

ŠOLSKI CENTER VELENJE
GIMNAZIJA VELENJE
Trg mladosti 3, 3320 Velenje

MLADI RAZISKOVALCI ZA RAZVOJ ŠALEŠKE DOLINE

RAZISKOVALNA NALOGA

**PRVI POSKUSI UGOTAVLJANJA TOKSOPLAZME PRI PROSTOŽIVEČIH
MAČKAH V URBANIH PREDELIH ŠALEŠKE DOLINE**

Tematsko področje: BIOLOGIJA

Avtorici:

Ana Potočnik, 3. letnik

Karin Lešnik, 3. letnik

Mentorici:

Irena Štimac, univ. dipl. biol.

Sandra Hasić, dipl. varst. biol.

Velenje, 2017

Raziskovalna naloga je bila opravljena v sklopu gibanja Mladi raziskovalci za razvoj Šaleške doline in na Splošni in strokovni gimnaziji Velenje.

Terenski del raziskovalne naloge je bil opravljen v Mestni občini Velenje in v Občini Šoštanj. Laboratorijski del raziskovalne naloge je bil opravljen v molekularnem laboratoriju oddelka za Biodiverzitetu UP FAMNIT v okviru projekta STARBIOS 2 – Strukturno preoblikovanje za odgovorne bioznanosti, financiran iz programske sheme Horizon2020.

Mentorica: Irena Štimac, univ.dipl.biol.

Somentorica: Sandra Hasić, dipl. varst. biol.

Datum zagovora:

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Gimnazija Velenje, šolsko leto 2016/2017

KG toksoplazma / mačke / razširjenost / človek / urbanizacija

AV POTOČNIK, Ana / LEŠNIK, Karin

SA ŠTIMAC, Irena / HASIĆ, Sandra

KZ 3320 Velenje, SLO, Trg mladosti 3

ZA Gimnazija Velenje

LI 2017

IN PRVI POSKUSI UGOTAVLJANJA TOKSOPLAZME PRI PROSTOŽIVEČIH MAČKAH V URBANIH PREDELIH ŠALEŠKE DOLINE

TD Raziskovalna naloga

OP VI, 44 str., 3 pregl., 20 sl., 3 pril., 21 vir.

IJ SL

JI sl / en

AI Toksoplazmoza je bolezenska okužba s parazitom *Toxoplasma gondii*, ki je razširjena po vsem svetu. Glavni gostitelj tega parazita je mačka. Človek se s parazitom lahko okuži preko oocist v iztrebkih. Za večino ljudi je okužba nenevarna, večje težave lahko povzroča le ljudem s slabšo imunsko odpornostjo in nosečnicam. Zaradi povečane urbanizacije in neodgovornega ravnanja ljudi se je populacija prostoživečih in potepuških mačk v mestih povečala, kar vpliva na večjo možnost za širjenje parazita ne le med mačkami, ampak tudi z mačk na ljudi. Z raziskovano nalogo smo želele ugotoviti, ali so oociste toksoplazme prisotne v iztrebkih prostoživečih mačk v Šaleški dolini, kakšna je prevalenca aktivnih okužb s parazitom ter oceniti, kakšno tveganje predstavljajo prostoživeče mačke za zdravje ljudi. S postopkom flotacije smo poskušale izolirati aktivne oociste v iztrebkih, vzorčenih na različnih predelih Šaleške doline. Aktivne okužbe pri izbranih vzorcih nismo zaznali, kar je lahko tudi posledica različnih okoljskih in časovnih dejavnikov. Verjetno je, da so mačke v naši okolici okužene, a v času vzorčenja niso aktivno izločale oocist parazita, da oocist nismo zaznali zaradi neugodnih zunanjih dejavnikov ali da je prevalenca toksoplazme pri mačkah v Šaleški dolini zelo nizka.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Gimnazija Velenje, school year 2016/2017

CX Toxoplasma / cats / extent / human / urbanisation

AU POTOČNIK, Ana / LEŠNIK, Karin

AA ŠTIMAC, Irena / HASIĆ, Sandra

PP 3320 Velenje, SLO, Trg mladosti 3

PB Gimnazija Velenje

PY 2017

TI FIRST ATTEMPTS OF DETECTING TOXOPLASMA AMONG FREE-LIVING CATS IN URBAN AREAS OF ŠALEŠKA VALLEY

DT RESEARCH WORK

NO VI, 44 p., 3 tab., 20 fig., 3 ann., 21 ref.

LA SL

AL sl / en

AB Toxoplasmosis is an infection with the parasite *Toxoplasma gondii*. Humans are usually infected with the parasite via direct contact with active oocysts in cat feces or contaminated soil and food. For most people the infection is harmless, however, it may cause major problems to people with weak immune resistance and pregnant women. Due to increased urbanisation and the irresponsible behaviour of people, the population of wild and stray cats in urban areas has increased, with results in higher possibility for the spread of the parasite, not only among cats but also from cats to humans. The aim of this research was to determine whether *Toxoplasma* oocysts are present in the feces of wild cats in the Šaleška valley, what is the prevalence of active infection with the parasite and to assess the risk which stray cats pose to human health. By using the method of flotation, we tried to isolate the active oocysts in samples of feces, taken in different parts of the Šaleška valley. Active infection in selected samples was not detected which can be the consequence of various time and environmental factors. Another reason for not having detected oocysts could be low active infection rate in cats.

KAZALO VSEBINE

1	UVOD	1
2	PREGLED OBJAV	2
2.1	TOKSOPLAZMA.....	2
2.1.1	Odkritje in pojavljanje <i>Toxoplasme gondii</i>	2
2.2	Toksoplazmoza	2
2.2.1	Toksoplazma v Sloveniji	2
2.2.2	Splošne značilnosti	3
2.2.3	Oociste	5
2.2.4	Trofozoiti	5
2.2.5	Tkivne ciste	6
2.2.6	Življenjski krog	7
2.3	EPIDEMOLOGIJA.....	8
2.4	VRSTE TOKSOPLAZMOZE	8
2.4.1	Pridobljena toksoplazmoza.....	8
2.4.2	Toksoplazmoza pri ljudeh z oslABLJENIM imunskim odzivom.....	9
2.4.3	Kongenitalna toksoplazmoza (prirojena okužba).....	9
2.5	PREPREČEVANJE OKUŽBE.....	10
2.5.1	Preprečevanje okužbe z živili.....	10
2.5.2	Preprečevanje okužbe iz okolja	11
2.5.3	Preprečevanje okužbe pri nosečnicah in ljudeh z oslABLJENO imunostjo	11
2.5.4	Sekundarna preventiva	12
2.5.5	Terciarna preventiva	12
2.6	SPLOŠNO O MAČKAH	12
2.6.1	Mačke in urbanizacija.....	13
3	MATERIALI IN METODE	15
3.1	TERENSKO DELO	15
3.2	LABORATORIJSKO DELO - IZOLACIJA OOCIST Z UPORABO METODE FLOTACIJE	19
4	REZULTATI	23

5	DISKUSIJA	26
6	ZAKLJUČEK	30
7	POVZETEK	31
8	ZAHVALA	32
9	VIRI IN LITERATURA.....	34

KAZALO TABEL, GRAFOV, SLIK IN PRILOG

Slika 1: Struktura T. gondii	4
Slika 2: Prikaz oocist	5
Slika 3: Sestava trofozoita	6
Slika 4: Prikaz trofozoitov pod svetlobnim mikroskopom.....	6
Slika 5: Ciste v možganih	6
Slika 6: Faze prenašanja T. gondii	8
Slika 7: Območje, kjer se zadržujejo prostoživeče mačke.....	16
Slika 8: Priprava terenskega materiala	16
Slika 9: Zbiranje vzorcev	17
Slika 10: Prikaz lokacij vzorčenja na zemljevidu	19
Slika 11: Razvrstitev vzorcev	20
Slika 12: Postopek odmerjanja vzorcev	21
Slika 13: Uporaba vortexa	21
Slika 14: Pozitivna kontrola pod svetlobnim mikroskopom	22
Slika 15: Pozitivna kontrola z uporabo fluorescentnega vmesnika	22
Tabela 1: Podatki o okuženosti s toksoplazmo za štajersko regijo v 2015.....	3
Tabela 2: Seznam in opis vzorčnih mest	17-19
Tabela 3: Prikaz rezultatov za posamezne testirane vzorce	23-25
Priloga 1: Tabela za popis podatkov na terenu	33
Priloga 2: Fotografije iz terenskega dela	34-35
Priloga 3: Fotografije iz laboratorijskega dela	35

1 UVOD

Ljudje se vsakodnevno srečujemo z udomačenimi, prostoživečimi ali potepuškimi mačkami. V stik s temi živalmi lahko pridemo tako rekoč povsod. Na podeželju skoraj ne najdemo hiše brez mačke, srečamo pa jih tudi na poti v službo, šolo, na otroškem igrišču, na mestnem stadionu in celo na železniški postaji. Zaradi povečane urbanizacije in človeške malomarnosti pa so se v mestih močno povečale populacije prostoživečih in potepuških mačk, ki ne vplivajo le na lokalno biotsko pestrost, temveč so lahko tudi prenašalke različnih bolezni.

Ena takih bolezni je tudi toksoplazmoza. Toksoplazmoza je bolezenska okužba s parazitom *Toxoplasma gondii*, ki je s svojim življenjskim krogom tesno povezan z mačko, ki v okolje izloča oociste parazita, te pa so glavni vir okužbe pri ljudeh.

Namen raziskovalne naloge je bil ugotoviti, ali so oociste toksoplazme prisotne v iztrebkih prostoživečih mačk v Šaleški dolini, kakšna je prevalenca parazita med prostoživečimi in potepuškimi mačkami ter oceniti, ali potepuške mačke lahko predstavljajo tveganje za zdravje ljudi v okolici, kjer se nahajajo.

