

## L'immunoblot nel percorso diagnostico della toxoplasmosi

Simona Trimarco<sup>2</sup>, Angela Spagnuolo<sup>2</sup>, Giuseppe Galdiero<sup>2</sup>, Erika Zarrillo<sup>2</sup>, Maria Grazia La Campora<sup>2</sup>, Chiara Pagliuca<sup>1</sup>, Mariateresa Vitiello<sup>1,2</sup>,  
Roberta Colicchio<sup>1,2</sup>, Paola Salvatore<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli Federico II, Napoli; <sup>2</sup>Dipartimento di Attività Integrata di Medicina di Laboratorio e Trasfusionale, Unità Operativa Complessa di Microbiologia Clinica, Policlinico Universitario Federico II, Napoli; <sup>3</sup>CEINGE Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore s.c.ar.l, Napoli.

### INTRODUZIONE

*Toxoplasma gondii* è un parassita intracellulare obbligato appartenente al Phylum degli Apicomplexa. È l'agente eziologico della toxoplasmosi; oggi sono state descritte circa 350 specie ospiti di *T. gondii*, tra cui l'uomo e si stima che il 30% della popolazione umana globale sia cronicamente infetta.

Quando l'infezione viene acquisita in gravidanza per la prima volta, mediante il consumo di carne cruda o da feci di gatto infette (Figura 1), *T. gondii* può attraversare la placenta ed entrare nella circolazione fetale con un rischio che aumenta con l'età gestazionale. Il ruolo protettivo della placenta è più efficace nel primo trimestre di gravidanza; infatti con l'aumentare della vascolarizzazione, la barriera placentare diventa più permeabile (Figura 2).

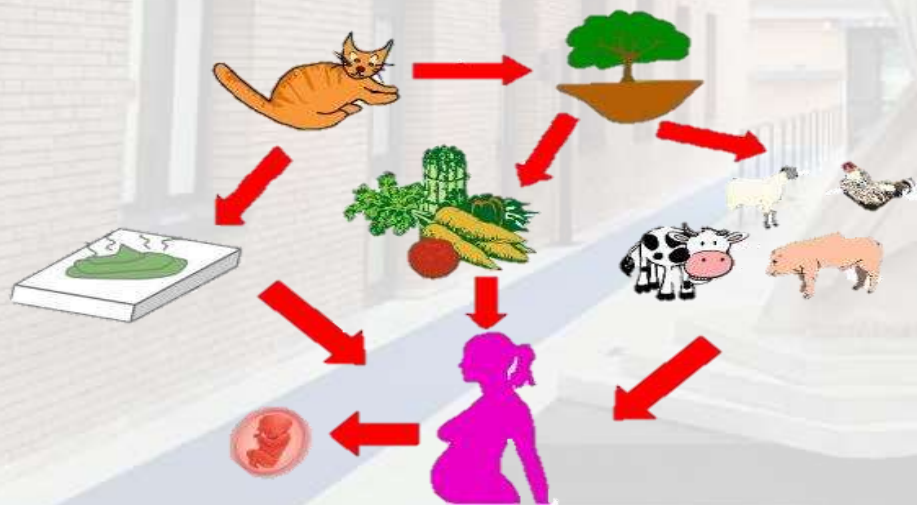


Figura 1. Rappresentazione delle principali vie di trasmissione di *T. gondii*

Toxoplasmosi in gravidanza: trasmissione e rischi per il feto.		
Probabilità di trasmissione	Fasi	Rischi per il feto
Primo trimestre: rischio di trasmissione circa 20%		Aborto e/o morte del feto. Mancata crescita intrauterina. Nascita prematura.
Secondo trimestre: rischio di trasmissione circa 30%		Neonato affetto da: Idrocefalo, calcificazioni cerebrali, corioretinite e convulsioni.
Terzo trimestre: rischio di trasmissione circa 70%		Neonato sano Portatore di una forma latente di infezione.

Figura 2. Probabilità di trasmissione di *T. gondii* e rischi per il feto in gravidanza



## OBIETTIVO

La diagnosi di toxoplasmosi in gravidanza è di fondamentale importanza per la sorveglianza sanitaria perché limita la trasmissione verticale mamma-feto. La tempestiva identificazione della toxoplasmosi congenita è di fondamentale importanza per procedere con l'inizio del trattamento terapeutico, a tale scopo risultano fondamentali metodiche di laboratorio altamente sensibili e specifiche. Nell'ultimo decennio la tecnica dell'**immunoblot** per la rilevazione delle IgG e IgM anti-toxoplasma risponde a tali requisiti.

