηγητές /

Διδακτορική Διατριβή Μάριου Λιασίδα, 2016

καθηγήτριες Βιολογίας για την εκπόνηση του έργου. Όλοι, διευθυντές και καθηγητές, δέχτηκαν πρόθυμα την συνεργασία και βοήθησαν με όλες τους τις δυνάμεις για την πραγματοποίησή της.

## **14.4 Ενημέρωση μαθητών / μαθητριών και των γονέων τους**

Με τη βοήθεια των καθηγητών βιολογίας των Λυκείων, διοργανώθηκε ομιλία σε κάθε Λύκειο, στην ώρα του μαθήματος βιολογίας, όπου παρευρέθηκαν όλα τα παιδιά του Λυκείου (κορίτσια και αγόρια) που παρακολουθούσαν το μάθημα βιολογίας σαν μάθημα επιλογής. Ο σύλλογος γονέων των Λυκείων αυτών, σε συνεννόηση πάντα με τους καθηγητές της Βιολογίας και τα μέλη της ερευνητικής ομάδας, διοργάνωσε εκδήλωση όπου οι γονείς, και όλοι οι ενδιαφερόμενοι, ενημερώθηκαν από τα μέλη της ερευνητικής ομάδας, με διαλέξεις, για τους στόχους του προγράμματος, για το παράσιτο Τοξόπλασμα, τη βιολογία, επιδημιολογία, παθογένειά του και τα προβλήματα που δημιουργεί στην υγεία και κτηνοτροφία και τους τρόπους αποφυγής της λοίμωξης από αυτό, αλλά και για τη σκοπιμότητα και τη σημασία της μελέτης. Επιπλέον, μοιράστηκε στους εμπλεκόμενους πληροφοριακό υλικό στο θέμα της τοξοπλάσμωσης μέσω των καθηγητών της βιολογίας (Παράρτημα 5).

## **14.5 Εξασφάλιση συγκατάθεσης μαθητριών και γονέων/κηδεμόνων τους**

Έντυπο συγκατάθεσης δόθηκε σε όλα τα κορίτσια που παρακολουθούσαν Βιολογία σαν μάθημα επιλογής, ηλικίας 16-18 ετών τα οποία έδειξαν ενδιαφέρον να πάρουν μέρος στη μελέτη. Τους ζητήθηκε να συμπληρώσουν το έντυπο συγκατάθεσης στο σπίτι με τους γονείς τους και να το υπογράψουν αυτές αλλά και οι γονείς/κηδεμόνες τους αν συμφωνούσαν με το περιεχόμενό του (Παράρτημα 7).

## **14.6 Αιμοληψία και συμπλήρωση ερωτηματολογίου**

Ορίστηκε, σε συνεννόηση με τους διευθυντές και τους καθηγητές του Λυκείου, μια ημέρα κατά την οποία θα γινόταν η αιμοληψία από τα κορίτσια που είχαν παρακολουθήσει τη διάλεξη χωρίς να παρακωλύεται η ομαλή λειτουργία της σχολικής μονάδας. Δύο ιατροί (Γυναικολόγος και Μικροβιολόγος), πραγματοποίησαν τις αιμοληψίες (ένα δείγμα με και ένα χωρίς το αντιπηκτικό EDTA, 6 ml το κάθε ένα) στα κορίτσια με τη βοήθεια τριών νοσοκόμων (δύο νοσηλευτριών και μιας επισκέπτριας υγείας), οι οποίες βοήθησαν τα κορίτσια και στη συμπλήρωση των ερωτηματολογίων με τα προσωπικά και επιδημιολογικά τους στοιχεία (Παράρτημα 8).

Σε κάθε ερωτηματολόγιο δόθηκε ένας κωδικός, ο οποίος χρησιμοποιήθηκε για τη σήμανση των δειγμάτων αίματος κάθε κοριτσιού, ώστε οι χειρισμοί τους να γίνουν ανώνυμα. Τα δείγματα αίματος τοποθετήθηκαν σε μικρά ψυγεία και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο για φύλαξη. Τα αίματα χωρίς αντιπηκτικό, μετά από φυγοκέντρηση κατά την οποία διαχωρίστηκε ο ορός από το πήγμα, τοποθετήθηκαν στους  $-20^{\circ}\text{C}$ , ενώ τα αίματα με αντιπηκτικό στους  $-80^{\circ}\text{C}$  μέχρι την πραγματοποίηση των διαγνωστικών εξετάσεων. Ο ορός χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση Αντισωμάτων έναντι του Τοξοπλάσματος και τα αίματα με EDTA για την διεξαγωγή PCR, στις περιπτώσεις κατά τις οποίες ο ορολογικός έλεγχος έθετε την υποψία οξείας λοίμωξης από το παράσιτο.

Από τις 1,085 μαθήτριες που έδειξαν ενδιαφέρον, οι 1,056 επέστρεψαν το έντυπο συγκατάθεσης και πήραν μέρος στην αιμοληψία.

## **14.7 Το ερωτηματολόγιο**

Το ερωτηματολόγιο που ζητήθηκε από τις μαθήτριες να συμπληρώσουν, αποτελείτο από 20 ερωτήματα: 7 σχετίζονταν με τα δημογραφικά τους στοιχεία

(Λύκειο στο οποίο φοιτούν, τάξη, επαρχία, όνομα μαθήτριας, ηλικία, εθνικότητα, διεύθυνση και διεύθυνση πριν ένα χρόνο) και 13 σχετίζονταν με παράγοντες οι οποίοι σύμφωνα με τη βιβλιογραφία πιστεύεται ότι συμβάλουν στη λοίμωξη του ανθρώπου με το παράσιτο Τοξόπλασμα: διαμονή (διαμένει σε χωριό/πόλη, διαμέρισμα ή σπίτι με/χωρίς κήπο), παρουσία γάτας στο σπίτι, άλλα κατοικίδια μέσα/κοντά στο σπίτι (κοτόπουλα, κουνέλια, πρόβατα, κασίκια, γουρούνια, άλλο), κάποιες φορές παρουσία τρωκτικών μέσα στο σπίτι/στο περιβάλλον του σπιτιού, κατανάλωση βρασμένου/μη βρασμένου γάλακτος, κάποτε κατανάλωση νερού από πηγάδι/πηγή/νερό βροχής/άλλη πηγή όχι καθαρού νερού, κατανάλωση καλά/όχι καλά ψημένου κρέατος (κατανάλωση καπνιστού κρέατος, λουκάνικων), κατανάλωση ωμών αβγών, κατανάλωση άψητων άγριων χόρτων ή κατανάλωση /φρούτων όχι καλά πλυμένων, είναι αθλήτριες, κατάσταση υγείας (παρουσίασαν συμπτώματα όπως πρήξιμο λεμφαδένων 1-612 μήνες πριν, συμπτώματα κρυολογήματος πρόσφατα, παρουσίασαν κάποια άλλα σοβαρά συμπτώματα νόσου), έχουν λοίμωξη από HIV, παίρνουν ανοσοκατασταλτικά φάρμακα (Παράρτημα 8).

## 14.8 Ορολογικός έλεγχος των δειγμάτων με τη μέθοδο ELISA

Συνολικά, εξετάστηκαν 1,056 οροί για Αντισώματα IgM και IgG έναντι του *Toxoplasma*, με τη μέθοδο της ELISA (NovaLisa™, NovaTec Immunodiagnostica GmbH, Germany) ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή. Θετικά IgM >1,1 sensitivity 95.8%, specificity > 98%. Θετικά IgG >35 sensitivity 96.6%, specificity > 98.2%. Σε όλα τα ELISA τέστς, για κάθε ομάδα 90 ορών, χρησιμοποιήθηκαν θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες.

Στους ορούς με υψηλό τίτλο IgG ή οποιοδήποτε θετικό τίτλο IgM, πραγματοποιήθηκε το τεστ IgG Avidity ώστε να επαληθευτεί οξεία λοίμωξη από το παράσιτο (NovaLisa™, χαμηλό avidity < 40 - agreement with acute and past infection 96.5% - όπου θεωρείται οξεία λοίμωξη), όπως επίσης και η μοριακή ανίχνευση του DNA του παράσιτου με τη μέθοδο της PCR.

## 14.9 Μοριακή τεχνική, PCR, καλλιέργεια του παράσιτου

Τα 11 ύποπτα για οξεία λοίμωξη οροθετικά δείγματα (παρουσία IgM αντισωμάτων ή/και με υψηλό τίτλο IgG αντισωμάτων), ελέχθησαν με τη μοριακή μέθοδο της PCR για την ανίχνευση DNA του παράσιτου στο ολικό αίμα, σε περίπτωση που το κορίτσι βρισκόταν στο στάδιο της παρασιταιμίας (οξεία λοίμωξη).

Η PCR είναι μία τεχνική με την οποία επιτυγχάνεται ο πολλαπλασιασμός μίας επιλεγμένης περιοχής του υπο-διερεύνηση DNA με τη χρήση δύο ή περισσότερων ολιγονουκλεοτιδικών εναρκτών (primers). Η αντίδραση PCR που χρησιμοποιήθηκε είναι βασισμένη στην αλληλουχία του γονιδίου B1, της deoxyuridine triphosphate–uracil DNA glycosylase PCR (dUTP–UDG PCR), που μπορεί να ανιχνεύσει το *T. gondii* σε δείγματα αίματος. Με την τεχνική αυτή, καθίσταται δυνατή η εξάλειψη επιμόλυνσης από μεταφορά από προϋπάρχοντα προϊόντα PCR τα οποία μπορεί να επιμολύνουν υλικά, πάγκους, κλπ. Στα καινούρια προϊόντα PCR εισήχθη U στη θέση της T, ώστε, σε περίπτωση που αυτά είχαν επιμολυνθεί να καταστραφούν από το ένζυμο UDG, το οποίο αδρανοποιείται πριν αρχίσει και πάλι ο πολλαπλασιασμός του καινούργιου μη-επιμολυσμένου DNA με PCR. Οι εναρκτές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι TGB11 (5'–AGC GAA GAC TGC GGA TGA CT–3') και TGB12 (5'–GAA TGG AGA CGA ACA CGC TA–3') (Τζουβάλη, 2004).

Καλλιέργεια του Τοξοπλάσματος δεν πραγματοποιήθηκε μια και δεν βρέθηκαν άτομα με θετική PCR κατά την μελέτη, ώστε να δικαιολογεί την προσπάθεια απομόνωσης του παράσιτου από το δείγμα αίματος χωρίς αντιπηκτικό.

## 14.10 Γνωστοποίηση ορολογικών αποτελεσμάτων στους ενδιαφερόμενους

Εστάλησαν επιστολές στους γονείς των κοριτσιών που πήραν μέρος στη μελέτη, γνωστοποιώντας τους τα αποτελέσματα των διαγνωστικών εξετάσεων των θυγατέρων τους και, ανάλογα του αποτελέσματος, υποδείξεις για το τι ενέργειες

Διδακτορική Διατριβή Μάριου Λιασίδα, 2016

πρέπει να ακολουθήσουν για μελλοντική, ασφαλή από το Τοξόπλασμα, εγκυμοσύνη (Παραρτήματα 9+10).

Τα αποτελέσματα του έργου έχουν γνωστοποιηθεί στο Υπουργείο Υγείας και Παιδείας Κύπρου και στην Εθνική Επιτροπή Βιοηθικής Κύπρου.

## **14.11 Ορολογικά, έναντι του Τοξοπλάσματος, αποτελέσματα εγκύων**

Μετά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων όλων των δειγμάτων που είχαν συλλεχθεί, καταδείχτηκε ότι η οροθετικότητα έναντι της τοξοπλάσματος στις μαθήτριες ηλικίας 16-18 είναι χαμηλή. Αυτό το αποτέλεσμα οδήγησε στην αλλαγή του αρχικού πρωτοκόλλου και αποφασίστηκε να παραληφθεί η δειγματοληψία σε μαθητές δημοτικών σχολείων (για να εξετάσουμε την κρίσιμη ηλικία κατά την οποία μολύνονται οι Κύπριοι από το παράσιτο) και να αναζητηθούν και να αξιολογηθούν ορολογικά αποτελέσματα, έναντι του Τοξοπλάσματος, εγκύων γυναικών με την βοήθεια των εργαστηρίων των επαρχιακών νοσοκομείων της ελεύθερης Κύπρου.

Συνολικά, τέθηκαν στη διάθεσή μας αποτελέσματα ορολογικών εξετάσεων, έναντι του Τοξοπλάσματος, 17,631 εγκύων γυναικών που αφορούσαν στα αντίστοιχα χρόνια 2009-2011 των αιμοληψιών από τα Λύκεια και 5,445 εγκύων που εξετάστηκαν τα έτη 2012-2014. Τα αποτελέσματα των εξετάσεων, μαζί με επιδημιολογικά και γεωγραφικά στοιχεία, δόθηκαν στην ερευνητική ομάδα από τους ιατρούς μικροβιολόγους, υπεύθυνους των Μικροβιολογικών εργαστηρίων των 4 νοσοκομείων της Κύπρου τα οποία διενεργούν τις εξετάσεις αυτές για τον πληθυσμό των 5 νομών. Τα αποτελέσματα δόθηκαν κωδικοποιημένα, ανώνυμα. Τα ορολογικά τεστ που χρησιμοποιήθηκαν από τα εργαστήρια ήταν ELISA (Architect Abbott; IgM positive>0.6, relative sensitivity 89.9%, relative specificity 99.8%. IgG positive>0.3, relative sensitivity 97.5%, relative specificity 99.1%).

## 14.12 Οροεπιδημιολογική μελέτη σε αιγοπρόβατα

Είναι πολύ σημαντικό, για την σφαιρική εικόνα της επιδημιολογίας της νόσου, να γνωρίζουμε τον επιπολασμό της τοξοπλάσμωσης στα παραγωγικά ζώα μια και αποτελούν μια σημαντική οδό μόλυνσης του ανθρώπου από το παράσιτο.

Υπάρχουν 3,123 κτηνοτροφικές μονάδες με αιγοπρόβατα στην Κύπρο, με περίπου 536,727 ζώα. Τυχαία επιλέχτηκαν 163 μονάδες, με κλήρωση, και πάρθηκαν δείγματα αίματος από κτηνιάτρους από 515 τυχαία πρόβατα και 581 κατσίκια από τις μονάδες αυτές, το 2013-2014, 192-241 ζώα από κάθε επαρχία.

Για κάθε ζώο, συλλέχτηκαν επίσης και επιδημιολογικά στοιχεία με τη βοήθεια ερωτηματολογίου (Παράρτημα 11). Τα δείγματα αίματος (χωρίς EDTA) διατηρήθηκαν σε μικρά ψυγεία μέχρι τη μεταφορά τους στο εργαστήριο όπου φυγοκεντρήθηκαν και ο ορός που συνελέγη κρατήθηκε στους  $-20^{\circ}\text{C}$ . Οι οροί ελέχθησαν για αντισώματα IgG έναντι του *T. gondii* με τη μέθοδο της ELISA (CHEKIT-Toxotest ELISA Test kit, IDEXX Laboratories: όπου θετικό εθεωρείτο το  $\text{IgG} \geq 100\%$ ). Σε όλα τα ELISA τεστ, για κάθε ομάδα 90 ορών, χρησιμοποιήθηκαν θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες.

## 14.13 Στατιστική ανάλυση και χαρτογράφηση των αποτελεσμάτων

Μελετήθηκε η οροθετικότητα των μαθητριών έναντι της τοξοπλάσμωσης για κάθε επαρχία της Κυπριακής Δημοκρατίας και κάθε λύκειο που πήρε μέρος στη μελέτη. Υπολογίστηκε ένα διάστημα εμπιστοσύνης για τον επιπολασμό της τοξοπλάσμωσης στα κορίτσια 16-18 ετών ρυθμίζοντας το τυπικό σφάλμα κατά την ομαδοποίηση της δειγματοληπτικής διαδικασίας (και χρησιμοποιώντας το κλάσμα δειγματοληψίας 18/42), όπως περιγράφεται στο [\[http://www.fao.org/wairdocs/ilri/x5436e/x5436e07.htm\]](http://www.fao.org/wairdocs/ilri/x5436e/x5436e07.htm).

Πραγματοποιήθηκαν μονοπαραγοντικές συσχετίσεις μεταξύ μεταβλητών με τη χρήση διορθωμένου, στατιστικά σταθμισμένου, Pearson  $\chi^2$  για να αντισταθμιστεί  
Διδακτορική Διατριβή Μάριου Λιασίδα, 2016

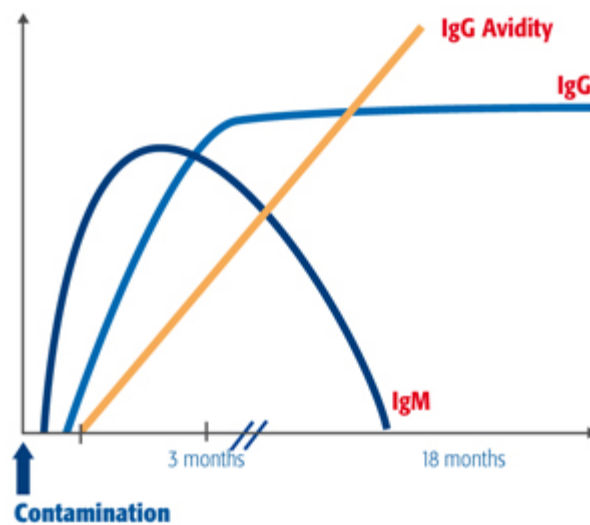


η ομαδοποίηση στη δειγματοληψία. Προσαρμόστηκαν μονοπαραγοντικά και πολυπαραγοντικά μοντέλα λογιστικής παλινδρόμησης, ορίζοντας τη μεταβλητή "σχολείο" ως πρωτογενή μονάδα δειγματοληψίας. Οι μεταβλητές που συμπεριλήφθηκαν στο πολυπαραγοντικό μοντέλο ήταν: η περιοχή, η ύπαρξη / απουσία κήπου, η κατανάλωση σαλαμιού (ναι / όχι), η κατανάλωση ωμών αυγών, η κατανάλωση ωμών λαχανικών, το πλύσιμο λαχανικών και τρώγοντας έξω (ποτέ / μία ή δύο φορές την εβδομάδα / περισσότερο από δύο φορές την εβδομάδα). Περισσότερες επεξηγηματικές μεταβλητές δεν θεωρήθηκαν ως αποδεικτικά στοιχεία πολυσυγγραμμικότητας. Ωστόσο, χρησιμοποιήθηκε πλήρης ανάλυση στη διαδικασία του λογιστικού μοντέλου παλινδρόμησης. Επιλέχθηκε κατά την ανάλυση των δεδομένων επίπεδο σημαντικότητας 5% και χρησιμοποιήθηκε επιπλέον το Stata 11 (εφαρμόζοντας την εντολή svyset πριν από τις αναλύσεις). Τα ορολογικά και γεωγραφικά δεδομένα των μαθητριών, των εγκύων γυναικών, των προβάτων και των αιγών καθώς και των τρωκτικών από μια προηγούμενη μελέτη (Psaroulaki et al, 2010) χαρτογραφήθηκαν με τη χρήση γεωγραφικών συστημάτων πληροφόρησης (GIS, ArcGIS 10). Επίσης, τα αποτελέσματα των μαθητριών, των εγκύων γυναικών, των τρωκτικών, των προβάτων και των αιγών παρουσιάστηκαν σε πίτες δείχνοντας τις αναλογίες οροθετικότητας για κάθε επαρχία και το νησί στο σύνολό του. Τα 104 χωριά και πόλεις όπου τα κορίτσια που εξετάστηκαν ζούσαν, παρουσιάζονται επίσης στο χάρτη για να απεικονιστεί η κάλυψη της περιοχής που ερευνήθηκε.

## 15. Αποτελέσματα

### 15.1 Αποτελέσματα ορολογικών εξετάσεων μαθητριών 16-18 ετών

Συνολικά, στα 1,056 κορίτσια Λυκείου 16-18 ετών που εξετάστηκαν, η οροθετικότητα βρέθηκε να είναι 6.5% (95% CI, 4.1% έως 10.4%). Τα 69/1,056 κορίτσια ήταν οροθετικά: 8 θετικά για IgM (0.8%: 4 από την επαρχία Πάφου, 3 από Λευκωσίας και 1 από Λεμεσού) και 2 για IgM και IgG αντισώματα. Το τεστ IgG avidity, στα 8 θετικά για IgM και σε 11 με υψηλό τίτλο IgG, έδειξε ότι η λοίμωξη συνέβη περισσότερο από 4 μήνες πριν τη δειγματοληψία (υψηλό avidity >40: 54.9 - 91.44) (Εικόνα 17).



**Εικόνα 17.** Ο τίτλος του τεστ IgG avidity, αυξάνεται χρονικά μετά τη λοίμωξη.  
<http://www.biomerieux-diagnostics.com/vidas-torc-panel>

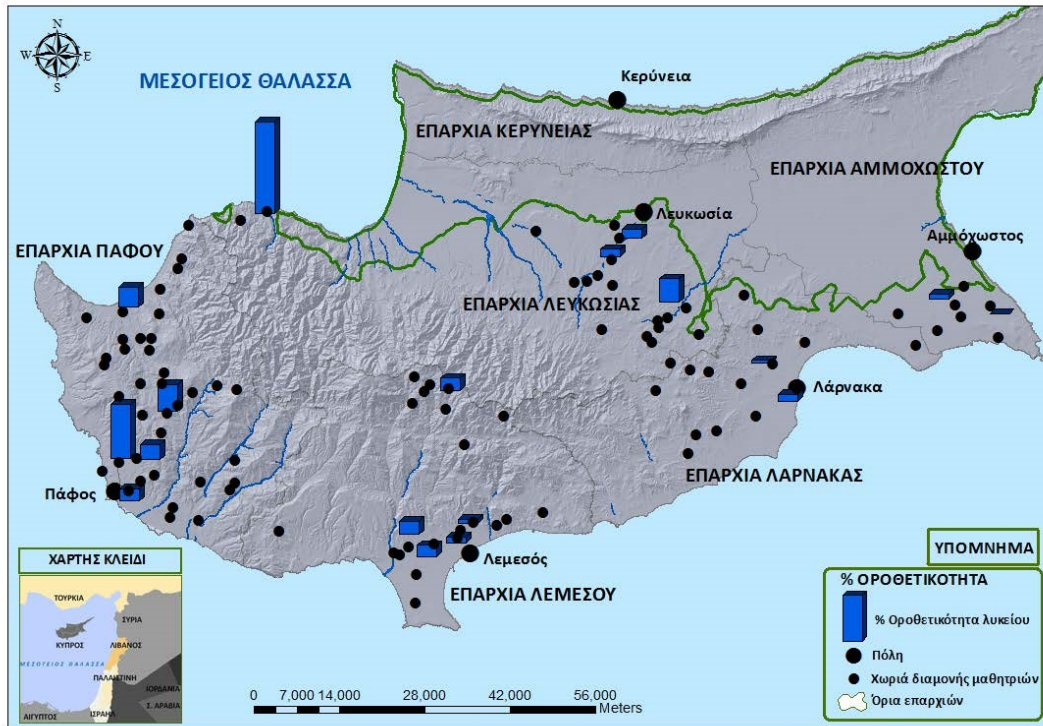
Η δειγματοληψία των κοριτσιών που εξετάστηκαν με το τεστ avidity είχε πραγματοποιηθεί τους μήνες Φεβρουάριο και Μάρτιο, το 2010 και 2011. Η

επαρχία με το υψηλότερο ποσοστό οροθετικότητας έναντι του *Toxoplasma* στα κορίτσια ήταν της Πάφου (15.5%) (Πίνακας 2, Εικόνα 18).

Τα αποτελέσματα της οροθετικότητας έναντι του *Toxoplasma gondii*, για τα 1,056 κορίτσια που εξετάστηκαν κατά την χρονική περίοδο 2009-2011 από τα 18 Λύκεια της Κύπρου χαρτογραφήθηκαν με τη χρήση γεωγραφικών συστημάτων πληροφόρησης (GIS, ArcGIS 10). Η οροθετικότητα που προέκυψε για κάθε Λύκειο εμφανίζεται σε μορφή ράβδου, σε μπλε χρώμα στο χάρτη (Εικόνα 18). Επιπλέον, τα 104 χωριά και πόλεις όπου ζούσαν τα κορίτσια που εξετάστηκαν, παρουσιάζονται στο χάρτη, σαν μαύρες κουκκίδες, για να απεικονιστεί η κάλυψη της περιοχής που ερευνήθηκε (Εικόνα 16).