Ker so prostoživeče mačke veliko bolj izpostavljane različnim boleznim, neugodnim življenjskim pogojem, obenem pa niso veterinarsko oskrbovane, a imajo vseeno več možnosti za stik z drugimi mačkami, smo predvidevale, da imajo prostoživeče in potepuške mačke večjo možnost za okužbo s *T. gondii* kot hišne mačke. Ravno zaradi tega pa lahko predstavljajo večje tveganje za zdravje ljudi v okolici. Zato sta bili najini prvi hipotezi:

1. *Toksoplazma gondii* je bolj razširjena med prostoživečimi in potepuškimi mačkami kot med hišnimi (udomačenimi).
2. *Prosto živeče mačke predstavljajo nevarnost za zdravje ljudi.*

Ker do sedaj v Šaleški dolini še nikoli ni bila narejena študija prisotnosti toksoplazme pri prostoživečih in potepuških mačkah, sva želeli uporabiti metodo, ki bi dala primerne rezultate za oceno tveganja za zdravje ljudi, obenem pa bi bila cenovno dostopna in neinvazivna za mačke. Tako sva se torej odločili za določanje oocist v iztrebkih. Iz tega sledi najina tretja hipoteza:

3. *Uporaba iztrebkov je kot metoda za ugotavljanje prisotnosti toksoplazme pri mačkah učinkovita.*

Z raziskovalno nalogo želiva prispevati k zaščiti zdravja prebivalcev Šaleške doline, obenem pa opozoriti na porajajoči se problem prenosa bolezni s prostoživečih mačk na ljudi na primeru toksoplazme. Pomembno je, da se ljudje zavedamo prisotnosti takih bolezni ter spodbudimo ljudi za bolj ozaveščeno ravnanje s hišnimi ljubljenci, saj se jim bomo le na ta način lahko izognili in preprečili njihovo širjenje.

2 PREGLED OBJAV

2.1 TOKSOPLAZMA

2.1.1 Odkritje in pojavljanje *Toxoplasme gondii*

Toxoplasma gondii sta leta 1908 v tkivu glodavca *Ctenodactylus gundi* v Tuniziji odkrila Nicolle in Manceaux in jo opisala leta 1909. Istočasno je Splendore v Braziliji odkril ta parazit v tkivu zajca.

Prvi, ki je povezal toksoplazmozo z boleznijo pri človeku, je bil češki oftalmolog Janku. Leta 1923 je odkril cisto zajedavca v mrežnici 11-mesečnega otroka. Patologi Wolf, Cowen in Paige so leta 1939 opisali prvi dokazan primer kongenitalne toksoplazmoze pri deklici. Po treh dneh je deklica dobila epileptične napade, poškodbe pa so zaznali tudi na obeh očeh. Ko je deklica po dveh mesecih umrla, so ji za nadaljnje preučevanje odstranili možgane, hrbtenjačo ter desno roko. Leta 1942 je Sabin povzel vse, kar je bilo do takrat znanega o kongenitalni toksoplazmozi in predstavil tipične znake toksoplazmoze: hidrocefalus ali mikrocefalus, intracerebralne kalcifikacije in horioretinitis. S prvimi pregledi nosečnic in profilaktičnim zdravljenjem so začeli v Avstriji in Franciji leta 1975. (Posrpnjak, 2012)

2.2 TOKSOPLAZMOZA

2.2.1 Toksoplazma v Sloveniji

V Sloveniji je prvi primer toksoplazmoze pri otroku ugotovil Stergar leta 1953 ter izsledke objavil v strokovni literaturi. Prav tega leta pa je pri nas izšla prva obsežnejša informacija o povzročitelju te zoonoze. Nekaj let za tem so uvedli laboratorijske preiskave za diagnostiko

toksoplazmoze. V Sloveniji je bilo neobvezno pregledovanje nosečnic na prvo okužbo s toksoplazmozo uvedeno leta 1981. Od leta 1995 je presejanje obvezno po zakonu o nalezljivih boleznih. V Sloveniji je bilo med leti 2005 in 2014 prijavljenih 222 primerov toksoplazmoze. (Posrpnjak, 2012)

Leta 2014 so ocenili, da je s toksoplazmozo okuženega 30–50 % svetovnega prebivalstva, vendar prevalenca variira glede na področje. Tako ocenjujejo, da je prekuženost v Združenih državah in v Veliki Britaniji med 16 in 40 %, medtem ko je prevalenca v centralni in južni Ameriki ter centralni Evropi med 50 in 80 % (Dubey in Beattie, 1988).

Iz Nacionalnega laboratorija za zdravje, okolje in hrano Maribor, so nam sporočili podatke za okuženost s toksoplazmo v Štajerski regiji.

Tabela 1: Podatki o okuženosti s toksoplazmo za štajersko regijo v 2015.

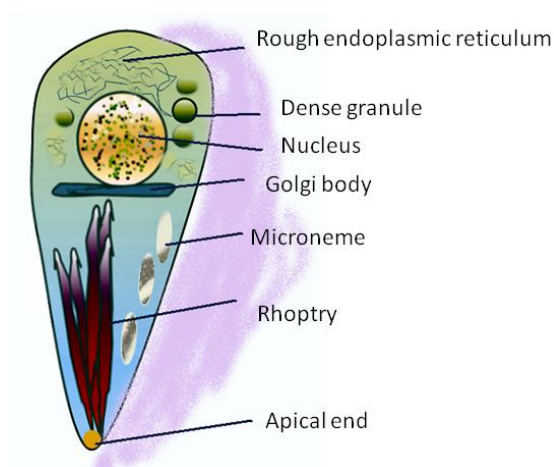
	Akutna okužba	Recentna okužba	Prebolela okužba	Negativni
Nosečnice	4	28	653	2494
Ostali	1	4	56	84
Skupaj	5	32	709	2578
Skupaj (%)	0,15	0,96	21,33	77,56

2.2.2 Splošne značilnosti

Toksoplazmoza je okužba s parazitom *Toxoplasma gondii*. Razširjena je po vsem svetu in ima velik nabor potencialnih gostiteljev. Vmesni gostitelji so vse toplokrvne živali, vključno z ljudmi. Razvije se znotraj vakuole gostiteljske celice. Parazit je polmesečne oblike, nekoliko bolj okrogel pa postane med delitvijo. Obdan je s pelikulo, sestavljeno iz zunanje in notranje membrane, ki ima nalogo zgoščevanja na tako imenovanem zadnjem koncu (apical end). Ima tudi golgijev aparat in splet subpelikularnih fibrilov, imenovan tudi apikompleks, ki se razteza po dolgem med zgoščevalci in ima najverjetneje vlogo pri gibanju in vstopu parazita v gostiteljsko celico. V vmesnem gostitelju se v tkivih oziroma organih razmnožuje nespolno z

endodiogenijo, kar pomeni, da iz materinske celice nastaneta dve hčerinski. Ko uničene gostiteljske celice propadejo, se sprostijo številni novi paraziti, ki napadejo nove gostiteljske celice. Končni gostitelj parazita so mačke.

Ciste zajedavca se nato izločajo z blatom mačk in se lahko prenesejo na osebe, ki so v neposrednem stiku z mačkami ali njihovimi iztrebki. Drugi vir okužbe je surovo ali ne dovolj termično obdelano meso, ki je vsebovalo ciste toksoplazme. (Smith, 1993). Okužba je pri zdravih ljudeh navadno asimptomatska ter ne povzroča večjih težav. Večini ljudi okužba ne povzroča težav, saj ciste ostajajo v mirujočem stanju. Najbolj so izpostavljeni ljudje s slabo imunsko odpornostjo, od katere so odvisne tudi možnosti okužbe in razvoj različnih stopenj zdravstvenih težav. Sveža okužba je najnevarnejša za nosečnice, saj lahko parazit pri plodu povzroči hude okvare, npr. okvare živčevja in slepoto. Prav tako raziskave kažejo, da okužba preko zaužitih oocist (okužba preko iztrebkov) povzroča hujšo infekcijo in več zapletov kakor okužba preko tkivnih cist (okužba preko premalo termično obdelanega mesa) (Smith, 1993, Teutsch in sodelavci, 1979).



Slika 1: Struktura *T. gondii*

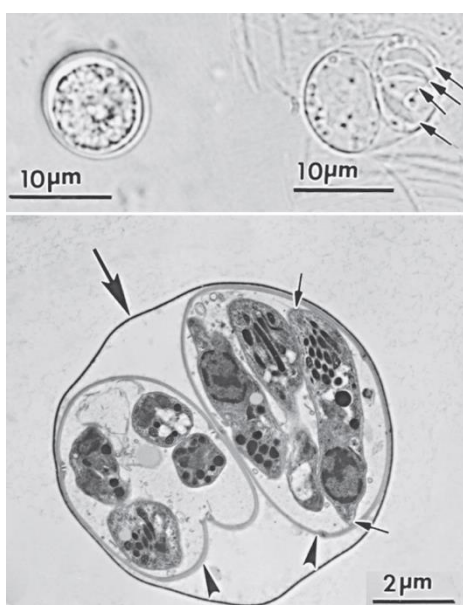
Vir: https://en.wikipedia.org/wiki/Toxoplasma_gondii#/media/File:Toxoplasma.png

Parazit ima zapleten življenjski krog, ki lahko poteka zunaj ali znotraj končnih gostiteljev.

T. gondii se v svojem značilnem življenjskem krogu pojavlja v treh oblikah: kot trofozoit, oocista in tkivna cista.

2.2.3 Oociste

Oociste se pojavljajo le v končnem gostitelju, torej v mačkah, ki jih v okolico izločijo z iztrebki v obdobju 7–20 dni. Nesporulirane oociste merijo 10 x 12 μm , vsak dan pa se jih lahko v okolje iztrebi več kot 100 milijonov. Sporulacija nastopi zunaj mačke. Vsaka sporulirana oocista vsebuje dve sporocisti. Oociste lahko uspešno preživijo zmrzovanje pri -21 $^{\circ}\text{C}$ do 28 dni, v vlažni prsti pa preživijo tudi do 18 mesecev. Uničijo jih lahko visoke temperature in sušenje.



