

Gruppo multidisciplinare
“Malattie infettive in ostetricia-ginecologia e neonatologia”

AMCLI (Associazione Microbiologi Clinici Italiani), SIGO (Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia), SIMaST (Società Interdisciplinare delle Malattie Sessualmente Trasmissibili), SIMIT (Società Italiana di Malattie Infettive e Tropicali), SIN (Società Italiana di Neonatologia), SIP (Società Italiana di Pediatria).

Percorsi diagnostico-assistenziali
in Ostetricia-Ginecologia e Neonatologia

TOXOPLASMA GONDII

APRILE 2012

PRESENTAZIONE

Nel novembre 2009 si è costituito il Gruppo di lavoro multidisciplinare “*Malattie infettive in ostetricia-ginecologia e neonatologia*” con lo scopo di promuovere e migliorare la salute della donna, del feto, del neonato e dell’adolescente con particolare riguardo alle infezioni a trasmissione verticale e perinatale e alle infezioni sessualmente trasmesse.

I partecipanti al Gruppo sono esperti e rappresentanti autorevoli delle Società Scientifiche Italiane di Microbiologia Clinica (AMCLI), di Ginecologia e Ostetricia (SIGO), di Malattie Infettive e Tropicali (SIMIT), di Neonatologia (SIN), di Pediatria (SIP), e dell’ Associazione Interdisciplinare per lo Studio delle Malattie Sessualmente Trasmissibili (SIMAST).

E’ noto come un corretto monitoraggio della gravidanza si traduca in un migliore outcome neonatale. Pertanto uno degli obiettivi che si è posto il Gruppo di lavoro è stato quello di elaborare, implementare (se presenti) e diffondere percorsi diagnostico-assistenziali e di prevenzione per le infezioni a trasmissione verticale e perinatale. A questi riguardi vi sono talvolta prassi disomogenee tra operatori, che possono comportare notevoli discrepanze tra le indicazioni suggerite dalla letteratura, dal Gruppo attentamente revisionata, e ciò che viene in realtà attuato.

L’attività del gruppo multidisciplinare è iniziata con la scelta e l’elaborazione di percorsi dedicati alla gravidanza e al neonato delle infezioni da Citomegalovirus, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum* e *Chlamydia trachomatis*. La scelta di trattare queste quattro specifiche infezioni è nata dall’ interesse che esse rivestono sia per loro diffusione, che per le recenti acquisizioni diagnostiche, prognostiche e terapeutiche, ancora ampiamente dibattute.

Le implicazioni connesse ad una corretta esecuzione nei tempi e nei modi ed interpretazione della diagnostica di laboratorio, dettate da linee guida procedurali in epoca prenatale, sono sicuramente di grande importanza per l’ostetrico e/o l’infettivologo che debba fornire “il counselling” alla gravida e monitorarne la gestazione e per l’ostetrico nella programmazione del timing e delle modalità del parto.

Sono d’altronde imprescindibili, per il neonatologo o per il pediatra che operi in Ospedale o fuori da esso, adeguate conoscenze circa i fattori ostetrici condizionanti la trasmissione verticale di queste patologie, “schemi procedurali” utili alla diagnosi nel neonato, al monitoraggio delle possibili conseguenze dell’infezione congenita, alle possibilità terapeutiche ed al corretto follow-up.

E non ultimo, risultano indispensabili al microbiologo clinico conoscenze scientifiche sempre più aggiornate, per favorire la scelta di indagini diagnostiche predittive appropriate e fornire una valida consulenza nell’interpretazione dei risultati.

Referente AMCLI, prof.ssa Tiziana Lazzarotto, Bologna;

Referente SIGO, dott. Fabrizio Taddei, Mantova;

Referente SIMaST, dott.ssa Barbara Suligoj, Roma;

Referente SIMIT, dott. Alberto Matteelli, Brescia;

Referente SIN e SIP, dott. Marcello Lanari, Imola-Bologna.

INTRODUZIONE

Il presente documento è stato elaborato, discusso e validato da una commissione multidisciplinare ed eterogenea composta da esperti e rappresentanti autorevoli di Società Scientifiche con il metodo della conferenza di consenso.

La redazione è stata a cura di:

AMCLI: Tiziana Lazzarotto, Bologna; Pierangelo Clerici, Legnano (MI); Cristina Giraldi, Cosenza; Maria Agnese Latino, Torino; Valeria Meroni, Pavia.

SIGO: Fabrizio Taddei, Mantova; Brunella Guerra, Bologna; Giuseppe Calì, Palermo; Tiziana Frusca, Brescia; Mario Lituania, Genova; Pasquale Martinelli, Napoli; Cecilia Tibaldi, Torino; Elsa Viora, Torino.

SIMaST: Barbara Suligoj, Roma; Marco Cusini, Milano; Antonietta D'Antuono, Bologna; Maria Cristina Salfa, Roma.

SIMIT: Alberto Matteelli, Brescia; Teresa Bini, Milano; Paolo Lanzarini, Pavia; Giuseppina Liuzzi, Roma; Lina Tomasoni, Brescia; Francesca Vichi, Firenze; Antonio Volpi, Roma.

SIN e SIP: Marcello Lanari, Imola (BO); Lina Bollani, Pavia; Maria Grazia Capretti, Bologna; Giuseppina Lombardi, Pavia; Fabio Natale, Roma; Mauro Stronati, Pavia.

Criteria per l'elaborazione dei livelli di evidenza e il grado delle raccomandazioni

Livelli di evidenza	Le informazioni sono	Grado delle raccomandazioni
I	.. derivate da revisioni sistematiche o meta-analisi di TCR	A
II-1derivate da almeno un TCR ben condotto	B
II-2derivate da almeno uno studio clinico prospettico di buona qualità	
II-3derivate da altri tipi di studi prospettici di minor qualità o da studi retrospettivi di buona qualità	
III	...basate unicamente su opinione di esperti	C

Adattata da *AHRQ - Agency for Healthcare Research and Quality*.

TCR: trial clinico randomizzato

INFEZIONE CONGENITA DA *TOXOPLASMA GONDII*

INDICE

EZIOPATOGENESI, ASPETTI CLINICI ED EPIDEMIOLOGIA.....	5
MANAGEMENT PRE E IN GRAVIDANZA.....	7
Misure di prevenzione.....	7
Diagnosi	8
Percorso diagnostico dell'infezione da <i>Toxoplasma gondii</i> nella donna prima della gravidanza.....	10
Percorso diagnostico dell'infezione da <i>Toxoplasma gondii</i> nella donna in gravidanza.....	10
MANAGEMENT DEL FETO.....	11
Esami strumentali.....	11
Diagnosi prenatale invasiva.....	11
Strategie di trattamento.....	13
MANAGEMENT NEL NEONATO.....	14
Diagnosi.....	14
Manifestazioni cliniche.....	16
Trattamento e valutazione clinico-laboratoristico-strumentale del bambino con infezione congenita da <i>Toxoplasma gondii</i>	17
INDICAZIONI AL LABORATORIO.....	19
Test sierologici di screening.....	19
Test virologici.....	19
Conservazione dei campioni.....	19
RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI.....	20
ALLEGATO 1: Norme igienico alimentari per la gestante recettiva alla toxoplasmosi	23
ALLEGATO 2 : Terapia della toxoplasmosi in gravidanza.....	24
ALLEGATO 3: Follow-up del neonato a rischio (senza segni di infezione).....	25
ALLEGATO 4: Follow-up del neonato infetto.....	26
ALLEGATO 5: Protocolli terapeutici n.1 del neonato con infezione sintomatica e asintomatica.....	27
ALLEGATO 6: Protocollo terapeutico n.2 del neonato (pirimetamina + sulfadossina).....	28
ALLEGATO 7: raccomandazioni per l'infezione da TOXO in gravidanza.....	29
Direzioni future.....	30
ALLEGATO 8: raccomandazioni per l'infezione da TOXO nel neonato.....	31
Direzioni future.....	32