**Πίνακας 2.** Η οροθετικότητα, έναντι του Τοξοπλάσματος, μαθητριών (16-18 ετών), στις πέντε επαρχίες της Κύπρου.

Οροθετικότητα ανά Επαρχία	Κορίτσια 16-18 ετών 2009-2011	
	n	%
Λευκωσίας	191	5,8
Λεμεσού	259	5,4
Λάρνακας	241	2,5
Πάφου	232	15,5
Αμμοχώστου	133	1,5
<b>Συνολικός αριθμός εξετασθέντων</b>	<b>1,056</b>	<b>6.5</b>



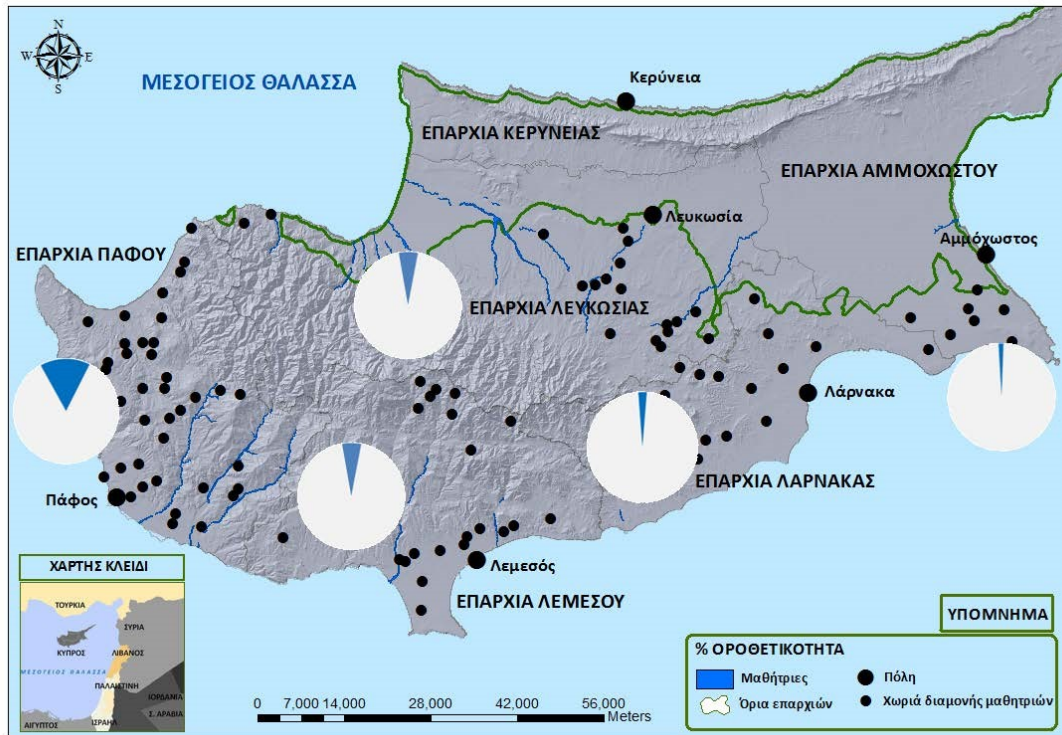
**Εικόνα 18.** Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη και τα Λύκεια στα οποία φοιτούσαν. Οι κουκίδες αναφέρονται στις πόλεις και στα χωριά κατοικίας των μαθητριών και οι μπάρες στα Λύκεια. Το μέγεθος της μπάρας σχετίζεται με το ποσοστό οροθετικότητας των μαθητριών που εξετάστηκαν στο κάθε Λύκειο.

Η επαρχία Πάφου είχε το υψηλότερο ποσοστό οροθετικών κοριτσιών, συνολικά 15.5% (ανά Λύκειο: 8.4% έως 26.9% για τα 6 Λύκεια που πήραν μέρος στη μελέτη). Η επαρχία Λευκωσίας είχε συνολικά 5.8% οροθετικότητα (4%-12.9% για τα 3 Λύκεια που πήραν μέρος στη μελέτη), Η επαρχία Λεμεσού 5.4% (2%7.1% για τα 5 Λύκεια που πήραν μέρος στη μελέτη), Οι επαρχίες Λάρνακας και Αμμοχώστου είχαν τη χαμηλότερη οροθετικότητα 2.5% και 1.5% αντίστοιχα για τα 2 Λύκεια που πήραν μέρος στη μελέτη ο κάθε ένας (Εικόνα 18, 19. Πίνακας 3).

Η οροθετικότητα στα κορίτσια είχε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάλογα με το Λύκειο όπου φοιτούσαν ( $p=0.046$ ), με το Λύκειο του Πύργου, στην επαρχία Πάφου, να έχει το υψηλότερο ποσοστό οροθετικότητας και αυτό του Παραλιμνίου, της επαρχίας Αμμοχώστου, τη χαμηλότερη (Εικόνα 18, 19).

**Πίνακας 3.** Η οροθετικότητα, έναντι του Τοξοπλάσματος, μαθητριών (16-18 ετών), στα δεκαοκτώ Λύκεια που πήραν μέρος στη μελέτη.

Επαρχία	Λύκειο	Αρ. μαθητριών που εξετάστηκαν	αρ. οροθετικών μαθητριών	%
Πάφος	ΑΓ.ΝΕΟΦΥΤΟΥ	59	5	8.5
	ΓΕΡΟΣΚΗΠΟΥ	30	2	6.7
	ΚΑΤΩ ΠΥΡΓΟΥ	22	11	50
	ΠΟΛΕΜΙΟΥ	41	6	14.6
	ΠΟΛΗΣ ΧΡΥΣΟΧΟΥΣ	63	7	11.1
	ΤΕΧΝ.ΣΧΟΛΗ	17	5	29.4
Λεμεσός	ΛΑΝΙΤΕΙΟ	30	1	3.3
	ΑΓ.ΑΝΤΩΝΙΟΥ	85	6	7.1
	ΑΓ.ΙΩΑΝΝΗ	49	3	6.1
	ΑΓΡΟΥ	46	3	6.5
	ΛΙΝΟΠΕΤΡΑΣ	49	1	2
Λάρνακα	ΑΡΑΔΙΠΟΥ	139	2	1.4
	ΒΕΡΓΙΝΑΣ	102	4	3.9
Αμμόχωστος	ΠΑΡΑΛΙΜΝΙΟΥ	50	0	0
	ΦΡΕΝΑΡΟΥ	83	2	2.4
Λευκωσία	ΑΓ.ΓΕΩΡΓΙΟΥ			
	ΛΑΚΑΤΑΜΙΑΣ	100	4	4
	ΙΔΑΛΙΟΥ	31	4	12.9
	ΕΘΝΟΜ.ΚΥΠΡΙΑΝΟΥ	60	3	5
<b>ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΝΟΛΑ</b>		<b>1,056</b>	<b>69</b>	<b>6.5</b>



**Εικόνα 19.** Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη (κουκίδες) και το ποσοστό οροθετικότητας των μαθητριών που εξετάστηκαν ανά επαρχία (πίτες).

Το ποσοστό οροθετικότητας των κοριτσιών παρουσιάζεται ανάλογα με τα δημογραφικά και διατροφικά δεδομένα στους πίνακες 2 και 3, αντίστοιχα. Από τα κορίτσια που πήραν μέρος στη μελέτη, 858 (84%) δήλωσαν ότι πλένουν πολύ καλά τα χορταρικά και τα φρούτα πριν τα καταναλώσουν, από τα οποία τα 49 (5.7%) ήταν οροθετικά έναντι του Τοξοπλάσματος. Από τα 160 κορίτσια τα οποία δήλωσαν ότι δεν πλένουν τα χορταρικά και τα φρούτα καλά πριν τα καταναλώσουν, 18 (11.3%) ήταν οροθετικά. Το καλό πλύσιμο χορταρικών και φρούτων για κατανάλωση, με τη χρήση μονοπαραγοντικών μοντέλων λογιστικής παλινδρόμησης, (adjusting for clustering by school), δεν βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντικός παράγοντας για να αποφευχθεί η μόλυνση από το παράσιτο ( $p=0.121$ ).

Στατιστικά σημαντικοί παράγοντες που ευνοούν την επαφή με το παράσιτο βρέθηκε, με τη χρήση μονοπαραγοντικών μοντέλων λογιστικής παλινδρόμησης (based on complete cases), να είναι η κατανάλωση σαλαμιού και όχι ψημένων λαχανικών. Η πιθανότητα ένα κορίτσι να είναι οροθετικό ήταν σχεδόν διπλάσια σε

Διδακτορική Διατριβή Μάριου Λιασίδα, 2016

κορίτσια που κατανάλωναν σαλάμι σε σχέση με αυτά που δεν κατανάλωναν σαλάμι (OR 1.9, 95% CI 1.1 - 3.3,  $p=0.023$ ) και 1.8 φορές υψηλότερη σε κορίτσια που κατανάλωναν άψητα λαχανικά σε σχέση με αυτά που δεν κατανάλωναν (OR 1.8, 95% CI 1.04 - 3.2,  $p=0.037$ ). Η πιθανότητα οροθετικότητας στα κορίτσια που κατανάλωναν ωμά αυγά βρέθηκε τέσσερις φορές ψηλότερη σε σχέση με τα κορίτσια που δεν έτρωγαν άψητα αυγά (OR 4.2, 95% CI 0.9 to 20.8).

Στην ανάλυση που ακολούθησε με τη χρήση πολυπαραγοντικού μοντέλου λογιστικής παλινδρόμησης, μόνο η περιοχή κατοικίας βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντικός παράγοντας για επαφή με το παράσιτο. Η πιθανότητα ένα κορίτσι να είναι οροθετικό ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη αν το κορίτσι ζούσε στην επαρχία Λεμεσού, Λάρνακας και Αμμοχώστου σε σχέση με τα κορίτσια της επαρχίας Πάφου (OR 0.4, 0.2, 0.1 και αντίστοιχα 95% CIs 0.1 - 0.8, 0.05 - 0.8 και 0.02 - 0.6, και  $p$ -values 0.021, 0.028 και 0.012 αντίστοιχα). Όσον αφορά στην επαρχία Λευκωσίας, η πιθανότητα οροθετικότητας ήταν χαμηλή (OR 0.5, 95% CI 0.2 - 1.7) αλλά όχι στατιστικά σημαντική ( $p=0.263$ ).

## **15.2 Αποτελέσματα ορολογικών εξετάσεων εγκύων**

Από τις 17,631 έγκυες γυναίκες που εξετάστηκαν κατά την περίοδο 2009-2011, στις 3,065 ανιχνεύθηκαν IgG και στις 107 IgM αντισώματα έναντι του Τοξοπλάσματος. Συνολικά, το 18% (95% CI 17% to 19%) των εγκύων που εξετάστηκαν ήταν οροθετικές έναντι του Τοξοπλάσματος και οι επαρχίες Λάρνακας και η Λεμεσού είχαν τα υψηλότερα ποσοστά οροθετικότητας (22% και 21.2%, αντίστοιχα) (Πίνακας 3).

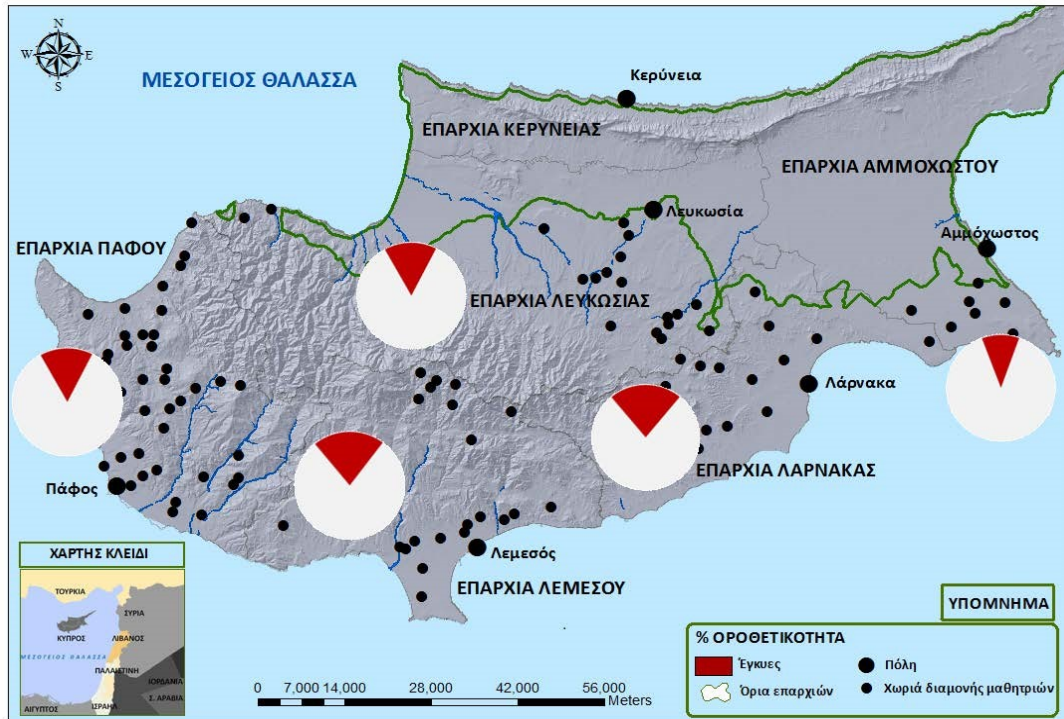
Το χαμηλό ποσοστό οροθετικότητας στις έγκυες της επαρχίας Πάφου, σε σχέση με τις έγκυες των άλλων επαρχιών αλλά και σε σχέση με τα αποτελέσματα οροθετικότητας των κοριτσιών των Λυκείων, θεωρήθηκε παράδοξο. Σε συζητήσεις με τους αρμόδιους φορείς, πληροφορηθήκαμε ότι την περίοδο εκείνη, στην Πάφο, ζούσε ένας μεγάλος αριθμός Ελληνοπόντιων μεταναστών, οι οποίοι είχαν εγκαταλείψει το νησί το 2013. Για να διερευνήσουμε αυτό το παράδοξο, ζητήσαμε από τα 4 Νοσοκομεία της Κύπρου, που διενεργούν τις ορολογικές

εξετάσεις για όλο το νησί, ορολογικά αποτελέσματα εγκύων έναντι του Τοξοπλάσματος για την περίοδο 2012-2014. Τα αποτελέσματα των εγκύων γυναικών για την περίοδο αυτή, για όλες τις επαρχίες, βρέθηκαν όμοια με αυτά της περιόδου 2009-2011 (Πίνακας 4) εκτός από την οροθετικότητα έναντι του Τοξοπλάσματος της επαρχίας Πάφου, τα οποία έφτασαν το 20.9% (εξετάστηκαν 798 γυναίκες) (Εικόνα 20).

**Πίνακας 4.** Η οροθετικότητα, έναντι του Τοξοπλάσματος, εγκύων γυναικών (19-38 ετών) που εξετάστηκαν το 2009-2011 και το 2012-2014, στις πέντε επαρχίες της Κύπρου.

Οροθετικότητα ανά Επαρχία	Έγκυες γυναίκες που εξετάστηκαν		Έγκυες γυναίκες που εξετάστηκαν	
	2009-2011		2012-2014	
	n	%	n	%
Λευκωσίας	8654	15,7	4246	16,7
Λεμεσού	4870	21,2	155	21,6
Λάρνακας	2346	22,0	168	21,8
Πάφου	672	15,6	798	20,9
Αμμοχώστου	89	11,2	78	10,1
<b>Συνολικός αριθμός εξετασθέντων (%)</b>	17,631		5,445	





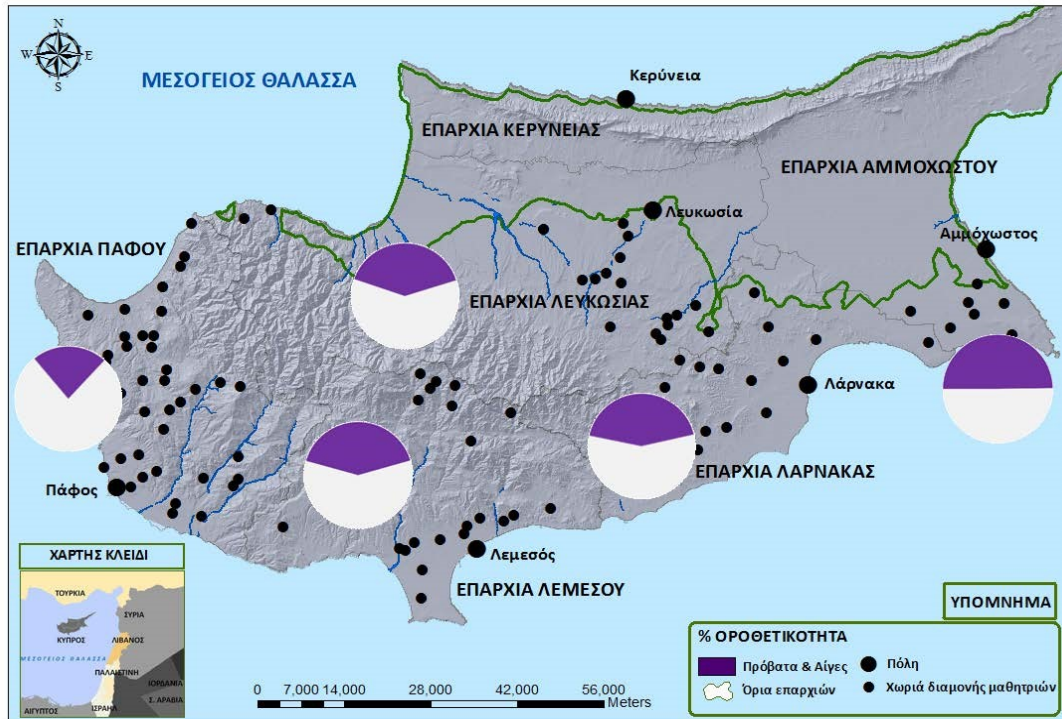
**Εικόνα 20.** Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη (κουκίδες) και το ποσοστό οροθετικότητας των εγκύων γυναικών που εξετάστηκαν ανά επαρχία (πίτες) κατά τα έτη 2009-2011.

## 15.3 Αποτελέσματα ορολογικών εξετάσεων αιγοπροβάτων

Συνολικά, 40,1% (95% CI 37.2% to 43.0%) από τα πρόβατα και τα κατσίκια που εξετάστηκαν, ήταν οροθετικά έναντι του Τοξοπλάσματος. Η επαρχία Αμμοχώστου παρουσίασε το υψηλότερο ποσοστό οροθετικότητας (49,8%) (Πίνακες 1 & 2). Η πιθανότητα ένα ζώο να είναι οροθετικό βρέθηκε να εξαρτάται στατιστικά σημαντικά από την επαρχία από όπου προερχόταν το ζώο ( $p < 0.0001$ ), με την επαρχία Λευκωσίας να έχει σημαντικότερα υψηλότερο κίνδυνο σε σχέση με τις άλλες επαρχίες (Εικόνα 21). Η ηλικία του ζώου επηρέαζε σημαντικά αυτό το ρίσκο ( $p < 0.0001$ ), με τα ζώα μεγαλύτερα των 2 ετών να έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι οροθετικά σε σχέση με ζώα μικρότερα των 2 ετών. Τα πρόβατα είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι οροθετικά σε σχέση με τα κατσίκια ( $p = 0.002$ ) (Πίνακας 5).

**Πίνακας 5.** Οροθετικότητα έναντι του Τοξοπλάσματος, προβάτων και κατσικιών στις πέντε επαρχίες της Κύπρου. Εξετάστηκαν το 2013-2014.

Επαρχία	Αριθμός ζώων που εξετάστηκαν		Κατσίκια		Πρόβατα	
	n	%	n	%	n	%
Λευκωσίας	223	39,9	151	37,7	79	45,6
Λεμεσού	211	41,2	108	32,4	103	50,5
Λάρνακας	229	43,2	82	46,3	140	40,7
Πάφου	192	22,9	120	25,0	72	19,4
Αμμοχώστου	241	49,8	120	40,0	121	59,5
Συνολικός αριθμός εξετασθέντων (%)	1096	40.1	581	35.8	515	44,9



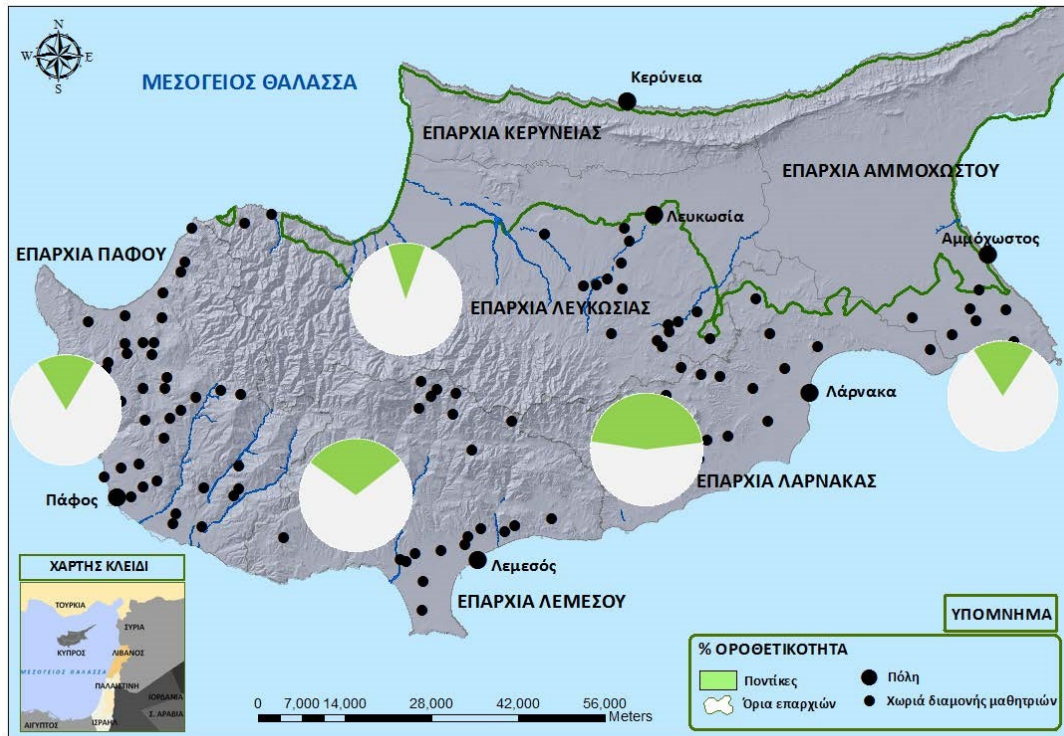
**Εικόνα 21.** Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη (κουκίδες) και το ποσοστό οροθετικότητας των αιγοπροβάτων που εξετάστηκαν ανά επαρχία (πίτες).

## 15.4 Αποτελέσματα τρωκτικών

Τα τρωκτικά είναι φορείς ασθενειών που προσβάλουν τον άνθρωπο. Το ερευνητικό έργο «Ο Ρόλος της Ποντίκας στην Μετάδοση Ασθενειών» (σε συνεργασία Κτηνιατρικών Υπηρεσιών Κύπρου και Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης) που διενεργήθηκε στην Κύπρο το 2001-2003 και χρηματοδοτήθηκε από το Ίδρυμα Προώθησης Έρευνας Κύπρου, είχε στόχο την διερεύνηση, τον εντοπισμό και την τυποποίηση παθογόνων παραγόντων που μεταφέρουν τα τρωκτικά της Κύπρου και την εκτίμηση του ρόλου τους στη μετάδοση των παραγόντων αυτών στα ζώα και στον άνθρωπο. Ένα από τα παθογόνα αυτά ήταν το Τοξόπλασμα.

Μελετήθηκαν 625 τρωκτικά (*Rattus rattus* και η *Rattus norvegicus*). Τα αποτελέσματα της μελέτης που αφορούσαν στο Τοξόπλασμα έδειξαν τη διασπορά

του παράσιτου σε όλο το ελεύθερο νησί. Κατά μέσο όρο, το 27.9% των αρουραίων βρέθηκαν οροθετικά (Πίνακας 6, 122) (Psaroulaki et al., 2010).



**Εικόνα 22.** Η γεωγραφική διασπορά των μαθητριών που πήραν μέρος στη μελέτη (κουκίδες) και το ποσοστό οροθετικότητας των τρωκτικών που εξετάστηκαν ανά επαρχία (πίτες) (Αποτελέσματα από Psaroulaki et al., 2010) (Πίνακας 6).

## 15.5 Συνολικά ορολογικά αποτελέσματα μελέτης

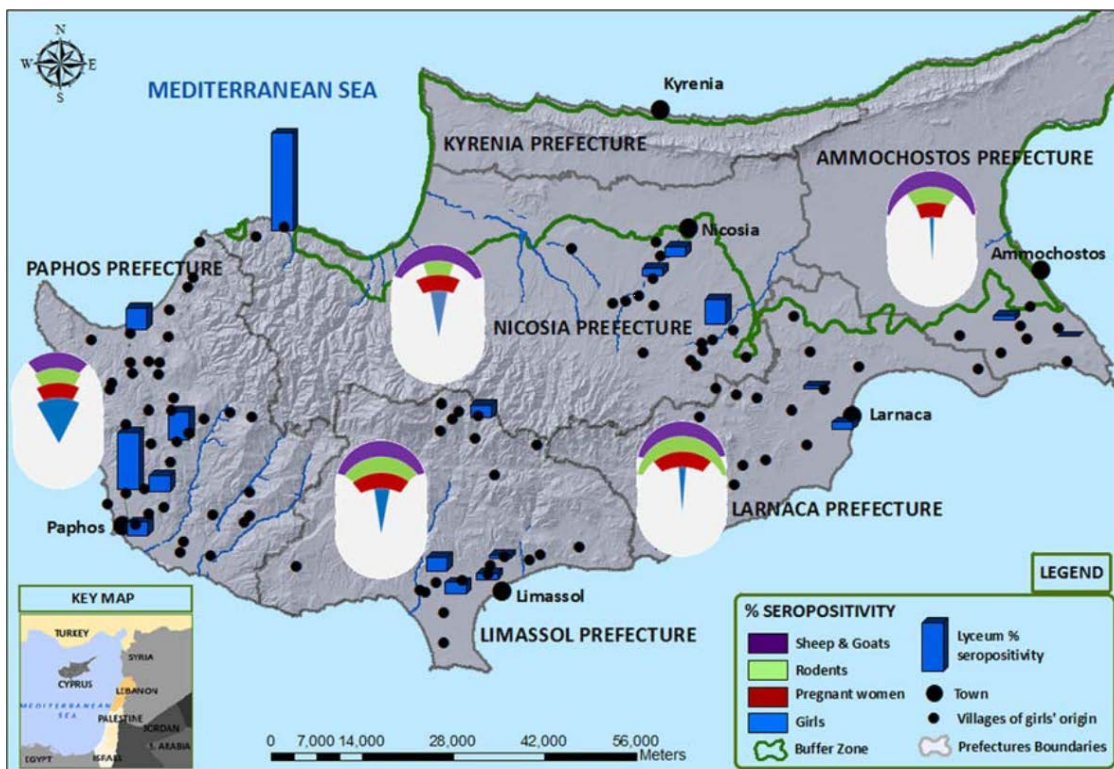
**Πίνακας 6.** Συνολικά αποτελέσματα οροθετικότητας έναντι του *Toxoplasma* στα κορίτσια (16-18 ετών), στις έγκυες γυναίκες (19-38 ετών), στα πρόβατα και κατσίκια και στα τρωκτικά, για κάθε επαρχία της Κυπριακής Δημοκρατίας. \* Αποτελέσματα από Psaroulaki et al., 2010. Ο αριθμός των δειγμάτων ανά επαρχία είναι σχετικός με τον πληθυσμό της περιοχής.