Slika 2: Prikaz oocist: nesporulirane oociste (zgoraj levo), sporulirane oociste (zgoraj desno), prenos elektronov v sporulirani oocisti (spodaj)

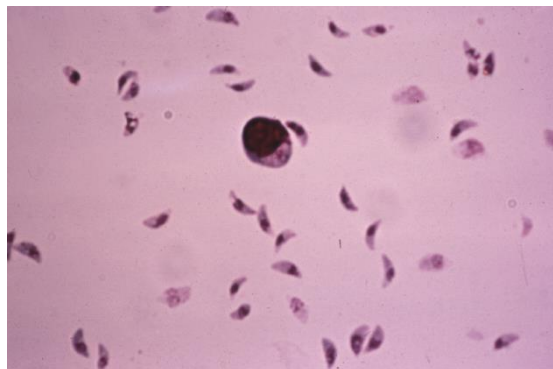
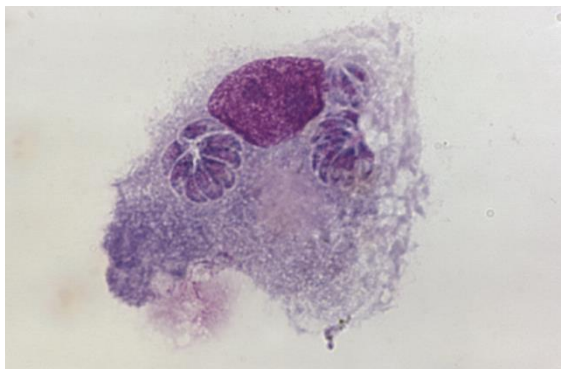
Vir: *Toxoplasma gondii* José G. Montoya, John C. Boothroyd, and Joseph A. Kovacs *Toxoplasma gondii*

2.2.4 Trofozoiti

Trofozoit ima obliko polmeseca. Imenuje se tudi tahizoit, ki se hitro deli. Dolg je 4–6 μm , širok 2–3 μm . Spredaj je koničast, zadaj je zaobljen. Jedro se navadno nahaja v sredini parazita. (Brdnik, 2008)

Trofozoiti so opazni pri obeh okužbah – primarni in aktivni. Nahajajo se v tkivih in lahko preživijo otoplitve, suše in zmrzovanje.

Zaradi celičnega kroga se trofozoiti z diferenciacijo, ki jo sprožijo pH, temperaturno nihanje in dušikov oksid, preobrazijo v bradiozite. Ti se za razliko od trofozoitov nahajajo v tkivnih cistah in se delijo počasi.



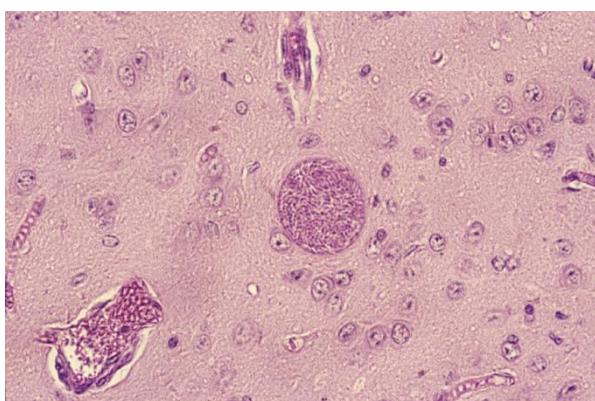
Slika 3: Sestava trofozoita

Slika 4: Prikaz trofozoitov pod svetlobnim mikroskopom

Vir: *Toxoplasma gondii* José G. Montoya, John C. Boothroyd, and Joseph A. Kovacs; *Toxoplasma gondii*

2.2.5 Tkivne ciste

Tkivne ciste nastanejo s počasno replikacijo bradiozitiv. Razvijajo se znotraj citoplazme gostiteljske celice. Mlajše tkivne ciste vsebujejo le nekaj bradiozitiv, medtem ko jih lahko starejše vsebujejo nekaj 1000 in presežejo velikost 100 μm .



Slika 5: Ciste v možganih

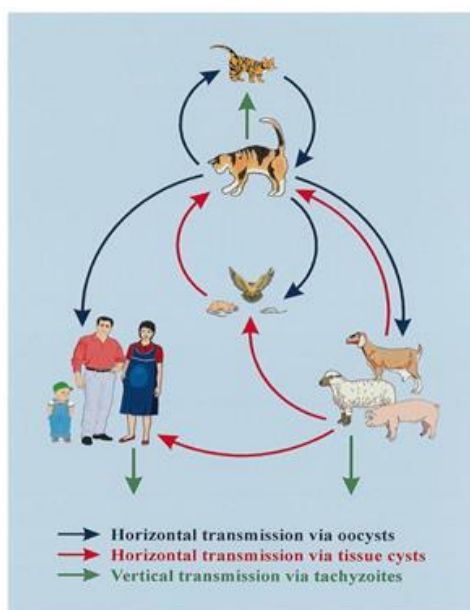
Vir: *Toxoplasma gondii* José G. Montoya, John C. Boothroyd, and Joseph A. Kovacs, *Toxoplasma gondii*

2.2.6 Življenjski krog

V prvi fazi, imenovani merogonija, se trofozoiti v različnih tkivih razmnožujejo nespolno z endodiogenijo. Trofoziti zadnje generacije pa začnejo drugo fazo razvoja, ki povzroča nastanek tkivnih cist. To je mirujoča oblika, ki omogoča preživetje parazita v neugodnih življenjskih pogojih. Tkivne ciste vsebujejo bradiozite, ki se delijo počasneje kot trofozoiti. Tkivne ciste se pretežno nahajajo v živčnem sistemu, v očeh, v srčni in skeletnih mišicah ter predstavljajo končno fazo v vmesnih gostiteljih. V takih cistah so lahko paraziti vse življenje, ne da bi povzročili škodo. Če pa cista počne, lahko povzroči izbruh bolezni. Za popolni razvoj toksoplazma potrebuje mačko, ki je njen končni gostitelj. Mačka se lahko okuži z zaužitjem okuženih malih glodavcev (npr. miši), ptičev, drugih malih živali ali z zaužitjem oocist iz okolja. V črevesu mačke se toksoplazma razmnožuje, pri tem pa nastanejo oociste (slika 2). To je prav tako mirujoča oblika, ki omogoča preživetje parazitu v neugodnih življenjskih pogojih. Oociste mačka z iztrebki izloči v okolje. Te v zunanjem okolju na primerni temperaturi in vlagi dozori, navadno v 3–5 dneh. Sproščene oociste dež raznosi na velike površine, v vodo površinskih vodotokov. V zemlji in vodi preživijo več mesecev. Na tak način se lahko z oocistami kontaminirajo tudi sadje, zelenjava, pitna voda ali celo morje, kar poveča možnost za nadaljnjo okužbo drugih organizmov.

Vmesni gostitelji v naravi (vključno ptiči, glodavci) se torej okužijo tako, da zaužijejo oociste z zemljo, vodo ali rastlinami, onesnaženimi z mačjimi iztrebki. Živali na kmetijah (prašiči, ovce, kokoši ...) se lahko okužijo s toksoplazmo z zaužitjem oocist v okolju ali v krmi, ki je onesnažena z mačjimi iztrebki.

V fazi, imenovani sporogonija, se v prebavnem traktu iz oocist sprostijo sporoziti, ki se nato preobrazijo v trofozoite. Trofozoiti se nato po krvi okuženega organizma raznesejo po telesu v organe. V tkivih lahko sprožijo vnetni odgovor, ki ima za posledico klinične simptome in znake bolezni.

Slika 6: Faze prenašanja *T. gondii*Vir: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3109627/figure/F2/>

2.3 EPIDEMOLOGIJA

Oociste, s katerimi se okužijo gostitelji, se torej lahko nahajajo tako v zemlji kot v vodi. Vendar se večkrat govori o zemlji, okuženi z oocistami, saj jih je v vzorcih vode težje odkriti. Na urbanih območjih, so bili rezultati okuženosti pričakovano potrjeni na območjih mačjih iztrebkov.[V1]

2.4 VRSTE TOKSOPLAZMOZE

2.4.1 Pridobljena toksoplazmoza

Pojavi se ob vnosu parazita preko kontaminirane hrane ali slabe higijene, torej pri okužbi s tkivno cisto ali oocistami iz okolja.

Pri imunokompetentnih osebah je 90 % okužb s toksoplazmozo asimptomatskih. Največkrat povzročajo mononukleazi podobno bolezen. Simptomatska okužba se kaže z nekoliko povišano telesno temperaturo, splošnim slabim počutjem, glavobolom ter povečanimi bezgavkami. Drugi znaki pri zdravih ljudeh pa so npr. hepatitis in pljučnica.

2.4.2 Toksoplazmoza pri ljudeh z oslabljenim imunskim odzivom

Predhodno pridobljena okužba s toksoplazmozo pri ljudeh z oslabljenim imunskim sistemom vodi do ponovne okužbe s toksoplazmozo, ki se največkrat kaže z encefalitisom. Najpogosteje se pojavlja pri bolnikih s Hodgkinovo boleznijo, pri imunosupresivnem zdravljenju in pri nekaterih malignih obolenjih.

Do velikih zapletov pa lahko pride tudi pri presaditvi organov ali kostnega mozga, kadar od darovalca prejme s *T. gondii* okuženi organ. Pri 40 % bolnikov z AIDS-om, ki se okužijo s toksoplazmozo, pride do hude okužbe z encefalitisom, 10–30 % teh bolnikov pa umre. (Posrpnjak, 2012)

2.4.3 Kongenitalna toksoplazmoza (prirojena okužba)

Kongenitalna toksoplazmoza nastane zaradi okužbe s *T. gondii*, kadar se ženska akutno okuži s parazitom med nosečnostjo. V primeru okužbe ženske s toksoplazmo pred zanositvijo ponovna okužba med nosečnostjo ne predstavlja nevarnosti, prav tako lahko ženska, ki je rodila otroka s prirojeno toksoplazmo, rodi naslednjega otroka zdravega in brez zapletov. Prirojena ali kongenitalna okužba je torej posledica prenosa primarne okužbe nosečnice na plod oz. novorojenca. Plod se lahko okuži praviloma le, ko se nosečnica okuži med nosečnostjo. Primarna okužba v nosečnosti pomeni tveganje za okužbo ploda, ne pa tudi že okužbe. Tveganje za okužbo ploda je v prvem trimesečju manjše (največje med 10. in 20. tednom) kot v naslednjih mesecih, vendar so lahko posledice okužbe v tem obdobju pri plodu zelo hude, med drugim tudi spontani splav, pri novorojenih otrocih, ki so bili okuženi s toksoplazmo v prvem tromesečju, lahko pride do prizadetosti številnih organov, zlasti možganov, oči, jeter in vranice, s krči, slabokrvnostjo, duševno zaostalostjo in še z drugimi motnjami. Tveganje za prenos okužbe je v naslednjih mesecih večje, so pa bolezenske spremembe blažje. Veliko otrok, ki so bili okuženi v drugem tromesečju, zlasti pa v tretjem, ne kaže ob rojstvu znakov okužbe. Lahko pa se bolezenski znaki pokažejo v kasnejšem razvoju (zlasti prizadetost oči, možganov), tudi čez leta, zato se razvoj teh otrok spremlja. (Remington in sodelavci, 1995; Roberts in Frenkel, 1990)

Nekateri novejši podatki kažejo na to, da tveganje za prenos okužbe in škodljive posledice niso tako veliki, kot se domneva.