1. EZIOPATOGENESI, ASPETTI CLINICI ED EPIDEMIOLOGIA

La toxoplasmosi è un antropozoonosi ubiquitaria che interessa circa un terzo della popolazione mondiale. L'agente eziologico è *Toxoplasma gondii* un protozoo parassita intracellulare obbligato. Nel suo ciclo vitale sono presenti tre stadi tutti potenzialmente infettivi per l'uomo. L'ospite definitivo del protozoo, alle nostre latitudini, è il gatto nel cui intestino si compie la riproduzione sessuata che porta alla produzione di oocisti. Le oocisti vengono escrete con le feci durante la fase acuta dell'infezione per circa 21 giorni. Dopo la sporulazione, che avviene dopo 1- 20 giorni in rapporto alle condizioni di temperatura ed umidità ambientali, le oocisti divengono infettanti. Se ingerite dai mammiferi, liberano per azione dei succhi gastrici gli sporozoiti in esse contenuti che si trasformano nell'intestino in tachizoiti. Questi raggiungono per via ematogena tutti i tessuti dell'ospite dove si replicano molto velocemente causando una forte risposta infiammatoria e le eventuali manifestazioni cliniche della malattia (linfadenopatia, febbre, astenia). Durante la gravidanza i tachizoiti possono essere trasmessi dalla madre al feto per via transplacentare. Sotto la pressione del sistema immunitario, i tachizoiti si trasformano in bradizoiti che rimangono vitali per tutta la vita dell'ospite all'interno di cisti tissutali presenti nel sistema nervoso e nella muscolatura scheletrica e cardiaca dell'ospite. I bradizoiti, sono morfologicamente identici ai tachizoiti, ma si moltiplicano più lentamente, esprimono molecole diverse e sono diversi funzionalmente. I bradizoiti possono trasformarsi di nuovo in tachizoiti e causare una riattivazione dell'infezione nei pazienti immunodepressi. Le cisti e le oocisti costituiscono la fonte di infezione alimentare per l'ospite intermedio e definitivo, ma possono essere inattivate dal calore. Il congelamento sembra ridurre il numero di cisti infettanti ma non le inattiva completamente (1,2).

La toxoplasmosi viene contratta soprattutto attraverso l'ingestione di carne cruda o poco cotta contenente cisti tissutali, oppure attraverso l'ingestione di acqua, frutta, verdura, molluschi o il contatto con terra contaminata da oocisti (3,4).

Sono stati individuati tre differenti ceppi di toxoplasma : il tipo I, il tipo II, più diffuso in Europa, ed il tipo III che viene più facilmente isolato dagli animali. In altre aree come il Sud America i ceppi mostrano una maggiore variabilità genetica e sono presenti anche genotipi atipici di solito molto più virulenti. Le manifestazioni cliniche e la gravità della malattia, l'eventuale reinfezione, dipendono da diversi fattori alcuni dei quali legati al parassita, come la virulenza del ceppo, la carica infettante, lo stadio vitale, la via di infezione e altri all'ospite come l'efficienza della risposta immunitaria, l'età, il sesso e fattori genetici (5).

Dati di sieroprevalenza indicano che circa il 58 % di donne in età fertile in Europa, il 51-72% in America Latina, il 54-77% in Africa sono positive per anticorpi antitoxoplasma. In Asia, Cina e Corea, così come nei paesi più freddi la sieroprevalenza è nettamente inferiore (4 -39 %). In questi

ultimi anni si è tuttavia notata una diminuzione della sieroprevalenza legata soprattutto alle mutate abitudini alimentari. Dati recenti ottenuti su una popolazione di 3074 gravide in Lombardia indicano una sieroprevalenza del 22,5% con un'incidenza dell'infezione in gravidanza piuttosto alta pari allo 0,9%. L'alta incidenza dell'infezione, nonostante la diminuzione di sieroprevalenza, potrebbe giustificare lo screening (6,7).

La trasmissione da uomo a uomo (tranne che nel caso di infezione verticale o di trapianto d'organo e un solo caso di trasmissione attraverso il latte materno) non è mai stata documentata (2,8).

La primoinfezione in gravidanza è nel 90% dei casi asintomatica ed autolimitante. Per questo motivo risulta molto difficile determinare il momento e la fonte di contagio. Il periodo di incubazione dura 4-21 giorni ed in caso di infezione sintomatica in genere i sintomi sono lievi e aspecifici (linfadenopatia di solito laterocervicale, astenia, febbre, mialgia). Più raramente la toxoplasmosi si accompagna a una sindrome simil-mononucleosica caratterizzata da febbre, mal di gola, cefalea e linfocitosi. L'accurata verifica della presenza di sintomi può essere utile per la datazione dell'infezione (9).

Di regola il passaggio dell'infezione dalla madre al feto avviene durante una prima infezione in gravidanza e può verificarsi in qualsiasi momento della gestazione. Solo in rari casi è stata descritta l'infezione congenita in nati da madri immunocompetenti con pregressa immunità (reinfezioni con ceppi diversi?) e in corso di riattivazioni in pazienti immunodepresse. L'infezione della placenta durante la parassitemia materna è un prerequisito per la trasmissione al prodotto del concepimento e il fattore più influente è lo sviluppo del circolo placentare, questa è la ragione per cui la percentuale di trasmissione aumenta con il progredire della gravidanza.

In caso di infezioni materne acquisite in epoca periconcezionale o nelle prime settimane di gestazione, soprattutto se trattate, il rischio trasmissione al feto è inferiore al 2%, mentre la frequenza di trasmissione è superiore al 60% nelle infezioni acquisite dalla madre nel terzo trimestre (9).

Epoca di trasmissione e gravità della toxoplasmosi congenita sono inversamente correlate. Infezioni congenite contratte precocemente possono indurre gravi danni al feto come aborto, ritardo di crescita, morte fetale, o parto pretermine. Al contrario infezioni congenite contratte durante il terzo trimestre risultano generalmente asintomatiche. La frequenza di infezioni subcliniche è pari all'85% circa. La diagnosi di infezione acuta nella madre dovrebbe essere fatta il più precocemente possibile. In questo modo sarebbe possibile iniziare tempestivamente la terapia al fine cercare di ridurre la frequenza e la gravità della toxoplasmosi congenita. L'efficacia della terapia è, tuttavia, ancora controversa per la mancanza di studi randomizzati. Alcuni autori hanno riportato che la terapia con spiramicina riduce il rischio di infezione connatale del 60%. Altri studi hanno, invece,

rilevato che la terapia non influenza l'incidenza dell'infezione e studi ancora più recenti hanno sottolineato che, solo se somministrata entro le prime 4 settimane dall'infezione materna, la terapia può ridurre il rischio di lesioni cerebrali nel prodotto del concepimento (10,11). Bisogna, inoltre, ricordare che la terapia modifica la cinetica della risposta anticorpale nella gravida (12,13).

1. MANAGEMENT PRE E IN GRAVIDANZA

Il Decreto Ministeriale DPR 245 del 10.09.1998 attualmente in vigore, prevede la partecipazione del SSN ai costi delle prestazioni specialistiche riferibili all'infezione da *Toxoplasma gondii* in epoca preconcezionale e durante la gravidanza.

In Italia lo screening sierologico per la toxoplasmosi è raccomandato dalle linee guida sulla gravidanza fisiologica pubblicate nel novembre 2010 e revisionate a settembre 2011 (Ministero della Salute, Istituto Superiore di Sanità e CeVEAS - http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1436_allegato.pdf). “Lo screening prenatale della toxoplasmosi è raccomandato e consiste in una sierologia al primo controllo prenatale, ripetuto ogni 4-6 settimane, se il primo esame risulta negativo, fino al termine della gravidanza. Le donne devono essere informate delle misure igieniche che possono evitare l'infezione”.

MISURE DI PREVENZIONE

La prevenzione può essere effettuata a tre livelli:

- **Prevenzione primaria.** E' volta a prevenire l'infezione nella madre attraverso misure igieniche e alimentari da adottare durante la gravidanza. Queste misure riassunte nell'allegato 1, dovrebbero essere portate a conoscenza di tutte le donne in età fertile preferibilmente prima della gravidanza e comunque il più precocemente possibile dopo il concepimento e dovrebbero essere seguite fino al parto. (14,15) In caso di infezione primaria (IgM positive, bassa avidità delle IgG) pregravidanza è opportuno attendere almeno 6 mesi prima di un'eventuale gravidanza (16).
- **Prevenzione secondaria.** Si basa sullo screening sierologico delle gestanti al fine di identificare precocemente e trattare quelle che acquisiscono l'infezione in gravidanza. La tempestiva identificazione dell'infezione materna consente di programmare il follow-up ecografico e verificare con amniocentesi l'eventuale trasmissione materno-fetale dell'infezione e di discutere con la donna le possibili opzioni terapeutiche (trattamento in utero dell'infezione fetale, interruzione terapeutica della gravidanza).
- **Prevenzione terziaria.** Consiste nella diagnosi, terapia , follow-up clinico e sierologico del neonato. Un'accurata e tempestiva diagnosi nel neonato infetto è fondamentale perché anche

neonati asintomatici possono sviluppare nel corso degli anni sequele tardive soprattutto corio retiniche (9).