Οροθετικότητα ανά Επαρχία (εξετάστηκαν)	Κορίτσια 2009-2011		Έγκυες γυναίκες 2009- 2011		Έγκυες γυναίκες 2012- 2014		Τρωκτικά 2000-2003*		Αιγο- πρόβατα 2013-2014	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
	Λευκωσία	191	5,8	8654	15,7	4246	16,7	151	10,6	223
Λεμεσός	259	5,4	4870	21,2	155	21,6	105	29,5	211	41,2
Λάρνακα	241	2,5	2346	22,0	168	21,8	175	45,7	229	43,2
Πάφος	232	15,5	672	15,6	798	20,9	41	17,1	192	22,9
Αμμόχωστος	133	1,5	89	11,2	78	10,1	22	18,2	241	49,8
Συνολικός αριθμός εξετασθέντων	1,056		17,631		5,445		494		1096	
Συνολικό %	6.5		18		18,8		27.9		40.1	

Τα αποτελέσματα των μαθητριών, των εγκύων γυναικών, των τρωκτικών, των προβάτων και των αιγών παρουσιάστηκαν σε τρισδιάστατες πίτες (όπου η πίτα για κάθε αποτέλεσμα τοποθετήθηκε δίπλα στην επόμενη με τέτοιο τρόπο ώστε να προβάλλονται τα αποτελέσματα στη σειρά). Με τον τρόπο αυτό, οι αναλογίες οροθετικότητας για την κάθε μελέτη εμφανίζονται για κάθε επαρχία και για το νησί στο σύνολό του (Εικόνα 20, 21, 22, 23).

Σκοπός της χαρτογράφησης των αποτελεσμάτων ήταν η σύγκριση της οροθετικότητας των κοριτσιών στις πέντε επαρχίες (εμφανίζεται σε μπλε χρώμα στις τρισδιάστατες πίτες): με τα αποτελέσματα οροθετικότητας των εγκύων

γυναικών που εξετάστηκαν την ίδια χρονική περίοδο (εμφανίζεται σε κόκκινο χρώμα στις τρισδιάστατες πίττες), με τα αποτελέσματα οροθετικότητας των προβάτων και κατσικιών, που εξετάστηκαν την χρονική περίοδο 2013-2014 (εμφανίζεται σε μωβ χρώμα στις τρισδιάστατες πίττες) και με τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης, που πραγματοποιήθηκε το 2000-2003, σχετικά με την οροθετικότητα έναντι του Τοξοπλάσματος στα τρωκτικά στις πέντε επαρχίες της Κύπρου (εμφανίζονται με πράσινο χρώμα στις τρισδιάστατες πίττες) (Εικόνα 23, Πίνακας 6).



**Εικόνα 23.** Αποτελέσματα οροθετικότητας έναντι του *Toxoplasma gondii*, για τα 1,056 κορίτσια που εξετάστηκαν την χρονική περίοδο 2009-2011 από 18 Λύκεια της Κύπρου (η οροθετικότητα εμφανίζεται για κάθε Λύκειο σε μορφή ράβδου, σε μπλε χρώμα), στις πέντε επαρχίες (εμφανίζεται σε μπλε χρώμα στις τρισδιάστατες πίττες), σε σχέση με τα αποτελέσματα οροθετικότητας των εγκύων γυναικών που εξετάστηκαν την ίδια χρονική περίοδο στις 5 επαρχίες (εμφανίζεται σε κόκκινο χρώμα στις τρισδιάστατες πίττες) και τα αποτελέσματα οροθετικότητας των προβάτων και κατσικιών, που εξετάστηκαν την χρονική περίοδο 2013-2014

(εμφανίζεται σε μωβ χρώμα στις τρισδιάστατες πίττες). Τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης, που πραγματοποιήθηκε το 2000-2003, σχετικά με την οροθετικότητα στα τρωκτικά στις πέντε επαρχίες της Κύπρου εμφανίζονται με πράσινο χρώμα στις τρισδιάστατες πίττες, για συγκριτικούς σκοπούς (Πίνακας 6). Τα χωριά και οι πόλεις από όπου προέρχονταν τα κορίτσια που μελετήθηκαν, εμφανίζονται σαν μαύρες κουκκίδες στο χάρτη.

## 15.6 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

Το μονοπαραγοντικό μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης έδειξε ότι η πιθανότητα ενός κοριτσιού να έρθει σε επαφή με το παράσιτο βρέθηκε να διαφέρει σημαντικά ανάλογα με τη γεωγραφική της προέλευση ( $p < 0.0001$ ), με την επαρχία Πάφου να έχει το μεγαλύτερο αριθμό οροθετικών κοριτσιών στα λύκεια. Υπήρξε μια σημαντικά στατιστική συσχέτιση μεταξύ της ανίχνευσης αντισωμάτων IgG έναντι του Τοξοπλάσματος και του σχολείου φοίτησης, με το λύκειο Πύργου να έχει τη μεγαλύτερη οροθετικότητα ( $p < 0.0001$ ). Οκτακόσια πενήντα οκτώ κορίτσια δήλωσαν ότι πλένουν πολύ καλά τα φρούτα και τα λαχανικά τους πριν από το φαγητό, εκ των οποίων τα 49 (5.7%) ήταν θετικά για αντισώματα IgG *T.gondii*. Από τα 7 κορίτσια που δεν είχαν αυτή τη συνήθεια, μόνο ένα ήταν οροθετικό με στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.04$ ). Οκτακόσια τριάντα κορίτσια ζούσαν σε σπίτια με κήπο και 61 (7.3%) ήταν IgG θετικά (OR = 2.7, 95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI] = 1.2 έως 6.4), ενώ από τα 211 που δεν ζούσαν σε σπίτια με κήπο, 6 (2.8%) ήταν οροθετικά ( $p < 0.02$ ). Υπήρξε σημαντικά στατιστική συσχέτιση μεταξύ IgG οροθετικότητας έναντι *T.gondii* και την κατανάλωση ωμών αυγών, όπου το 24.1% των κοριτσιών που δήλωσαν ότι καταναλώνουν ωμά αυγά ήταν οροθετικά και το 6.1% των κοριτσιών που δήλωσαν ότι δεν καταναλώνουν ωμά αυγά ήταν επίσης οροθετικά. Η στατιστική ανάλυση έδειξε επίσης την σημαντική συσχέτιση μεταξύ οροθετικότητας και στα κορίτσια που καταλάωναν σαλάμι ( $p < 0.039$ ) (πίνακας 5).

Η πιθανότητα εμφάνισης οροθετικότητας στην τοξοπλάσμωση βρέθηκε να διαφέρει σημαντικά ανάλογα με τη γεωγραφική προέλευση των προβάτων και αιγών ( $p < 0.0001$ ), με αυξημένο κίνδυνο στην επαρχία Λεμεσού (OR = 1.7, 95% CI = 1.1-2.6), Λευκωσίας (OR = 2.3, 95 % CI = 1.5 έως 3.4), Λάρνακας (OR = 2.6,

95% CI = 1.7-3.9) και Αμμοχώστου (OR = 2.8, 95% CI = 1.8 έως 4.2) σε σύγκριση με την επαρχία Πάφου. Η ηλικία του ζώου επηρέασε σημαντικά ( $p < 0.0001$ ) με αυξημένο το ρίσκο σε πάνω από 2 ετών ζώα έναντι των ζώων μικρότερης ηλικίας (95% CI = 0.3-0.6), και η πιθανότητα εμφάνισης οροθετικότητας στα πρόβατα βρέθηκε να είναι μεγαλύτερη από εκείνη των αιγών ( $p < 0.0001$ , OR = 0.6, 95% CI = 0.5-0.7).

Αντίθετα, το πολυπαραγοντικό μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης που ακολούθησε, έδειξε ότι μόνο η περιοχή κατοικίας βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντικός παράγοντας για επαφή με το παράσιτο. Η πιθανότητα ένα κορίτσι να είναι οροθετικό ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη αν το κορίτσι ζούσε στην επαρχία Λεμεσού, Λάρνακας και Αμμοχώστου σε σχέση με τα κορίτσια της επαρχίας Πάφου (OR 0.4, 0.2, 0.1 και αντίστοιχα 95% CIs 0.1 - 0.8, 0.05 - 0.8 και 0.02 - 0.6, και  $p$ -values 0.021, 0.028 και 0.012 αντίστοιχα). Όσον αφορά στην επαρχία Λευκωσίας, η πιθανότητα οροθετικότητας ήταν χαμηλή (OR 0.5, 95% CI 0.2 - 1.7) αλλά όχι στατιστικά σημαντική ( $p=0.263$ ) (Πίνακας 5).



**Πίνακας 7.** Οροθετικότητα έναντι του Τοξοπλάσματος, μαθητριών 16-18 ετών, σύμφωνα με τη γεωγραφική τους προέλευση, την κατοικία και τις διατροφικές τους συνήθειες. (n=854). <sup>1</sup> Η κατηγορία αναφοράς για κάθε παράγοντα είναι το επίπεδο με ποσοστό πιθανοτήτων (OR) 1. <sup>2</sup> Παρουσιάζονται μόνο μεταβλητές που διατηρούνται στο τελικό μοντέλο.

	n	Μονοπαραγοντικό μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης		Πολυπαραγοντικό μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης <sup>2</sup>	
		Μη προσαρμοσμένο ποσοστό πιθανοτήτων OR <sup>1</sup> (95% CI)	Συνολική τιμή  p	Προσαρμοσμένο ποσοστό πιθανοτήτων OR	Συνολική τιμή  P
Γεωγραφική προέλευση			<0.0001		<0.0001
Πάφος	232	1		1	
Λευκωσία	191	0.33 (0.2 - 0.7)		0.7 (0.3 - 1.8)	
Λεμεσός	259	0.31 (0.2 - 0.6)		0.4 (0.2 - 0.9)	
Λάρνακα	241	0.1 (0.1 - 0.3)		0.2 (0.1 - 0.5)	
Αμμόχωστος	133	0.08 (0.02 - 0.4)		0.1 (0.02 - 0.5)	
Ηλικία (έτη)			0.340		
17	519	1			
18	528	1.3 (0.8 - 2.1)			
Κατοικία			0.166		
Αγροτική	519	1			
Αστική	528	0.7 (0.4 - 1.2)			
Σπίτι με κήπο			0.022		
Όχι	211	1			
Ναι	830	2.7 (1.2 - 6.4)			
Γάτα στο σπίτι			0.588		
Ναι	185	1			
Όχι	850	0.9 (0.5 - 1.6)			
Τρώω κρέας			0.855		
Δεν τρώω κρέας	15	1			
Μέτρια ψημένο	44	1.5 (0.2 - 15.2)			

Καλοψημένο	795	1.7 (0.2 - 12.9)			
Τρώω καπνιστό Κρέας			0.292		
Ναι	467	1			
Όχι	387	0.8 (0.5 - 1.3)			
Τρώω λουκάνικα			0.384		
Ναι	519	1			
Όχι	335	0.8 (0.5 - 1.3)			
Τρώω σαλάμι			0.039		
Ναι	441	1			
Όχι	410	0.6 (0.4 - 1.0)			
Τρώω ωμά αυγά			<0.0001		0.046
Ναι	24	1		1	
Όχι	830	0.2 (0.08 - 0.5)		0.3 (0.1 - 1.0)	
Τρώω άγρια Χόρτα			0.065		
Ναι	216	1			
Όχι	638	0.6 (0.4 - 1.0)			
Πλένω τα λαχανικά & τα φρούτα			0.011		
Λίγο ή καθόλου	131	1			
Πολύ	723	0.5 (0.3 - 0.8)			
Τρώω έξω			0.273		
>3 φορές/ Εβδομάδα	74	1			
1-2 φορές/ εβδομάδα	741	1.4 (0.5 - 4.0)			
Ποτέ	39	2.7 (0.7 - 10.1)			
Αθλητισμός			0.926		
Ναι	343	1			
Όχι	670	1.03 (0.6 - 1.7)			

## 16. Συζήτηση

Η στρατηγική των Ευρωπαϊκών κρατών, που αφορά στα μέτρα που παίρνονται για την αποφυγή συγγενούς τοξοπλάσμωσης, ποικίλλει. Τουλάχιστον πέντε χώρες συστήνουν συστηματικό έλεγχο εγκύων γυναικών, όπως για παράδειγμα η Αυστρία και η Γαλλία, ενώ σε 21 χώρες, μεταξύ αυτών και η Κυπριακή Δημοκρατία, δεν υπάρχει εθνική στρατηγική για την αποφυγή συγγενούς τοξοπλάσμωσης (Benard and Salmi, 2006. Leroy et al., 2005).

Στις χώρες αυτές δεν πραγματοποιούνται ορολογικές εξετάσεις πριν και κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης σύμφωνα με τις υποδείξεις του Υπουργείου Υγείας. Οι γυναικολόγοι συνήθως εξετάζουν την έγκυο έναντι του Τοξοπλάσματος, ορολογικά, μια φορά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, όταν και αν η έγκυος τους επισκέπτεται στην κλινική ή στο νοσοκομείο. Επιπλέον, δεν υπάρχει κοινή πρακτική μεταξύ των γυναικολόγων, αλλά και των μικροβιολόγων, σχετικά με την αντιμετώπιση των εγκύων με θετικά ορολογικά αποτελέσματα έναντι του παράσιτου. Έτσι, συχνά, οι κλινικοί γιατροί αντιμετωπίζουν το δίλημμα να χορηγούν δυνητικά τοξικά φάρμακα ή να συμβουλεύουν τερματισμό κύησης βασισμένοι μόνο στα ορολογικά αποτελέσματα.

Σε μία μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Κρήτη, ένα νησί με πληθυσμό με ανάλογες νοοτροπίες και συνθήκες ζωής, μόνο το 0.23% των εγκύων πραγματοποίησαν τον πρώτο τους ορολογικό έλεγχο για Τοξόπλασμα πριν την εγκυμοσύνη, το 54.44% κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της εγκυμοσύνης, το 30.4% κατά τη διάρκεια του δεύτερου και το 14.91% κατά τη διάρκεια του τρίτου (Antonίου et al., 2004). Αυτό υποδεικνύει ότι το 45% των εγκύων εξετάστηκαν μετά το πρώτο τρίμηνο της κύησης και σε περίπτωση που ήταν οροθετικές θα ήταν δύσκολο για τον γιατρό να προσδιορίσει το χρόνο λοίμωξης της γυναίκας από το παράσιτο. Αυτή η πληροφορία είναι καθοριστική για τον προσδιορισμό των χειρισμών που θα πρέπει να ακολουθηθούν για την ασφαλή έκβαση της εγκυμοσύνης.

Παρά το γεγονός ότι, στην Κύπρο, καταγράφονται αποβολές στον ανθρώπινο και στο ζωικό πληθυσμό, η συσχέτισή τους με το Πρωτόζωο παράσιτο Τοξόπλασμα συχνά γίνεται, εκ των υστέρων, μόνο ορολογικά (ανίχνευση υψηλού τίτλου αντισωμάτων IgG με/χωρίς IgM, στην έγκυο). Και ενώ κάποιες αποβολές στον

άνθρωπο αποδίδονται σε λοίμωξη από *Toxoplasma* και ένας μικρός αριθμός παιδιών γεννιούνται με συμπτώματα συγγενούς τοξοπλάσμωσης, η μόνη έρευνα που είχε πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα για τη μελέτη του προβλήματος στο νησί ήταν μια επιδημιολογική μελέτη της τοξοπλάσμωσης σε τρωκτικά (Psaroulaki et al., 2010). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι, για κοινωνικούς λόγους, δεν γνωστοποιούνται, και άρα δεν καταγράφονται, όλες οι αποβολές και κυρίως τα νεογνά που γεννιούνται με σοβαρά προβλήματα. Έτσι, δεν υπάρχουν αξιόπιστα στατιστικά δεδομένα για τις γεννήσεις παιδιών με συγγενή τοξοπλάσμωση.

Αυτή είναι η πρώτη μελέτη που αφορά στην τοξοπλάσμωση στον ανθρώπινο πληθυσμό και σε μικρά μηρυκαστικά (μια σημαντική οδός μετάδοσης του παράσιτου στον άνθρωπο), ώστε να καταγραφεί και να αξιολογηθεί ο βαθμός του κινδύνου μόλυνσης στον πληθυσμό της Κυπριακής Δημοκρατίας. Τα αποτελέσματα της μελέτης μπορούν να βοηθήσουν ώστε να καταστεί δυνατή η οργάνωση, από το κράτος, μέτρων για την προστασία του πληθυσμού.

Η ευαισθητοποίηση του πληθυσμού, για τους τρόπους με τους οποίους το *Toxoplasma* μολύνει ανθρώπους και ζώα, μπορεί να μειώσει σημαντικά το ποσοστό οροθετικότητας σε μία περιοχή (Afonso et al., 2007, Jones JL, et al., 2009). Από τη διεθνή βιβλιογραφία είναι προφανές ότι κατάλληλα μέτρα υγιεινής και σωστής προετοιμασίας της τροφής αποτελούν τους σημαντικότερους παράγοντες για την αποφυγή της λοίμωξης από το παράσιτο. Για το λόγο αυτό, η ενημέρωση του πληθυσμού, κυρίως νεαρής ηλικίας και η εισαγωγή μέτρων για τη διαχείριση των ομάδων υψηλού κινδύνου, όπως είναι οι έγκυες γυναίκες, είναι πολύ σημαντική. Αυτός ήταν και ο πρωταρχικός στόχος του έργου. Να παράσχει στη νέα γενιά (αυτή η οποία σύντομα θα φέρει στον κόσμο παιδιά) τη γνώση για τις αναγκαίες ενέργειες για την αποφυγή λοίμωξης από *T. gondii* (Εικόνα 24). Ταυτόχρονα, για να αξιολογηθεί ο κίνδυνος μόλυνσης μιας εγκύου από το παράσιτο, χρειάζεται



**Εικόνα 24.** Νεογνό με συγγενή τοξοπλάσμωση. <http://www.medical-labs.net/toxoplasma-gondii-2986/>

η πληροφορία σχετικά με την επίπτωση της μόλυνσης στον ανθρώπινο πληθυσμό, στο ζωικό κεφάλαιο και στη φύση. Η επιδημιολογική μελέτη εξασφάλισε αυτή τη γνώση.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ένα μεγάλο ποσοστό του γυναικείου πληθυσμού μολύνεται από Τοξόπλάσμα στην ηλικία 18-38 ετών, δηλαδή μπορεί να μολυνθεί κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Συνολικά, η οροθετικότητα των κοριτσιών 16-18 ετών έναντι του Τοξοπλάσματος, ήταν 6,5% (Πίνακας 2). Αυτή η οροθετικότητα συσχετιζόταν, στατιστικά, με τη γεωγραφική προέλευση των κοριτσιών ( $p < 0,0001$ ) με την Πάφο να έχει, με μεγάλη διαφορά, το υψηλότερο ποσοστό οροθετικότητας (15,5%) σε σχέση με τις άλλες επαρχίες στις οποίες το ποσοστό αυτό δεν ξεπερνούσε το 6%. Ο χρόνος μόλυνσης των κοριτσιών με IgM ή υψηλούς τίτλους IgG αντισωμάτων λόγω του υψηλού avidity τοποθετεί το χρόνο λοίμωξης ανάμεσα στο καλοκαίρι και το φθινόπωρο, το χρόνο κατά τον οποίο οι ωκύστες πιο εύκολα διασπείρονται από τον άνεμο.

Στα επιλεγέντα σχολεία περιελήφθη και το γυμνάσιο-λύκειο Ριζοκαρπάσου, που είναι το μοναδικό σχολείο μέσης εκπαίδευσης στην κατεχόμενη Κύπρο και έχει το χαρακτηριστικό ότι είναι σε αγροτική περιοχή και θα πρόσφερε μια μικρή έστω εικόνα των σχετικών δεδομένων στην κατεχόμενη Κύπρο. Δυστυχώς, όμως, δεν έγινε κατορθωτή η συμμετοχή των μαθητριών του σχολείου του Ριζοκαρπάσου στην μελέτη, μετά από προειδοποίηση από τις κατοχικές αρχές για πιθανές αρνητικές συνέπειες.

Στην κωμόπολη του Πύργου, της επαρχίας Πάφου, με επιπολασμό τοξοπλάσμωσης στα κορίτσια 50%, σχεδόν όλα τα κορίτσια που πήραν μέρος στη μελέτη ανέφεραν ότι η οικογένειά τους εκτρέφει πρόβατα, κατσίκια, γουρούνια, κουνέλια και πουλερικά. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, τα ζώα αυτά είναι ελεύθερης βοσκής κατά τη διάρκεια της ημέρας. Οι κάτοικοι της κωμόπολης αυτής συχνά επισκέπτονται την κατεχόμενη Κύπρο (Ο Πύργος βρίσκεται κοντά στην πράσινη γραμμή, στην βορειοδυτική Κύπρο (Εικόνα 16) και κάνουν ανταλλαγές κυρίως προϊόντων διατροφής με τους Τουρκοκύπριους. Επιπλέον, οι άντρες της περιοχής μαζεύουν άγρια μανιτάρια και κυνηγούν, παρέχοντας ζώα κυνηγιού στην οικογένειά τους. Οι περισσότερες οικογένειες καλλιεργούν λαχανικά για τις ανάγκες τους, τα οποία, όπως ανέφεραν τα κορίτσια, συχνά καταναλώνονται χωρίς να έχουν πλυθεί.

Στον Πύργο υπάρχουν στάβλοι ζώων (που προσφέρουν κατάλυμα στα τρωκτικά) και ένας μεγάλος πληθυσμός γατιών για την καταπολέμηση των τρωκτικών. Δίπλα στο Λύκειο υπάρχει το στάδιο, στο οποίο δεν υπάρχει χλοοτάπητας, για τις δραστηριότητες των μαθητών αλλά και των κατοίκων. Από τα 11 οροθετικά κορίτσια, από τα 22 που εξετάστηκαν, οι 6 ήταν αθλήτριες. Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι το περιβάλλον στην περιοχή είναι επιβαρυνμένο με ωκύστες του παράσιτου με τις οποίες ο πληθυσμός έρχεται σε επαφή καθημερινά (μεγάλος αριθμός γατιών, στάδιο με χωματένιους στίβους, καλλιέργεια λαχανικών σε κήπους στο χωριό και κατανάλωσή τους χωρίς καλό πλύσιμο) αλλά και η κατανάλωση άλλων, πιθανά μολυσμένων τροφών (κυνήγι, τρόφιμα από την κατεχόμενη Κύπρο). Στον Πύργο, οι αθλήτριες, για λόγους καλύτερης απόδοσης, δήλωσαν ότι καταναλώνουν όχι ψημένα αυγά, άλλος ένας πιθανός τρόπος λοίμωξης από το Τοξόπλασμα.