Prepoznavna akutne okužbe v nosečnosti je težka, ker praviloma poteka brez bolezenskih znakov, zaradi tveganja prenosa okužbe na plod pa je potrebna. V Sloveniji pa tudi v nekaterih drugih evropskih državah je zato uvedeno obvezno presejalno testiranje nosečnic na toksoplazmozo.

Kot posledica kongenitalne toksoplazmoze se lahko razvije očesna toksoplazmoza, ki je eden od glavnih vzrokov za izgubo vida pri mladih. Razvije se pri 30–50 % otrok, ki so rojeni materam s pridobljeno okužbo v času nosečnosti. Večina teh novorojenčkov je ob rojstvu zdravih, očesni simptomi pa se pojavijo kasneje v življenju.

2.5 PREPREČEVANJE OKUŽBE

Možnost okužbe s *T. gondii* lahko zmanjšamo z doslednim preprečevanjem stika z možnimi viri okužbe.

2.5.1 Preprečevanje okužbe z živili

- Dosledno izvajamo osebno higieno, predvsem pravilno umivanje rok. Roke pravilno in temeljito umivamo še zlasti pred pripravo živil in med njo ter pred jedjo.
- Pri rokovanju s surovim mesom, neočiščenim sadjem, zelenjavo se z rokami ne dotikamo sluznice ust in očesne veznice. Tudi sicer se pri delu z živili izogibamo nepotrebnemu dotikanju telesa. V primeru dotikov, praskanja, popravljanja las ..., si roke pred nadaljevanjem dela pravilno umijemo.
- Ne uživajmo surovih mesnih izdelkov in surovih morskih školjk (npr. karpačo, tatarski biftek, ostrige ...).
- Mesne jedi (zlasti svinjsko, ovčje, kozje meso in divjačino) in morske školjke zadostno toplotno obdelamo, pri tem mesa ne pokušamo, dokler ni skuhano oziroma pečeno.
- Če meso pred toplotno obdelavo zamrznemo za 3 dni (-18 °C), še dodatno zmanjšamo možnost za okužbo.

- Temeljito in sprotno čistimo delovne površine, pripomočke, pribor, posodo itd. Pri tem pazimo, da po čiščenju ne ostajajo vlažni oziroma da se temeljito posušijo.
- Pri pripravi in shranjevanju živil pazimo, da ne pride do navzkrižnega onesnaženja živil z mikroorganizmi. Živila z ostanki zemlje (krompir, korenje ...) shranjujemo ločeno od ostalih živil. Kuhinjske deske, nože, ostale pripomočke uporabljamo ločeno za surova in že kuhana, gotova živil.
- Sveže sadje in zelenjavo pred uporabo temeljito očistimo in operemo.
- Preprečujemo onesnaženje živil z mrčesom (zamrežimo okna).
- Za pitje in pripravo živil uporabljamo le varno pitno vodo iz nadzorovanih vodnih virov oziroma vodovodnih sistemov. Na uporabo varne pitne vode smo še posebno pozorni na potovanjih v dežele z neurejenimi higienskimi razmerami (tu si lahko pomagamo z embalirano vodo). (NIJZ, 2015)

2.5.2 Preprečevanje okužbe iz okolja

Čeprav mačka izloča veliko število oocist (nad 100 milijonov), navadno ni videti bolna. Mačke izločajo oociste v iztrebkih še tri tedne po okužbi s toksoplazmo. (Frenkel in Dubey, 1972) Oociste izločajo predvsem mačji mladički in mlade mačke, manj verjetno odrasle mačke. (NIJZ, 2015)

- Mačke ne hranimo s surovim ali toplotno nezadostno obdelanim mesom.
- Mačje stranišče čistimo redno vsak dan, oociste toksoplazme v mačjih iztrebkih namreč postanejo kužne po 1–5 dneh. Po zaključenem delu si temeljito umijemo roke. (NIJZ, 2015)
- Zaloge peska pokrijemo, da jih mačke ne onesnažijo z iztrebki – oocistami.
- Pri vrtnarjenju ali kakršnem koli stiku z zemljo ali s peskom uporabljamo zaščitne rokavice. Po zaključenem delu si temeljito umijemo roke.
- Na kmetijah preprečimo zakopavanje klavniških odpadkov, saj lahko mačke pridejo v stik z okuženim mesom ali notranjimi organi.

2.5.3 Preprečevanje okužbe pri nosečnicah in ljudeh z oslABLJENO imunostjo

- Pesek z mačjimi iztrebki naj čisti in menja nekdo drug. Če to ni možno, roke zaščitimo z rokavicami in jih po opravljenem delu temeljito umijemo.

- Izogibamo se stiku z zemljo, s potepušskimi mačkami, zlasti mladimi, in mačjimi mladički.
- Med nosečnostjo ne posvojimo nove mačke. (NIJZ, 2015)
- Hrano še posebej dobro termično obdelamo.
- Po delu s surovim mesom si je potrebno obvezno razkužiti roke.
- Za pravočasno zaznavo okužbe opraviti presejalne teste pred nosečnostjo in med njo.

2.5.4 Sekundarna preventiva

Poleg izvajanja osnovnih preventivnih ukrepov je pomembno, da se odkrijejo tudi tiste ženske, ki so se s toksoplazmo okužile v času nosečnosti. Kadar s prenatalnimi testi odkrijejo, da je plod okužen, se morajo zdravniki o morebitni prekinitvi nosečnosti ter zdravljenju z antibiotiki pogovoriti z bolniki. Nosečnica ima pravico izvedeti, ali je njen plod v nevarnosti za kongenitalno toksoplazmozo ter ali je plod že okužen. (Posrpnjak, 2012)

2.5.5 Terciarna preventiva

S terciarno preventivo želimo zmanjšati število prizadetih primerov, a ne moremo zmanjšati števila okužb. Zato med terciarno preprečevanje uvrščamo prekinitvev nosečnosti zaradi okužbe in zdravljenje ploda.

2.6 SPLOŠNO O MAČKAH

Mačka je sesalec, pripadnica družine *Felidae*, iz redu *Carnivora*. Štejemo jih med najbolj specializirane plenilke. Najbolj znan predstavnik mačk v svetu je domača mačka, ki naj bi jo človek udomačil pred približno 10.000 leti. Dandanes je kozmopolitanska vrsta, saj naseljujejo vse kontinente, razen Antarktike. Najdemo jih v zelo različnih okoljih: v mestih, na podeželju, v divjini, celo v puščavah. V Sloveniji najdemo le dve vrsti mačk od vseh do sedaj znanih šestintridesetih.

2.6.1 Mačke in urbanizacija

2.6.1.1 Prostoživeče mačke

Z izrazom prostoživeče mačke označujemo domače mačke, ki so se vrnile k življenju na prostem in so zelo redko ali pa skoraj nikoli v stiku z ljudmi in se jih v večini primerov tudi zelo bojijo. V primerjavi s potepuškiimi mačkami prostoživeče mačke niso odvisne od človeške oskrbe in navadno nimajo lastnikov. Najdemo jih tako v mestih kot tudi na podeželju. Živijo največkrat same, najdemo pa jih na določenih lokacijah tudi v t. i. mačji kolonijah. Človek jim lahko najboljše pomaga tako, da jih sterilizira oziroma kastrira, nato pa jih vrne v okolje, kjer jih je našel. Prostoživeče mačke so pretežno potomke potepuških ali zapuščenih mačk in nimajo v obdobju socializacije (navsezvanja stikov z ljudmi, to je obdobje od dveh do osmih tednov) nobenega stika s človekom.

V primeru, da v naši okolici opazimo prostoživečo mačko, moramo nemudoma obvestiti pristojno zavetišče, ki lahko poskrbi za sterilizacijo/kastracijo dotične mačke, da se ne bi v bližnji prihodnosti v tem okolju pojavilo precej večje število teh mačk, ki lahko postanejo moteče. S tem poskrbimo za dobro zdravje mačk, hkrati pa tudi nadziramo številčnost t. i. kolonij. Hkrati jih ob sterilizaciji/kastraciji tudi pregledajo in skušajo ozdraviti ostalih morebitnih poškodb ali okužb, kar pripomore k bolj zdravemu življenju živali. Tako obravnavane mačke ne povzročajo nikakršne škode okolju ali človeku, ki tam živi.

2.6.1.2 Mačke in človek

Raziskave kažejo, da je v veliki meri odvisno tudi od človeka, kje in koliko mačk se nahaja v okolici. Kot pojasnjuje Jari Niamelä v knjigi *Urban Ecology: Patterns, Processes and Applications*, lahko človek z svojo naselitvijo vpliva na prisotnost mačk v bližini. Lep primer so novejša hiša, ki nimajo toliko vrtičkov kot starejše. Tam so ljudje opazili veliko manj mačk in tudi ostalih plenilcev kot pri prej omenjenih starejših hišah. To je eden izmed faktorjev, ki pomembno vpliva na preživetje vrste v določenem okolju. Če torej, kot v tem primeru, zmanjšamo prostor, ki privablja določeno vrsto, se bo umaknila drugam. Enako se zgodi tudi v primeru pomanjkanja hrane, vode, naselitve druge vrste, ki mačke ogroža ipd.

Invazivnost domače mačke (*Felis catus*) in zmožnost njenega preživetja v najrazličnejših pogojih je pravzaprav izjemna. Pri svojem širjenju in hitrem razmnoževanju so mačke tako uspešne, da so na rdeči seznam ogroženih vrst pomagale izriniti tako avtohtono divjo mačko (*Felis silvestris*) kot mnoge vrste ptic pevk, malih sesalcev in plazilcev.