DIAGNOSI

Poiché l'infezione è asintomatica nella maggior parte delle pazienti, la toxoplasmosi può essere diagnosticata indirettamente con metodi sierologici. Già 2 settimane dopo l'infezione è possibile rilevare anticorpi IgG, IgM, IgA ma esiste una grande variabilità individuale. Si raccomanda di eseguire i test prima possibile una volta appreso dello stato gravidico e sempre nello stesso laboratorio.

Screening: test di primo livello delle IgG e delle IgM specifiche: la determinazione di IgG e IgM specifiche antitoxoplasma va eseguita possibilmente prima della gravidanza o appena la donna si accorge di essere gravida e comunque entro le prime 10 settimane di età gestazionale. Si possono riscontrare quattro possibili quadri sierologici:

IgG negative IgM negative: assenza di immunità. Si consiglia la profilassi igienico alimentare e il controllo sierologico mensile, possibilmente fino ad un mese dopo il parto per evidenziare anche le infezioni più tardive.

IgG positive IgM negative: immunità da pregressa infezione. La paziente non deve più effettuare controlli né nell'attuale gravidanza né in quelle successive, a meno di un'eventuale immunocompromissione. Nel caso di gravide HIV positive e con severa immunocompromissione vanno effettuati controlli per evidenziare eventuali riattivazioni che possono comportare l'infezione da toxoplasma del feto.

IgG negative IgM positive: sier conversione in fase iniziale oppure falsa positività per IgM.

E' consigliato ripetere il controllo sierologico nello stesso laboratorio a distanza di 15-20 giorni per valutare una eventuale sier conversione delle IgG che insieme alla conferma delle IgM è sufficiente alla diagnosi di infezione primaria in atto. Poiché tuttavia la terapia può modificare la cinetica anticorpale, ritardando o addirittura inibendo la produzione di alcune classi immunoglobuliniche (IgG, IgA), in caso di trattamento, è opportuno effettuare già sul primo prelievo una diagnosi più approfondita con test di secondo livello (17). Gli esami di secondo livello sono appannaggio di laboratori di riferimento.

IgG positive IgM positive : poiché le IgM possono persistere per diversi mesi, bisogna cercare di datare l'infezione con test di secondo livello per quantificare il rischio fetale e definire le modalità di gestione della gravidanza (diagnosi prenatale, terapia, controllo e follow-up del neonato) oppure per tranquillizzare la paziente qualora l'infezione risulti antecedente la gravidanza (12,13,17,18).

Test di secondo livello (Immunoblot , test di avidità delle IgG)

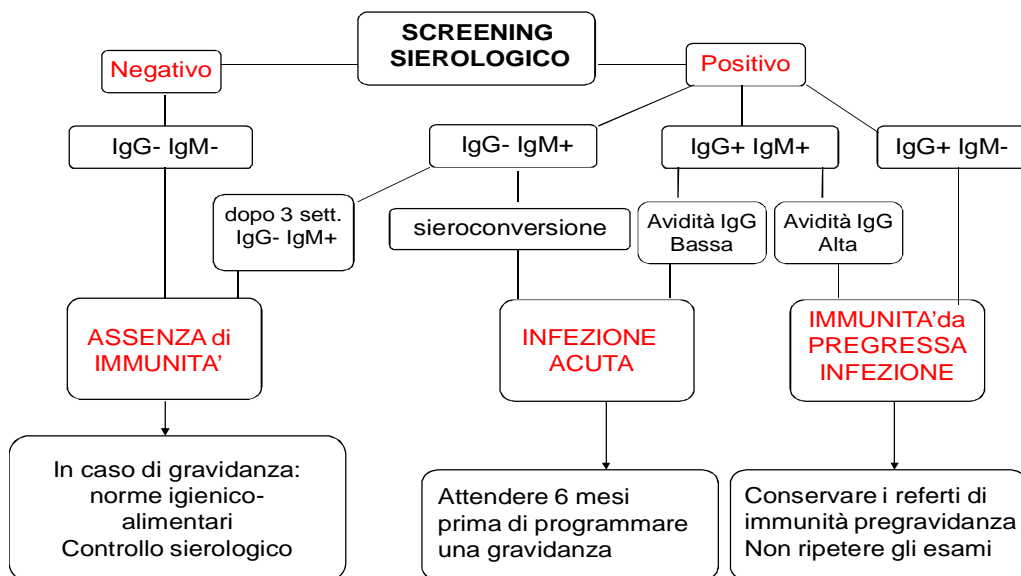
Come test di secondo livello possiamo considerare l'immunoblot (IB) per IgG e IgM e il test di avidità delle IgG. Il dosaggio di IgA, che si effettua di solito con metodi immunoenzimatici, può essere considerato un test di conferma dell'infezione in fase acuta, ma presenta anch'esso dei limiti, perché anche questi anticorpi possono persistere per diversi mesi e inoltre non sempre vengono prodotti. I test per IgA trovano il loro miglior impiego nelle riattivazioni e nella diagnosi di infezione nel neonato.

I test di immunoblot per la loro elevata sensibilità permettono di rilevare anticorpi IgG specifici prima dei test tradizionali e di evidenziare la specificità antigenica degli anticorpi IgM. Sono molto utili quindi per evidenziare siero conversioni in fase iniziale, anche se la lettura soggettiva richiede personale esperto (17).

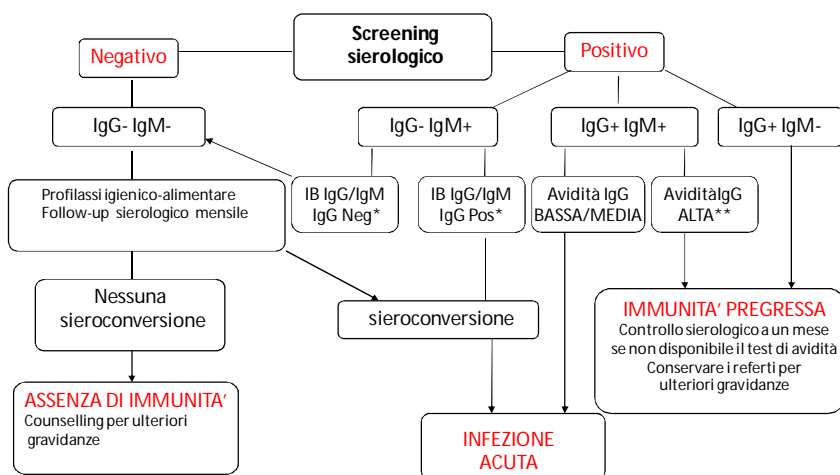
Il test di avidità delle IgG: il grado di avidità degli anticorpi aumenta progressivamente e lentamente nel tempo ed è sinonimo di maturazione della risposta immune. Occorrono in media circa 16-20 settimane dall'inizio dell'infezione primaria affinché il sistema immunitario produca anticorpi IgG completamente maturi e quindi ad alta avidità.

L'indice di avidità può essere espresso in percentuale o in valore assoluto. I limiti di bassa, intermedia e alta avidità variano a seconda del test utilizzato e sono inoltre influenzati dalla terapia, che ne ritarda la maturazione. Il test di avidità risulta un utile strumento diagnostico se eseguito all'inizio della gravidanza (entro le prime 12-16 settimane di gestazione), tenendo presenti le modificazioni legate alla terapia e la persistenza in alcuni soggetti di indici di avidità bassi o intermedi (15,18).

PERCORSO DIAGNOSTICO DELL'INFEZIONE DA *TOXOPLASMA GONDII* NELLA DONNA PRIMA DELLA GRAVIDANZA



PERCORSO DIAGNOSTICO DELL'INFEZIONE DA *TOXOPLASMA GONDII* NELLA DONNA IN GRAVIDANZA



* Nei successivi controlli settimanali in assenza di terapia
 ** Se il test viene eseguito nel primo trimestre di gravidanza

2. MANAGEMENT NEL FETO

Per lo studio del feto ci si può avvalere della diagnostica prenatale invasiva e dell'esame ecografico.

ESAMI STRUMENTALI

L'ecografia è una metodica indispensabile nella gestione clinica della toxoplasmosi in gravidanza. Deve essere eseguita da operatori esperti. La sensibilità della metodica non supera il 40%. Il riscontro di anomalie fetali è di norma ascrivibile ad infezioni contratte nella prima metà della gravidanza.

I segni da ricercare sono: ventricolomegalia (precoce), calcificazioni endocraniche (a distribuzione casuale), epatosplenomegalia, calcificazioni epatiche, idrocefalia, idrotorace, ascite, idrope, poliamnios, ispessimento placentare con calcificazioni, restrizione della crescita fetale intrauterina, cataratta (19). In caso di riscontro di segni ecografici il follow-up ecografico deve essere ravvicinato in considerazione della possibile rapida evolutività (20,21).