Όπως ήταν αναμενόμενο, η οροθετικότητα στις έγκυες γυναίκες, με μέσο όρο ηλικίας τα 29,1 έτη για το 2007-2013 (28.4 - 29.7 ανάλογα με την επαρχία) (Health Monitoring Unit, Ministry 305 of Health of the Republic of Cyprus), αυξήθηκε σημαντικά σε όλες τις επαρχίες, με συνολικό μέσο όρο 18% σε σχέση με την οροθετικότητα που παρατηρήθηκε στα κορίτσια 16-18 ετών. Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι το υψηλότερο ποσοστό οροθετικότητας στις έγκυες βρέθηκε στην επαρχία Λάρνακας (22.0%), 5 φορές υψηλότερο από αυτό των κοριτσιών στην επαρχία αυτή. Η επαρχία Λεμεσού ακολούθουσε με ποσοστό

21.2%, 4 φορές υψηλότερο από αυτό των κοριτσιών στην ίδια επαρχία. Και στις δύο αυτές επαρχίες, η οροθετικότητα στα τρωκτικά (ένδειξη περιβαλλοντικής επιμόλυνσης με ωοκύστες του *Toxoplasma*), που μελετήθηκε 7-10 χρόνια ενωρίτερα, ήταν η υψηλότερη για όλες τις επαρχίες (45,7% και 29,5%, αντίστοιχα) (Πίνακας 6). Από τη μελέτη των τρωκτικών (Psaroulaki et al., 2010) έγινε προφανές ότι το εθνικό σφαγείο, που βρισκόταν στο χωριό Κοφίνου, ανάμεσα στις επαρχίες Λάρνακας και Λεμεσού, έπαιζε πολύ σημαντικό ρόλο στην μόλυνση των τρωκτικών από το παράσιτο. Είναι πιθανόν ότι άνθρωποι σε αυτές τις περιοχές να ήταν εκτεθειμένοι στο παράσιτο σε νεαρότερη ηλικία και έτσι βρέθηκαν οροθετικοί σαν ενήλικες. Το εθνικό σφαγείο έκλεισε το 2013 και 4 νέα, ιδιωτικά, σφαγεία λειτουργούν για τις ανάγκες του νησιού: 3 στην Λευκωσία και 1 στην Πάφο. Πρέπει να σημειωθεί ότι στην Αμμόχωστο, Πάφο και Λευκωσία βρέθηκε το χαμηλότερο ποσοστό οροθετικότητας στις έγκυες και στην Πάφο και Λευκωσία το υψηλότερο στα κορίτσια (Πίνακας 6), πράγμα που δηλώνει ότι η κατάσταση όσον αφορά στην τοξοπλάσμωση έχει αλλάξει τα τελευταία χρόνια και ότι η λειτουργία σφαγείου σε μια περιοχή μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτό, τουλάχιστον όσον αφορά στο σφαγείο της Κοφίνου που από μαρτυρίες ειδικών δεν λειτουργούσε με σωστές προδιαγραφές, γεγονός που οδήγησε και στο κλείσιμό του.

Η επαρχία Πάφου, με το υψηλότερο ποσοστό οροθετικότητας στα κορίτσια, εμφάνισε σχεδόν το ίδιο ποσοστό οροθετικότητας και για τις έγκυες γυναίκες (15%) για την οροεπιδημιολογική μελέτη που πραγματοποιήθηκε την ίδια χρονική περίοδο με τα κορίτσια (2009-2011). Αυτό το εύρημα ήταν παράδοξο, μια και με την ηλικία η οροθετικότητα πρέπει να αυξάνει (περισσότερος χρόνος έκθεσης στον κίνδυνο μόλυνσης). Σε συζητήσεις με τους αρμόδιους φορείς, πληροφορηθήκαμε ότι την περίοδο της μελέτης, στην Πάφο, ζούσε ένας μεγάλος αριθμός Ελληνοπόντιων μεταναστών (κυρίως νεαρών ζευγαριών). Ο Πόντος είναι μια περιοχή στη νότια ακτή της Μαύρης θάλασσας, βορειοανατολική Ανατολία, στην Τουρκία). Οι μετανάστες αυτοί, λόγω της οικονομικής κρίσης, εγκατέλειψαν το νησί το 2013. Για να επιβεβαιώσουμε ότι για το χαμηλό ποσοστό οροθετικότητας στις έγκυες της επαρχίας Πάφου πιθανόν να ευθυνόταν ο πληθυσμός των Ελληνοποντίων, που ίσως είχαν άλλη πιθανότητα έκθεσης στο

παράσιτο (το περιβάλλον προέλευσης των ανθρώπων αυτών ή οι συνήθειες τους: διατροφικές και άλλες).

Για να διερευνήσουμε αυτό το παράδοξο ζητήσαμε από τα 4 Νοσοκομεία της Κύπρου, που διενεργούν τις ορολογικές εξετάσεις για όλο το νησί, ορολογικά αποτελέσματα εγκύων για την περίοδο 2013-2014, ώστε να έχουμε αποτελέσματα του γηγενούς πληθυσμού (κυρίως κατοίκων της Πάφου χωρίς το μεγάλο αριθμό των μεταναστών). Τα αποτελέσματα των εγκύων γυναικών για την περίοδο αυτή, για όλες τις επαρχίες, βρέθηκαν όμοια με αυτά της περιόδου 2009-2011 (Πίνακας 3) εκτός από την οροθετικότητα έναντι του Τοξοπλάσματος των εγκύων της Πάφου, η οποία έφτασε το 20.9%. Αυτό το νέο ποσοστό ήταν όμοιο με τα αποτελέσματα οροθετικότητας των εγκύων των επαρχιών της Λάρνακας και της Λεμεσού. Από τα αποτελέσματα αυτά συμπεραίνουμε ότι το χαμηλό ποσοστό οροθετικότητας το 2009-2011 οφειλόταν πράγματι στους Έλληνες μετανάστες από τον Πόντο, κυρίως νεαρών ζευγαριών που την εποχή εκείνη αποτελούσαν το 13.6% του πληθυσμού της Πάφου.

Στην Ευρώπη, ενώ το 6 με το 17% των οροθετικών περιπτώσεων έχει συσχετιστεί με λοίμωξη από το έδαφος, η κατανάλωση κρέατος φαίνεται να αντιπροσωπεύει το 30 με το 63% (Cook AJ, et al. 2000, Dabritz et al., 2010, Daryani et al., 2014). Μάλιστα, περισσότερο ευθύνεται το πρόβειο κρέας σε σχέση με το χοιρινό για τις λοιμώξεις από το παράσιτο στις Νότιες Ευρωπαϊκές χώρες, όπως είναι και η Κύπρος, όπου το 4 με το 77% των κασικιών να είναι οροθετικές (Dubey JP, et al. 2011; Tenter et al., 2000). Σύμφωνα με τις ετήσιες αναφορές των Κτηνιατρικών Υπηρεσιών του Υπουργείου Γεωργίας και Κτηνοτροφίας της Κύπρου για τα έτη 2006-2012, σε μέσο όρο, 39 ζώα το χρόνο από αυτά που εξετάζονται ορολογικά για Τοξόπλασμα, μετά από αυτόματη αποβολή, βρίσκεται να έχουν υψηλούς τίτλους αντισωμάτων έναντι του παράσιτου.

Η διάγνωση λοίμωξης από *T. gondii* στα ζώα, βασίζεται ουσιαστικά σε ορολογικές εξετάσεις. Ωστόσο, μόνο με ορολογικό έλεγχο δεν μπορούμε να έχουμε τη σημαντική πληροφορία για την παρουσία ή όχι ζωντανών παράσιτων στους ιστούς του ζώου. Επιπλέον, κάποια στελέχη του παράσιτου έχουν απομονωθεί και από οροαρνητικά ζώα (Dubey JP, et al. 2002). Αντίθετα, η άμεση ανίχνευση του παράσιτου συχνά αποδεικνύεται αρνητική σε οροθετικά ζώα (Opsteegh M, et



al. 2011). Σημαντικό είναι να σημειωθεί ότι ζωντανά *T. gondii* έχουν απομονωθεί από περισσότερα από 67% των δειγμάτων από πρόβατα από Νότιες χώρες της Ευρώπης (Opsteegh et al., 2011).

Σε αυτή τη μελέτη, τα αιγοπρόβατα παρουσίαζαν υψηλά ποσοστά οροθετικότητας έναντι του Τοξοπλάσματος: μέση τιμή 40.1%, (22.9-49.8%). Η πιθανότητα μόλυνσης από το παράσιτο βρέθηκε να εξαρτάται, στατιστικά σημαντικά, με την γεωγραφική προέλευση του ζώου, με την Αμμόχωστο να έχει το υψηλότερο ποσοστό οροθετικότητας και την Πάφο το χαμηλότερο ενώ τα πρόβατα έδειξαν υψηλότερα ποσοστά οροθετικότητας σε σχέση με τα κατσίκια (44.9% και 35.8%, αντίστοιχα) (Εικόνα 21; Πίνακες 1 και 2). Η πιθανότητα οροθετικότητας, όπως αναμενόταν, αυξανόταν με την ηλικία. Παρόλα αυτά, ακόμα και ζώα σε μικρή ηλικία (μικρότερη των 2 ετών) εμφάνισαν οροθετικότητα 21.1% η οποία άγγιζε το 46.8% στα μεγαλύτερης ηλικίας ζώα. Στην Ευρώπη, η οροθετικότητα στα πρόβατα που εκτρέφονται σε φάρμες αναφέρεται να είναι 17 έως 22% στα νεαρά ζώα ενώ 65 μέχρι 89% στα μεγαλύτερα ζώα (Kijlstra A, Jongert E. 2009). Εδώ πρέπει να αναφερθεί ότι, στην Κύπρο, τα αιγοπρόβατα καταναλώνονται σε νεαρή κυρίως ηλικία (λιγότερο των 3 ετών).

Ο υψηλότερος κίνδυνος μόλυνσης των προβάτων σε σχέση με αυτόν των κατσικιών, μπορεί να εξηγηθεί από τη διαφορά στον τρόπο βοσκής όταν βόσκουν ελεύθερα εκτός φάρμας: οι κατσίκες προτιμούν υψηλότερα κλαδιά στα δένδρα από τα πρόβατα. Στην Κύπρο, η κτηνοτροφία αιγοπροβάτων είναι, ως επί το πλείστον, εντατική. Τα ζώα εκτρέφονται σε φάρμες και τρέφονται με εισαγόμενες ζωοτροφές, κυρίως αποξηραμένα χόρτα. Σε όλες τις επαρχίες, όμως, πολλοί κτηνοτρόφοι βόσκουν τα ζώα τους σε χωράφια και στην ύπαιθρο για κάποιους μήνες του χρόνου που επιτρέπουν οι καιρικές συνθήκες.

Οι φάρμες για την εκτροφή ζώων βρέθηκαν σε όλο το νησί. Συνολικά, οι εκμεταλλεύσεις είναι τόσο γαλακτοπαραγωγής όσο και για την εκτροφή κρέατος χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, όσον αφορά στο επίπεδο βιοασφάλειας. Η καλύτερη κατανόηση των γεωργικών πρακτικών στην Κύπρο είναι απαραίτητη προκειμένου να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με το ρόλο τους στην επιδημιολογία του *Toxoplasma* στο νησί.

Το γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκε σημαντική στατιστική συσχέτιση με την γεωγραφική προέλευση των αιγοπροβάτων και τα ποσοστά οροθετικότητας στον

ανθρώπινο πληθυσμό που μελετήθηκε μπορεί να εξηγηθεί από τις κτηνοτροφικές πρακτικές και την αγορά του κρέατος στο νησί. Τα ζώα και τα προϊόντα κρέατος πωλούνται άσχετα με τον τόπο παραγωγής τους. Επίσης, υπάρχει εισαγωγή κρέατος από άλλες χώρες και κυρίως, παράνομα, από την κατεχόμενη Κύπρο.

Στο κρέας, οι ψευδοκύστες του παράσιτου πεθαίνουν μετά από 3 εβδομάδες ψύξης, ενώ στην κατάψυξη, στους  $-12^{\circ}\text{C}$  ή σε χαμηλότερες θερμοκρασίες μετά από τουλάχιστον 3 μέρες. Ο χρόνος εξαρτάται βασικά από το μέγεθος του τεμαχίου του κρέατος (Dubey JP. 1988). Οι Κύπριοι, ωστόσο, προτιμούν να καταναλώνουν φρέσκο παρά κατεψυγμένο κρέας και παρά το γεγονός ότι συνήθως αρέσκονται στο καλά ψημένο κρέας, κάποιες τοπικές λιχουδιές όπως η τσαμαρέλα, η λούντζα, το καπνιστό χοιρινό και τα λουκάνικα, αποδεδειγμένη πηγή του *T. gondii* (Murrell et al., 1984, Childs 1986, Hill DE, et al. 2006), δεν ψήνονται καλά ή καθόλου πριν καταναλωθούν. Είναι γνωστό ότι οι τρόποι που χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση του κρέατος με αλάτι, ζάχαρη ή κάπνισμα σε χαμηλές θερμοκρασίες, μπορεί να σκοτώσει το παράσιτο στο κρέας αλλά ο χρόνος που απαιτείται για αυτό εξαρτάται από τη συγκέντρωση του αλατιού/ζάχαρης και από τη θερμοκρασία αποθήκευσης (Hill DE, et al. 2006).

Ο κίνδυνος λοίμωξης από *Toxoplasma* στα παραγωγικά ζώα έχει μειωθεί σημαντικά με τη χρήση πρακτικών εντατικής κτηνοτροφίας και με την αυστηρή τήρηση μέτρων υγιεινής. Τα ζώα παραμένουν έγκλειστα στη φάρμα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους, τα υποστατικά διατηρούνται καθαρά και χωρίς τρωκτικά, πουλιά και γάτες αλλά και η τροφή που χρησιμοποιείται είναι αποστειρωμένη (Kijlstra et al., 2009). Μοντέρνοι τρόποι κτηνοτροφίας, οι οποίοι φαίνεται να ελαττώνουν σημαντικά τον κίνδυνο λοίμωξης από *Toxoplasma* στα παραγωγικά ζώα σε πολλές χώρες μπορεί να αποδειχτούν χρήσιμα για τους Κύπριους στο μέλλον όσον αφορά στο παθογόνο αυτό.

Σε όλες τις φάρμες στην Κύπρο, υπάρχουν γάτες. Οι Κύπριοι βασίζονται στα ζώα αυτά για τον έλεγχο ενός άλλου μεγάλου προβλήματος, αυτό των τρωκτικών που απαντώνται σε μεγάλους πληθυσμούς προκαλώντας σοβαρές ζημιές στη γεωργία και κτηνοτροφία. Οι γάτες αναπαράγονται ελεύθερα στη φάρμα. Σε μία κτηνοτροφική μονάδα, στην επαρχία Πάφου, η οποία παρουσίαζε πολύ υψηλό ποσοστό αποβολών στα πρόβατα, η στείρωση των γατιών της μονάδας ελάττωσε

τα ποσοστά αυτά σημαντικά (Ιωάννης Αντωνίου, κτηνίατρος στην περιοχή, προσωπική μαρτυρία).

Ο αριθμός των γατιών στο νησί, κατοικίδιων και αδέσποτων, είναι πολύ μεγάλος. Οι γάτες είναι ελεύθερες να κυνηγήσουν και να τραφούν από ποντίκια, πουλιά και άλλα μικρά ζώα, άρα είναι αναμενόμενο ότι κάποια στιγμή στη ζωή τους μπορεί να μολυνθούν από το παράσιτο και να μολύνουν το περιβάλλον. Η πιθανότητα να μολυνθούν είναι μεγάλη και αυτή φαίνεται από τα ποσοστά των οροθετικών τρωκτικών στην Κύπρο που αγγίζει το 27.9% (Psaroulaki et al., 2010) (Εικόνα 22). Έτσι, θα ανέμενε κανείς ένα μεγάλο αριθμό γατιών να ελευθερώνει ωοκύστες στο περιβάλλον, μολύνοντάς το. Αν μάλιστα υπολογίσει κανείς ότι μία μολυσμένη γάτα μπορεί να ελευθερώσει περισσότερες από 100 εκατομμύρια ωοκύστες στο περιβάλλον με τα κόπρανά της (Dubey JP, Frenkel JK, 1972), οι οποίες μπορεί να παρασυρθούν από το νερό της βροχής στα φράγματα που χρησιμοποιούνται για άρδευση και ύδρευση, η διασπορά του παράσιτου μπορεί να είναι εξαιρετικά σημαντική.

Αυτό ευνοείται επιπλέον στην Κύπρο όπου οι κλιματολογικές συνθήκες (Μεσογειακό κλίμα με σχετικά θερμά και ξηρά καλοκαίρια και βροχερούς και ήπιους χειμώνες) βοηθούν στην επιβίωση των ωοκύστεων στο έδαφος για 12-18 μήνες (Cook et al., 2000, Tenter et al., 2000). Συνολικά, δεν υπάρχουν ακραίες διαφορές σε θερμοκρασία και υγρασία στις πέντε επαρχίες, που να ευθύνονται για το διαφορετικό βαθμό επιβίωσης των ωοκύστεων του παράσιτου. Το γεγονός ότι στη δίαιτα των Κυπρίων συμπεριλαμβάνεται η κατανάλωση άγριων χορταρικών βοηθά στην επαφή τους με τις ωοκύστες του παράσιτου. Επίσης στην Κύπρο, το πόσιμο νερό και το νερό άρδευσης, ως επί το πλείστον, είναι από επιφανειακά ύδατα. Για πόσιμο νερό χρησιμοποιούνται 14 από τα 108 φράγματα στο νησί, ενώ από τα υπόλοιπα 94 φράγματα το νερό χρησιμοποιείται για άρδευση([http://www.cyprus.gov.cy/moa/wdd/WDD.nsf/dams\\_en/dams\\_en?Open Document](http://www.cyprus.gov.cy/moa/wdd/WDD.nsf/dams_en/dams_en?OpenDocument)).

Επιπλέον, είναι γνωστό ότι οι ωοκύστες μπορούν να αντέξουν σε χαμηλές θερμοκρασίες (κάτω του μηδενός) αλλά και σε σχετικά υψηλές θερμοκρασίες, όπως και στις μεθόδους χημικής και φυσικής επεξεργασίας που ακολουθείται στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας νερού (Dumetre A, et al. 2008). Πιθανόν να υπάρχουν διαφορές στην ποιότητα και καθαρότητα του νερού των φραγμάτων

όσον αφορά στην δυνατότητα του νερού της βροχής να μεταφέρει κόπρانا γατιών στο φράγμα· αλλά και διαφορές στα οικοσυστήματα γύρω από τα φράγματα που τους επιτρέπουν να φιλοξενούν αιλουροειδή που θα μπορούσαν να μολύνουν το περιβάλλον με τα κόπρανά τους. Οι διαφορές αυτές στην ποιότητα του νερού των φραγμάτων που παρέχει νερό ύδρευσης και άρδευσης για κάθε περιοχή μπορεί, εν μέρει, να εξηγήσει τις διαφορές στην οροθετικότητα στον ανθρώπινο πληθυσμό και στα ζώα της κάθε επαρχίας.

Είναι γνωστό ότι το νερό της βροχής μπορεί να παρασύρει ωοκύστες του *Toxoplasma* προς τη θάλασσα μολύνοντας την. Οι ωοκύστες μπορούν να επιβιώνουν για αρκετά μεγάλες χρονικές περιόδους στο αλμυρό νερό (Lindsay DS, Dubey JP. 2009). Δεδομένου ότι τα οστρακοειδή τρέφονται φιλτράροντας νερό, αποκτούν ωοκύστες στους ιστούς τους (Jones, et al. 2009) και με αυτόν τον τρόπο, η κατανάλωση οστρακοειδών από τον άνθρωπο μπορεί να οδηγήσει στη λοίμωξή του από το παράσιτο. Παρόλο ότι στην Κύπρο δεν καλλιεργούνται οστρακοειδή, οι Κύπριοι μπορούν να μολυνθούν από εισαγόμενα θαλάσσια μαλάκια ή σε ταξίδια τους στο εξωτερικό.

Το σημαντικό ερώτημα είναι το πώς οι Κύπριοι έρχονται σε επαφή με το παράσιτο.

Μόλυνση από Τοξόπλασμα επιτυγχάνεται με την κατανάλωση ωοκύστεων από το περιβάλλον (σε πόσιμο νερό, όχι καλά πλυμένα λαχανικά, βρώμικα χέρια), ψευδοκύστεων από όχι καλά μαγειρεμένο κρέας, από μολυσμένες σύριγγες και από μεταμόσχευση οργάνων.

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι οι παράγοντες κινδύνου λοίμωξης από *Toxoplasma* στην Κύπρο, είναι η δίαιτα (κρέας και προϊόντα κρέατος: 40,1% οροθετικότητα στα αιγοπρόβατα), το περιβάλλον, που είναι επιβαρυνμένο με τις ωοκύστες του παράσιτου σε μεγάλο βαθμό (γεγονός που έγινε εμφανές από την υψηλή οροθετικότητα που βρέθηκε στα τρωκτικά (Psaroulaki et al., 2010) και το οποίο επιβεβαιώθηκε από τον μεγάλο πληθυσμό αδέσποτων γατιών που κυκλοφορεί ελεύθερα στους δρόμους, χωράφια, υποστατικά σε χωριά και πόλεις. Το ότι κάποια χορταρικά και σαλατικά καταναλώνονται χωρίς ψήσιμο είναι επίσης επιβαρυντικό κυρίως αν αυτά δεν πλένονται καλά πριν την κατανάλωσή τους, γεγονός που καταγράφηκε στα ερωτηματολόγια των κοριτσιών κυρίως σε αυτά

που βρέθηκαν οροθετικά), και τη χρήση επιφανειακών υδάτων για κατανάλωση και άρδευση (Πίνακας 7).

Στην Κύπρο, η εκπαίδευση σε θέματα υγείας μπορεί να αποδειχθεί πολύ σημαντική για την αποφυγή μόλυνσης, γεγονός που προκύπτει από τα αποτελέσματα της μελέτης που δείχνουν ότι ένα μέρος του γυναικείου πληθυσμού μολύνεται μεταξύ των κρίσιμων ηλικιών 19 και 38 ετών. Αυστηρά μέτρα υγιεινής και η σωστή επεξεργασία κρέατος, λαχανικών και νερού είναι τα κύρια μέτρα πρόληψης λοίμωξης από *T. gondii* στον πληθυσμό, για τα οποία θα πρέπει να ενημερωθεί. Παράλληλα, ο έλεγχος του πληθυσμού των γατιών (κυρίως των αδέσποτων) αλλά και αυτού των τρωκτικών, θα βοηθήσει στην ελάττωση της μόλυνσης του περιβάλλοντος.

Η ενημέρωση του πληθυσμού, λοιπόν, για την αποφυγή επαφής με τις ωοκύστες και τις ψευδοκύστες του παράσιτου και η σύσταση ενός προγράμματος προγεννητικού ελέγχου για την τοξοπλάσμωση είναι το κλειδί για μια ασφαλή, από το Τοξόπλασμα, εγκυμοσύνη και ο πιο σημαντικός και πιο οικονομικός τρόπος πρόληψης.

Παράλληλα, είναι εξαιρετικά σημαντική η σωστή διαχείριση και καταστροφή των ζωικών υποπροϊόντων στα σφαγεία θα εξασφαλίσει την εξάλειψη δυνατών κινδύνων για τη δημόσια υγεία, την υγεία των παραγωγικών ζώων και του περιβάλλοντος.

Η μελέτη αυτή είχε μια σειρά από αδυναμίες που επηρεάζουν τη γενίκευση των συμπερασμάτων. Για παράδειγμα, ο τρόπος συλλογής των αποτελεσμάτων οροθετικότητας των εγκύων γυναικών δεν μας έδινε τη δυνατότητα να εξετάσουμε το δείγμα σε σχέση με την ηλικία. Είναι όμως γνωστό ότι η μέση ηλικία των γυναικών κατά την εγκυμοσύνη για το σύνολο της Κύπρου, κατά την περίοδο 2007-2013, ήταν 29,1 έτη. Ένας άλλος περιορισμός ήταν η χρήση διαφόρων δοκιμασιών ELISA για τις διαφορετικές ομάδες του πληθυσμού. Θα πρέπει όμως να διευκρινιστεί ότι ο κύριος στόχος της μελέτης ήταν να εξετάσει τα ποσοστά οροθετικότητας και τους πιθανούς παράγοντες κινδύνου μόλυνσης των μαθητριών Λυκείου από το παράσιτο, και έτσι μόνο γενικές εκτιμήσεις για την οροθετικότητα στις έγκυες και στα αιγοπρόβατα πραγματοποιήθηκαν.

Λόγω του πολιτικού προβλήματος στο νησί, η κατάσταση δεν μπορεί να αξιολογηθεί σε μακροχρόνια βάση ούτε να προβλεφθούν οι επιπτώσεις του

προβλήματος μια και η εικόνα της τοξοπλάσμωσης στο βόρειο μέρος της Κύπρου, που δεν ελέγχεται από την Κυπριακή Δημοκρατία, δεν είναι γνωστή και υπάρχει ελεύθερη διακίνηση πουλιών, τρωκτικών, γατιών και άλλων ζώων τα οποία μεταφέρουν το παράσιτο από βορρά προς νότο, και αντίστροφα.

Η διατριβή αυτή μαζί με τις σχετικές δημοσιεύσεις που προέκυψαν/θα προκύψουν, θα δοθούν στο Υπουργείο Υγείας και Παιδείας της Κυπριακής Δημοκρατίας, μαζί με μια σύντομη αναφορά με τα συμπεράσματα της μελέτης και προτάσεις για την διασφάλιση της προστασίας του πληθυσμού από το Τοξόπλασμα.

## 17. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Antoniou, M., Economou, I., Wang, X., Psaroulaki, A., Spyridaki, I., Papadopoulos, B., Christidou, A., Tsafantakis, E. & Tselentis, Y. 2002, 'Fourteen - year seroepidemiological study of zoonoses in a Greek village', *Am J Trop Med Hyg*, vol. 66, no. 1, pp. 80-85.
2. Antoniou M, Tzouvali H, Sifakis S, Galanakis E, Georgopoulou E, Liakou V, Giannakopoulou C, Koumantakis E, Tselentis Y. 2004, Incidence of toxoplasmosis in 5532 pregnant women in Crete, Greece: management of 185 cases at risk. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*;117(2):138-43.
3. Antoniou, M., Tzouvali, H., Sifakis, S., Galanakis, E., Georgopoulou, E., Tselentis, Y. 2007, 'Toxoplasmosis in pregnant women in Crete', *Parassitologia*, vol. 49, no. 4, pp. 231-233.
4. Afonso E, Thulliez P, Pontier D, Gilot-Fromont E. 2007. *Toxoplasmosis in prey species and consequences for prevalence in feral cats: not all prey species are equal. Parasitology 134:1963–1971.*
5. Alford, C. A., Stagno, S. & Reynolds, D. W. 1974, 'Congenital toxoplasmosis: clinical, laboratory, and therapeutic considerations, with special reference to sub - clinical cases', *Bull N Y Acad Med*, vol. 50, pp. 160-181.
6. Benard, A. & Salmi, L. R. 2006, *Systematic review of published data on the burden of congenital toxoplasmosis in Europe - Panel 1: burden of the disease issues*, EUROTOXO.
7. Benard A, Petersen E, Salamon R et al. *The European Toxo Prevention Study Group: Survey of European programmes for the epidemiological surveillance of congenital toxoplasmosis. Euro surveill 2008; 13(15): 18834.*
8. Blader, I. J. & Saeij, J. P. 2009, 'Communication between *Toxoplasma gondii* and its host: impact on parasite growth, development, immune evasion, and virulence', *APMIS*, vol. 117, no. 5-6, pp. 458-476.
9. Bodaghi, B., Touitou, V., Fardeau, C., Paris, L. & LeHoang, P. 2012, 'Toxoplasmosis: new challenges for an old disease', *Eye*, vol. 26, no. 2, pp. 241-244.

