

Naukowcy pracują nad innowacyjną metodą wykrywania toksoplazmozy

AmerLab, spółka spin-off Uniwersytetu Warszawskiego, prowadzi badania nad opracowaniem nowej metody wykrywania toksoplazmozy. W porównaniu do obecnie stosowanych standardowych testów serologicznych, nowa metoda ma zapewnić nie tylko większą czułość, ale też umożliwić szybsze wykrywanie zarażenia, co otwiera możliwości skuteczniejszego i mniej obciążającego pacjentów leczenia. To ważna informacja dla kobiet w ciąży i osób z obniżoną odpornością, którym toksoplazmoza szczególnie zagraża.

Nowa metoda wykrywania markerów zarażeń toksoplazmozą, opracowywana przez AmerLab – spółkę spin-off Uniwersytetu Warszawskiego, w której udziały posiada spółka celowa Uniwersytetu Warszawskiego UWRC sp. z o.o. – opiera się na wykorzystaniu wolnokrążącego DNA (cfDNA) i nowoczesnej technologii badawczej, jaką jest droplet digital PCR (ddPCR). Pozwala ona na identyfikację krótkich fragmentów DNA patogenów w wybranych płynach ciała – np. krwi, osoczu czy moczu – bez względu na umiejscowienie samego pasożyta. Dotychczas prowadzone badania na modelu zwierzęcym, obejmującym inne gatunki pierwotniaków pasożytniczych, stanowiły przesłankę do podjęcia badań w tym kierunku.

„Obecnie trwa pierwszy, wstępny etap prac, które mają umożliwić rozpoczęcie badań dotyczących możliwości zastosowania nowej metody w diagnostyce zarażeń ludzi. Badania testowe obejmują grupę pacjentów z nabytymi niedoborami odporności oraz kobiety ciężarne z podejrzeniem toksoplazmozy. Badania prowadzone są we współpracy z Warszawskim Uniwersytem Medycznym oraz Uniwersytem Medycznym w Białymstoku. Wstępne wyniki są bardzo obiecujące” – mówi dr hab. Renata Welc-Fałęciak, adiunkt w Zakładzie Parazytologii Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, współzałożycielka uniwersyteckiej spółki AmerLab.

Szybko, prosto i skutecznie

Nowa metoda w porównaniu do wykorzystywanych dotychczas oferuje wyższą czułość. Standardowe testy molekularne wykrywające DNA nie odpowiadają na pytanie, czy patogeny są żywe czy martwe. Obecność wolnokrążącego DNA jest dowodem obecności w organizmie żywiciela żywego patogenu, który może wywołać chorobę.

„Zaletą diagnostyki opartej na wykrywaniu cfDNA jest możliwość prowadzenia badań w zróżnicowanym, stosunkowo łatwo dostępnym materiale biologicznym, często pobieranym bez konieczności stosowania metod inwazyjnych – biopsji czy punkcji. Ma to znaczenie przy tych gatunkach patogenów, których bezpośrednia identyfikacja w organizmie człowieka jest skomplikowana ze względu na ich lokalizację lub złożoność cyklu życiowego” – tłumaczy dr n. biol. Agnieszka Pawełczyk, adiunkt w Zakładzie Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, współzałożycielka i członek zarządu AmerLab.

Ze względu na wykorzystanie zaawansowanej technologii ddPCR koszt testu będzie, przynajmniej początkowo, wyższy niż testy serologiczne. To oznacza m.in. że nowa metoda nie zastąpi w pełni standardowych testów diagnostycznych. Nadal będą one wykorzystywane do diagnostyki rutynowej. Na pewno jednak nowy test da większe możliwości wykrywania zarażenia, co w przyszłości znajdzie przełożenie na szybsze i skuteczniejsze leczenie.

Prowadzony obecnie początkowy etap badań nad możliwością wykorzystania badań m.in. u ludzi jest finansowany ze środków programu MNiSW „Inkubator Innowacyjności 2.0”, realizowanego przez Uniwersytecki Ośrodek Transferu Technologii UW. „*Granty przyznawane w konkursach organizowanych w ramach Inkubatora Innowacyjności 2.0 wspierają pracowników naukowych i doktorantów UW prowadzących działania mające na celu komercjalizację wyników badań naukowych i prac rozwojowych. Środki, tak jak w przypadku AmerLab, przyznawane są na prowadzenie prac przedwdrożeniowych, w tym dodatkowych testów laboratoryjnych, a także na dostosowanie wynalazków do potrzeb potencjalnych nabywców. W ostatniej edycji Konkursu na Grant przyznaliśmy 11 grantów na łączną kwotę 560 tys. zł*” – mówi dr Robert Dwiliński, dyrektor Uniwersyteckiego Ośrodka Transferu Technologii UW.

Mankamenty obecnej diagnostyki toksoplazmozy

Obecna diagnostyka parazytologiczna opiera się na metodach serologicznych lub bezpośredniej identyfikacji pasożytów w materiale biologicznym. Problemem tych pierwszych jest tzw. okienko serologiczne, czyli okres, w którym nie można wykryć przeciwciał (przykładowo w przypadku toksoplazmozy przeciwciała IgM pojawiają się po około 1 tyg. od zarażenia). Wykonanie badań w tym czasie może być przyczyną wyników fałszywie negatywnych. Tymczasem wykrycia toksoplazmozy we wczesnej jej fazie zwiększa skuteczność leczenia.