Prostoživeče mačke v urbanem okolju predstavljajo problem predvsem, ker se nekontrolirano razmnožujejo, s tem se povečuje populacija novih brezdomnih mačk, kar posledično lahko vpliva tudi na širjenje bolezni. Njihova številčnost v urbanem okolju ni naravno uravnavana, saj v takšnem okolju nimajo naravnega plenilca. Velikost populacije uravnava predvsem povišana smrtnost zaradi prometa. Prostoživeče mačke so načeloma bolj podvržene boleznim kot so mikrosporija, mačja kuga, garje, FIV, saj nimajo možnosti za pravočasno in preventivno veterinarsko oskrbo, zato so lahko problematični tudi stiki mačk z ljudmi, ki jih hranijo in božajo.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 TERENSKO DELO

Material:

- 70-odstotni alkohol
- voda
- rokavice iz lateksa
- lopatka
- razkužilo
- papirnate brisače
- plastične vrečke
- alkoholni flomaster
- preglednica za zapis podatkov

Postopek:

Vzorci, ki sva jih potrebovali za izdelavo raziskovalne naloge, so bili mačji iztrebki, saj so v njih v primeru aktivne okužbe prisotne oociste. Ravno aktivna okužba mačke oz. čas, ko v okolje izloča oociste, lahko privede do možnosti prenosa okužbe s prostoživečih in potepuških mačk na ljudi. Za detekcijo okužbe iz oocist smo se odločile, ker s tem ne posegamo v njihovo naravno vedenje, živalim ne povzročamo nepotrebnega stresa ali jih izpostavljammo možnostim različnih infekcijskih okužb, kot bi jih v primeru odvzema krvi ali tkiva, obenem pa pridobimo podatke, na katerih področjih mačke aktivno izločajo oociste in s tem povečujejo tveganje za zdravje ljudi.

Da sva prišli do zelenih vzorcev, sva morali najprej ugotoviti, kje se mačke sploh zadržujejo, zato sva septembra in prvo polovico oktobra iskali, opazovali in sproti beležili značilnosti območji mačjih nahajališč. V pomoč so nama bile tudi informacije o lokacijah, pridobljenih od društev, ki se ukvarjajo z zaščito zavrženih in prostoživečih mačk – predvsem društvi Poživ in Mačja hiša.



Slika 7: Območje, kjer se zadržujejo prostoživeče mačke (Foto: A. Potočnik)

V drugi polovici oktobra sva pričeli z zbiranjem vzorcev. Obiskali sva mesta, kjer sva v preteklih mesecih zabeležili prisotnost mačk. Izbrane lokacije so bile urbana središča mest, v bližini šol, zdravstvenih domov ter stanovanjskih skupnosti. Nekaj vzorcev sva izbrali tudi s podeželja (na kmetijah), kjer mačke preživijo večino časa zunaj, vendar imajo dostop tudi do človeških bivališč. Takšne mačke bi predstavljale največjo nevarnost za zdravje družinskih članov, saj sva predvidevali, da bi bil ravno na tem stiku možen hitrejši prenos zoonoze z mačk na ljudi.

Najprej sva površinsko pregledali območje, da sva ugotovili stanje okolice (morebitna prisotnost aktivnih mačk, ljudi, ostalih živali, vreme ...) in jih zabeležili.



Slika 8: Priprava terenskega materiala (Foto: I. Štimac).

Sledila je priprava zgoraj navedenega inventarja. Da sva se ustrezno zaščitili pred morebitno okužbo, sva delo opravljali v rokavicah ter s spetimi lasmi. Nato sva ponovno pregledali območje. Tokrat sva bili pozorni na potencialna območja za iztrebljanje – prosto ležeče iztrebke in na morebitne gmote peska; pesek je za mačje iztrebljanje idealna podlaga, saj lahko iztrebke zakopljejo. Pri delu sva si pomagali z lopatko. Ko sva našli iztrebek, sva ga shranili v t. i. vzorčne posodice. Z mesta nahajališča iztrebka sva vzeli tudi nekaj vzorcev podlage (npr. prsti), saj bi se v primeru, da bi iztrebek v preteklem času zmočil dež, oocite lahko izprale v podlago. Na vzorcih sva nato označili datum in kraj odvzema ter številko oz. ime vzorca. Ustrezno obdelan vzorec sva spravili v plastično vrečko. V primeru, da sva pri odvzemu iztrebka oz. podlage uporabili lopatko, sva jo najprej sprali z vodo, nato pa še razkužili s 70 % alkoholom, pri čemer so nama bili v pomoč papirnati robčki. Po opravljenem postopku sva odstranili rokavice in si razkužili roke z razkužilom. Do nadaljnje obdelave sva vzorce shranili v hladilnik, nastavljen na 4 °C.



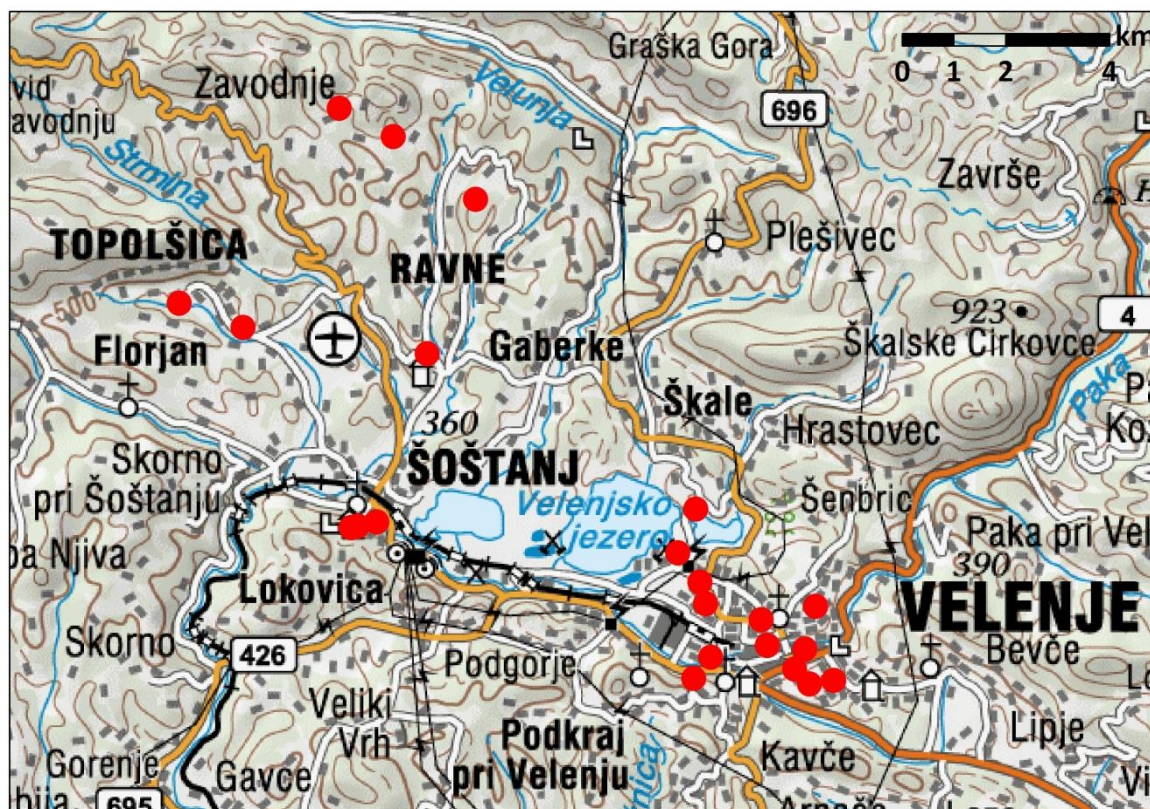
Slika 9: Zbiranje vzorcev (Foto: I. Štimac).

Tabela 2: Seznam in opis vzorčnih mest

Vzorčno mesto in kratek opis	Št. opaženih mačk
VELENJE (mesto)	

Jezero	Mestni štadion (zelenica, tartan)	2
Kitajska restavracija	Parkirišče (asfaltna podlaga)	3
Konjeniški klub	Stojišča za konje (makadam, trava)	2
Stanovanjski bloki nad tržnico	Parkirišče, dvorišče (asfaltna podlaga, beton, trava, prst)	1
Šalek	Bližina krožišča (asfaltna podlaga)	/
Spodnji Šalek	Območje med stanovanjskimi bloki	/
Železniška postaja	Makadam, trava	1
Ob reki Paki	Pod mostom (trava, voda)	2
Gorica	Naselje, zasebna posest	2
Konovo	zasebna posest	1
Naselje nad MPT	Dvorišče, zasebna posest	2
ŠOŠTANJ (mesto)		
Tresimirjev park	Otroško igrišče (prst)	1
Naselje pod gradom	Kmetija in hiše	4
Ob reki Paki	Pod mostom	2
Bloki za železniško progo	Zelenica, parkirišče	1
Bloki pri pošti	Zelenica, parkirišče	2
RAVNE (vas)		
Kmetija Abidnik	Kmetija	4
Kmetija Epih	Kmetija	5
Zasebna posest	Dvorišče, vrt, travnik	2
Zasebna posest	Skedenj	2
Kmetija Krištan	Dvorišče, kmetija	3

TOPOLŠICA (naselje)		
ŠKALE (naselje)		



Slika 10: Prikaz lokacij vzorčenja na zemljevidu (narejen s programom ArcGis)

3.2 LABORATORIJSKO DELO – IZOLACIJA OOCIST Z UPORABO METODE FLOTACIJE

Protokol za izolacijo oocist in pozitivno kontrolo nam je posredoval dr. Rada Blagu z Animal Health Laboratory, Université Paris-Est, Anses, École Nationale Vétérinaire, kjer se raziskovalno ukvarjajo s toksoplazmo. Za namene raziskovalne naloge smo uporabile njihovo preverjeno metodo izolacije oocist iz iztrebkov. Za negativno kontrolo smo uporabile iztrebke hišnih mačk, ki niso imele stika z zunanjim okoljem več let.

Material:

- rokavice iz lateksa
- halje
- 53 % raztopina saharoze
- epruvete, čaše, erlenmajerice
- medicinska kompres
- mešalnik (vortex)
- tehtnica
- centrifuga
- destilirana voda
- pipeta

Da sva sploh lahko začeli z delom v laboratoriju, sva se morali ustrezno opremiti. Za varno delo sva potrebovali halji, rokavice iz lateksa in maski.

Najprej sva vzorce razvrstili in glede na zapisane opombe ob vzorčenju izbrali najprimernejše za testiranje.



Slika 11: Razvrstitev vzorcev (Foto: K. Lešnik).