10. Charvalos, A., Manetas, S., Georgiladakis, A. & Tselentis, Y. 1995, 'Epidemiological investigation of Toxoplasmosis in rural areas in Greece', *Med J Infect Paras Dis*, vol. 10, pp. 200-202.
11. Chaudhry, S. A., Gad, N. & Koren, G. 2014, 'Toxoplasmosis and pregnancy', *Canadian Family Physician*, vol. 60, pp. 334-336.
12. Cook, A. J., Gilbert, R. E., Buffolano, W., Zufferey, J., Petersen, E., Jenun, P. A., Foulon, W., Sempriani, A. E. & Dunn, D. T. 2000, 'Sources of Toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case - control study', *British Medical Journal*, vol. 321, no. 7254, pp. 142-147.
13. Dabritz HA, et al. 2008. *Risk factors for Toxoplasma gondii infection in wild rodents from central coastal California and a review of T. gondii prevalence in rodents. J. Parasitol. 94:675–683.*
14. Daryani A, Sarvi S, Aarabi M et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the Iranian general population: a systematic review and meta-analysis. *Acta Trop* 2014; 137: 185–94.
15. Daunter, B. 1992, 'Immunology of pregnancy: towards a unifying hypothesis', *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, vol. 43, no. 2, pp. 81-95.
16. Decavalas, G., Papapetropoulou, M., Giannoulaki, E., Tzigounis, V. & Kondakis, X. G. 1990, 'Prevalence of Toxoplasma gondii antibodies in gravidas and recently aborted women and study of risk factors', *Eur J Epidemiol*, vol. 6, no. 2, pp. 223-226.
17. Desmonts, G. & Couvreur, J. 1986, 'Toxoplasmose congenitale. Etude prospective de l' issue de la grossesse chez 542 femmes atteintes de toxoplasmose acquise en cours de gestation', *Semaine des Hospitaux de Paris*, vol. 62, pp. 1418-1422.
18. Dubey JP. 1991. Toxoplasmosis: an overview. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 22:88–92.
19. Dubey, J. P. 1994, 'Toxoplasmosis', *J Am Vet Med Assoc*, vol. 205, pp. 1593-1598.
20. Dubey JP. 1998. Toxoplasmosis, sarcocystosis, isosporosis, and cyclosporiasis. In: Palmer SR, Soulsby EJL, Simpson DJH. eds. *Zoonoses*. Oxford: Oxford University Press. pp. 579–97.



21. Dubey JP. 1988. *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. 49:910–913.*
22. Dubey, J. P. 2008, 'The History of Toxoplasma gondii - The first 100 years', *J. Eukaryot Microbiol*, vol. 55, no. 6, pp. 467-475.
23. Dubey, J. P. 2009, 'History of the discovery of the life cycle of Toxoplasma gondii', *International Journal for Parasitology*, vol. 39, no. 8, pp. 877-882.
24. Dubey JP. 2010. *Toxoplasmosis of animals and humans*, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
25. Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis, and public health significance. *Zoonoses Public Health* 2010; 57: 60–73.
26. Dubey JP, Frenkel JK . 1972. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J. Protozool.* 19:155–177
27. Dubey JP, Beatie CP, editors. *Toxoplasmosis of animals and man*. Boca Raton: CRC Press, Inc.; 1988.
28. Dubey, J. P., Lindsay, D. S. & Speer, C. A. 1998, 'Structure of Toxoplasma gondii tachyzoites, bradyzoites and sporozoites, and biology and development of tissue cysts', *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 11, no. 2, pp. 267– 299.
29. Dubey JP, et al. 2002. High prevalence of viable Toxoplasma gondii infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. *J. Parasitol.*88:1234–1238
30. Dubey, J. P., Zarnke, R., Thomas, N. J., Wong, S. K., Van Bonn, W., Briggs, M., Davis, J. W., Ewing, R., Mensea, M., Kwok, O. C. H., Romand, S. & Thulliez, P. 2003, 'Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Sarcocystis neurona, and Sarcocystis canis - like infections in marine mammals', *Veterinary Parasitology*, vol. 116, pp. 275-296.
31. Dubey JP, et al. 2011. *High prevalence and genotypes of Toxoplasma gondii isolated from goats, from a retail meat store, destined for human consumption in the USA. Int. J. Parasitol.* 41:827–833.
32. Dumetre A, et al. 2008. *Effects of ozone and ultraviolet radiation treatments on the infectivity of Toxoplasma gondii oocysts. Vet. Parasitol.* 153:209–213.

33. Edelhofer R. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in pigs in Austria an evaluation of data from 1982 and 1992. *Parasitol Res* 1994;80:642–4.
34. Ferguson, D. J. 2009, 'Toxoplasma gondii: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore', *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 104, no. 2, pp. 133-148.
35. Ferguson DJP, Birch–Andersen A, Slim JC, Hutchison WM. 1978. Observations of the ultrastructure of the sporocyst and the initiation of sporozoite formation in *Toxoplasma gondii*. *Acta Pathol Microbiol Scand Sect B*. 86:165–7.
36. Flegr, J., Prandota, J., Sovickova, M. & Israili, Z. H. 2014, 'Toxoplasmosis - A Global Threat. Correlation of Latent Toxoplasmosis with Specific Disease Burden in a Set of 88 Countries', *PLoS ONE*, vol. 9, no. 3, pp 1-22.
37. Florence Robert-Gangneux, and Marie-Laure Dardé. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clin. Microbiol.* 2012 vol. 25 no. 2 264-296.
38. Frenkel, J. K. 1973, 'Toxoplasma in and around us', *BioScience*, vol. 23, pp. 343-352.
39. Frenkel, J. K., Dubey, J. P. & Miller, N. L. 1970, 'Toxoplasma gondii in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts', *Science*, vol. 167, pp. 893-896.
40. Frenkel JK, Ruiz A, Chinchilla M. Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg* 1975; 24: 439–43.
41. Frydas, S., Theodoridis, Y., Rallis, T., Adamama - Moraitou, K. K., Papazahariadou, M., Hatzistilianou, M., Di Gioacchino, M., Felaco, M., Di Gioacchino, M., Cavallucci, E., Verna, N., Paolini, F., Ciuffreda, S., Raimondo, S., Sciascio, M. B., Di Stefano, F., Romano, A. & Boscolo, P. 2000, 'A seroepidemiological study of *Toxoplasma gondii* infection in children of northern Greece', *Int J Immunopathol Pharmacol*, vol. 13, no. 3, pp. 157-162.
42. Gatopoulou, A. T., Zorba, C. G., Giakoum, G. P., Panagiotopoulou, A. G. & Athanasopoulos, P. K. 1997, 'Serological investigations of antibodies to *Toxoplasma gondii* in women of reproductive age living in Achaia in the four - year period 1991-1995', *Acta Microbiol Hell*, vol. 42, pp. 513-521.
43. Hide, G., Morley, E. K., Hughes, J. M., Gerwash, O., Elmahaishi, M. S., Elmahaishi, K. H., Thomasson, D., Wright, E. A., Williams, R. W., Murphy, R. G. & Smith, J. E. 2009, 'Evidence for high levels of vertical transmission in *Toxoplasma gondii*', *Parasitology*, vol. 136, no. 14, pp. 1877-1885.

44. Hill, D. E. & Dubey, J. P. 2002, 'Toxoplasma gondii: transmission, diagnosis and prevention', *Clinical microbiology and infection*, vol. 8, no. 10, pp. 634-640.
45. Hill, D. E., Chirukandoth, S. & Dubey, J. P. 2005, 'Biology and epidemiology of Toxoplasma gondii in man and animals', *Animal Health Research Reviews*, vol. 6, no. 1, pp. 41-61.
46. Hill DE, et al. 2006. Effects of time and temperature on the viability of Toxoplasma gondii tissue cysts in enhanced pork loin. *J. Food Prot.*69:1961–1965.
47. Howe, D. K., Honoré, S., Derouin, F. & Sibley, L. D. 1997, 'Determination of genotypes of Toxoplasma gondii strains isolated from patients with toxoplasmosis', *J Clin Microbiol*, vol. 35, no. 6, pp. 1411-1414.
48. Ho–Yen DO. Immunocompromised patients. In: Ho–Yen DO and Joss AWL eds. Human toxoplasmosis. Oxford Medical Publications, Oxford, United Kingdom. 1992. p. 184–203.
49. Jones JL, Kruszon – Moran D, McQuillan G et al. 2001. Toxoplasma gondii infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol* 154: 357–65.
50. Jones, J. L., Lopez, A., Wilson, M., Schulkin, J. & Gibbs, R. 2001, 'Congenital Toxoplasmosis: A Review', *Obstetrical and Gynecological Survey*, vol. 56, no. 5, pp. 296-305.
51. Jones JL, et al. 2009. Risk factors for Toxoplasma gondii infection in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 49:878–884.
52. Joynson DHM, Guy EC. Joynson DHM, Wreghitt TG, editors. Laboratory diagnosis of toxoplasma infection. Toxoplasmosis: a Comprehensive Clinical Guide. 2001. Cambridge, UK: Cambridge University Press;p. 296–318.
53. Joynson, D. & Wreghitt, T. 2001, *Toxoplasmosis. A comprehensive clinical guide*, Cambridge University Press, Cambridge.
54. Kasper, L.H. & Mineo, J. R. 1994, 'Attachment and invasion of host cells by Toxoplasma gondii', *Parasitol Today*, vol. 10, no. 5, pp. 184-187.
55. Kijlstra, A. & Jongert, E. 2009, 'Toxoplasma - safe meat: close to reality?', *Trends Parasitol*, vol. 25, pp. 18-22.

56. Kim, K. & Weiss, L. M. 2008, '*Toxoplasma*: the next 100 years', *Microbes Infect.*, vol. 10, no. 9, pp. 978-984.
57. Leroy, V. & Hadjichristodoulou, C. 2005, *Systematic review of risk factors for Toxoplasma gondii infection in pregnant women - Panel 3: prevention and screening issues*, version 3, EUROTOXO Scientific Secretariat Group.
58. Leroy, V., Raeber, P. A., Petersen, E., Salmi, L. R., Kaminski, M., Villena, I., Buffolano, W. & Gilbert, R. 2005, *National public health policies and routine programs to prevent congenital Toxoplasmosis - Panel 3: prevention and screening issues*, Eurotoxox Group.
59. Levine, N. D., et al. 1980, 'A newly revised classification of the Protozoa', *Journal of Protozoology*, vol. 27, pp. 37-58.
60. Lindsay DS, Dubey JP . 2007. Toxoplasmosis in wild and domestic animals, p 133–152. In Weiss LM, Kim K (ed), *Toxoplasma gondii: the model apicomplexan. Perspectives and methods*. Academic Press, London, United Kingdom.
61. Lindsay DS, Dubey JP. 2009. Long-term survival of *Toxoplasma gondii* sporulated oocysts in seawater. *J. Parasitol.* 95:1019–1020.
62. Lopez, A., Dietz, V. J., Wilson, M., Navin, T. R. & Jones, J. L. 2000, 'Preventing congenital toxoplasmosis. Morbidity and Mortality', *Weekly Report*, vol. 49, pp. 59-75.
63. Lolis, D., Koutsogiannis, D., Papadopoulou, C. & Antoniadis, G. 1996, 'The risk of primary toxoplasmosis during pregnancy in Greece', *Mediterr J Infect Parasit Dis*, vol. 11, pp. 89-92.
64. Mahon, C. R. & Manuselis, G. 2000, *Textbook of diagnostic microbiology*, 2nd Ed., Saunders, Philadelphia.
65. Mandelbrot, L. 2012, 'Prevention of mother to child transmission of toxoplasmosis: perspectives', *Gynecol Obstet Fertil*, vol. 40, no. 10, pp. 591598.
66. Messaritakis Ippokratis, Maria Detsika, Maria Koliou, Stavros Sifakis, and Maria Antoniou. Prevalent genotypes of *Toxoplasma gondii* in pregnant women and patients from Crete and Cyprus. *Am J Trop Med Hyg.* 2008 Aug;79(2):205-9.
67. *Microscopic Parasite Toxoplasma Gondii Linked to Personality Changes*. 2012, Διαθέσιμο στο δικτυακό τόπο: <http://scitechdaily.com/microscopicparasite-toxoplasma-gondii-linked-to-personality-changes/> (5/7/2014).

68. Montoya JG, Liesenfeld O. 2004. Toxoplasmosis. *Lancet* 363:1965–1976).
69. Opsteegh M, et al. 2011. Low predictive value of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle for detection of parasite DNA. *Int. J. Parasitol.*41:343–354.
70. Montoya JG, Remington JS. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. *Clin Infect Dis* 2008 Aug 15;47(4):554-66. [PMID: 18624630](#)
71. Pappas G, Roussos N, Falagas ME . 2009. Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int. J. Parasitol.* 39:1385–1394.
72. *Parasites of Other Systems - Toxoplasma Gondii*. 2014, Διαθέσιμο στο δικτυακό τόπο: <http://www.capcvet.org/capc-recommendations/toxoplasma> (5/7/2014).
73. Pereboom, M. T. R., Mannien, J., Spelten, E. R., Schellevis, F. G. & Hutton, E. K. 2013, 'Observational study to assess pregnant women's knowledge and behaviour to prevent toxoplasmosis, listeriosis and cytomegalovirus', *Pregnancy and Childbirth*, vol. 13, no. 98, pp 1-12.
74. Prandota, J. 2011, 'Metabolic, immune, epigenetic, endocrine and phenotypic abnormalities found in individuals with autism spectrum disorders, Down syndrome and Alzheimer disease may be caused by congenital and/or acquired chronic cerebral toxoplasmosis', *Res Autism Spectr Disorders*, vol. 5, pp. 14-59.
75. Prestrud, K. W., Dubey, J. P., Asbakk, K., Fuglei, E. & Su, C. 2008, 'First isolate of *Toxoplasma gondii* from arctic fox (*Vulpes lagopus*) from Svalbard', *Veterinary Parasitology*, vol. 151, pp. 110-114.
76. Psaroulaki A, Antoniou M, Toumazos P, Mazeris A, Ioannou I, Chochlakis D, Christophi N, Loukaides P, Patsias A, Moschandrea I, Tselentis Y. 2010. Rats as indicators of the presence and dispersal of six zoonotic microbial agents in Cyprus, an island ecosystem: a seroepidemiological study. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 104; 733-739.
77. Remington JS, McLeod R, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO (ed): *Infectious diseases of the fetus and the newborn infant*. 4<sup>th</sup> ed. The W. B Saunders Company, Philadelphia, 1995, p. 191-332, 140–267.

78. Roberts, A., Hedman, K., Luyasu, V., Zufferey, J., Bessieres, M. H., Blatz, R. M., Candolfi, E., Decoster, A., Enders, G., Gross, U., Guy, E., Hayde, M., Ho - Yen, D., Johnson, J., Lecolier, B., Naessens, A., Pelloux, H., Thulliez, P. & Petersen, E. 2001, 'Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*', *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, vol. 20, pp. 467-474.
79. Roberts, A., Hedman, K., Luyasu, V., Zufferey, J., Bessieres, M. H., Blatz, R. M., Candolfi, E., Decoster, A., Enders, G., Gross, U., Guy, E., Hayde, M., Ho - Yen, D., Johnson, J., Lecolier, B., Naessens, A., Pelloux, H., Thulliez, P. & Petersen, E. 2001, 'Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*', *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, vol. 20, pp. 467-474.
80. Sabin, A. B. & Feldman, H. A. 1948, 'Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*)', *Science*, vol. 108, pp. 660–6633.
81. Saeij JP, et al . 2007. *Toxoplasma* co-opts host gene expression by injection of a polymorphic kinase homologue. *Nature* 445:324–327
82. Smith DD, Frenkel JK. 1995. *Prevalence of antibodies to Toxoplasma gondii in wild mammals of Missouri and east central Kansas: biologic and ecologic considerations of transmission. J. Wildl. Dis.* 31:15–21.
83. Tenter, A. M. & Johnson, A. M. 1997, 'Phylogeny of the tissue cystforming coccidia', *Adv Parasitol*, vol. 39, pp. 69-139.
84. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. 2000. *Toxoplasma gondii: from animals to humans. Int. J. Parasitol.* 30:1217–1258.
85. Tenter, A. M., Heckeroth, A. R. & Weiss, L. M. 2000, 'Toxoplasma gondii: from animals to humans', *International Journal for Parasitology*, vol. 30, pp. 1217-1258.
86. Vyas, A., Kim, S. K., Giacomini, N., Boothroyd, J. C. & Sapolsky, R. M. 2007, 'Behavioral changes induced by *Toxoplasma* infection of rodents are highly specific to aversion of cat odors', *Proc Natl Acad Sci*, vol. 104, pp. 64426447.
87. Wallon, M., Peyron, F., Cornu, C., Vinault, S., Abrahamowicz, M., Kopp,

- C. B. & Binquet, C. 2013, 'Congenital Toxoplasma Infection: Monthly Prenatal Screening Decreases Transmission Rate and Improves Clinical Outcome at Age 3 Years', *Clinical Infectious Diseases*, vol. 56, no. 9, pp. 1223-1231.
86. WarnekuLASuriya MR, Johnson JD, Holliman RE. Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. *Int J Food Microbiol* 1998;45: 211–5.
87. Warren, K. S. 1993, 'Immunology and molecular biology of parasitic infection', *International Journal for Parasitology*, vol. 25, pp. 1301-1309.
88. Webster, J. P., Kaushik, M., Bristow, G. C. & McConkey, G. A. 2013, 'Toxoplasma gondii infection, from predation to schizophrenia: can animal behaviour help us understand human behaviour?', *Journal of Experimental Biology*, vol. 216, no. 1, pp. 99-112.
89. Weiss, L. M. & Dubey, J. P. 2009, 'Toxoplasmosis: a history of clinical observations', *International Journal for Parasitology*, vol. 39, no. 8, pp 895-901.
90. Weiss, L. M. & Kim, K. 2014, *Toxoplasma gondii - The Model Apicomplexan: Perspectives and Methods*, 2nd Ed., Academic Press, London.
91. Werk, R. 1985, 'How does Toxoplasma gondii enter host cells?', *Rev Infect Dis*, vol. 7, no. 4, pp. 449-457.
92. Yilmaz SM, Hopkins SH. Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. *J Parasitol* 1972; 58: 938–9.
93. Αππουραμάνη, Μ. 2006, *Εκτίμηση της επίπτωσης της συγγενούς τοξοπλάσμωσης στην Ελλάδα με αναδρομική μελέτη και ενεργητική επιδημιολογική επιτήρηση*. Διαθέσιμο στο δικτυακό τόπο: [http://epidem.med.uth.gr/gr/Siggenis\\_tocsoplasmatosi.doc](http://epidem.med.uth.gr/gr/Siggenis_tocsoplasmatosi.doc) (5/7/2014).
94. Καποτάς, Ν. Μ. 2003, 'Νεοφανείς παρασιτικές ζωνόσοι που μεταδίδονται με το νερό και τα τρόφιμα', *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής*, vol. 20, no. 4, pp. 407-424.
95. Χάρης Τζουβάλη, 2004. Διδακτορική διατριβή. Διάγνωση Τοξοπλάσμωσης σε Εγκύους & Ασθενείς με HIV. Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ιατρική Σχολή.

## 18. Παραρτήματα

### 18.1 Αίτηση προς Επιτροπή Βιοηθικής Κύπρου

ΥΠΟΒΟΛΗ ΑΙΤΗΣΗΣ  
ΓΙΑ ΕΓΚΡΙΣΗ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΑΠΟ  
ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΒΙΟΗΘΙΚΗΣ ΚΑΙ ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΜΠΙΣΤΕΥΤΙΚΑ ΕΓΓΡΑΦΑ

Η ΑΙΤΗΣΗ ΑΥΤΗ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΚΑΙ ΣΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΜΟΡΦΗ  
Προϋπόθεση για την υποβολή αίτησης είναι ότι το προτεινόμενο Πρόγραμμα έχει  
εξασφαλίσει την απαραίτητη χρηματοδότηση για την υλοποίηση του

(Σε περίπτωση που η αίτηση θα υποβάλλεται πριν την εξασφάλιση χρηματοδότησης θα πρέπει να δίδονται  
λεπτομερείς επεξηγήσεις για τους λόγους που ζητείται η έγκριση από Επιτροπή Βιοηθικής και  
Δεοντολογίας)

ΠΡΟΣΟΧΗ: Η αίτηση αυτή με όλα τα επισυναπτόμενα έντυπα, όπως επίσης και η απόφαση  
της ΕΒ, πρέπει να κοινοποιηθεί στην ΕΕΒΚ.

Όλες οι Επιτροπές Βιοηθικής (ΕΒ) βρίσκονται κάτω από την άμεση εποπτεία της Εθνικής  
Επιτροπής Βιοηθικής Κύπρου (ΕΕΒΚ). Η ΕΕΒΚ έχει εξουσιοδοτήσει την Επιτροπή  
Βιοηθικής να μελετήσει και να αποφασίσει σχετικά με την αίτηση που υποβάλλεται. Η  
απόφαση της ΕΒ, για την αίτηση αυτή, μπορεί να επανεξετασθεί από την ΕΕΒΚ, εάν ο  
αιτητής/η αιτήτρια διαφωνήσει με την απόφαση της ΕΒ.

Συμπληρώνεται από τον(την) Επιστημονικό(ή) Υπεύθυνο(η) του Προγράμματος (Σε  
περίπτωση που ένα πρόγραμμα έχει «Συντονιστή» τότε, για τους σκοπούς της αίτησης αυτής,  
ο/η Συντονιστής θεωρείται ο/η «Επιστημονικός/ή Υπεύθυνος/η») Ημερομηνία που  
υποβάλλεται η αίτηση

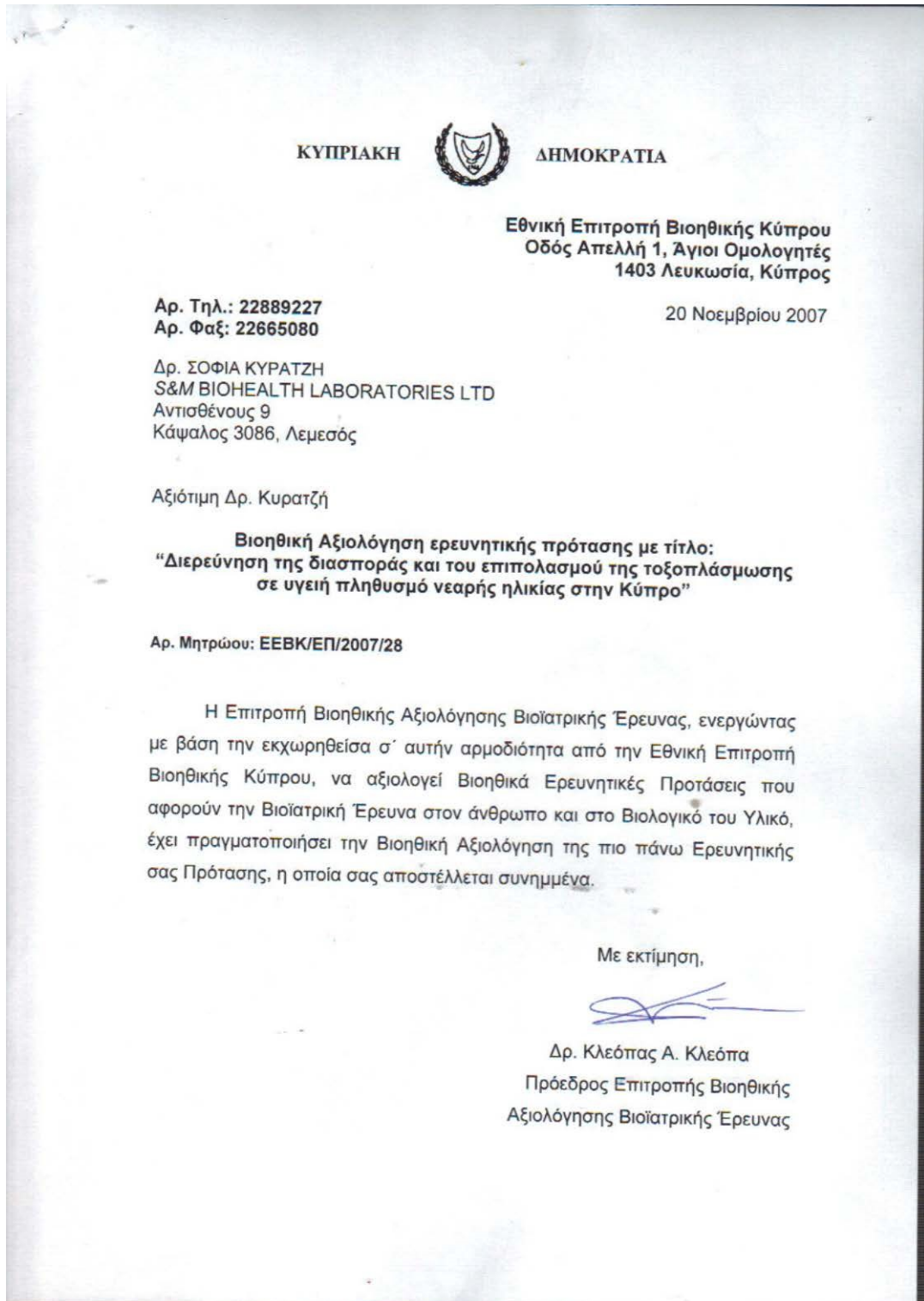
Ημέρα: 22α Μήνας: ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ Έτος: 2007

Τίτλος Προγράμματος για το οποίο υποβάλλεται η αίτηση

Διερεύνηση της διασποράς και του επιπολασμού της τοξοπλάσμωσης σε υγιή πληθυσμό  
νεαρής ηλικίας στην Κύπρο.