Durante il counselling va segnalato che il riscontro di un'anatomia fetale ecograficamente normale non è sufficiente a garantire un outcome neonatale favorevole. Inoltre un'anomalia strutturale può manifestarsi solo tardivamente e, per questo, deve essere impostato il follow-up ecografico prenatale.

L'ecografia va eseguita ogni quattro settimane dalla diagnosi sierologica, anche in caso di negatività dell'amniocentesi (22).

Infine, in caso di sospette anomalie all'ecografia o anomalie di natura od entità non sufficientemente chiara all'ecografia stessa, non prima delle 22-23 settimane di gestazione può essere proposta alla donna gravida la Risonanza Magnetica Fetale (RMF) al fine di ottenere ulteriori informazioni utili alla diagnosi e al counselling (Linee Guida SIEOG 2010: 3. Indicazioni allo studio RMF). L'esecuzione di questo esame è consigliata in casi selezionati e in centri con esperienza in RMF.

DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

Si propone la diagnosi prenatale invasiva in caso di primo infezione materna in gravidanza per verificare se l'infezione è stata trasmessa al prodotto del concepimento. In caso di positività della diagnosi prenatale invasiva in assenza di anomalie ecografiche fetali, si effettua un cambiamento dello schema terapeutico.

L'isolamento del protozoo dal liquido amniotico o dal sangue fetale in topo e/o coltura cellulare sono diagnostici di infezione congenita. La necessità di stabulari attrezzati e il lungo tempo di attesa

per la risposta insieme alla scarsa sensibilità dei test hanno fatto abbandonare questi esami nella routine diagnostica, anche se vengono ancora utilizzati per la tipizzazione dei ceppi.

Attualmente la diagnosi di infezione fetale si effettua mediante real time Polymerase Chain Reaction (PCR) su liquido amniotico. Il prelievo di sangue fetale è stato abbandonato perché più rischioso (rischio di aborto intorno al 2%) ed eseguibile solo dopo le 20 settimane di età gestazionale (23). Poiché nel sangue fetale è possibile effettuare accertamenti ematochimici e la determinazione delle IgM specifiche, in alcuni casi particolari la cordocentesi rimane un test di conferma.

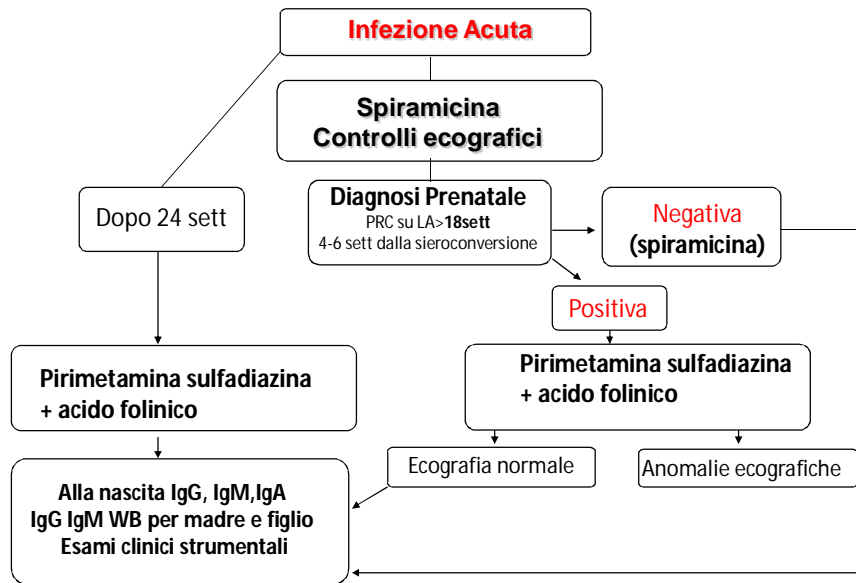
La sensibilità della PCR su liquido amniotico risulta influenzata da una serie di parametri, come l'appropriatezza del prelievo (che deve essere eseguito non prima di 4 meglio 6 settimane dall'esordio dell'infezione materna, ad almeno 18 settimane di età gestazionale per il basso rischio di perdita fetale, non deve essere ematico e in quantità non inferiore ai 10 ml), la conservazione, l'eventuale terapia materna e la tecnica impiegata. La PCR real time va eseguita almeno in duplicato sul sedimento ottenuto dalla centrifugazione di 10 ml di liquido amniotico.

In letteratura alla PCR eseguita con gene target B1 viene attribuita una sensibilità del 64% con un valore predittivo negativo dell'87,8%, una specificità e un valore predittivo positivo del 100%. La sensibilità varia con l'età gestazionale ed è significativamente più alta per le infezioni contratte tra le 17 e 21 settimane di età gestazionale (24).

Attualmente la metodica PCR in sistema real time e l'uso come target di regioni del gene AF146527, che è ripetuto 300 volte nel genoma di *Toxoplasma gondii*, hanno sicuramente migliorato le performance diagnostiche del test molecolare. Attualmente si ritiene che il test, eseguito correttamente abbia una specificità del 100 % e una sensibilità pari al 92% e che queste non varino al variare della settimana di gestazione in cui la madre ha contratto l'infezione (25).

In caso di anomalie fetali accertate la diagnosi prenatale invasiva può essere proposta anche più tardivamente

Percorso diagnostico per la gravida con infezione acuta/sieroconversione e nel feto



STRATEGIE DI TRATTAMENTO

In caso di infezione materna certa o sospetta è normalmente indicato un trattamento con spiramicina, alla dose di 3 milioni di unità ogni 8 ore, allo scopo di prevenire la trasmissione materno-fetale dell'infezione. Questa prassi terapeutica si basa sui risultati di studi osservazionali che hanno mostrato una potenziale capacità della spiramicina nel prevenire la trasmissione materno fetale dell'infezione. Perché tale trattamento risulti efficace è tuttavia importante che la terapia venga iniziata il più precocemente possibile dopo l'infezione materna. È stato infatti dimostrato che un trattamento iniziato entro 3 settimane dalla sieroconversione riduce il rischio di trasmissione rispetto ad un trattamento iniziato più tardivamente (9,10). In assenza di infezione fetale la terapia con spiramicina va proseguita senza interruzioni fino al parto. La terapia con spiramicina è generalmente ben tollerata. Gli effetti indesiderati sono rari e rappresentati da disturbi gastrointestinali (nausea, vomito, diarrea), reazioni cutanee da ipersensibilità e occasionalmente parestesie transitorie.

In caso di infezione fetale accertata è indicato modificare il trattamento, sostituendo la spiramicina con l'associazione pirimetamina-sulfadiazina. A differenza della spiramicina, questi farmaci sono infatti capaci di superare in modo significativo la barriera placentare, potendo quindi curare già in utero l'infezione fetale. La pirimetamina si somministra per via orale alla dose di 50 mg/die e la sulfadiazina di 3 g/die ripartiti in 2-3 somministrazioni. Questo trattamento è controindicato nel primo trimestre di gravidanza per la potenziale teratogenicità della pirimetamina e dovrebbe essere evitato in prossimità del termine della gravidanza per il rischio di kernicterus nel neonato legato al sulfamidico. L'uso di questa associazione richiede inoltre un supplemento di folati (calcio folinato

10-15 mg/die per os) per contrastare gli effetti tossici della pirimetamina sulla emopoiesi e periodici controlli dell'emocromo. Rispetto alla spiramicina la pirimetamina-sulfadiazina comporta un maggiore rischio di effetti indesiderati (alterazioni dell'emopoiesi, disturbi gastrointestinali, disturbi neurologici, danno epatico e renale, reazioni da ipersensibilità), che sono spesso causa di interruzione del trattamento. Se tollerata, la terapia con pirimetamina-sulfadiazina dovrebbe essere assunta fino al termine della gravidanza. Si ritiene tuttavia opportuno sospendere la terapia con pirimetamina-sulfadiazina due settimane circa prima della data prevista del parto, proseguendo il trattamento fino al termine con la spiramicina, per evitare nel neonato eventuali effetti tossici indotti dal sulfamidico. La terapia con pirimetamina- sulfadiazina può essere giustificata, a meno di una diagnosi prenatale invasiva negativa, anche quando la madre acquisisce la toxoplasmosi nel terzo trimestre di gravidanza, a causa dell'elevata frequenza di trasmissione materno-fetale dell'infezione in questa epoca gestazionale. Gli schemi terapeutici della toxoplasmosi in gravidanza sono riassunti nell'allegato 2.