Pripravili sva 53 % raztopino saharoze. Za vsak vzorec sva v prvem koraku potrebovali 20 ml te raztopine, v kateri sva ga homogenizirali. Nato sva vzorce še dodatno premešali z vortexom. Sledeč protokolu sva v naslednjem koraku v novo epruveto odmerili 10 g homogeniziranih iztrebkov in ponovno dodali 10 ml saharozne raztopine. Tako pripravljene

epruvete sva ročno premešali, da sva raztopili fekalni material. Sledilo je filtriranje preko medicinske komprese v nove epruvete. V naslednjem koraku sva vzorce centrifugirali pri 1180 obratih na minuto pri 4 °C 10 minut.

Po desetih minutah centrifugiranja sva s pipeto od posameznega vzorca vzeli 3 ml vrhnje plasti supernatanta in jih dodali k 40 ml destilirane vode. Vzorce sva premešali z vortexom in jih nato znova centrifugirali pri enakih pogojih kot prvič. Po končanem centrifugiranju sva iz epruвет odstranili supernatant, tako da je ostala le usedlina, ki sva ji dodali novih 40 ml destilirane vode. Vzorce sva dobro premešali in jih še zadnjič centrifugirali. Tudi po tem centrifugiranju sva odstranili supernatant. V zadnjem koraku sva usedlini dodali še 5 ml destilirane vode in jih še zadnjič dobro premešali.

Po opisanem protokolu so bili vzorci pripravljeni na pregled z mikroskopom.

S kapalko sva na krovno stekelce prenesli približno 10 mikrolitrov materiala.



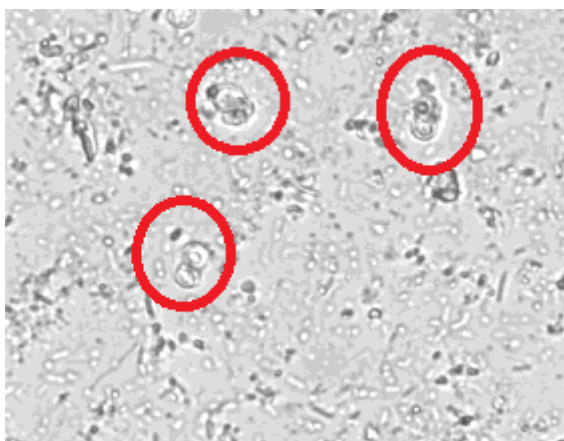
Slika 12: Postopek odmerjanja vzorcev (Foto: I. Štimac)



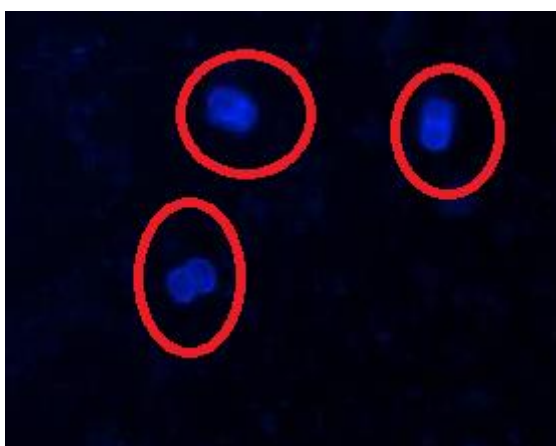
Slika 13: Uporaba vortexa (Foto: K. Lešnik)

Najprej sva tako pripravljene preparate pregledali pod svetlobnim mikroskopom Nikon Eclipse i55, nato pa še pod fluorescentnim vmesnikom C-C Ph condenser, da bi potrdili prisotnost avtofluorescentnih oocist toksoplazme. Oociste namreč pod fluorescentnim mikroskopom odsevajo modro (Lindquist in sodelavci, 2003).

Zaradi težavnih logističnih razlogov so nam pozitivno kontrolo po identičnem postopku pripravili v Animal Health Laboratory, Université Paris-Est.



Slika 14: Pozitivna kontrola pod svetlobnim mikroskopom (Foto: S. Hasić)



Slika 15: Pozitivna kontrola z uporabo fluorescentnega vmesnika (Foto: S. Hasić)

4 REZULTATI

Na terenskem delu sva zbrali 72 vzorcev s šestnajstih različnih lokacij (slika 1). Glede na opombe, ki sva jih pri vzorčenju zapisali za posamezni vzorec, smo skupaj z mentoricama izbrali najprimernejše vzorce za obdelavo s posamezne lokacije. Ker se lahko centrifugira največ 6 vzorcev naenkrat, smo jih prav toliko pripravili v posamezni seriji. Za pregled smo skupno pripravili 48 vzorcev.

Tabela 3: Prikaz rezultatov za posamezne testirane vzorce

OZNAKA VZORCA	VRSTA VZORCA (IZTREBEK/PRST)	REZULTAT (POZITIVEN/NEGATIVEN)
Tokso3, cerkev	iztrebek	negativen
Tokso1, Kardeljeva-pot	iztrebek	negativen
Tokso1, vel. blok	iztrebek	negativen
Tokso4 Šoštanj blok	iztrebek	negativen
Tokso1, jašek	iztrebek	negativen
Tokso3, jašek	iztrebek	negativen
Tokso1, Škale	iztrebek	negativen
Tokso1, Gorica-spr	iztrebek	negativen
Tokso3, Gorica-spr	iztrebek	negativen
Tokso1, Jenkova	iztrebek	negativen
Tokso1, bloki-dom	iztrebek	negativen
Tokso7, Ravne-e	iztrebek	negativen
Tokso12, Ravne-k	iztrebek	negativen
Tokso1, Ravne-oc	iztrebek	negativen
Tokso2, stadion	iztrebek	negativen
Tokso1, Topolšica	iztrebek	negativen

Tokso6, Topolšica	iztrebek	negativen
Tokso3, jata	iztrebek	negativen
Tokso7, jata	iztrebek	negativen
Tokso5, jata	iztrebek	negativen
Tokso3, Velun	iztrebek	negativen
Tokso3, Šoštanj	iztrebek	negativen
Tokso9, Šoštanj	iztrebek	negativen
Tokso1, Pika	iztrebek	negativen
Tokso4, cerkev	prst	negativen
Tokso3, veterina vel.	iztrebek	negativen
Tokso5, jašek	iztrebek	negativen
Tokso2, Škale	iztrebek	negativen
Tokso5, Gorica	prst	negativen
Tokso6, Gorica	iztrebek	negativen
Tokso3, Ravne	iztrebek	negativen
Tokso11, Ravne	iztrebek	negativen
Tokso3, Topolšica	prst	negativen
Tokso4, Topolšica	iztrebek	negativen
Tokso1, Škale	iztrebek	negativen
Tokso5, Šoštanj	iztrebek	negativen
Tokso7, Šoštanj	iztrebek	negativen
Tokso3, Pika	iztrebek	negativen
Tokso1, Matko	iztrebek	negativen
Tokso2, Matko	iztrebek	negativen

Tokso3, Matko	iztrebek	negativen
Tokso4, Matko	iztrebek	negativen
Tokso8, Ravne	iztrebek	negativen
Tokso6, jata	prst	negativen
Tokso4, jašek	prst	negativen
Tokso1, cerkev	iztrebek	negativen
Tokso3, bloki-dom	prst	negativen
Tokso2, jata	prst	negativen

*S posamezno barvo so označeni vzorci, obdelani v isti seriji.

Rezultati raziskave so pokazali, da je bilo za toksoplazmo negativnih prav vseh 48 vzorcev. Glede na to, da smo sistematično testirale po nekaj vzorcev z vsakega vzorčnega mesta, predvidevamo, da je tudi preostanek vzorcev negativen.

5 DISKUSIJA

Toksoplazmoza je infektivna okužba s parazitom *Toksoplasma gondii*. Parazit lahko okuži veliko različnih organizmov, vendar je njegov življenjski krog vezan na končnega gostitelja – mačko. Zaradi vedno večjega širjenja mest in nevestnega ravnanja ljudi se je populacija prostoživečih in potepuških mačk v urbanih središčih močno povečala, kar poveča tudi možnost za prenos zoonoze na ljudi.

Z raziskovalnim delom smo želeli ugotoviti, v kolikšni meri je toksoplazmoza prisotna pri prostoživečih in potepuških mačkah v Šaleški dolini ter kakšno nevarnost za zdrave ljudi lahko predstavljajo prostoživeče in potepuške mačke na tem območju.

Ljudje se lahko s toksoplazmo okužijo z zaužitjem tkivnih cist iz slabo termično obdelanega mesa živali ali direktno preko zaužitja oocist. Oociste lahko zaužijemo s kontaminirano vodo ali hrano (predvsem s slabo umitim sadjem in zelenjavo) ali ob direktnem stiku z mačjimi iztrebki. Najpogosteje se ljudje okužijo ravno z oocistami, zato sva se v raziskovalni nalogi osredotočili na njihovo detekcijo. Uporabili sva preverjeno in popolnoma neinvazivno metodo, pri kateri sva z iskanjem mačjih iztrebkov na različnih lokacijah v Šaleški dolini skušali detektirati oociste toksoplazme, kar bi nakazovalo na akutno okužbo mačke s tem parazitom. Ta način sva izbrali zato, ker sva želeli z raziskavo čim manj posegati v življenje mačk v njihovem okolju. Izbrana metoda pa s svojo neinvazivnostjo tudi ne ogroža mačk, saj jih po nepotrebnem ne izpostavljammo dodatnemu stresu ali možnim infekcijam, kar je primernejše tudi z etičnega vidika. Izbrana metoda je bila za nas tudi najbolj dostopna, saj ne zahteva pretirane finančne podpore, kot bi jo recimo genetske ali serološke raziskave za odkrivanje parazita. Je tudi ena izmed najenostavnejših, ki pa nas vseeno pripelje do ustreznih rezultatov, saj bi pozitivni rezultati nakazovali na aktivno okužbo, ki bi lahko predstavlja večjo nevarnost za zdravje ljudi.