## 18.2 Απόφαση Επιτροπής Βιοηθικής Κύπρου



**Συμπληρώνεται από την Επιτροπή Βιοηθικής**

Τίτλος Προγράμματος για το οποίο γίνεται η αίτηση
Διερεύνηση της διασποράς και του επιπολασμού της τοξοπλάσμωσης σε υγιή πληθυσμό νεαρής ηλικίας στην Κύπρο.
Επιστημονικός Υπεύθυνος του Προγράμματος
Κυρία Μαρία Αντωνίου (Κρήτη) με εκπρόσωπο την Κυρία Σοφία Κυρατζή

Όνομα Επιτροπής Βιοηθικής	
Επιτροπή Βιοηθικής Αξιολόγησης Ερευνητικών Πρωτοκόλλων σε σχέση με Βιοϊατρική Έρευνα	
Μέλη της Επιτροπής Βιοηθικής	
Όνομα	Επίθετο
Κλεόπας	Κλεόπα
Δήμητρα	Γεωργίου
Λούλλα	Θεοδώρου
Αναστάσιος	Ισαάκ
Αθανάσιος	Κορφιώτης
Αγάθη	Καραολή
Ιωάννης	Πασχαλίδης
Ροδοθέα	Σταυρινού
Ανδρέας	Προκοπίου

Σχόλια από την Επιτροπή Βιοηθικής με βάση τα οποία λήφθηκε η απόφαση για την αίτηση που υποβλήθηκε

Η Επιτροπή επανεξέτασε την αίτηση των ερευνητών υπό το φως των νέων δεδομένων, ότι δηλαδή η έρευνα γίνεται για σκοπούς διδακτορικής διατριβής ενός των ερευνητών, έχει εγκριθεί από το αρμόδιο σώμα του Πανεπιστημίου Κρήτης, και την επιστημονική ευθύνη φέρει το Πανεπιστήμιο Κρήτης. Σχετική διαβεβαίωση μας έχει σταλεί από την Γραμματεία Μεταπτυχιακών Σπουδών Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης στις 6 Νοεμβρίου 2007.

Κατόπιν διεξοδικής συζήτησης του θέματος η Επιτροπή κατέληξε ότι τα νέα δεδομένα που υποβλήθηκαν μετά την αρχική απόφαση, ικανοποιούν τις ανησυχίες της Επιτροπής που οδήγησαν στην απόρριψη της πρότασης, και επομένως **αποφάσισε να την εγκρίνει.**

## 18.3 Αίτηση προς Υπουργείο Παιδείας Κύπρου

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΛΟΓΙΑΣ - ΠΑΡΑΣΙΤΟΛΟΓΙΑΣ, ΖΩΟΝΟΣΩΝ  
ΚΑΙ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Αίτηση προς Υπουργείο Παιδείας Κύπρου

Γενική Διεύθυνση Υπουργείου Παιδείας

Κοινοποίηση προς Υπουργείο Υγείας

Αξιότιμε/η κύριε κυρία

Το Εργαστήριο Κλινικής Βακτηριολογίας, Παρασιτολογίας, Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής, του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης εργάζεται για την πρόληψη Συγγενούς Τοξοπλάσμωσης (ΣΤ) για την αποφυγή γέννησης παιδιών με σοβαρά συγγενή προβλήματα αλλά και για την αποφυγή ενός μεγάλου αριθμού άσκοπων εκτρώσεων από το φόβο πιθανής οξείας τοξοπλάσμωσης της εγκύου χωρίς όμως εργαστηριακά ή άλλα ευρήματα που να το επιβεβαιώνουν.

Το πρόβλημα ΣΤ είναι σοβαρό μια και το ποσοστό οροθετικών ατόμων στην Μεσόγειο είναι αρκετά υψηλό: στην Ελλάδα κυμαίνεται μεταξύ 30 και 40% ανάλογα με την περιοχή προέλευσης, στη Γαλλία είναι 60%. Για την Κύπρο δεν υπάρχουν πληροφορίες μια και το πρόβλημα δεν έχει μελετηθεί στον άνθρωπο πέρα από ενδείξεις και τερματισμούς κύσεων λόγω «τοξοπλάσμωσης».

Το πρόβλημα, όσον αφορά στην τοξοπλάσμωση, εντοπίζεται στις περιπτώσεις όπου μια έγκυος αποδεικνύεται οροθετική χωρίς όμως ιστορικό που να μπορεί να προσδιορίσει το χρόνο μόλυνσής της και άρα δεν μπορεί να υπολογιστεί η πιθανότητα το παιδί να γεννηθεί με σοβαρά προβλήματα υγείας λόγω ΣΤ. Η αντίχνευση ειδικών IgM αντισωμάτων υποδηλώνει πρόσφατη μόλυνση, αλλά ο τίτλος τους και ο χρόνος εμφάνισής τους εξαρτάται από την ανοσολογική αντίδραση του κάθε ατόμου, η οποία δεν μπορεί να υπολογιστεί αφού διαφέρει από άνθρωπο σε άνθρωπο. Έχει αποδειχθεί ότι αν η έγκυος μολυνθεί κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης, τότε η πιθανότητα μόλυνσης του εμβρύου και γέννησης παιδιού με ΣΤ εξαρτάται από το χρόνο λοίμωξης της εγκύου (0-88%). Μια και δεν υπάρχει στρατηγική αντιμετώπισης του προβλήματος στην Κύπρο, με προληπτικό έλεγχο της γυναίκας πριν την εγκυμοσύνη και τον έλεγχό της κάθε μήνα κατά

τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, η έγκυος κινδυνεύει να φέρει στον κόσμο παιδιά με σοβαρές συγγενείς ανωμαλίες όπως: χοριοαμφιβληστροειδίτιδα, εγκεφαλική αποτιτάνωση, υδροκεφαλία, μικροκεφαλία, πνευματική καθυστέρηση, νευρολογικά προβλήματα, μέχρι και τη γέννηση νεκρού εμβρύου. Ο καλύτερος και οικονομικότερος τρόπος αντιμετώπισης γέννησης παιδιών με ΣΤ είναι η πρόληψη, και ο καλύτερος τρόπος πρόληψης είναι η ενημέρωση.

Το Εργαστήριό μας, σε συνεργασία με τις Κτηνιατρικές Υπηρεσίες Κύπρου και την Μαιευτική Κλινική .... Προτίθεται:

- Να ενημερώσει τους γονείς (με ομιλίες στους συλλόγους γονέων και κηδεμόνων) και τα παιδιά της Τρίτης Τάξης Λυκείων στις 5 Επαρχίες της ελεύθερης Κύπρου. Τα παιδιά αυτά σύντομα θα γίνουν γονείς και θα είναι σημαντικό για τη Δημόσια υγεία να γνωρίζουν για το πρόβλημα αυτό και πως με απλά μέτρα προφύλαξης να μπορούν να αποφύγουν προβλήματα στην κύηση. Ήδη, στο μάθημα Ανθρωπολογίας, Βιολογίας και Οικιακής οικονομίας στο Λύκειο οι μαθητές διδάσκονται θέματα όπως Παθογόνοι μικροοργανισμοί και υγεία. Οι ομιλίες αυτές θα δώσουν μια πρακτική παρουσίαση των θεμάτων αυτών και θα βοηθήσουν στην καλύτερη εμπέδωση των σχετικών μαθημάτων. Οι ομιλίες αυτές θα γίνουν βραδινές ώρες.

- Με μια εξέταση αίματος σε μαθήτριες της Τρίτης Λυκείου, για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι του Τοξοπλάσματος, θα είναι δυνατόν να υπολογιστεί η πιθανότητα μόλυνσης, από το παράσιτο αυτό, μιας νεαρής γυναίκας σε αναπαραγωγική ηλικία, ανάλογα της περιοχής προέλευσής της. Αυτό θα βοηθήσει στο να παρθούν στο μέλλον τα κατάλληλα μέτρα πρόληψης. Η αιμοληψία, μετά τη γραπτή συγκατάθεση γονέα και μαθήτριας, θα κρατήσει 10 λεπτά από το χρόνο της μαθήτριας. Η αιμοληψία θα γίνει από ιατρικό και παραϊατρικό προσωπικό, στο σχολείο κατά την διάρκεια μαθημάτων και παράλληλα θα συμπληρωθεί και ερωτηματολόγιο με τα επιδημιολογικά στοιχεία της μαθήτριας. Τα αποτελέσματα της εξέτασης δεν θα χρησιμοποιηθούν για άλλους σκοπούς πέραν αυτής της μελέτης και τα προσωπικά δεδομένα των μαθητριών θα γίνουν σεβαστά όπως ορίζει ο νόμος.

Μαρία Αντωνίου,

Επίκουρος Καθηγήτρια Παρασιτολογίας

71003 Ηράκλειο, Κρήτη. Τηλ. 2810 394746, 2810 394572, 2810 392600, fax. 2810 394740. e-mail: antoniou@med.uoc.gr

## 18.4 Απάντηση Υπουργείου Παιδείας



ΚΥΠΡΙΑΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ  
ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ

Αρ. Φακ.: 7.19.46.7/9  
Αρ. Τηλ.: 22800630/631  
Αρ. Φαξ: 22428268  
E-mail: circularsec@schools.ac.cy

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ  
ΜΕΣΗΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗΣ

15 Οκτωβρίου 2008

Κυρία  
Σοφία Κυρατζή  
Αντισθένοις 7-9  
3086 Λεμεσός

**Θέμα: Αίτηση για παραχώρηση άδειας διεξαγωγής επιστημονικής μελέτης σε σχολεία Μέσης Εκπαίδευσης με θέμα «Διερεύνηση της διασποράς και του επιπολασμού της τοξοπλάσμωσης σε υγιή πληθυσμό νεαρής ηλικίας στην Κύπρο».**

Σε απάντηση της σχετικής με το πιο πάνω θέμα επιστολής σας, με ημερομηνία 16 Ιουλίου 2008, σας ενημερώνω ότι το αίτημά σας για διεξαγωγή επιστημονικής μελέτης σε σχολεία Μέσης Εκπαίδευσης εγκρίνεται, υπό τις εξής όμως προϋποθέσεις:

1. Θα έχετε εξασφαλίσει εκ των προτέρων τη συγκατάθεση των Διευθυντών των σχολείων, που επιθυμείτε να περιλάβετε στην έρευνά σας, αφού τους παρουσιάσετε την παρούσα επιστολή και αντίγραφα των σχετικών επιστολών σας που απευθύνετε προς το Υπουργείο Παιδείας και Πολιτισμού,
2. Η έρευνα στα σχολεία θα διεξαχθεί σε μη διδακτικό χρόνο,
3. Για τη δειγματοληψία αίματος από μαθητές να έχετε προηγουμένως τη γραπτή συγκατάθεση των γονέων/κηδεμόνων τους,
4. Το ερωτηματολόγιο που θα δοθεί στους μαθητές να είναι αυτό που έχετε προτείνει και έχει εγκριθεί από το Υπουργείο Παιδείας και Πολιτισμού (Επισυνάπτεται φωτοαντίγραφο),
5. Θα χειριστείτε τα στοιχεία των μαθητών με τέτοιο τρόπο, ώστε να διασφαλιστεί πλήρως η ανωνυμία τους και
6. Τα αποτελέσματα της έρευνας θα κοινοποιηθούν στο Υπουργείο Παιδείας και Πολιτισμού.

Ευχόμαστε καλή επιτυχία στους ερευνητικούς σας σκοπούς.

Δρ. Ζήνα Παυλλή  
Διευθύντρια Μέσης Εκπαίδευσης

EB

Υπουργείο Παιδείας και Πολιτισμού 1434 Λευκωσία  
Τηλ: 22 800 800 φαξ: 22 428268 Ιστοσελίδα: <http://www.mpec.gov.cy>

## 18.5 Ενημερωτικό υλικό για Λύκεια

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ Τμήμα Ιατρικής  
Εργαστήριο Κλινικής Βακτηριολογίας, Παρασιτολογίας, Ζωονόσων και Γεωγραφικής  
Ιατρικής Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα.

ΓΙΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ :

ΔΡ. ΜΑΡΙΑ ΑΝΤΩΝΙΟΥ, ΤΗΛ: 0030 2810 394746 E-MAIL: antoniou@med.uoc.gr

ΔΡ. ΜΑΡΙΟΣ ΛΙΑΣΙΔΗΣ, E-MAIL: m.liassides@cytanet.com.cy

ΔΡ. ΣΟΦΙΑ ΚΥΡΑΤΖΗ, E-MAIL: sophiaky@cytanet.com.cy

### Τοξόπλασμωση

#### ΕΝΑ ΣΟΒΑΡΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΣΤΗΝ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ ΚΑΙ ΠΩΣ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΠΡΟΛΗΦΘΕΙ

Σήμερα είσαστε στο Λύκειο, αύριο θα είσαστε τα θεμέλια της κοινωνίας μας. Οι γνώσεις που αποκτάτε είναι αυτές που θα σας καθοδηγούν στο δρόμο της ζωής. Η γνώση είναι ικανή να προλάβει τα περισσότερα προβλήματα, κυρίως όσον αφορά στα προβλήματα υγείας. Απευθυνόμαστε σε σας γιατί αυτή τη γνώση την χρειάζεστε σαν μελλοντικές μητέρες. Με αυτή τη γνώση θα έχετε μια εγκυμοσύνη χωρίς προβλήματα και χωρίς έγνοιες, όσον αφορά στο Τοξόπλασμα.

Το Τοξόπλασμα είναι ένα μικροσκοπικό παράσιτο υπεύθυνο για την Τοξοπλάσμωση, μία σοβαρή νόσο, που βασικά αφορά δύο ομάδες ανθρώπων: (1) τα έμβρυα, τα οποία μολύνονται από τη μητέρα τους *in utero*, και των οποίων η μόλυνση συνοδεύεται από σοβαρή ή θανατηφόρα συγγενή ελαττώματα, και (2) τους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, κυρίως τους ασθενείς με AIDS, οι οποίοι αναπτύσσουν θανατηφόρο

Τοξοπλασμική εγκεφαλίτιδα.

Το *Toxoplasma gondii*, όπως είναι γνωστό, ανακαλύφθηκε από τους Nicole και Mancaux το 1908. Είναι κοσμοπολίτικο, το συναντάμε σε όλες σχεδόν τις χώρες του κόσμου και είναι υποχρεωτικά ενδοκυττάριο Πρωτόζωο παράσιτο ανθρώπων και ζώων.

Το *T. gondii* ακολουθεί έναν πολύπλοκο κύκλο ζωής που αποτελείται από δύο μέρη: τον κύκλο στον τελικό ξενιστή τη γάτα, και αυτόν στους ενδιάμεσους ξενιστές, που

περιλαμβάνουν εκτός από τον άνθρωπο, τα ποντίκια, τα αιγοπρόβατα, τις αγελάδες, και τα πτηνά.

Το παράσιτο αναπαράγεται σεξουαλικά σε μολυσμένες γάτες και οι σποροκύστες του Τοξοπλάσματος σκορπίζονται στο περιβάλλον με τα κόπρανα του ζώου. Στις γάτες πρέπει να δίνουμε ψημένο φαγητό για να μην μολυνθούν από το παράσιτο και αν ζούνε μέσα στο σπίτι πρέπει να καθαρίζουμε το κουτί όπου αποδεύουν καθημερινά για να μην μολυνθούμε από το Τοξόπλασμα στην περίπτωση που η γάτα είναι μολυσμένη, γιατί σαν κυνηγός μπορεί να έχει καταναλώσει άψητο κρέας (ποντίκια).

Ο άνθρωπος μολύνεται από σποροκύστες με βρώμικα χέρια, από όχι καλά πλυμένα λαχανικά και φρούτα που ήλθαν σε επαφή με σποροκύστες αλλά και από νερό στο οποίο θα μπορούσαν να φτάσουν ουσίες από κόπρανα γάτας. Ο άνθρωπος, όπως και τα ζώα, μπορεί επίσης να μολυνθεί από κρέας μολυσμένου ζώου το οποίο δεν έχει ψηθεί καλά. Στα ζώα, όπως και στον άνθρωπο, το παράσιτο ζει σε μορφή κύστεων στους ιστούς χωρίς να δημιουργεί προβλήματα υγείας εκτός και αν υπάρξει κατάσταση ανοσοκαταστολής. Το κρέας ενός ζώου (γουρουνιού, κατσίκας, προβάτου, πτηνών) το οποίο έχει μολυνθεί από Τοξόπλασμα θα μολύνει αυτόν που θα το φάει εκτός και αν το παράσιτο σκοτωθεί είτε με καλό ψήσιμο ή με κατάψυξη μια και η κατάψυξη σκοτώνει τις κύστες. Η κατανάλωση επεξεργασμένων κρεάτων (π.χ. σαλάμια κτλ) μπορεί να είναι επικίνδυνη αφού η επεξεργασία αυτή δεν σκοτώνει πάντα τις κύστες. Η κατάποση από τον άνθρωπο σποροκύστεων του *T. gondii* (από το περιβάλλον) ή κύστεων (από μολυσμένο κρέας) συνοδεύεται από την απελευθέρωση των μολυσματικών μορφών του παράσιτου στο σώμα, που εισβάλλουν σε όλα τα είδη κυττάρων όπου πολλαπλασιάζονται (ταχυζωΐδια). Σε διάστημα 7-10 ημερών μετά την αρχική μόλυνση, σχηματίζονται ιστικές κύστες που περιέχουν βραδυζωΐδια. Οι κύστες παραμένουν στους ιστούς καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του ξενιστή. Η μετάδοση του Τοξοπλάσματος από τη μητέρα στο έμβρυο, απαντάται σχεδόν αποκλειστικά σε γυναίκες που μολύνθηκαν κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης τους. Πολύ σπάνια μία γυναίκα που μολύνθηκε 6-8 εβδομάδες πριν την εγκυμοσύνη, μπορεί να μεταδώσει το παράσιτο στο έμβρυο. Στα ανθρώπινα έμβρυα η μόλυνση από Τοξόπλασμα συνδέεται με σοβαρές συγγενείς ανωμαλίες, όπως χοριοαμφιβληστροειδίτιδα, εγκεφαλική αποτιάνωση, υδροκεφαλία, μικροκεφαλία, πνευματική καθυστέρηση, νευρολογικά προβλήματα, μέχρι και τη γέννηση νεκρού εμβρύου. Συχνά, ένα νεογνό από μητέρα με οξεία Τοξοπλάσμωση μοιάζει υγιές αλλά αν δεν του γίνουν οι απαραίτητες εξετάσεις για να επιβεβαιωθεί ότι δεν έχει Συγγενή

Τοξοπλάσμωση το παιδί μπορεί να αναπτύξει προβλήματα στην όραση πολύ αργότερα στη ζωή του (μέχρι 20 ετών).

Στις περισσότερες περιπτώσεις Τοξοπλάσμωσης σε υγιή άτομα η μόλυνση είναι ασυμπτωματική. Η μόλυνση στον άνθρωπο, συνοδεύεται από την παραγωγή IgG, IgM, και IgA αντισωμάτων. Οι κλασσικές διαγνωστικές τεχνικές στηρίζονται σε ορολογικές μεθόδους για την αναζήτηση του τίτλου των αντισωμάτων έναντι του παρασίτου και στην καλλιέργεια του παρασίτου σε ζώα και σε κύτταρα. Όμως, παρά την πληθώρα των ορολογικών τεχνικών που είναι διαθέσιμες σήμερα, ένας μεγάλος αριθμός διαγνωστικών προβλημάτων παραμένει, κυρίως η ακριβής εκτίμηση του χρόνου και της διάρκειας μόλυνσης στην έγκυο γυναίκα, και η ανίχνευση συγγενούς μόλυνσης του εμβρύου.

Η ανίχνευση ειδικών IgM αντισωμάτων υποδηλώνει πρόσφατη μόλυνση, αλλά ο τίτλος τους και ο χρόνος εμφάνισής τους εξαρτάται όχι μόνο από την ευαισθησία της εξέτασης, αλλά και από την ανοσολογική αντίδραση του κάθε ατόμου, η οποία δεν μπορεί να υπολογιστεί αφού διαφέρει από άνθρωπο σε άνθρωπο. Αλλά ακόμη και στις περιπτώσεις που η ακριβής ημερομηνία της μόλυνσης της εγκύου μπορεί να καθοριστεί, παραμένει να αποδειχτεί, το πιο σημαντικό, η παρουσία ή όχι συγγενούς μόλυνσης στο έμβρυο.

Η συγγενής Τοξοπλάσμωση συνοδεύεται με παρασιταιμία της εγκύου, μόλυνση του πλακούντα, και τελικά, μόλυνση του εμβρύου. Η πιθανότητα όμως να μολυνθεί το έμβρυο εξαρτάται από το στάδιο της κύησης κατά το οποίο εκδηλώθηκε η παρασιταιμία. Η περίοδος υψηλού κινδύνου για τη μόλυνση του εμβρύου είναι μεταξύ της 10ης και 24ης εβδομάδας κύησης, και τότε η πιθανότητα να γεννηθεί έμβρυο με σοβαρά συγγενή ελαττώματα κυμαίνεται στο 20-70%. Συνεπώς, είναι ζωτικής σημασίας ο ακριβής προσδιορισμός του χρόνου μόλυνσης της εγκύου, έτσι ώστε να είναι δυνατός και ο ακριβής υπολογισμός της πιθανότητας συγγενούς μόλυνσης και σοβαρής νεογνικής νόσου. Εάν γίνει έγκαιρα η διάγνωση Τοξοπλάσμωσης, μπορεί να δοθεί θεραπεία στην έγκυο γυναίκα. Με τον τρόπο αυτό μπορεί να αποφευχθεί ένας μεγάλος αριθμός μη απαραίτητων εκτρώσεων, που οφείλονται στην δικαιολογημένη, μέχρι σήμερα, άγνοια και αβεβαιότητα για την κατάσταση του παιδιού που θα γεννηθεί. Ο σκοπός της προσπάθειάς μας είναι:

- Να ενημερωθούν τα νεαρά κορίτσια, που στο μέλλον θα γίνουν μητέρες, για τον κίνδυνο από Τοξόπλασμα και πώς να αποφύγουν τη λοίμωξη.
- Με την εξέταση αίματος για Τοξοπλάσμωση που θα κάνουμε θα δούμε αν έχετε αντισώματα έναντι του παράσιτου αυτού. Αν έχετε, τότε είμαστε ασφαλής από το



Τοξόπλασμα. Το παράσιτο «κοιμάται» στους ιστούς σας και δεν θα σας προκαλέσει κανένα πρόβλημα υγείας εκτός από την απίθανη περίπτωση να αποκτήσετε AIDS. Επίσης δεν θα κινδυνεύει να μολυνθεί το παιδί σας κατά τη διάρκεια της κύησης. Αν όμως δεν έχετε αντισώματα τότε επιβάλλεται να παίρνετε τις απαιτούμενες προφυλάξεις, όπως τις αναλύουμε πιο κάτω, και πριν μείνετε έγκυος να κάνετε εξέταση αίματος για να δείτε αν έχετε εν τω μεταξύ μολυνθεί. Αν δεν έχετε αντισώματα όταν μείνετε έγκυος τότε θα πρέπει να εξετάξετε κάθε μήνα μέχρι να γεννήσετε. Έτσι, αν κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης αποκτήσετε αντισώματα, τότε ο γιατρός θα ξέρει τον ακριβή χρόνο μόλυνσης και με την κατάλληλη θεραπεία θα αποκλεισθεί η μόλυνση του εμβρύου.

Τα σοβαρότερα προβλήματα, που δύσκολα αντιμετωπίζονται, είναι όταν μια κοπέλα κάνει την πρώτη της εξέταση για Τοξόπλασμα όταν είναι ήδη έγκυος και έχει αντισώματα. Δεν είναι εύκολο για το γιατρό να προσδιορίσει το χρόνο λοίμωξης της κοπέλας και τις περισσότερες φορές συστήνει τερματισμό της κύησης χωρίς αυτό να είναι απαραίτητο. Με αυτές τις απλές εξετάσεις αίματος θα περιοριστούν στο ελάχιστο οι εκπτώσεις και η ψυχική και σωματική ταλαιπωρία των νεαρών γυναικών.

#### Μερικές συμβουλές πρόληψης

Το κρέας πρέπει να ψήνεται καλά.