Da ricordare infine che la pirimetamina non è disponibile in Italia come specialità e che va pertanto reperita all'estero o preparata come galenico dal farmacista.

4. MANAGEMENT NEL NEONATO

Nel mondo l'incidenza dell'infezione congenita è di 2-3 casi ogni 1000 nati. In Italia uno studio del 2009 riporta un'incidenza dell'infezione congenita del 2,4 ‰ (26). L'infezione da *Toxoplasma gondii* viene trasmessa dalla madre al feto approssimativamente nel 30% dei casi. Circa l'85 % delle infezioni congenite sono asintomatiche alla nascita, ma se non trattate possono comportare sequele tardive (corioretiniti e ritardo di sviluppo psicomotorio). I principali sintomi sono : idrocefalia, microcefalia, calcificazioni intracraniche, corioretinite, strabismo, cecità, sordità, epilessia, ritardo psicomotorio. Nei casi più gravi i segni e i sintomi possono essere aspecifici e comuni ad altre infezioni congenite, come quelle da CMV, herpes simplex , rosolia e sifilide. In tutti i casi di infezione, anche asintomatica, la terapia di elezione è rappresentata da pirimetamina-sulfadiazina, che va continuata per almeno un anno e associata alla somministrazione di acido folinico (9).

DIAGNOSI

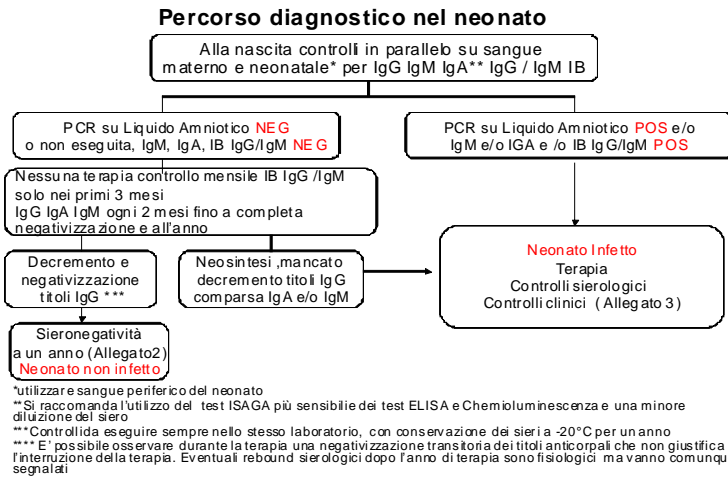
La diagnosi definitiva nel neonato in assenza di marcatori di infezione come la positività della PCR su liquido amniotico e/o la presenza di anticorpi specifici IgA e/o IgM, o IgG di sintesi neonatale ancora oggi si basa sulla positività per anticorpi antitoxoplasma all'anno di età, mentre la loro negatività esclude l'infezione (a meno che il bambino non sia stato trattato durante il primo anno di

vita). Si consiglia quindi per tutti i neonati in cui la diagnosi non è definita il follow-up sierologico mensile per i primi 3 mesi e poi ogni 2 mesi fino alla completa negativizzazione che va confermata il mese successivo, e un controllo definitivo all'anno di età. I test vanno eseguiti nello stesso laboratorio e con la stessa metodica per verificare il corretto decremento dei titoli anticorpali e si consiglia di conservare i sieri fino al termine del follow-up. Fra i test per IgM, i risultati migliori si ottengono con il test IgM-ISAGA soprattutto se questo, analogamente ai test immunoenzimatici e all'IgA-ISAGA viene eseguito con una diluizione del siero in esame inferiore a quella dell'adulto. Ricordiamo inoltre che è assolutamente inutile l'esecuzione del test di avidità sul neonato nei primi mesi di vita perché il passaggio transplacentare delle IgG materne fa in modo che il test venga eseguito sugli anticorpi passivamente acquisiti dalla madre. I test diretti come l'isolamento e la PCR su sangue cordonale, periferico e placenta hanno mostrato scarsa sensibilità. Solo infezioni contratte molto vicino all'epoca del parto possono dare infatti una parassitemia evidenziabile nel sangue cordonale o periferico del neonato. Il riscontro del protozoo nella placenta può invece non essere indicativo di una infezione congenita in quanto non sempre la colonizzazione placentare è seguita dalla trasmissione al feto dell'infezione.

In letteratura è riportato che alla nascita, con i test tradizionali, si riesce a fare diagnosi solo nell'85% (95% CI, 71-99%) dei neonati la cui madre non è stata trattata e nel 73,5% (95% CI, 62-82%) dei neonati la cui madre ha effettuato la terapia (9,27). Negli ultimi anni la capacità diagnostica è molto migliorata da quando alla sierologia tradizionale vengono affiancati i test di immunoblot per IgG e IgM. I test di immunoblot permettono di evidenziare nel pool di anticorpi specifici antitoxoplasma del neonato quelli di neosintesi caratterizzati da una specificità antigenica diversa sia da quelli materni (al parto) sia, nei mesi successivi, da quelli presenti alla nascita. Il test è però molto sensibile, richiede personale con esperienza per una corretta lettura e non può essere effettuato oltre i primi 3 mesi di vita perché poi diviene aspecifico (28).

I test immunologici (dosaggi di linfocine o valutazione di marcatori di attivazione dopo stimolazione con antigene toxoplasmico) messi a punto recentemente hanno il pregio di non essere influenzati dalla terapia ma sono ancora in fase sperimentale (29,30).

Presso i laboratori di riferimento, la diagnosi di infezione congenita viene posta nella grande maggioranza dei casi nei primi 3 mesi di vita ed è confermata dal follow-up sierologico IgG e IgM.



Alla valutazione sierologica va affiancata la valutazione clinico-strumentale e di altri parametri di laboratorio (esami ematochimici, ecografia fontanellare, esame audiometrico, visita oculistica, EEG, TC) (31) (Allegato 3).

MANIFESTAZIONI CLINICHE

La sintomatologia classica, descritta da Wolf nel 1939 come triade: idrocefalia, calcificazioni intracraniche e corioretinite, è divenuta molto rara.(9) In circa l'85 % dei casi l'infezione congenita è asintomatica alla nascita. I casi lievi sono generalmente non facilmente riconosciuti (salvo anamnesi materna evocatrice di rischio). Quando nel neonato l'infezione è clinicamente manifesta, è generalmente severa. Nei casi più gravi le manifestazioni cliniche possono essere quelle di una infezione generalizzata: anemia, trombocitopenia, ittero, epatosplenomegalia, linfadenopatia, eosinofilia, rash cutaneo, prematurità, ritardo di crescita intrauterina; si tratta di segni e sintomi del tutto aspecifici, assimilabili a quelle di altre infezioni congenite: Citomegalovirus (CMV), Herpes Simplex, Rosolia e sifilide. In altre circostanze la sintomatologia può essere prettamente neurologica: si hanno nistagmo, convulsioni, aumento abnorme della circonferenza cranica o microcefalia, fontanella anteriore pulsante, convulsioni.

Complessivamente il rischio di segni clinici nei neonati infetti è del 19%, 14% le lesioni oculari e 8% quelle intracraniche. L'interessamento del sistema nervoso centrale (SNC) e dell'occhio riguarda oltre il 60% dei neonati infetti sintomatici (9,10).

Le lesioni oculari sono al primo posto tra le manifestazioni di una Toxoplasmosi congenita; la corioretinite attiva o quiescente, con lesioni singole o multiple, unilaterali o bilaterali, è un processo infiammatorio che comincia negli strati più profondi della retina e secondariamente interessa la coroide. La reazione infiammatoria esita in distruzione e disorganizzazione degli strati retinici. La patogenesi è la rottura di cisti nei tessuti oculari già infettati con liberazione di trofozoiti che

invadono le cellule adiacenti. Altre manifestazioni oculari che possono essere associate alla corioretinite sono: strabismo, microftalmia, cataratta, distacco di retina, atrofia del nervo ottico.

Tra le lesioni intracraniche si possono avere dilatazione ventricolare (3,8-2%) e/o calcificazioni cerebrali (11,4-9%), le forme altamente distruttive possono dare poroencefalia (9).

