

Procesy immunologiczne w przebiegu inwazji *Toxoplasma gondii*

Immunological processes in the course of the *Toxoplasma gondii* infection

Jacek Sroka^{1,2}, Jacek Karamon¹, Tomasz Cencek¹

¹Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

²Zakład Biologicznych Szkodliwości Zawodowych, Instytut Medycyny Wsi, ul. Jaczewskiego 2, 20-950 Lublin

Adres do korespondencji: Jacek Sroka, Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; E-mail: jacek.sroka@piwet.pulawy.pl

ABSTRACT. The article is a concise review concerning immune response during *Toxoplasma gondii* infection. The role of humoral and cell-mediated immune responses is discussed including active macrophages, CD4+/CD8+, T-lymphocytes, cytokines and antibodies. Perspectives of the immunization were also briefly presented.

Key words: *Toxoplasma gondii*, immunity, immunization, vaccination

Toxoplasma gondii jest kosmopolitycznym pierwotniakiem pasożytującym wewnątrzkomórkowo u wielu gatunków zwierząt kręgowych oraz u człowieka. Pasożyt ten może być szczególnie groźny dla rozwijającego się płodu, ze względu na możliwość wystąpienia wad wrodzonych [1], jak również dla osobników z osłabioną odpornością [2, 3]. Jak się uważa, przewlekłe zarażenie *T. gondii* u osób z prawidłową odpornością, ze względu na bezobjawowy przebieg nie ma znaczenia epidemiologicznego. Jednak wyniki badań z ostatnich lat wykazują, że istnieje możliwość reaktywacji zarażenia lub superinwazji wywołanej przez inny szczep pasożyta [4]. Badania grup osób z bezobjawową postacią tokso-plazmozy wykazały statystycznie częstsze niż u osób niezarażonych występowanie niespecyficznych zaburzeń m. in. w postaci nawracającego bólu głowy czy zaburzeń hormonalnych, których przyczyn nie można było określić. Inwazja *T. gondii* nabyta podczas życia płodowego także może pozostawiać skutki odległe w czasie w postaci chorób na-

rzędu wzroku, ośrodkowego układu nerwowego, zaburzeń psychicznych czy osobowościowych [5]. Stąd utajona obecność pasożyta w organizmie nie może być jednoznacznie utożsamiana z subklinicznym przebiegiem zarażenia.

W oparciu o różnice w patogenności poszczególnych szczepów dla myszy oraz wyniki analizy długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP) w gatunku *T. gondii* wyróżniono trzy typy, czyli linie klonalne, różniące się genotypowo. Przypadki tokso-plazmozy wrodzonej oraz zarażeń u osób zakażonych wirusem HIV wywołane są przeważnie przez typ II, rzadziej I. U zwierząt dominują inwazje wywołane typem II [6].

T. gondii wykazuje doskonałe przystosowanie do zasiedlania żywiciela. Wewnątrzkomórkowa lokalizacja pasożyta ogranicza skutki działania układu odpornościowego żywiciela oraz utrudnia dotarcie chemioterapeutyków. Wytworzenie tzw. wodniczki pasożytniczej wewnątrz atakowanej komórki, w której przebywają i namnażają się pierwotniaki

chroni je przed działaniem enzymów lizosomalnych, co warunkuje im przetrwanie. W procesie penetracji *T. gondii* do komórki żywiciela bierze udział kompleks apikalny – struktura znajdująca się na przednim końcu komórki pasożyta. Jest on złożony z mikrotubuli wewnętrznych, pierścienia biegunowego, konoidu, roptrii i mikronem. Roptrie, granule o dużej gęstości i mikronemy są odpowiedzialne za wydzielanie białek rozpuszczalnych ułatwiających kolonizację komórki. W pierwszym jej etapie, w tworzeniu krótkotrwałej struktury między komórką pasożyta i żywiciela (tzw. moving junction) uczestniczą białka wydzielane przez mikronem – TgAMA1 (*T. gondii* apical membrane antigen), TgMICs (*T. gondii* micronemal proteins) i roptrie – RONS (roptry neck proteins) oraz ROPs (roptry proteins). Zaś w kolejnych etapach powstawania wodniczki pasożytnej uczestniczą białka granul o dużej gęstości – GRAs (dense granule proteins) oraz NTP-azy [7, 8]