Ο φούρνος μικροκυμάτων δεν σκοτώνει το Τοξόπλασμα.

Το κρέας αφού καταψυχθεί είναι ασφαλές για το Τοξόπλασμα.

Στη συντήρηση, η διατήρηση του κρέατος πρέπει να γίνεται χαμηλά στο ψυγείο ώστε να μην υπάρχει πιθανότητα σταγόνες αίματος να μολύνουν άλλα τρόφιμα. Τα χόρτα, τα λαχανικά και τα φρούτα να πλένονται πολύ καλά πριν καταναλωθούν. Η έγκυος πρέπει να πλένει καλά τα χέρια της όταν μαγειρεύει, κυρίως όταν χρησιμοποιεί κρέας.

Είναι καλύτερα η έγκυος να μην καθαρίζει το κουτί απόδευσης της γάτας, μια δουλειά η οποία πρέπει να γίνεται από κάποιον άλλο ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΑ αν η γάτα ζει στο χώρο του σπιτιού. Οι σποροκύστες στα κόπρανα της γάτας για να γίνουν μολυσματικές χρειάζονται 2-3 ημέρες.

#### **Η γνώση οδηγεί στην ΠΡΟΛΗΨΗ πολλών προβλημάτων**

Δρ. Μαρία Αντωνίου, Επίκουρος Καθηγήτρια Παρασιτολογίας

## 18.6 Επιστολή στον/στην διευθυντή/τρια Λυκείου

ΠΟΛΥΚΛΙΝΙΚΗ ΖΩΟΔΟΧΟΥ ΠΗΓΗΣ

Δρ. ΜΑΡΙΟΣ ΛΙΑΣΙΔΗΣ Μαιευτήρας - Γυναικολόγος

Αντισθένους 7-9, 3086 Λεμεσός, Κύπρος

E-mail: [m.liassides@cytanet.com.cy](mailto:m.liassides@cytanet.com.cy) Τηλ. +357 25381277, Φαξ +357 25335128

Ημερομηνία.....

Αγαπητή .....,

Πρώτα απ' όλα θέλω να σας ευχαριστήσω για την θετική σας ανταπόκριση, για την συμμετοχή του σχολείου σας στη παγκύπρια μελέτη διερεύνησης του μεγέθους του προβλήματος της τοξοπλάσμωσης στην Κύπρο, που γίνεται υπό την αιγίδα του πανεπιστημίου Κρήτης και που αποτελεί το θέμα της διδακτορικής μου διατριβής. Όπως είχαμε συνεννοηθεί τηλεφωνικά, σας στέλλω την έγκριση από το υπουργείο παιδείας για την διεξαγωγή της μελέτης αυτής στα σχολεία μας, ενημερωτικό φυλλάδιο για την ενημέρωση των μαθητριών και των γονέων τους, για την τοξοπλάσμωση όπως και έντυπο συγκατάθεσης, που πρέπει να υπογραφεί από τους γονείς και τις μαθήτριες. Προσβλέπω με χαρά στην επίσκεψη μας στο σχολείο σας στις .....

Σας ευχαριστώ ακόμα μια φορά.

Με εκτίμηση

Μάριος Λιασίδης

## 18.7 Έντυπο συγκατάθεσης μαθήτριας για αιμοληψία

### Δήλωση ερευνητή:

Θα θέλαμε να πάρουμε δείγμα αίματός σου. Το δείγμα θα μας βοηθήσει να φέρουμε σε πέρας έρευνα για την σοβαρή ασθένεια του ανθρώπου, τη Τοξοπλάσμωση στην Κύπρο αλλά και άλλων νοσημάτων ή παραγόντων νοουμένου ότι θα διατηρηθεί η ανωνυμία των δοτών.

Τα δείγματα και τις πληροφορίες σχετικά με το άτομό σου, θα τα επεξεργαστούν μόνο το ερευνητικό προσωπικό του Πανεπιστημίου Κρήτης και της Κλινικής ζωοδόχου Πηγής της Λεμεσού, Κύπρου. Κανένα από τα προσωπικά σου δεδομένα δε θα ανακοινωθούν, δημοσιευτούν ή μεταβιβαστούν σε οποιαδήποτε κυβερνητική ή μη υπηρεσία.

### Δήλωση μαθήτριας:

Έχω ενημερωθεί για όσα αναφέρονται παραπάνω και είχα την ευκαιρία να κάνω ερωτήσεις για όλες τις σχετικές διαδικασίες. Η παρακάτω υπογραφή μου δηλώνει ότι εκουσίως συμφωνώ να δώσω δείγμα αίματος για να εξεταστώ για Τοξοπλάσμωση.

ο/η ερευνητής/τρια

η μαθήτρια

ο/η γονέας/κηδεμόνας μαθήτριας

## 18.8 Ερωτηματολόγιο: μαθητριών Λυκείου

Ερωτηματολόγιο: μαθητριών Λυκείου για τη διερεύνηση της Τοξοπλάσμωσης στην Κύπρο.

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ Τμήμα Ιατρικής**

**Εργαστήριο Κλινικής Βακτηριολογίας, Παρασιτολογίας, Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα**

Για πληροφορίες :Δρ. Μαρία Αντωνίου, Τηλ: 0030 2810 394746 e-mail: [antoniou@med.uoc.gr](mailto:antoniou@med.uoc.gr)

Δρ. Μάριος Λιασίδης, Τηλ: 25337756 e-mail: [mliassides@cytanet.com.cy](mailto:mliassides@cytanet.com.cy) Δρ. Σοφία Κυρατζή, Τηλ: 25381277 e-mail: [sophiaky@cytanet.com.cy](mailto:sophiaky@cytanet.com.cy)

Λύκειο : .....

Περιοχή : .....

**Αρ. Ερωτηματολογίου.....**

Ημερομηνία δειγματοληψίας ...../...../.....

Το ερωτηματολόγιο συμπληρώθηκε από .....

**Δείγμα:** αίμα με EDTA αίμα χωρίς EDTA άλλο .....

### ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΜΑΘΗΤΡΙΑΣ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ.....

Ημερομηνία γέννησης \_\_/\_\_/\_\_ Χώρα γέννησης \_\_\_\_\_

ΤΑΞΗ/ΤΜΗΜΑ .....

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ .....

ΤΗΛΕΦΩΝΟ .....

Ταχυδρομικός κωδικός κατοικίας ----- Ταχυδρομικός κωδικός κατοικίας προ 1 έτους -----

Εθνικότητα \_\_\_\_\_

### ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΜΑΘΗΤΡΙΑΣ

1. Ζει σε πόλη  χωριό  εξοχή

2. Έχει ζήσει ποτέ σε σπίτι με κήπο; Ναι  Όχι

3. Αν ναι, για πόσα χρόνια περίπου; \_\_\_\_\_ Πότε; \_\_\_\_\_

4. Ζει τώρα σε σπίτι με κήπο  σε διαμέρισμα με μπαλκόνι με γλάστρες  σε

διαμέρισμα χωρίς γλάστρες  Άλλο  Διευκρινίσετε \_\_\_\_\_

5. Έχει κατοικίδια ζώα στο σπίτι; Όχι  Ναι, γάτα  Ναι, σκύλο  Ναι, άλλο ζώο  Διευκρινίσετε \_\_\_\_\_

6. Αν ναι, τα ταΐζετε με ωμό κρέας; Όχι  Ναι, <1/εβδομάδα  Ναι 1/εβδομάδα

7. Ζουν γάτες στη γειτονιά Ναι  Όχι

8. Κατοικίδια ζώα στην αυλή  κοντά στο σπίτι

9. κότες  10. κουνέλια  11. πρόβατα/κατσίκια  12. χοίροι  13. άλλα

14. κάποτε βλέπετε τρωκτικά στο σπίτι  15. στο περιβάλλον

#### ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ:

16. πίνετε άβραστο γάλα; Όχι  Ναι, <1/εβδομάδα  Ναι  1/εβδομάδα

17. πίνετε βρασμένο γάλα; Όχι  Ναι, <1/εβδομάδα  Ναι  1/εβδομάδα

18. κάποτε πίνετε νερό: από πηγάδι  από πηγή  βρόχινο  ακατάλληλο νερό

19. τρώτε το κρέας (κατά μέσο όρο): πολύ ψημένο  λίγο ψημένο  δεν τρώω κρέας

20. τρώτε κρέας καπνιστό: Όχι  Ναι, <1/εβδομάδα  Ναι,  1/εβδομάδα

21. τρώτε λουκάνικα: Όχι  Ναι, <1/εβδομάδα  Ναι,  1/εβδομάδα

22. τρώτε σαλάμι: Όχι  Ναι, <1/εβδομάδα  Ναι,  1/εβδομάδα

23. τρώτε ωμά αυγά; Όχι  Ναι, <1/εβδομάδα  Ναι,  1/εβδομάδα

24. τρώτε άγρια χόρτα: : Όχι  Ναι, <1/εβδομάδα  Ναι,  1/εβδομάδα

25. τρώτε άγρια χόρτα που δεν έχουν ψηθεί; Όχι  Ναι, <1/εβδομάδα  Ναι,   
1/εβδομάδα

26. πριν τα φάτε, πλένετε τα φρέσκα λαχανικά και φρούτα: πολύ , λίγο ,  
καθόλου

27. πόσο συχνά τρώτε έξω (σε ταβέρνα, fast food κτλ) ή παραγγέλνετε έτοιμο  
φαγητό; Ποτέ  <1/εβδομάδα  1-2/εβδομάδα  3/εβδομάδα

28. ασχολείστε με αθλητισμό; Όχι  Ναι  αν ναι, ποιο άθλημα; -----

#### ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

29. Ανοσολογική ανεπάρκεια Ναι  Όχι  ΔΔ

30. Ανοσοκατασταλτικά φάρμακα Ναι  Όχι

Εάν ναι, προσδιορίστε \_\_\_\_\_ Άλλα φάρμακα \_\_\_\_\_

31. Λεμφαδενοπάθεια: Ναι  Όχι

Εάν ναι, προσδιορίστε: πριν 1 μήνα  πριν 6 μήνες  πριν 1 χρόνο  πριν ----  
-- χρόνια περίπου

32. Πρόσφατος πυρετός που δεν εξελίχθηκε σε κρουολόγημα και παρέμεινε  
αδιάγνωστος: Ναι  Όχι

33. Άλλα χρόνια νοσήματα; Ναι  Όχι  ΔΔ

**Ευχαριστούμε για τη συμμετοχή σας**

## 18.9 Απάντηση προς οροθετική μαθήτρια με τα εργαστηριακά ευρήματα

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

Τμήμα Ιατρικής

Εργαστήριο Κλινικής Βακτηριολογίας, Παρασιτολογίας, Ζωονόσων και Γεωγραφικής

Ιατρικής Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα

### ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

Της: ...

Ημερ.Γέννησης:

Κωδικός Εργαστηρίου:

Ημερομηνία δείγματος:

Εξέταση	Αποτελέσματα	Φυσιολογικές Τιμές Αναφοράς	Μονάδες Units
Τοξόπλασμα IgG		Αρνητικό: <6.5 Απροσδιόριστο/ 2.0 – 2.9 Θετικό: > =6.5	U/ml
Τοξόπλασμα IgM		Αρνητικό < 0.9 Απροσδιόριστο/ 0.9 – 1.1 Θετικό > 1.1	Index

Οι εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο:

IMMULITE solid-phase chemiluminescent assays

Αγαπητή.....,

Η ορολογική εξέταση έδειξε ότι έχεις αντισώματα έναντι του Τοξοπλάσματος. Αυτό δηλώνει ότι έχεις έλθει σε επαφή με το παράσιτο Τοξόπλασμα και άρα έχεις προστασία, άρα δεν θα ξανα-μολυνθείς από αυτό. Το παράσιτο «κοιμάται» στους ιστούς σου και δεν θα σου προκαλέσει κανένα πρόβλημα υγείας εκτός από την απίθανη περίπτωση να αποκτήσεις AIDS. Επίσης δεν θα κινδυνεύει να μολυνθεί το παιδί σου κατά τη διάρκεια της κύησης.

**Σοφία Κυρατζή**

Μικροβιολόγος

**Μάριος Λιασίδης**

Γυναικολόγος

**Δρ. Μαρία**

**Αντωνίου**, Επίκουρος Καθηγήτρια Παρασιτολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης. Fax: 2810-394740, Τηλ: 2810-394746, e-mail: antoniou@med.uoc.gr

## 18.10 Απάντηση προς οροαρνητική μαθήτριά με τα εργαστηριακά ευρήματα.

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

Τμήμα Ιατρικής

Εργαστήριο Κλινικής Βακτηριολογίας, Παρασιτολογίας, Ζωονόσων και Γεωγραφικής  
Ιατρικής, Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα

### ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

Της: .....

Ημερ.Γέννησης:

Κωδικός Εργαστηρίου:

Ημερομηνία δείγματος:

Εξέταση	Αποτελέσματα	Φυσιολογικές Τιμές Αναφοράς	Μονάδες Units
Τοξόπλασμα IgG		Αρνητικό: <6.5 Απροσδιόριστο/: 2.0 – 2.9 Θετικό:> =6.5	U/ml
Τοξόπλασμα IgM		Αρνητικό < 0.9 Απροσδιόριστο/ 0.9 – 1.1 Αρνητικό > 1.1	Index

Οι εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο:

IMMULITE solid-phase chemiluminescent assays

Αγαπητή.....,

Η ορολογική εξέταση έδειξε ότι δεν έχεις αντισώματα έναντι του Τοξοπλάσματος. Αυτό δηλώνει ότι δεν έχεις έλθει σε επαφή με το παράσιτο Τοξόπλασμα και έλλειψη αντισωμάτων σημαίνει έλλειψη προστασίας. Έτσι, επιβάλλεται, ΠΙΠΙΝ μείνεις έγκυος να κάνεις εξέταση αίματος για να δεις αν έχεις εν τω μεταξύ μολυνθεί. Αν δεν έχεις αντισώματα όταν μείνεις έγκυος, τότε θα πρέπει να εξετάζεις κάθε μήνα μέχρι να γεννήσεις. Έτσι, αν κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης αποκτήσεις αντισώματα, τότε ο γιατρός θα ξέρει τον ακριβή χρόνο μόλυνσης και με την κατάλληλη θεραπεία θα αποκλεισθεί η μόλυνση του εμβρύου.



**Σοφία Κυρατζή**

**Μικροβιολόγος**

**Μάριος Λιασίδης**

**Γυναικολογος**

**Δρ. Μαρία Αντωνίου**, Επίκουρος Καθηγήτρια Παρασιτολογίας, Ιατρική Σχολή  
Πανεπιστημίου Κρήτης. Fax: 2810-394740, Τηλ: 2810-394746, **e-mail:**  
**antoniou@med.uoc.gr**

## 18.11 Στοιχεία αιγοπροβάτων

Στοιχεία αιγοπροβάτων για τη διερεύνηση της Τοξοπλάσμωσης στην Κύπρο.

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ Τμήμα Ιατρικής**

**Εργαστήριο Κλινικής Βακτηριολογίας, Παρασιτολογίας, Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής Ηράκλειο Κρήτης, Ελλάδα**

Για πληροφορίες :

Δρ. Μαρία Αντωνίου, Τηλ: 0030 2810 394746 e-mail: [antoniou@med.uoc.gr](mailto:antoniou@med.uoc.gr)

Δρ. Μάριος Λιασίδης, Τηλ: 25337756 e-mail: [mliassides@cytanet.com.cy](mailto:mliassides@cytanet.com.cy)

Δρ. Βασιλική Χριστοδούλου, Κτηνιατρικές Υπηρεσίες Κύπρου

**Αρ. Ερωτηματολογίου.....**

Ημερομηνία αιμοληψίας ...../...../.....

Το ερωτηματολόγιο συμπληρώθηκε από .....

**Δείγμα:** αίμα χωρίς EDTA .....

Φάρμα :.....

Περιοχή :.....

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ιδιοκτήτη φάρμας .....

### ΣΤΟΙΧΕΙΑ Ζώου

Κωδικός Αναγνώρισης Ζώου ....

Αίγα  Πρόβατο

Αρσενικό  θηλυκό  Φυλή ζώου ....

Ημερομηνία γέννησης \_\_ / \_\_ / \_\_

Χώρα γέννησης \_\_\_\_\_

### ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ζώου

Ζει στη φάρμα: αποκλειστικά ναί  όχι  μερικώς

1. Έχει γάτες στη φάρμα; Ναι  Όχι

2. Έχει τρωκτικά στη φάρμα; Ναι  Όχι
3. Παρατηρείτε συχνά αποβολές στα ζώα; Ναι  Όχι

**Ευχαριστούμε για τη συμμετοχή σας**

## **18.12 Δημοσίευση εργασίας στο θέμα της διατριβής.**

# Toxoplasmosis in female high school students, pregnant women & ruminants in Cyprus

*Trans R Soc Trop Med Hyg* 2016; **110**: 359–366  
doi:10.1093/trstmh/trw038



## Toxoplasmosis in female high school students, pregnant women and ruminants in Cyprus

Marios Liassides<sup>a</sup>, Vasiliki Christodoulou<sup>b</sup>, Joanna Moschandreas<sup>c</sup>, Christos Karagiannis<sup>d</sup>, George Mitis<sup>e</sup>, Maria Koliou<sup>f,g</sup> and Maria Antoniou<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Laboratory of Clinical Bacteriology, Parasitology, Zoonoses and Geographical Medicine, Faculty of Medicine, University of Crete, Heraklion, Crete, Greece; <sup>b</sup>Veterinary Services of Cyprus, Nicosia, Cyprus; <sup>c</sup>Biostatistics Laboratory, Faculty of Medicine, University of Crete, Heraklion, Crete, Greece; <sup>d</sup>Microbiology Department, Nicosia General Hospital, Nicosia, Cyprus; <sup>e</sup>Immunology Department, Nicosia General Hospital, Nicosia, Cyprus; <sup>f</sup>Department of Pediatrics, Infectious Diseases and Immunology Unit, Archbishop Makarios Hospital, Nicosia, Cyprus; <sup>g</sup>Control of Communicable Disease, Medical and Public Health Services, Ministry of Health, Cyprus

\*Corresponding author: Tel: +30 2810 394746; E-mail: antoniou@med.uoc.gr

Received 1 March 2016; revised 11 May 2016; accepted 11 May 2016

**Background:** The protozoan parasite *Toxoplasma gondii* is important to human and animal health worldwide. This is the first study of prevalence of infection with *T. gondii* and associated risk factors in human populations and small ruminants in Cyprus.

**Methods:** A random sample of 18 schools out of 46 participated: 1056 girls aged 16 to 18 years completed a questionnaire and were serologically tested for *Toxoplasma* between 2008 and 2011 (response rate 30%). In addition, infection with *T. gondii* laboratory results of 23 076 pregnant women tested between 2009 and 2014 were obtained from hospital records. Finally, 163 (out of 3123) farms were randomly sampled and blood samples from 515 sheep and 581 goats were obtained.

**Results:** Estimated seropositivity prevalence in female students was 6.5% (95% CI 4.3 to 8.7%) and 18% (95% CI 17 to 19%) in pregnant women. Overall, 40.1% of the ruminants tested were seropositive (95% CI 37.2% to 43.0%). Seropositivity differed according to geographical region in all three groups.

**Conclusions:** Further studies are needed to investigate the differences between regions that lead to differing prevalence levels and patterns between ruminants and humans so that health education policies can be developed to help prevent infection and reduce environmental contamination.

**Keywords:** Cyprus, Female students, Goats, High School, Sheep, Toxoplasmosis

### Introduction

*Toxoplasma gondii* can infect practically all warm-blooded animals and it is estimated that, on average, 30% of the world's human population hosts this protozoan parasite.<sup>1</sup> However, seroprevalences vary widely between countries (from 0 to 80%) and often within a given country or even between different communities in the same region.<sup>2</sup> These differences depend on anthropogenic factors such as dietary habits (methods of cooking meat, kinds of meat consumed, vegetable washing and hand washing); economic, social, cultural habits; quality of water; and sanitation coverage.<sup>1</sup> Transmission of this zoonotic pathogen to humans takes place by the ingestion of tissue cysts<sup>3</sup> (found in infected meat) or sporulated oocysts (shed in the environment by infected cats within their feces contaminating soil, water and food products); and transplacentally as well

as by organ transplantation from infected donors. Two groups are principally at risk of developing clinical toxoplasmosis: embryos, whose mothers become infected during gestation which may result in abortion or congenital disease, and immunosuppressed patients (mostly with HIV infection) who may develop lethal toxoplasmic encephalitis.<sup>4</sup> In addition, this parasite may cause ocular toxoplasmosis in immunocompetent patients and it is also of veterinary importance worldwide as it causes economic losses due to abortions in small ruminants like sheep<sup>5</sup> and goats<sup>6</sup> and in horses.<sup>7</sup>

In a seroepidemiological study concerning infection with *T. gondii* in Crete, an island with similar anthropogenic, climatic and geological characteristics as Cyprus, seroprevalence in pregnant women was found to be 29.5%.<sup>8</sup> In Cyprus, although congenital toxoplasmosis has been a notifiable disease since 2004<sup>9</sup>

© The Author 2016. Published by Oxford University Press on behalf of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. All rights reserved. For permissions, please e-mail: journals.permissions@oup.com.

no cases have been reported.<sup>10</sup> However, spiramycin, a drug administered only to pregnant women suspected of acute *Toxoplasma* infection in the Republic (which is available centrally by the pharmaceutical services of the Ministry of Health to doctors working in the public as well as the private sector) has been administered to six pregnant women suspected of acute toxoplasmosis in Nicosia, three in Larnaca and two in Limassol hospitals in 2015; and between 2010 and 2015 at least four infants received treatment for suspected congenital toxoplasmosis at the Limassol hospital.<sup>11</sup> These data indicate that the problem is underreported in the island.

The only seroepidemiological study in the island regarding this zoonosis was carried out on rodents and showed 27.9% of the animals tested to be seropositive against this parasite.<sup>12</sup> At the same time, one *Toxoplasma* strain, isolated from a child with lymphadenopathy, was typed as type III,<sup>13</sup> a low-virulence genotype.<sup>14</sup>

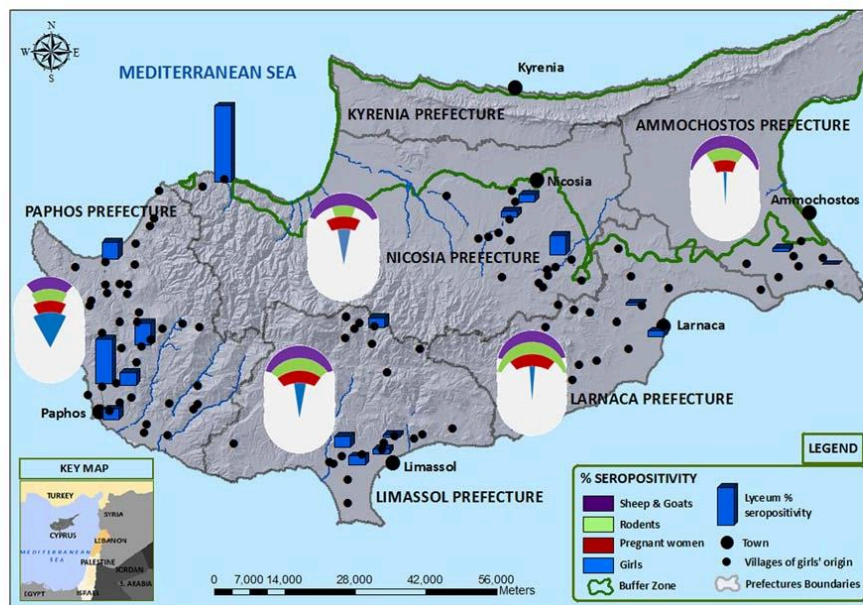
The primary objective of this study is to estimate the prevalence of human infection with *T. gondii* in Cyprus. A secondary aim is to investigate potential risk factors in school girls. To achieve this, we aimed at: serologically testing girls 16–18 years old to determine seropositivity prevalence in this population and informing each girl examined of what she needs to do before pregnancy (according to her serological results) for a safe, regarding *Toxoplasma*, gestation; to compare the results of our

serological investigation to those of pregnant women (obtained from the hospitals' microbiology laboratories, tested at the time of our investigation); to serologically test sheep and goats and relate the results to the human data in order to identify the risk of infection through meat consumption; and to relate these results to those of the epidemiological study conducted in the island, in 2000–2003, on rodents.<sup>12</sup> The results obtained could be used to develop policies to safeguard public health against *Toxoplasma* infection.

## Materials and methods

### Study location and sample

The study was undertaken in the government controlled part of the island of Cyprus, covering 5896 Km<sup>2</sup>, comprised of five prefectures (Figure 1). This area has 46 High Schools (Lyceums) with 21 171 students aged between 16 and 18 years (56% female).<sup>15</sup> A pilot study was carried out in order to investigate the seropositivity prevalence and thus to ascertain the sample size required for the present study. One hundred students from three different Lyceums participated: the proportion of seropositive students was 6%. Of the 11 855 female students 3556 (30.0%) had selected 'special biology' as option for their studies. The aim was to test serologically a random, geographically



**Figure 1.** Seropositivity results, against *Toxoplasma gondii*, obtained for the 1056 girls tested in 2009–2011 from 18 Lyceums (seropositivity shown in bars for each Lyceum) in the five prefectures of Cyprus (blue in the three-dimensionally arranged pie charts); compared to the seropositivity results of pregnant women tested at the same time (shown in red); to the seropositivity results of sheep and goats, tested in 2013–2014 (shown in purple); to the results of a previous study, conducted in 2000–2003, regarding seropositivity of rodents (shown in green) (see also Table 1). The villages and towns the girls lived in are shown as black dots.