TRATTAMENTO E VALUTAZIONE CLINICO-LABORATORISTICO-STRUMENTALE DEL BAMBINO CON INFEZIONE CONGENITA DA TOXOPLASMA GONDII

I neonati che, in base alla diagnosi prenatale o postnatale risultano infetti, vengono posti in terapia con l'associazione pirimetamina e sulfamidico. Il protocollo che impiega pirimetamina e sulfadiazina differenzia lo schema terapeutico per la pirimetamina a seconda che si tratti di infezione congenita subclinica o clinica. La pirimetamina nella forma subclinica, è somministrata tutti i giorni per i primi 2 mesi di trattamento (dosaggio : 2mg/Kg/die per i primi 2 giorni, quindi 1mg/Kg/die in unica somministrazione) e 3 volte alla settimana (lunedì, mercoledì, venerdì) nei rimanenti 10 mesi, con dosaggio invariato. Nella forma clinicamente evidente, è prescritta 3 volte alla settimana solo dopo 6 mesi di trattamento quotidiano continuativo. La sulfadiazina si somministra per tutti i 12 mesi di trattamento (dosaggio: 100mg/Kg/die in 2 somministrazioni giornaliere). Un secondo protocollo terapeutico prevede l'associazione della pirimetamina con la sulfadossina, sulfamidico con emivita più lunga rispetto alla sulfadiazina. Questo consente di ridurre la frequenza delle somministrazioni: pirimetamina (dosaggio 1,25mg/Kg/ogni 10 giorni) e sulfadossina (25mg/Kg/ ogni 10 giorni). La durata totale del trattamento è di 12 mesi e in entrambe i protocolli è imperativa la supplementazione di acido folinico (25 mg 2 volte alla settimana) per 12 mesi (32) (Allegati 4, 5, 6).

Tra gli effetti collaterali della terapia, temibile è la tossicità midollare con neutropenia reversibile (30%), anemia (20%) oltre a nausea e/o vomito; non si hanno comunicazioni di tossicità ad insorgenza tardiva. Sono state descritte rare manifestazioni cutanee anche gravi, da intolleranza al sulfamidico (soprattutto con i long acting : sulfadossina, sulfametapirazina), quali: rash, epidermolisi, sindrome di Lyell, che hanno imposto la sospensione della terapia.

Prima di intraprendere la terapia occorre escludere sempre un deficit di G6PD, in seguito una regolare sorveglianza della crasi ematica è indispensabile , ogni 15 giorni nel primo mese e poi una volta al mese. In caso di neutropenia (<500/mm) si rende necessaria la temporanea sospensione della terapia specifica, occorre invece proseguire la somministrazione dell'acido folinico e ripetere il controllo ematologico dopo 15 giorni circa. In caso di intolleranza alla terapia con pirimetamina sulfadiazina è possibile utilizzare la azitromicina anche se non esistono protocolli codificati. In presenza di segni clinici e/o strumentali di processi infiammatori in fase attiva: encefalite o corio

retinite, sarà utile associare alla terapia di base un corticosteroide (prednisone :-1,5mg/kg/die in 2 dosi per os), che andrà gradualmente sospeso dopo la risoluzione dei segni infiammatori (32,33).

La spiramicina impiegata in passato nella terapia della toxoplasmosi congenita , non deve essere più utilizzata, poiché non ne è mai stata dimostrata l'efficacia, ma soprattutto perché può causare un allungamento dell'intervallo QT dell'ECG, sindrome che può dare aritmie maligne e morte improvvisa della toxoplasmosi congenita, poiché non è stata mai dimostrata la sua efficacia e può causare un allungamento del QT con rischio quindi di morte improvvisa (34).

Benché l'infezione congenita sia asintomatica alla nascita in circa l'85 % dei casi, la possibilità che nuove lesioni corioretiniche possano comparire nel follow-up a lungo termine in età pediatrica, o che nel corso degli anni si abbia la riattivazione di precedenti focolai, riguarda circa il 25% degli infetti. E' pertanto opportuno eseguire il controllo del fondo oculare almeno una volta all'anno per tutta l'età pediatrica (35,36).

Recenti dati bibliografici evidenziano che l'associazione tra l'infezione congenita da *T. gondii* e il successivo rischio di perdita dell'udito è correlata alla precocità ed all'adeguatezza del trattamento; il follow-up pertanto prevede un controllo alla nascita e successive valutazioni a sei e a dodici mesi (37). Dal punto di vista neurologico, il follow-up si prosegue nei primi anni di vita fino al raggiungimento delle tappe dello sviluppo neuro-comportamentale; quando non vi siano lesioni cerebrali evidenziabili alla nascita all'ecografia cerebrale non si avranno sequele neurologiche (9).

In corso di terapia si può verificare la negativizzazione transitoria dei titoli anticorpali, che non autorizza comunque l'interruzione del trattamento (38).

Il rebound anticorpale, che si verifica nel 70-97% dei casi, alcuni mesi dopo il completamento di un anno di terapia di un neonato infetto, non ha di solito rilevanza clinica. Qualora il rebound anticorpale si verifichi tardivamente (dopo i due anni di vita), si consiglia di eseguire un esame del fondo oculare per escludere che si tratti di una proliferazione del parassita (33) (Allegato 3).

5. INDICAZIONI AL LABORATORIO

La corretta esecuzione e refertazione della diagnostica di laboratorio è sicuramente di grande importanza per il clinico che deve fornire il counselling ai pazienti. In questo capitolo sono proposte al laboratorio alcune indicazioni al fine di migliorare ed implementare la qualità e la trasmissibilità ai clinici dei risultati delle indagini diagnostiche correlate alla problematica in oggetto.

TEST SIEROLOGICI DI SCREENING

- I test sierologici di screening impiegati devono avere caratteristiche di elevata sensibilità (>>95%) e specificità (>>95%) e la performance analitica del sistema in uso deve essere verificata da adeguati programmi di qualità interni ed esterni (CQI e VEQ).

I test sierologici di screening devono essere eseguiti su piattaforme automatizzate con trasmissione diretta dei risultati al sistema informatico del laboratorio.

Sul referto devono essere sempre indicati il risultato numerico, la metodica utilizzata, le unità di misura ed i valori di riferimento per l'interpretazione dei risultati.

TEST MOLECOLARI

- I test molecolari di PCR impiegati devono essere nel format real time, devono avere caratteristiche di elevata sensibilità e specificità e la performance analitica del sistema in uso deve essere verificata da adeguati programmi di qualità interni ed esterni europei (CQI e VEQ). Preferenzialmente le procedure di estrazione, amplificazione e rilevazione devono essere basate su piattaforme automatizzate. I test vanno eseguiti almeno in duplicato.

Si devono utilizzare test di PCR real time con marchio CE.

Sul referto devono essere sempre indicati il risultato e la metodica utilizzata.

CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Si raccomanda di conservare per almeno un anno a -20°C i campioni di siero provenienti da donne in gravidanza che sono risultati positivi alla ricerca degli anticorpi specifici IgG e IgM anti *Toxoplasma* e da neonati nati da madri con infezione da *Toxoplasma*. Nei casi di difficile interpretazione la loro conservazione permette retrospettivamente l'esecuzione di esami di secondo livello presso laboratori di riferimento o di ritestare contemporaneamente campioni con risultati discordanti.

6. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. *Toxoplasma gondii* Louis M. Weiss and Kami Kim eds Academic Press London 2007.
2. Tenter AM, Hecker AR et al. *Toxoplasma gondii* : from animals to humans. Int J Parasitol 2000; 30:1257-58.
3. Putignani L, Mancinelli L et al. Investigation of *Toxoplasma gondii* presence in armed shellfish by nested PCR and real time PCR Fluorescent Amplicon Generation Assay. (FLAG) Exp Parasitol 2011; 127:409-17.
4. Jones JL, Dargelas V et al. Factors for *Toxoplasma gondii* infection in the United States. CID 2009;49:878-84.
5. Elbez-Rubistein A, Ajzenberg D et al. Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection and review. J Infect Dis 2009;199: 280-5.
6. Elsheika HM. Congenital toxoplasmosis: priorities for further health promotion action. Public Health 2008;122: 335-53.
7. De Paschale M, Agrappi C et al. Management of *Toxoplasma gondii* screening in pregnancy: light and shade. Microbiologia Medica 2008; 23:178-83.
8. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis Lancet 2004; 363: 1965-76.
9. Remington JS, McLeod R et al. Toxoplasmosis. In Infectious diseases of the fetus and newborn infant. Remington & Klein eds. 6th Elsevier Saunders Philadelphia 2006: 980-1091.
10. Syrocot Study Group. Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. Lancet 2007; 369: 115-21.
11. Cortina-Borja M, Tan HK et al. (EMSCOT) Prenatal treatment for serious neurological sequelae of congenital toxoplasmosis : an observational prospective cohort study PLoS Med. 2010; 7: e1000351.
12. Sensini A. *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis. Clin Microbiol Infect. 2006; 12: 504-12.
13. Meroni V, Genco F et al. Spiramycin treatment of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women impairs the production and the avidity maturation of *T. gondii*-specific immunoglobulin G antibodies. Clin Vaccine Immunol. 2009; 16: 1517-20.
14. Gollub EL, Leroy V et al. European Toxoprevention Study group (EUROTOXO) Effectiveness of health education on Toxoplasma-related knowledge, behavior and risk of seroconversion in pregnancy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2008;136: 137-45.
15. Bruegelmans M, Naessens A et al. Prevention of toxoplasmosis during pregnancy- an epidemiologic survey over 22 consecutive years. J. Perinat. Med. 2004; 32: 211-4.