Metody serologiczne mają ograniczone zastosowanie w przypadku osób z niedoborami odporności, zwłaszcza z seronegatywnym przebiegiem zakażenia/zarażenia, charakteryzującym się brakiem wykrywalnych przeciwciał (może ich nie być lub jest ich tak mało, że ich poziom jest poniżej poziomu czułości testu). Z kolei stosowanie metody bezpośredniej (badanie rozmazu kału, krwi, biopsja) nie w każdym przypadku zarażenia pasożytniczego jest możliwe. Ograniczenia spowodowane są wieloma czynnikami, w tym przebiegiem cyklu życiowego pasożyta czy lokalizacją poszczególnych form rozwojowych.

Informacje o toksoplazmozie

Toksoplazmoza to choroba wywoływana przez pierwotniaka pasożytniczego *Toxoplasma gondii*, który może zarażać niemal wszystkie gatunki zwierząt stałocieplnych. W cyklu życiowym tego pasożyta żywicielem ostatecznym jest kot i inne kotowate. Oocysty wydalone wraz z kałem dojrzewają kilka dni w środowisku zewnętrznym, po czym zarażają żywiciela pośredniego – zwierzęta stałocieplne poprzez spożywaną wodę lub pokarm. Formy inwazyjne pierwotniaka, sporozoitów z oocysty lub tachyzoitów z komórek żywiciela pośredniego, po przejściu przez nabłonek jelita wnikają do komórek, a docelowo lokalizują się w mięśniach i mózgu żywiciela pośredniego.

Źródłem zarażenia *Toxoplasma gondii* dla człowieka jest przede wszystkim surowe i niedogotowane mięso, w szczególności wieprzowina i baranina, skażona oocystami woda, niemyte owoce i warzywa oraz kontakt z kałem zarażonych kotów. Istnieją doniesienia o potransfuzyjnych i potransplantacyjnych zarażeniach *Toxoplasma gondii* u biorców krwi lub narządów.

Zagrożenie dla dzieci i chorych

U osób zdrowych z prawidłowo funkcjonującym układem immunologicznym, choroba ma przebieg zazwyczaj bezobjawowy, jednak lokalizacja pasożytów w mózgu może wpływać na zachowanie oraz inne aspekty psychologiczne. Przykładowo może powodować niekontrolowane wybuchy złości,

wzrost agresji, autoagresji i ryzykownych zachowań, takich jak brawurowa jazda samochodem czy większa skłonność do prób samobójczych.

Szacuje się, że 30% ludzi na świecie jest zarażonych *Toxoplasma*, przy czym różnice między poszczególnymi krajami są znaczne, a odsetek diagnozowanych zarażeń waha się w granicach 10-90%. Poziom zarażenia *Toxoplasma gondii* u ludzi zależy zarówno od czynników klimatycznych, które mają wpływ na przeżywalność oocyst w środowisku, jak i czynników antropogenicznych m.in. zwyczajów żywieniowych i kulturowych, poziomu higieny, rodzaju spożywanego mięsa i warzyw oraz owoców, jakości wody, czynników socjalnych i ekonomicznych.

Toksoplazmoza jest jednak groźna dla osób z obniżoną odpornością oraz rozwijającego się płodu. Zarażenie pasożytem może nastąpić poprzez łożysko matki. Zarażenie płodu podczas czynnej, pierwotnej inwazji u matki stanowi istotne zagrożenie dla dziecka, które może skutkować m.in. małopłuciem lub wodogłowiem oraz mózgowym porażeniem dziecięcym. Ryzyko zarażenia drogą łożyskową zwiększa się wraz z czasem trwania ciąży, a ponadto czas potrzebny do zarażenia jest tym krótszy, w im późniejszym okresie choruje ciążarna. Jednakże skutki dla płodu są najpoważniejsze, gdy do zarażenia dojdzie w pierwszych miesiącach ciąży. Diagnostyka toksoplazmozy u kobiet ciężarnych jest złożona i obejmuje analizę obecności i poziomu przeciwciał IgA, IgM oraz IgG.

U osób z obniżoną odpornością, np. wynikającą z zakażenia HIV, zarażenie *Toxoplasma* może prowadzić do zapalenia i ropni mózgu oraz zapalenia płuc i serca. Wprowadzenie i podniesienie poziomu skuteczności terapii antyretrowirusowej (Highly Active Antiretroviral Therapy, HAART), poprawiającej rokowania osób zakażonych HIV i zwiększającej długość ich przeżycia, spowodowało wzrost liczby pacjentów HIV-pozytywnych w populacji, pomimo odnotowywanego spadku liczby nowych zakażeń.

Na świecie poziom zarażenia *Toxoplasma gondii* u osób HIV-pozytywnych waha się w granicach od 1 do ponad 96% i jest jedną z najczęstszych przyczyn śmiertelności w tej grupie pacjentów. Ryzyko pojawienia się ostrej toksoplazmozy wynika tu przede wszystkim z reaktywacji przewlekłego zarażenia, rzadziej spowodowane jest zarażeniem pierwotnym.