Rezultati laboratorijskega dela niso pokazali prisotnosti oocist v izbranih vzorcih. Takšen rezultat sovpada z rezultati podobnih raziskav drugje po svetu, kjer tudi navajajo zelo nizko prevalenco oocist v iztrebkih prostoživečih mačk (Roth in sodelavci, 1985). Za primerjavo v mestu Adelaide pri 115 testiranih vzorcih niso odkrili aktivne okužbe (Roth in sodelavci, 1985), na drugi strani pa so v Ohio (ZDA) od 1000 testiranih iztrebkov oociste potrdili le pri

0,7 % vzorcev (Dubey in sodelavci 1977). Vendar pa vseeno lahko vzroke za naše rezultate v tej raziskavi iščemo tudi v različnih okoljskih in časovnih dejavnikih.

Ena od možnosti je, da raziskave nisva opravljali v ustreznem času. Ker sva vzorce zbirali v času od 22. 10. 2016 do 6. 12. 2016, sva lahko naleteli na obdobje, ko med mačkami trenutno ni bilo prenosa parazita oz. je bil zelo zmanjšan. Zanimivo bi bilo raziskati, ali je takšna prevalenca aktivnega izločanja oocist značilna tudi za druga obdobja, ko so mačke aktivnejše, recimo med obdobjem parjenja ali ob kotitvi mladičev, ko je fizični kontakt med živalmi večji.

Detekcija oocist je lahko manjša tudi zaradi starosti živali; na izbranih lokacijah namreč nismo zasledile samic z mladički. Iz literature sva ugotovili, da največ in najdlje izločajo oocite ravno mladiči in mlade mačke, ki prej še niso bile okužene s toksoplazmo, parazit pa izločajo le v obdobju 7–20 dni po tem, ko so se okužile. Mačke, ki so bile v preteklosti okužene s toksoplazmo, izločajo precej manj oocist in tudi krajši čas (Frenkel 1970, Dubey 1970). Ena izmed možnosti za dobljene rezultate je tudi, da v tem okolju lahko najdemo okuženo mačko, ki pa parazitov trenutno ni prenašala na ostale osebkke, ali pa ta v njenem iztrebku še ni dozorel, kar se navadno zgodi v 1–5 dni po izločanju.

Drugi pomemben dejavnik je tudi vreme. Ravno v obdobju raziskave je bilo obdobje večjih padavin, kar bi lahko pomenilo, da je dež iz mačjih iztrebkov spral oociste v prst, in čeprav sva jemali in testirali tudi vzorce prsti pod iztrebki, ni nujno, da bi jih našli. Po več nalivih bi se lahko nahajale že zelo globoko v prsti in ker za vse iztrebke ne vemo, kako dolgo so že v naravi, preden sva jih pobrali, bi lahko preživeli veliko takšnih vremenskih pojavov, s čimer bi parazit lahko postal skoraj popolnoma neopazen.

To raziskavo bi seveda lahko izboljšali in še podrobneje raziskali nahajališča ter pokrili še dodatna problematična območja, kot so recimo otroška igrišča in peskovniki ter območja hranjenja prostoživečih in potepuških mačk v urbanih naseljih. Pri tem bi se lahko povezovali tudi z različnimi društvi za zaščito živali, ki najboljše poznajo problematiko prostoživečih mačk in njihova nahajališča.

Naša raziskava bi lahko bila uporabljena kot del rednega monitoringa pojavljanja toksoplazme v Šaleški dolini, saj je uporabljena metodologija neinvazivna in poceni. Ob morebitnem

pojavo oocist v iztrebkih pa bi se lahko obvestilo lokalne skupnosti in društva, da naj bodo pri stiku na takšnih območjih še posebej previdni, prav tako bi lahko izvajali redna vzorčenja in izolacije. Takšna testiranja bi lahko v prihodnosti izvajali tudi veterinarji v Šaleški dolini in s tem preverjali okuženost hišnih mačk.

Naša prva hipoteza je bila, da je *Toksoplazma gondii* bolj razširjena med prostoživečimi in potepuškimi mačkami kot med hišnimi (udomačenimi) mačkami. Na podlagi negativnih rezultatov iztrebkov prostoživečih, potepuških in udomačenih mačk te hipoteze ne moremo potrditi, prav tako pa tudi ne ovreči. Hišne mačke smo uporabili kot negativno kontrolo, saj smo predvidevali, da je verjetnost za okužbo zelo nizka zaradi prostorske izolacije. Možno pa je, da je bila hišna mačka v preteklosti okužena s parazitom, posebej če je bila mačka posvojena iz zavetišča ali iz okolja, kjer je prej imela stik z drugimi osebkami, vendar okužba ob dolgotrajni izoliranosti izgine.

Drugo hipotezo, da prosto živeče mačke predstavljajo nevarnost za ljudi, moramo pod temi pogoji ovreči, saj oocist v iztrebkih prostoživečih mačk nismo zaznali, zato torej s svojo prisotnostjo zdravja ljudi ne ogrožajo. Skupaj z dejstvom, da je aktivno izločanje oocist kratkotrajno, je verjetnost, da bi se okužili s toksoplazmo ravno zaradi potepuških mačk, zelo majhna. Vseeno pa moramo biti pri rokovanju s prostoživečimi mačkami previdni, saj toksoplazma ni edina bolezen, ki lahko prehaja z mačk na ljudi. Po vsakem rokovanju s potepuškimi mačkami moramo upoštevati higienske standarde ter se tako zaščititi pred morebitnimi okužbami.

Naša tretja hipoteza je bila, da je uporaba iztrebkov kot metoda za ugotavljanje toksoplazme pri mačkah učinkovita. Četudi nismo odkrili prisotnosti oocist v iztrebkih, je bila metoda že uporabljena v raziskavah tega parazita tudi drugje po svetu, kjer so ravno tako ugotovili nizko prevalenco. Ker je metoda enostavna in cenovno dostopna, bi takšno vzorčenje lahko opravljala tudi lokalna društva za zaščito živali ter tako pripomogla k dobrobiti živali in zaščiti lastnega zdravja. Poudarjava pa, da bi za učinkovit monitoring morali vzorčenje in analize izvajati v rednih časovnih intervalih in večjemu številu vzorcev. Tako bi lahko odkrivali aktivne faze izločanja oocist in s tem pomagali pri osveščanju in zaščiti zdravja lokalnega prebivalstva. Prav tako bi bilo priporočljivo izvesti tudi serološka testiranja na prisotnost protiteles IgG in IgM, kar bi nam dalo dober vpogled v točno stanje okuženosti

prostoživečih mačk, vendar je žal takšna raziskava dosti dražja in veliko bolj invazivna za živali.

Glede na prebrano literaturo in dobljene rezultate bi zaključili, da prostoživeče in potepuške mačke ne predstavljajo večje nevarnosti za zdravje ljudi vsaj s stališča prenosa toksoplazme. Vseeno pa prostoživeče mačke predstavljajo okoljski problem, za katerega pa je največji meri odgovoren človek, ki s svojim ravnanjem posega v svet okoli sebe.

6 ZAKLJUČEK

Z raziskovalnim delom sva želeli ugotoviti, ali je parazit *T. gondii* prisoten pri prostoživečih in potepuških mačkah v Šaleški dolini ter kakšno nevarnost za zdrave ljudi lahko predstavljajo na tem območju, kjer se nahajajo.

Dobljeni rezultati kažejo na zelo nizko prevalenco parazita v iztrebkih prostoživečih in potepuških mačk, iz česar lahko sklepamo, da mačke ne predstavljajo večje nevarnosti za zdravje ljudi. Dobljeni rezultati se ujemajo s primerljivimi študijami v svetu, vsekakor pa sva tudi pri najinem raziskovanju ugotovili, da so še možnosti za izboljšave. V prihodnje bi se monitoring prevalence lahko izvajal pogosteje (vsaj enkrat tedensko) preko celega leta ter ob ugodnejših vremenskih razmerah. Tako bi lahko ugotovili, ali so naši rezultati res posledica nizke prevalence izločanja oocist ali pa so na rezultate vplivali slabši vremenski ali drugi dejavniki. Za najboljše rezultate bi morali izvesti še serološko testiranje na prisotnost protiteles za toksoplazmo ali genetsko dokazovanje prisotnosti parazita, vendar so te metode dražje in etično spornejše.

Prostoživeče mačke z vidika prenosa toksoplazme ne predstavljajo povišanega tveganja za zdravje prebivalcev Šaleške doline. Glede na to, da v izbranih vzorcih nismo zasledili oocist, pomeni, da je verjetnost prenosa tega parazita z živali na ljudi malo verjetna, saj se največ ljudi okuži ravno z zaužitjem, zaradi slabe higiene ali preko kontaminirane hrane ali vode. Zato bi preventivno priporočili večjo pazljivost pri pripravi hrane predvsem v primerih, ko se v okolici nahajajo potepuške in prostoživeče mačke ter dosledno in temeljito umivanje rok po rokovanju z njimi. Na tak način lahko največ naredimo za zaščito lastnega zdravja, ne le pred okužbo s toksoplazmo, temveč tudi pred drugimi patogeni.

7 POVZETEK

Toksoplazmoza je okužba s parazitom *Toxoplasma gondii*, ki je razširjen po vsem svetu. Glavni gostitelj, v katerem poteka tudi spolno razmnoževanje toksoplazme, je mačka. Ciste zajedavca se izločajo z blatom in se lahko prenašajo tudi na ljudi, ki so v neposrednem stiku z mačkami ali njihovimi iztrebki. Za večino ljudi je okužba nenevarna, večje težave povzroča lahko le ljudem s slabšo imunsko odpornostjo, posebej nevarna pa je prva okužba s parazitom za nosečnice. Človek in ostali naključni gostitelji (glodavci, ptice, plazilci) se lahko okužijo z zaužitjem oocist, ki se nahajajo v zemlji, vodi ali hrani. Mačka, ki je okužena s toksoplazmo, ne ogroža človeka in okolice, problem nastane le, če pridemo v stik z njenimi iztrebki v času, ko aktivno izloča oociste.

Zaradi povečane urbanizacije in neodgovornega ravnanja ljudi se je populacija prostoživečih in potepuških mačk v mestih povečala, kar pa posledično pomeni večjo možnost za širjenje parazita ne le med mačkami ampak tudi za povečano tveganje za prenos parazita s prostoživečih mačk na ljudi, saj je na območjih, kamor zahaja večje število mačk, prenos okužbe verjetnejši kot drugje.

Z raziskovano nalogo sva želeli ugotoviti, ali so oociste toksoplazme prisotne v iztrebkih prostoživečih mačk v Šaleški dolini, kakšna je prevalenca parazita med prostoživečimi in potepuškiimi mačkami ter ali potepuške mačke lahko predstavljajo tveganje za zdravje ljudi v okolici, kjer se nahajajo.