16. Montoya JG Remington J S. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. Clin Infect Dis. 2008; 47 : 554-66.
17. Franck J, Garin J et al. LDBio-Toxo II immunoglobulin G western-blot confirmatory test for anti-toxoplasma antibody detection. J.Clin.Microbil.2008; 46: 2334-8.
18. Petersen E, Borobio MV et al. European multicentre study of the LIAISON automated diagnostic system for determination of specific IgG , IgM and IgG –avidity index in toxoplasmosis. JClinMicrobiol. 2005; 43: 1570-74.
19. Estrada M, De la Torre A et al. Prenatal ultrasound diagnosis of cataracts in a case of congenital toxoplasmosis. Rev Colomb Obstet Ginecol.2010; 61: 267-272.
20. Hohlfeld P, Mac Aleese M et al. Fetal toxoplasmosis: ultrasonographic signs Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. 1991; 1: 241–244.
21. Gay Andrieu F, Marty P et al. Fetal toxoplasmosis and negative amniocentesis: necessity of an ultrasound follow-up. Prenat Diag 2003; 23: 558-60.
22. Villena I, Boey JP et al. Congenital toxoplasmosis: necessity of clinical and ultrasound follow-up despite negative amniocentesis. Prenat Diagn. 2003; 23: 1098-9.
23. Odibo AO, Gray DL et al. Revisiting the fetal loss after the second trimester genetic amniocentesis : a single center’s 16 years experience. Obstet. Gynecol. 2008; 111: 589-91.
24. Romand S, Chosson M et al. Usefulness of quantitative polymerase chain reaction in amniotic fluid as early prognostic marker of fetal infection with *Toxoplasma gondii*. Am. J. Obstetr. Gynecol. 2004; 190: 797-802.
25. Wallon M , Franck J et al. Accuracy of real-time polymerase chain reaction for *Toxoplasma gondii* in amniotic fluid. Obstet. Ginecol .2010; 115: 127-33.
26. Stagni L, Romano MA et al. Prenatal screening for congenital toxoplasmosis in Campania: preliminary report on activities and results. Mem Inst Oswaldo Cruz.2009; 104: 374-7.
27. Gilbert RE, Thalib L et al. Screening for congenital toxoplasmosis; accuracy of immunoglobulin M and immunoglobulin A after birth. J Med Screen. 2007; 14: 8-12.
28. Tridapalli E, Capretti M et al. Congenital toxoplasmosis the importance of the western blot method to avoid unnecessary therapy in potentially infected newborns. Acta Paediatr.2008; 97: 1298-300.
29. Ciardelli L, Meroni V et al. Early and accurate diagnosis of congenital toxoplasmosis. Pediatr. Infect. Dis. J. 2008; 27: 125-9.
30. Chapey E, Wallon M et al. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by using a whole-blood gamma interferon release assay. J. Clin. Microbiol. 2010; 48: 41-5.
31. McLeod R, Kieffer F et al. Why prevent, diagnose and treat congenital toxoplasmosis? Mem

- Inst Oswaldo Cruz 2009; 104: 320-44.
32. The National Collaborative Chicago-Based, Congenital Toxoplasmosis Study. Outcome of Treatment for Congenital Toxoplasmosis:1981-2004 Clin. Infect. Dis. 2006; 42: 1383-94.
 33. Garcia-Méric P, Franck J et al. Prise en charge de la toxoplasmose congénitale en France: donne actuelles. La Presse Medicale 2010; 39: 530-8.
 34. Stramba-Badiale M, Nador F et al. QT interval prolongation and risk of life-threatening arrhythmias during toxoplasmosis prophylaxis with spiramycin in neonates. Am Heart J. 1997; 133: 108-11.
 35. Wallon M, Kodjikian L et al. Long term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. Pediatrics 2004; 113: 1567-72.
 36. Freeman K, Tan HK et al. (EMSCOT); Predictors of retinocoroiditis in children with congenital toxoplasmosis: European, prospective cohort study. Pediatrics 2008; 121: 1215-22
 37. Austeng ME, Eskild A et al. Maternal Infection with *Toxoplasma gondii* in pregnancy and the risk of hearing loss in offspring. Int J Audiol 2010; 49: 65-8.
 38. Jaisson-Hot I, Wallon M et al. Toxoplasmose congenitale: Negativation transitoire e la serologie. Press Med 2000; 30: 1001-4.

Ringraziamenti

Si ringrazia per i preziosi consigli forniti per la parte diagnostica la Prof. Alessandra Sensini, Università di Perugia.

Norme igienico alimentari per la gestante recettiva alla toxoplasmosi

- cuocere sempre molto bene le carni prima del consumo;
- evitare il consumo di carni crude o poco cotte, salumi crudi, frutti mare crudi, latte non pastorizzato, uova crude;
- lavare accuratamente frutta e verdure prima del consumo;
- lavare sempre le mani prima di mangiare e dopo aver toccato carni crude, frutta e verdure non lavate, terra o altri materiali potenzialmente contaminati con le feci del gatto;
- pulire accuratamente le superfici della cucina e gli utensili venuti a contatto con carni crude, frutta e verdure non lavate;
- usare sempre guanti di gomma in tutte le attività che possono comportare il contatto con materiali potenzialmente contaminati con le feci del gatto (giardinaggio, orticoltura, pulizia lettiera del gatto, ecc.);
- evitare il contatto con il gatto e soprattutto con le sue feci; in caso di presenza di un gatto in casa adottare le seguenti precauzioni: alimentare l'animale con cibi cotti o in scatola evitando che esca di casa, affidare ad altri la pulizia della sua cassetta, facendo sostituire frequentemente (meglio se quotidianamente) la lettiera e igienizzando il contenitore per almeno 5' con acqua bollente;
- evitare viaggi al di fuori dell'Europa e del Nord America
- eliminare dalla propria abitazione veicoli animali (mosche, scarafaggi, ecc.)

Terapia della toxoplasmosi in gravidanza

Terapia della toxoplasmosi in gravidanza

- Spiramicina 9.000.000 UI/die per via orale suddivise in 3 dosi (1 cp da 3.000.000 UI ogni 8 ore) fino al termine della gravidanza.

Terapia della toxoplasmosi in gravidanza in caso di infezione fetale accertata

- Pirimetamina 50 mg/die per via orale in un'unica dose
- Sulfadiazina 3 g/die per via orale suddivisi in 2-3 dosi
- Acido folinico 10-15 mg/die per via orale

La terapia va effettuata in modo continuativo fino a d circa 2 settimane dal termine della gravidanza, con ripresa della spiramicina fino al parto.

Terapia della toxoplasmosi in gravidanza in caso di infezione materna acquisita dopo 24 settimane di gestazione (infezione fetale non accertata)

- Pirimetamina 50 mg/die per via orale in un'unica dose
- Sulfadiazina 3 g/die per via orale suddivisi in 2-3 dosi
- Acido folinico 10-15 mg/die per via orale

Terapia da effettuare a cicli di 3-4 settimane alternati con 2 settimane di spiramicina

Programmare i cicli in modo che l'ultimo ciclo di pirimetamina-sulfadiazina si concluda 2 settimane circa prima del termine della gravidanza riprendendo fino al parto la spiramicina.

Follow-up del neonato a rischio (senza segni di infezione)

Tempo (mesi)	0	1	2	3	5*	7*	12
Esame Clinico	X	X	X	X	X	X	X
Esami Sierologici	X	X	X	X	X	X	X
Eco Cerebrale	X			X**			
Visita Oculistica	X			X**			
Audiometria	X			X**			
Visita Neurologica	X			X**			

*Ogni 2 mesi fino a completa negativizzazione.