**Table 1.** The overall seropositivity results against *Toxoplasma* of girls (16–18 years of age) and pregnant women (19–38 years of age), per prefecture

Prefecture	Schoolgirls (2009–2011)		Pregnant women (2009–2011)		Pregnant women (2012–2014)	
	No. tested (%)	No. positive for antibody <sup>a</sup> (%; 95% CI)	No. tested (%)	No. positive for antibody (%)	No. tested (%)	No. positive for antibody (%)
Nicosia	191 (18.1)	11 (5.8, 95% CI 3.2 to 10.0)	8654 (49.1)	1359 (15.7)	4246 (78.0)	709 (16.7)
Limassol	259 (24.5)	14 (5.4, 95% CI 3.7 to 7.7)	4870 (27.6)	1032 (21.2)	155 (2.8)	34 (21.6)
Larnaca	241 (22.8)	6 (2.5, 95% CI 1.1 to 5.2)	2346 (3.5)	516 (22.0)	168 (3.1)	37 (21.8)
Paphos	232 (22.0)	36 (15.5, 95% CI 8.4 to 26.8)	672 (3.8)	105 (15.6)	798 (14.7)	167 (20.9)
Ammochostos	133 (12.6)	2 (1.5, 95% CI 0.5 to 4.7)	89 (0.5)	10 (11.2)	78 (10.1)	8 (10.1)
Total	1056	69 (6.5, 95% CI 4.1 to 10.4)	17631	3174 (18.0, 95% CI 17.4 to 18.6)	5445	955 (17.5, 95% CI 16.5 to 18.6)

<sup>a</sup>  $\chi^2$  test statistic equivalent for clustered data  $F(2.97, 50.55) = 10.80$ ,  $p < 0.0001$ . The 95% CIs are also calculated incorporating the clustered nature of the data (by school).

representative, sample of these girls. Allowing for an error of 4 percentage units, an intraclass correlation of 0.15, a design effect of 9.9 and a finite sample correction factor of 0.42, an adequate sample size was calculated to be approximately 830 students, that is 17 schools assuming 50 participants per school.<sup>16,17</sup> A random sample of 18 Lyceums was taken. In total, 1056 girls, from the five prefectures, were tested for *Toxoplasma* between 2008 and 2011. The response rate was approximately 30%.

### Procedure

The headmaster/mistress of the Lyceum was informed about the project. A lecture was given to the children (aged 16–18) of each school to introduce them to the parasite *Toxoplasma*. In collaboration with each school's parents' association, an evening presentation for the parents on toxoplasmosis and the project was organized. Informed, written consent was acquired from all girls taking part in the study and their parents. The team carrying out the project consisted of two medical doctors, one biologist, one veterinarian and three nurses.

Two medical doctors and three nurses carried out blood sample collection (one sample with and one without anticoagulant, EDTA) and a questionnaire was completed by each girl. A code was given to each questionnaire and to the relative blood sample so that samples could be processed anonymously.

The questionnaire consisted of 20 items: seven related to demographic information (school of attendance, class, prefecture, the name of the student, age, nationality, present postal address and address up to one year before if she had changed residence) and thirteen related to factors believed a priori to be important for *Toxoplasma* acquisition (listed in Tables 1, 2 and 3).

The blood samples were kept in a cold box until transferred to the laboratory where the serum was collected and kept at  $-20^{\circ}\text{C}$  until tested by serology whilst the sample with EDTA was kept at  $-80^{\circ}\text{C}$  for performing PCR if serology revealed acute infection.

A letter was sent, by post, to the parents informing them of the serological results of their daughters and the relevant recommendations, according to whether they were seropositive or negative and what actions to take for a safe, from *Toxoplasma*, pregnancy in the future. The results of this investigation were made available to the Ministry of Health and Education.

### Serological investigation of girls

Serum samples from 1056 girls were tested (Table 1) for IgM and IgG antibodies against *Toxoplasma* using ELISA tests (NovaLisa™, NovaTec Immunodiagnostica GmbH, Dietzenbach, Germany) according to the manufacturer's instructions (IgM positive  $>1.1$ ; sensitivity 95.8%, specificity  $>98\%$ . IgG positive  $>35$ ; sensitivity 96.6%, specificity  $>98.2\%$ ). For all sera exhibiting a high IgG titre or any IgM titre, the IgG avidity test was performed to establish recent infection (NovaLisa, low avidity  $<40$ ; agreement with acute and past infection 96.5%). In all ELISA tests, for each batch of 90 sera, positive and negative controls were run.

**Table 2.** Seroprevalence status according to demographic status of high school girls in Cyprus (n=854) (responses to questionnaire)

Characteristic	No. tested (%)	No. positive for antibody (%)	OR (95% CI)	p-value
<b>Region of residence</b>				
Paphos	195 (22.8)	29 (14.9)	1	
Nicosia	152 (17.8)	9 (5.9)	0.36 (0.11 to 1.19)	NS
Limassol	195 (22.8)	9 (4.6)	0.28 (0.10 to 0.80)	0.021
Larnaca	198 (23.2)	5 (2.5)	0.15 (0.04 to 0.61)	0.011
Ammochostos	114 (13.3)	2 (1.8)	0.10 (0.02 to 0.44)	0.004
<b>Age</b>				
17 years	441 (51.6)	33 (7.5)	1	NS
18 years	413 (48.4)	21 (5.1)	0.66 (0.28 to 1.58)	
<b>Live in:</b>				
Village/countryside	363 (42.5)	16 (4.4)	1	NS
Town	491 (57.5)	38 (7.7)	1.82 (0.76 to 4.37)	
<b>Does the house have a garden?</b>				
Yes	691 (80.9)	50 (7.2)	1	NS
No	163 (19.1)	4 (2.5)	0.32 (0.08 to 1.28)	
<b>Do you have a pet?</b>				
Yes	698 (81.7)	41 (5.9)	1	NS
No	156 (18.3)	13 (8.3)	1.46 (0.79 to 2.70)	
<b>Do you play a sport outside school hours?</b>				
Yes	570 (66.7)	36 (6.3)	1	NS
No	284 (33.3)	18 (6.3)	1.00 (0.54 to 1.86)	

NS: not significant.

### Serological results of pregnant women

The serological results of 17 631 pregnant women tested in 2009–2011, and 5445 pregnant women tested in 2012–2014 (Table 1) were obtained from the four hospitals' microbiology laboratories (which perform the test for the population in the five prefectures). Initially, samples were obtained for the same time period as the prospective schoolgirl study. As we were informed by the authorities that 12 000 Pontiac Greek refugees, mostly young couples, had recently settled in Paphos (and left Cyprus in 2013 due to the economic crisis), we decided to acquire serological results for pregnant women for all regions for the 2013–2014 time period. The total population of Paphos prefecture at the time was 88 000 inhabitants (13.6% were Pontiac Greeks). The results were made available with codes (anonymously). The serological tests performed were: ELISA (Architect, Abbott Diagnostics, Lake Forest, Illinois USA), IgM positive >0.6; relative sensitivity 89.9%, relative specificity 99.8%; IgG positive >0.3; relative sensitivity 97.5%, relative specificity 99.1%.

### Seroepidemiological study of sheep and goats

There are 3123 farms with sheep and goats scattered throughout the island, with approximately 536 727 animals. All data on the livestock population are kept in a Ministry of Agriculture national livestock database. A random sample of 163 farms was selected; blood and epidemiological information was collected

by veterinarians from 515 sheep and 581 goats, selected randomly from these farms, in 2013–2014; 192–241 animals from each prefecture. The blood samples (without EDTA) were kept in a cool box until transferred to the laboratory. The sera were tested for IgG antibodies against *T. gondii* by ELISA (CHEKIT-Toxotest ELISA Test kit, IDEXX Laboratories, Inc., One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, USA; positive  $\geq 100\%$ ). For each batch of 90 sera, positive and negative controls were run.

### Statistical analysis and mapping of the results

Seroprevalence in female students was estimated overall, for each prefecture and for each school. A confidence interval for the overall prevalence was calculated adjusting for the clustered sampling procedure (using the sampling fraction 18/42) as described in the FAO United Nations depository.<sup>18</sup> Univariate associations between variables were undertaken using a corrected, weighted Pearson  $\chi^2$  statistic to account for the clustered design. Complete case analysis was used for the risk factor investigation: 854 (80.9%) of the 1056 schoolgirls had complete records. Both univariable and multivariable logistic regression models were fitted, accounting for clustering by defining the school variable as the primary sampling unit. Only variables that did not display multicollinearity and did not have seropositivity frequencies less than five in each category were included in the multivariable model. These were: region, age, country/town house, pets and smoked meat consumption. A 5% significance level was selected. Stata 11 (StataCorp LP, College Station, TX



**Table 3.** Seroprevalence status according to dietary habits of high school girls in Cyprus (n=854) (responses to questionnaire)

Characteristic	No. tested (%)	No. positive for antibody (%)	OR (95% CI)	p-value
How do you eat cooked meat?				
Well done	795 (93.1)	51 (6.4)	1	
Rare	44 (5.2)	3 (6.8)	1.07 (0.25 to 4.55)	NS
I don't eat meat	15 (1.8)	0	1	
Do you eat smoked meat?				
No	387 (45.3)	19 (4.9)	1	NS
Yes	467 (54.7)	35 (7.5)	1.57 (0.84 to 2.94)	
Do you eat sausages?				
No	335 (39.2)	17 (5.1)	1	NS
Yes	519 (60.8)	37 (7.1)	1.44 (0.81 to 2.55)	
Do you eat pork salami?				
No	410 (48.0)	18 (4.4)	1	0.023
Yes	441 (52.0)	36 (8.1)	1.92 (1.10 to 3.34)	
Do you eat uncooked eggs?				
No	830 (97.2)	49 (5.9)	1	NS
Yes	24 (2.8)	5 (20.8)	4.2 (0.85 to 20.75)	
Do you eat greens?				
No	638 (74.7)	34 (5.3)	1	0.037
Yes	216 (25.3)	20 (9.2)	1.81 (1.04 to 3.16)	
To what extent do you wash vegetables and fruit?				
Thoroughly	723 (84.3)	38 (5.3)	1	NS
A little/not at all	131 (15.3)	16 (12.2)	2.51 (0.87 to 7.20)	
How often do you eat out?				
Never	39 (4.6)	4 (10.3)	1	
1–2 times/week	741 (86.8)	47 (6.3)	0.59 (0.20 to 1.74)	NS
At least 2 times/week	74 (8.9)	3 (4.1)	0.37 (0.12 to 1.12)	NS

NS: not significant.

USA) was used (applying the *svyset* command prior to analyses to account for clustering by school).

The serological and geographical data of the students, pregnant women, sheep and goats as well as rodents (data from Psaroulaki et al.<sup>12</sup>) were mapped using GIS (ArcGIS 10). Pie charts showing the seropositivity proportions for each prefecture were created and superimposed. The 104 villages and towns in which the tested girls lived in were also shown to indicate the coverage of the area investigated (Figure 1).

## Results

Of the 1056 girls tested in total, 69 (6.5%, 95% CI 4.1 to 10.4%) were seropositive. Eight students had IgM antibodies (0.8%: four from Paphos prefecture, three from Nicosia and one from Limassol) and two had both IgM and IgG antibodies. The IgG avidity test, in all IgM positive and in 11 girls with high IgG titre, was high (54.9 to 91.4) indicating that the infection occurred more than 4 months before the time of sample collection. The prefecture with the highest seropositivity against *Toxoplasma* in girls was Paphos (15.5%) (Table 1, Figure 1)

The likelihood of a female student acquiring the parasite, was found to differ significantly according to the region she lived (Table 1,  $p < 0.0001$ ), being lower in the regions of Ammochostos, Larnaca and Nicosia compared to Paphos (ORs 0.10, 0.15 and 0.28 with p-values 0.004, 0.011 and 0.021 respectively). Paphos prefecture had the highest proportion of seropositive girls, with overall seropositivity 15.5% (the seropositivity ranging from 8.4% to 26.9% depending on the lyceum); Nicosia prefecture 5.8% (4–12.9%); Limassol 5.4% (2–7.1%); Larnaca and Ammochostos had the lowest seropositivity 2.5% and 1.5%, respectively (Figure 1). Pyrgos Lyceum, Paphos prefecture, had the highest seropositivity rate and the Paralimni Lyceum, Ammochostos prefecture, the lowest (Figure 1).

The percentage of seropositive students is presented by demographic characteristic and dietary habit in Tables 2 and 3, respectively. Using univariate logistic regression models, adjusting for clustering by school, eating pork salami and eating greens were found to be associated with *T. gondii* seropositivity, to a statistically significant extent. The odds of being seropositive were estimated to be almost double in pork salami consumers compared to those who did not consume salami (OR 1.9, 95% CI 1.1 to 3.3,  $p = 0.023$ ) and in consumers of raw not well

**Table 4.** Overall seropositivity results against *Toxoplasma*, of goats (n=581), sheep (n=515) and rodents per prefecture

Prefecture	Goats		Sheep		Rodents (2000–2003 <sup>a</sup> )	
	No. tested (%)	No. positive for antibody (%)	No. tested (%)	No. positive for antibody (%)	No. tested (%)	No. positive for antibody (%)
Nicosia	151 (26.0)	57 (37.7)	79 (15.3)	36 (45.6)	151 (30.6)	16 (10.6)
Limassol	108 (18.6)	35 (32.4)	103 (20.0)	52 (50.5)	105 (21.3)	31 (29.5)
Larnaca	82 (14.1)	38 (46.3)	140 (27.2)	57 (40.7)	175 (35.4)	80 (45.7)
Paphos	120 (20.7)	30 (25.0)	72 (14.0)	14 (19.4)	41 (8.3)	7 (17.1)
Ammochostos	120 (20.7)	48 (40.0)	121 (23.5)	72 (59.5)	22 (4.5)	4 (18.2)
Total	581	208 (35.8)	515	231 (44.9)	494	138 (27.9)

<sup>a</sup> Data from Psaroulaki et al., 2010.

washed vegetables 1.8 times that of non-consumers (OR 1.8, 95% CI 1.04 to 3.2,  $p=0.037$ ). Bonferroni adjustments for multiple comparisons, however, resulted in neither of these risk factors remaining statistically significant. At multivariable analysis only region of residence was statistically significant.

Of the 17 631 pregnant women tested in 2009–2011, 3065 were IgG and 107 IgM positive. Overall, 18% of the pregnant women were seropositive, with Larnaca and Limassol prefectures showing the highest seropositivity (22% and 21.2%, respectively) (Table 1). The 2012–14 results were similar to the 2009–2011 results for all prefectures (Table 1) except for Paphos which reached 20.9% for the more recent time period (798 women tested).

Overall, 40.1% of goats and sheep were seropositive, with Ammochostos presenting the highest overall seroprevalence (49.8%) (Table 4). The risk of seropositivity was found to differ significantly according to the geographical origin of sheep and goats ( $p<0.0001$ ), with an increased risk for Nicosia prefecture (Figure 1). Seroprevalence in sheep was higher compared to that of goats ( $p=0.002$ ).

## Discussion

The position of European countries varies regarding the measures taken for congenital toxoplasmosis prevention. At least five countries recommend a systematic screening of pregnant women whilst 21 countries, including Cyprus, do not.<sup>9,19</sup> Gynecologists in Cyprus usually test for infection with *T. gondii* by serology once during pregnancy and there is no common practice regarding the management of pregnant women with positive serological results. So, often, clinicians are faced with the dilemma of administering potentially toxic drugs or pregnancy termination based mainly on serological findings. In a study conducted in Crete, Greece, only 0.2% of the pregnant women had their first serological screening for *T. gondii* before pregnancy and 45% after the first trimester.<sup>8</sup> Of these, 29.5% were seropositive making it difficult for the doctor to place the time of infection, essential information on which handling the pregnancy for a safe outcome is based.

Raising awareness of the way *Toxoplasma* infects people and animals can reduce seroprevalence in a country.<sup>20,21</sup> In Cyprus, health education can prove very important in avoiding infection since a proportion of the female population appears to seroconvert between the crucial ages of 19 and 38 years. Overall, seropositivity among girls (16–18 years old) was 6.5% (Table 1). This seropositivity depended on the geographical origin of the girls ( $p<0.0001$ ) with Paphos having, by far, the highest seropositivity (15.5%), whilst in the other prefectures seropositivity did not reach 6%.

As expected, seropositivity in pregnant women was higher than that of schoolgirls, in all prefectures. The highest seropositivity in pregnant women was found in Larnaca prefecture (22.0%) with Limassol following closely (21.2%) (Table 1). In both these prefectures rodent seropositivity, examined 7–10 years earlier, was the highest for *Toxoplasma* (45.7% and 29.5%, respectively)<sup>12</sup> (Table 4).

Paphos prefecture, with the highest seropositivity in girls, presented nearly the same seropositivity for pregnant women (15%). The second analysis of serological data, provided by the hospitals for the years 2013–2014, showed 20.9% seropositivity in pregnant women in this prefecture (Table 1). We assume that the low seropositivity obtained in the 2009–2011 analysis was due to the non indigenous population of Pontiac Greek refugees, mostly young couples, (making up 13.6% of the population in the area of Paphos at that time).

In Europe, while soil contact is shown to represent 6 to 17% of the seropositive cases, meat consumption appears to be responsible for 30 to 63%.<sup>22,23</sup> Sheep, rather than pigs, are the main source of infected meat in Southern European countries with reported rates of seropositivity for goats varying from 4 to 77%.<sup>24,25</sup> In Cyprus, sheep and goat farming is mainly intensive but many farmers allow their animals to graze in open fields. Farms for raising animals are found throughout the island. Overall, the farms are both dairy and meat farming with no important differences among them concerning biosecurity levels. A better understanding of farming practices in Cyprus is needed in order to draw conclusions on their role in *Toxoplasma* epidemiology in the island.

The weather in Cyprus is mild (Mediterranean) with relatively warm and dry summers and rainy and mild winters. *T. gondii* oocysts can survive and remain viable in soil for 12–18 months under such climate conditions.<sup>26,27</sup> Overall, there are no extreme differences in climate (temperature and humidity) in the five prefectures and so they are not likely to result in differential levels of *Toxoplasma* oocyst survival. It appears that *Toxoplasma* is circulating in the environment and conditions favor its geographical spread through cats and rodents, reaching humans, and animals for consumption. Controlling cat and rodent populations, therefore, may help reduce the problem.

Our study had a number of limitations which may affect the generalizability of the results. The retrospective nature of the data collection for pregnant women may have resulted in a level of sampling bias being introduced. In addition, it was not possible to account for age in the analyses. It is known, however, that the average age of women at pregnancy for the whole of Cyprus in the years 2007–2013 was 29.1 years (28.4–29.7 depending on the prefecture) (Health Monitoring Unit, Ministry of Health of the Republic of Cyprus). Another limitation is the use of different ELISA tests for the different population groups. Finally, it should be clarified that the main aim of the study was to examine seropositivity and possible associated risk factors in schoolgirls; only crude seropositivity estimates were obtained for the pregnant women and animal populations.

### Conclusions

Our study found that seropositivity against *Toxoplasma* in Lyceum students is associated with region of residence. The percentage of seropositive females is higher in pregnant females and warrants the development of health education measures. These measures could be aimed at the student population and could provide the necessary information: hygienic measures required in relation to external activities and the correct processing of food. Parallel to this, offering serological testing for infection with *T. gondii* before pregnancy will reduce the risk of congenital toxoplasmosis.

**Authors' contributions:** MA conceived the study; ML, VC, JM and MA designed the study protocol; ML, VC, CK and GM carried out the laboratory tests and assessment; JM, MK and MA did the analysis and interpretation of the data; MA drafted the manuscript; ML, VC, JM and MK critically revised the manuscript for intellectual content. All authors read and approved the final manuscript. MA and JM are guarantors of the paper.

**Acknowledgements:** We would like to thank the medical doctors Sofia Kyrtzi and Maria Thoma; the Microbiologists Savvas Zakos, Maria Baltoudi and Georgia Laou; the biologists Elena Iliadou; the nurses Maria Kalimera, Loutmila Borovkova, Lee Tong; Klitos Kalimeras for their valuable help; all the veterinarians who collected the sheep and goat blood samples; all the Lyceum teachers who assisted us in our work and the technicians Antigoni Petrou, Eleni Tsintidou and Katerina Eleutheriou for their help.

**Funding:** This work was supported by the Zoodochou Pigis Clinique, Limassol, Cyprus, which had no involvement in the planning or execution of the research work.

**Competing interests:** None declared.

**Ethical approval:** The Bioethics committee of Cyprus, after examining the protocol, gave permission for this investigation to be carried out [permission codes EEBK/ETI/2007/2B]. The Ministry of Education was informed about this project and their permission and assistance was acquired [7.19.46.7/9]. The Ministry of Health was informed about this project and their approval was obtained.

### References

- 1 Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 2012;25:264–96.
- 2 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.
- 3 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;49:910–3.
- 4 Ho-Yen DO. Immunocompromised patients. In: Ho-Yen DO, Joss AWL (editors). *Human Toxoplasmosis*. Oxford: Oxford Medical University Press, 1992, p. 184–203.
- 5 Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. Boca Raton: CRC Press; 1988.
- 6 Dantas de Medeiros A, de Medeiros Clementino Andrade M, Wagner de Almeida Vitor R, Ferreira de Andrade-Neto V. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in meat and dairy goat herds in Rio Grande do Norte, Brazil. *Braz J Vet Parasitol* 2014;23:481–7.
- 7 Güçlü Z, Karaer Z, Babür C, Kiliç S. Investigation of *Toxoplasma gondii* antibodies in sport horses bred in Ankara province. *Türkiye Parazitol Derg* 2007;31:264–7.
- 8 Antoniou M, Tzouvali H, Sifakis S et al. Incidence of toxoplasmosis in 5532 pregnant women in Crete, Greece: management of 185 cases at risk. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;117:138–43.
- 9 Benard A, Petersen E, Salamon R et al. The European Toxo Prevention Study Group: Survey of European programmes for the epidemiological surveillance of congenital toxoplasmosis. *Euro Surveill* 2008;13:18834.
- 10 Archive of the Unit for Surveillance and Control of Communicable diseases of the Medical and Public Health services, Ministry of Health, Cyprus.
- 11 Database of drug consumption of the pharmaceutical services of the Ministry of Health in Cyprus.
- 12 Psaroulaki A, Antoniou M, Toumazos P et al. Rats as indicators of the presence and dispersal of six zoonotic microbial agents in Cyprus, an island ecosystem: a seroepidemiological study. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010;104:733–9.
- 13 Messaritakis I, Detsika M, Kaliou M et al. Prevalent genotypes of *Toxoplasma gondii* in pregnant women and patients from Crete and Cyprus. *Am J Trop Med Hyg* 2008;79:205–9.
- 14 Howe DK, Honore S, Derouin F, Sibley LD. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 1997;35:1411–4.
- 15 Ministry of Education and Culture [Cyprus]. Annual Report 2013. [http://www.moec.gov.cy/en/annual\\_reports/annual\\_report\\_2013\\_en.pdf](http://www.moec.gov.cy/en/annual_reports/annual_report_2013_en.pdf) [accessed 14 June 2015].

- 
- 16 Moser K, Kalton G. Survey Methods in Social Investigation. 2nd ed. Aldershot: Gower Publishing; 1971.
- 17 Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods. 8th ed. Iowa: State University Press; 1989.
- 18 Putt SNH, Shaw APM, Woods AJ et al. Statistical methods in the analysis of epidemiological data. In: Putt SNH, Shaw APM, Woods AJ, Tyler L and James AD. Veterinary epidemiology and economics in Africa. A manual for use in the design and appraisal of livestock health policy. FAO Corporate document repository. International Livestock Research Institute. <http://www.fao.org/wairdocs/ilri/x5436e/x5436e07.htm> [accessed 14 June 2015].
- 19 Leroy V, Raebler P-A, Petersen E et al. For the Eurotoxo Group (Panel 3) National public health policies and routines programs to prevent congenital Toxoplasmosis, Europe. Bordeaux (France); 2005. [http://eurotoxo.isped.u-bordeaux2.fr/WWW\\_PUBLIC/DOC/EUROTOXO\\_R1\\_P3\\_European\\_nationalpolicies\\_Dec2005.pdf](http://eurotoxo.isped.u-bordeaux2.fr/WWW_PUBLIC/DOC/EUROTOXO_R1_P3_European_nationalpolicies_Dec2005.pdf) [accessed 29 September 2015].
- 20 Jones JL, Kruszon-Moran D, McQuillan G et al. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. Am J Epidemiol 2001;154:357-65.
- 21 Daryani A, Sarvi S, Aarabi M et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the Iranian general population: a systematic review and meta-analysis. Acta Trop 2014;137:185-94.
- 22 Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis, and public health significance. Zoonoses Public Health 2010;57:60-73.
- 23 Cook AJ, Gilbert RE, Buffalano W et al. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. BMJ 2000;321:142-7.
- 24 Tenter AM, Heckerath AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol 2000;30:1217-58.
- 25 Dubey JP, Rajendran C, Ferreira LR et al. High prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from goats, from a retail meat store, destined for human consumption in the USA. Int J Parasitol 2011;41:827-33.
- 26 Yilmaz SM, Hopkins SH. Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. J Parasitol 1972;58: 938-9.
- 27 Frenkel JK, Ruiz A, Chinchilla M. Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. Am J Trop Med Hyg 1975;24:439-43.