Uporabili sva neinvazivno metodo, s katero sva vzorčili mačje iztrebke na različnih lokacijah v Šaleški dolini ter s postopkom flotacije poskušali izolirati aktivne oociste. V nobenem izmed testiranih vzorcev oocist toksoplazme nisva našli. Obstaja več možnosti, zakaj sva prišli do takšnih rezultatov. Na vzorce lahko vpliva več različnih dejavnikov, kot so vreme, čas vzorčenja, izbrane lokacije in čas prenašanja parazita. Možno je, da so mačke v naši okolici okužene, a niso v času vzorčenja aktivno izločale oociste parazita, lahko da oocist nismo zaznali zaradi neugodnih zunanjih dejavnikov ali da je prevalenca toksoplazme pri mačkah v Šaleški dolini zelo nizka. Ne glede na to, pa moramo pri rokovanju s potepuškiimi in prostoživečimi mačkami vedno ravnati zelo previdno in upoštevati minimalne higienske standarde.

8 ZAHVALA

Za pomoč pri izdelavi raziskovalne naloge se zahvaljujema mentoricama Ireni Štimac, univ. dipl. biol., in Sandri Hasić, dipl. varst. biol., saj sta si vedno vzeli čas, da sta nama strokovno svetovali in nudili pomoč.

Zahvaljujema se tudi Polonci Glojek za lektoriranje naloge in Janji Kovač za pregled angleškega povzetka.

Posebna zahvala gre tudi dr. Radi Blagu za posredovan protokol in pozitivno kontrolo.

Zahvaljujemo se tudi ravnatelju Rajmundu Valclu za vsesplošno podporo.

Za spodbude pa se zahvaljujema tudi svojima družinama.

9 PRILOGE

14

ŠOLSKI CENTER VELENJE; SPLOŠNA IN STROKOVNA GIMNAZIJA
RAZISKOVALNA NALOGA: TOKSOPLAZMA V ŠALEŠKI DOLINI

DATUM TERENA: 20.11.2016

LOKALITETA: Sostanj

VZORČIL: Ana in Škarin

OPIS OBMOČJA: Mesto, dom pred vzorčenjem = močno dečevsko

① Park; klopce, spletkujuče stene, čez ceste = pešpoti, v bližini je cefalopoda sota, blaki

② Bližina doma / centra) zaseden = trgovina Mercator, tržnica, hiše, blaki, v bližini je park.

③ Trešimigijel park = igrišče za otroke (igrala, odbojka na mivki + street-worald) v bližini = stacionarna hiše, blaki, travniki, irtavi, potna jezera.

ŠT. VZORCA	VZORČNO MESTO	VRSTA VZORCA	DATUM ODVZEMA	OPOMBE
① TOKSO1	plast dogrmi	iztrebek	20.11.	domnevno iztrebek → trdnost, vendar so vsi sone dlake
TOKSO2	do groma	prst	20.11.	→ žuželka v prsti
② TOKSO3	na mo travi chrti	iztrebek	20.11.	
TOKSO4	"trava" do prsti	prst.	20.11.	
TOKSO5	do kosa za smeti	iztrebek	20.11.	
TOKSO6	do kosa za smeti	prst	20.11.	
② TOKSO7	beton (asfalt)	iztrebek	20.11.	ce ploč je bila na betonu veka, da je morda, kaj nebuje dlake.
③ TOKSO8	sevanj (pod)	prst	20.11.	Prst je bil čist
TOKSO9	" "	iztrebek	20.11.	pred vzorčenjem
TOKSO10	zelenica, zalagan z	iztrebek	5.12.	učinki ali iztrebek +
	↓			
	ni pohi proti			
	cerkvi, tam z			
	emena + poudarjenost na blaki, hiše ..			
	rustni grad + # 00 nriou ↓ = trg (urgovine..)			

+ videli so dlake, vendar je mogoče da su s pinnati in gore na kalemnica, vendar je gromota precej okaldirjala, zato su se odločili da jo ukrenó vzamemo.

Priloga 1: Tabela za popis podatkov na terenu

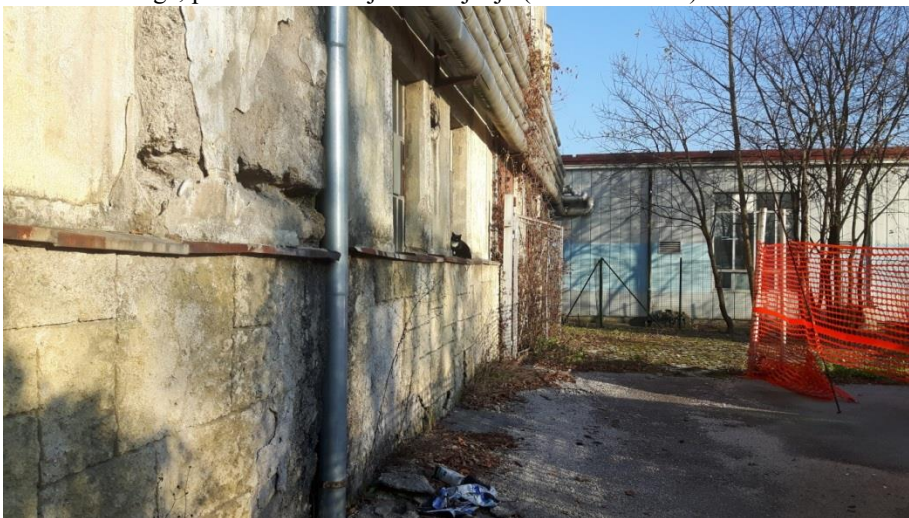
Priloga 2: Fotografije iz terenskega dela



Slika 1: Območje, kjer se zadržujejo mačke (Foto: I. Štimac)



Slika 2: Podlaga, primerna za mačje iztrebljanje (Foto: I. Štimac)



Slika 3: Območje, kjer ljudje hranijo potepuške mačke (Foto: A. Potočnik)



Slika 4: Material za terensko delo (Foto: A. Potočnik)

Priloga 3: Fotografije iz laboratorijskega dela



Slika 1: Filtracija (Foto: K. Lešnik)



Slika 2: Svetlobni mikroskop (Foto: K. Lešnik)

10 VIRI IN LITERATURA

Frenkel, J. K., Dubey, J. P., Toxoplasmosis and its prevention in cats and man. *The Journal of infectious diseases*. December 1972 številka 6, letnik 126. Strani 664–673.

Frenkel, J. K. Pursuing *Toxoplasma*. *The Journal of infectious diseases*. 1970. Letnik 122. Strani 553–559.

Dubey, J. P., Miller, N. L., Fenkel, J. K. Characterisation of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Parasitology*. 1970. Letnik 56. Strani: 447–456.

Lindquist, A., Bennet, J. W., Heseter, J. D., Ware, M. W., Dubey, J. P., Everson, W. V. Autofluorescence of *Toxoplasma gondii* and Related Coccidian Oocysts. *Journal of Parasitology*. 2003. Številka 4. Letnik 89. Strani: 865–867.

Dubey, J. P., Beattie, C. P. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. 1988. CRC Press, Florida.

Remington, J. S., Klein, J. O. Infectious disease of fetus and newborn infant: *Toxoplasmosis*. 1995. strani 140–267. Filadelfija.

Teutsch, S. M., Juranek, D. D., Sulzer, A. Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats. *N Engl J Med*. 1979. Letnik 300. Strani 695–699.

Smith, J. L., Documented outbreaks of *Toxoplasmosis*: Transimition of *Toxoplasma gondii* to humans. *J Food Prot*. 1993. Letnik 56. Strani 630–639.

Rothe, J., McDonald, P. J., Johnson, A. M., Detection og *toxoplasma* oocysts in an urban environment in a developed country. *Patrhology*. 1985. Letnik 17. Strani 497–499.

Dubey J.P., Christie E., Pappas P.W., Characterization of *Toxoplasma gondii* from feaces of naturally infected cats. *Journal of infectious diseases*. 1977. Letnik 136. Strani 432-435

Eukaryot, J. The History of *Toxoplasma gondii*—The First 100 Years. <http://naldc.nal.usda.gov/download/47190/PDF> (4. 6. 2016).

Flegr, J., Prandota, J., Sovičková, M., Israili, ZH. *Toxoplasmosis – A Global Threat. Correlation of Latent Toxoplasmosis with Specific Disease Burden in a Set of 88 Countries.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3963851/> (2. 12. 2016).

NIJZ TOKSOPLAZMA (Toxoplasma gondii) V ŽIVILIH.

http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/toksoplazma_v_zivilih_verzija_10_6_2015.pdf (28. 6. 2016).

Montoya, JG., Boothroyd, JC., Kovacs, JA. Toxoplasma gondii.

<https://www.clinicalkey.com.au/#/> (28. 6. 2016).

Brdnik, J. POGOSTNOST AKUTNE TOKSOPLAZMOZE PRI NOSEČNICAH V SLOVENIJI. http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn_brdnik_jasna.pdf (28. 6. 2016).

Harley, G., Sheffield in Marjorie L. Melton, The Journal of Parasitology.

http://www.jstor.org/stable/3276925?seq=1#page_scan_tab_contents (4. 12. 2016).

Kirar Fazarinc, I. Toksoplazmoza. <http://www.zdstudenti.si/pogosta-vprasanja/48-pogosta-vprasanja/186-toxoplazmoza> (4. 12. 2016).

NIJZ TOKSOPLAZMA (Toxoplasma gondii) V ŽIVILIH.

http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/toksoplazma_v_zivilih_verzija_10_6_2015.pdf (28. 6. 2016).

Posrpnjak, M. OSVEŠČENOST NOSEČNIC O TOKSOPLAZMOZI.

<https://dk.um.si/Dokument.php?id=52018> (28. 6. 2016).

Darde, M. L., Ajzenberg, D., Smith, J. Population Structure and Epidemiology of Toxoplasma gondii

https://books.google.si/books?id=yTukJEphM_IC&pg=PA49&source=gbs_toc_r&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false (7. 12. 2016).

Topolovec, T. Skrivnostno življenje domače mačke, Delo,

<http://www.delo.si/zgodbe/nedeljskobranje/skrivnostno-zivljenje-domace-macke.html> (4. 12. 2016).