** Se ritenute necessarie in attesa di definizione della diagnosi.

Follow-up del neonato infetto

Tempo (mesi)	0	1	2	3	6	9	12	2° anno	>2 anni
Esame Clinico	X	X	X	X	X	X	X	2	1
Esami Sierologici	X	X	X	X	X		X	2	1
Eco Cerebrale	X	X	X	X					
Visita Oculistica	X			X	X		X	2	1
Audiometria	X				X		X	X	
Visita Neurologica	X			X	X		X		X

APRILE 2012

PROTOCOLLO 1 (Pirimetamina+Sulfadiazina)
Terapia del neonato con infezione sintomatica

- **PIRIMETAMINA**
1 mg/kg/die per 6 mesi,
poi 3 volte alla settimana per altri 6 mesi
- **SULFADIAZINA**
100 mg/Kg/die in 2 somministrazioni, per 12 mesi
- **ACIDO FOLINICO** 25 mg 2 volte alla settimana

PROTOCOLLO 1 (Pirimetamina+Sulfadiazina)
Terapia del neonato con infezione asintomatica

- **PIRIMETAMINA**
1 mg/kg/die per 2 mesi,
poi 3 volte alla settimana per 10 mesi
- **SULFADIAZINA**
100 mg/Kg/die in 2 somministrazioni, per 12 mesi
- **ACIDO FOLINICO** 25 mg 2 volte alla settimana

PROTOCOLLO 2 (Pirimetamina+Sulfadossina)

• **PIRIMETAMINA**

1,25 mg/Kg ogni 10 giorni, per 12 mesi

• **SULFADOSSINA**

25 mg/Kg ogni 10 giorni, per 12 mesi

• **ACIDO FOLINICO** 25 mg 2 volte alla settimana

Raccomandazioni: infezione da *Toxoplasma gondii* in gravidanza

1. Si raccomanda che lo screening sierologico preconcezionale e/o in gravidanza venga eseguito mediante la ricerca di anticorpi IgG e IgM antitoxoplasma. I test impiegati devono avere caratteristiche di elevata sensibilità e specificità ed essere eseguiti su piattaforme automatizzate con invio automatico dei risultati al sistema informatico del laboratorio (II-2,B; III,C).
2. Si raccomanda l'esecuzione dello screening sierologico IgG e IgM anti-toxoplasma entro le 10 settimane di gestazione (III,C).
3. La gravida e la donna sieronegativa per anticorpi anti-toxoplasma che pianifichi una gravidanza deve essere informata sulle norme igieniche-alimentari da adottare per prevenire l'infezione e sulla necessità di effettuare i controlli sierologici mensili in gravidanza (II-1,B). Si raccomanda l'esecuzione dei test sempre nello stesso laboratorio, e la conservazione dei sieri per almeno un anno (III,C).
4. Non sono necessari ulteriori controlli sierologici al riscontro di positività per IgG e negatività per le IgM antitoxoplasma (infezione pregressa) se la ricerca viene eseguita prima della gravidanza o nelle prime 10 settimane di gestazione (III,C).
5. E' opportuno differire di almeno 6 mesi la programmazione di una gravidanza in caso di diagnosi certa di infezione primaria da *Toxoplasma gondii* (III,C).
6. La sola positività del test per IgM non deve essere considerata indice di infezione primaria, ma è indicata l'esecuzione di test di secondo livello (immunoblot, test di avidità) per una miglior definizione diagnostica (II-2,B).
7. Si ricorda che un alto indice di avidità delle IgG esclude l'infezione primaria in gravidanza solo se eseguito nelle prime 12-14 settimane di gestazione.
8. La terapia con spiramicina (terapia di elezione) deve essere somministrata quanto prima, alla diagnosi di infezione primaria. La spiramicina va somministrata il prima possibile anche nel solo sospetto di infezione, per limitare eventuali gravi sequele neurologiche al neonato (II-1,B). La gravida deve essere contestualmente informata della possibilità della diagnosi prenatale invasiva (III,C).
9. L'amniocentesi va eseguita 4-6 settimane dopo la data presunta del contagio materno e non prima di 18 settimane compiute di gestazione (II-3,B). Un'amniocentesi positiva è indice di infezione fetale. Un'amniocentesi negativa non esclude totalmente la possibilità di infezione del feto e di conseguenza si raccomanda il follow-up del neonato (II-1,B).
10. I test di PCR utilizzati per la diagnosi di infezione fetale devono avere come gene target il gene AF146527 ed essere in real time (II-1,B). Il test va eseguito almeno in duplicato sul sedimento ottenuto dopo centrifugazione di 10 ml di liquido amniotico. Si consiglia l'impiego

periodico dei controlli di qualità europei per verificare le performance analitiche del sistema in uso (III,C).

11. Dopo le 18 settimane di gestazione compiute in caso di infezione fetale accertata è indicata la somministrazione dell'associazione pirimetamina sulfadiazina + acido folinico (dopo aver escluso un deficit di G6PDH). La terapia con pirimetamina e sulfadiazina va interrotta 2 settimane almeno prima del termine della gravidanza con ripresa della terapia con spiramicina fino al parto (III,C).
12. Dopo le 20 settimane di gestazione l'ecografia va eseguita ogni quattro settimane, anche in caso di negatività dell'amniocentesi. In caso di riscontro di segni ecografici sospetti, il follow-up ecografico deve essere ravvicinato in considerazione della possibile rapida evolutività (II-3,B).

DIREZIONI FUTURE

Numerose domande in questo campo rimangono senza risposte sostenute da robusti studi clinici.

Studi futuri sono necessari per:

- standardizzare i metodi diagnostici;
- perfezionare la datazione dell'infezione approfondendo lo studio della cinetica del test di avidità delle IgG;
- verificare l'efficacia delle terapie in gravidanza nella prevenzione della trasmissione dell'infezione dalla madre al feto e nella riduzione della severità del danno fetale;
- identificare nuovi principi farmacologici di prevenzione e trattamento.

Raccomandazioni: infezione da *Toxoplasma gondii* nel neonato

1. Un neonato viene considerato infetto se:
 - **alla nascita** ha anticorpi IgM e/o IgA specifici anti-toxoplasma (*II-1,B*) e/o la madre ha avuto una PCR positiva sul liquido amniotico (*II-1,B*) e/o il test di immunoblot dimostra la presenza di anticorpi IgG, IgM e/o IgA di sintesi neonatale (*II-2,B*);
 - **nel follow-up** sierologico non si verifica decremento anticorpale (*II-1,B*);
 - **all'anno di vita** presenta anticorpi specifici antitoxoplasma (*II-1,B*).
2. Per avere risultati affidabili i test sierologici alla nascita vanno eseguiti su sangue periferico e non su sangue cordonale (*II-2,B*). Si raccomanda l'esecuzione dei test sempre nello stesso laboratorio e la conservazione dei sieri per almeno un anno (*III,B*)
3. Alla nascita i test di immunoblot vanno eseguiti comparando il siero del neonato con quello materno, nei tre mesi successivi comparando ciascun campione del bambino con quello ottenuto alla nascita (*III,C*).
4. Nel neonato a rischio con diagnosi non definita vanno sempre effettuati gli esami laboratoristico-strumentali e clinici (*II-2,B*).
5. Il neonato con una diagnosi non definita, non va trattato, ma monitorato sierologicamente con prelievi mensili per i primi 3 mesi ed in seguito ogni 2 mesi fino a completa negativizzazione degli anticorpi confermata all'anno di vita (*III,C*).
6. La terapia del neonato infetto si avvale della somministrazione di pirimetamina+sulfamidico+acido folinico per 12 mesi. Durante la terapia monitorare periodicamente la crasi ematica e i potenziali effetti collaterali (*II-2,B*).
7. La spiramicina non si utilizza nella terapia del neonato infetto o con diagnosi non definita (*III,C*).
8. Il neonato infetto deve eseguire il follow-up clinico-strumentale e laboratoristico comprensivo di visita neurologica ed esame audiometrico (*II-2,B*). L'esame del fondo oculare deve essere proseguito per tutta l'età pediatrica (*II-2,B*).
9. In corso di terapia la negativizzazione transitoria della sierologia del bambino infetto, non deve condizionare la sospensione del trattamento (*III,C*).
10. Il rialzo dei titoli anticorpali (rebound anticorpale), che si può verificare qualche mese dopo la sospensione della terapia nel neonato infetto, non ha rilevanza clinica (*III,C*).

DIREZIONI FUTURE

Numerose domande in questo campo rimangono senza risposte sostenute da robusti studi clinici.

Studi futuri sono necessari per:

- allestire nuovi test sierologici ed immunologici che permettano di fare diagnosi di infezione nel neonato entro le prime settimane di vita;
- verificare l'efficacia e la durata della terapia nel neonato infetto;
- identificare nuovi principi farmacologici dotati di minore tossicità per il trattamento del neonato infetto.

APRILE 2012