## MATERIALI E METODI

Si tratta di un test di confronto dei profili immunologici di IgG e IgM tra madre e figlio da effettuare entro i primi 3 mesi di vita del neonato per evitare aspecificità. In particolare, l'indagine risulta limitata ai primi 3 mesi di vita per la rilevazione delle IgG e al 1 mese di vita per la rilevazione delle IgM.

Tale metodica è utile per la diagnosi di:

- toxoplasmosi congenita alla nascita mediante confronto tra sangue materno e sangue del cordone ombelicale al giorno G0;
- toxoplasmosi congenita nel follow up post-natale mediante confronto tra sangue del cordone ombelicale al giorno G0 e il sangue del bambino nei giorni dopo la nascita.



**FASE 1.** Preparazione di strip di nitrocellulosa sensibilizzate con antigeni di *T. gondii*, reidratate con soluzione buffer e incubate con i sieri da analizzare.



**FASE 2.** Incubazione in oscillazione.



**FASE 3.** Aggiunta di un anticorpo anti-IgG e anti-IgM coniugato con fosfatasi alcalina e successivo substrato (NBT-BCIP).





## RISULTATI

Gli antigeni riconosciuti dagli anticorpi anti-toxoplasma di classe IgG e IgM presenti nel campione appaiono come strisce trasversali di colore viola. Il confronto delle coppie di strisce IgG e IgM consente di rilevare l'eventuale presenza di bande unicamente da uno dei campioni e non dall'altro in particolare bande di neosintesi nel neonato.

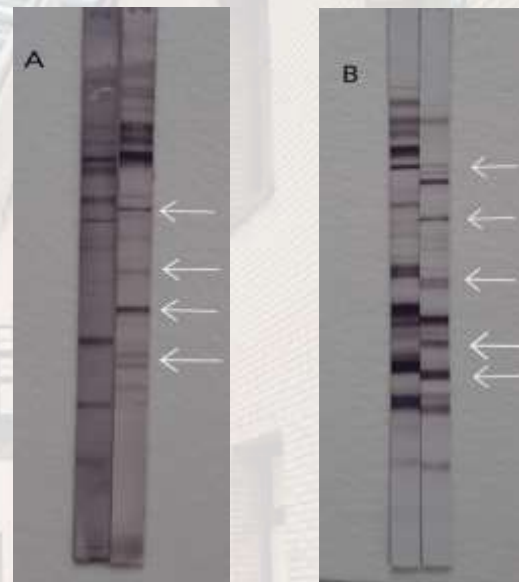
In figura 3 è rappresentato un confronto sierologico tra le IgM della madre (destra) e quelle del neonato (sinistra) (A) e un confronto sierologico tra le IgG della (destra) e quelle del bambino (sinistra) (B) a 10 giorni dalla nascita.

Nell'immagine A, sulla membrana relativa al bambino si possono notare bande non presenti sulla membrana relativa al campione della madre ad indicare la neosintesi di anticorpi IgM anti-*T. gondii* fetali.

Nell'immagine B, sulla membrana relativa al campione del bambino si possono notare bande non presenti sulla membrana relativa al campione della madre ad indicare un diverso profilo immunologico.

## CONCLUSIONI

Negli ultimi anni la sensibilità nella diagnosi di toxoplasmosi è molto migliorata da quando alla sierologia tradizionale vengono affiancati i test di immunoblot per la rilevazione di IgG e IgM anti-toxoplasma. Tali test permettono di evidenziare nei pool di anticorpi specifici anti-toxoplasma del neonato quelli di neosintesi caratterizzati da una specificità antigenica diversa da quelli materni che nei mesi successivi, da quelli presenti alla nascita.



**Figura 3:** Confronto dei profili immunologici per IgM e IgG di madre e bambino mediante metodica Western Blot a 10 giorni dalla nascita.

## BIBLIOGRAFIA

- Lina bollani, Cinzia Auriti, Cristian Achille, Francesca Garofoli, Domenico Umberto De Rose, Valeria Meroni, Guglielmo Salvatori, Chryssoula Tziialla. Congenital Toxoplasmosis: The State of the Art. *Front Pediatr* 2022 Jul 6;10:8945573. Doi:10.3389/fped.2022.894573. eCollection 2022
- Christelle Pomares, Jose G. Montoya. Laboratory Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. <http://doi.org/10.1128/JCM.00487-16.23> September 2016