W organizmach z prawidłową odpornością zakres i skutki inwazji pasożyta są kontrolowane przez układ immunologiczny. Szczególne znaczenie ma odporność typu komórkowego i związane z tym ochronne oddziaływanie interferonu γ (IFN- γ). Transformacja tachyzoitów w bradyzoity, obecne w cystach tkankowych i utrzymujące zdolność do inwazji nawet do końca życia żywiciela, stanowi istotny aspekt w przebiegu toksoplazmozy. W przypadku obniżenia ogólnej odporności organizmu może dochodzić do niekontrolowanego uaktywnienia inwazji (pękanie cyst i gwałtowne uwolnienie pasożytów) i rozwoju zmian chorobowych [9, 10].

Do wykrywania antygenów *T. gondii* stosuje się m.in. metody immunoblottingu, a także inne techniki z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych. W tachyzoitach występują antygeny powierzchniowe rodziny SAG (surface antigen) oraz SRS (SAG-related antigen). Biorą one udział w adhezji *T. gondii* do komórek żywiciela. Antygen SAG1 (P30) stanowi około 5% puli białek tachyzoitów i często służy jako marker tej postaci pasożyta. Wzbudza on odpowiedź zarówno limfocytów T, jak i B, stymulując wytwarzanie przeciwciał klasy IgG, IgM i IgA. Innym rodzajem antygenów są antygeny ESA (excreted/secreted antigens) zlokalizowane w wakuoli pasożytnej. Należą do nich m. in. antygeny GRA1-14 oraz hydrolazy nukleozydotrifosforanowe. Antygeny ESA stanowią około 90% puli antygenów wykrywanych w surowicy w początkowym stadium inwazji *T. gondii*. Powodują powstawanie odpowiedzi immunologicznej we wszystkich kla-

sach przeciwciał. Kolejną grupą są antygeny roptrii (ROP1-18), których sekrecja ustaje po zakończeniu wakuolizacji pasożyta. Ostatnią grupę tworzą antygeny MIC (microneme antigens), budujące kompleksy adhezyjne pasożyta [11, 12].

W przypadku zarażenia *T. gondii* dochodzi do aktywacji wrodzonych mechanizmów obronnych żywiciela oraz do indukcji reakcji swoistych. Udział czynników humoralnych w odporności przeciw toksoplazmowej jest niewielki, ze względu na to, że ich działanie ogranicza się do krótkotrwałego okresu parazytemii, kiedy pasożyty występują pozakomórkowo.

Odporność nieswoista

Zasadniczymi elementami tego typu odporności, mającymi istotne znaczenie w przebiegu inwazji *T. gondii* są: aktywacja dopełniacza, białek ostrej fazy, nieswoistej opsoniny, makrofagów i komórek NK. Te procesy prowadzą do ograniczenia proliferacji pasożytów poprzez bezpośredni lub pośredni efekt cytotoksyczny, a także przyczyniają się do prezentacji antygenów pasożyta i wykształcenia specyficznej odpowiedzi immunologicznej w organizmie żywiciela. Hamowanie replikacji oraz destrukcja pasożyta może być powodowana przez procesy oksydacyjne w których uczestniczą aktywne formy tlenu, a także przez syntezę wolnego rodnika NO o działaniu cytotoksycznym. Kolejnym typem reakcji jest indukowanie przez IFN- γ na drodze niezależnej od tlenu, enzymu IDO (indoloamino-2,3-dioksygenazy), rozkładającego tryptofan, niezbędny do wzrostu pasożytów. Szczególną rolę w aktywacji komórek NK wytwarzających IFN- γ pełni interleukina 12 (IL-12). Jednak pełna odpowiedź komórek NK jest możliwa jedynie w obecności innych cytokin, jak: czynnika martwicy nowotworów- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) i IL-1. W nieswoistych procesach odpornościowych mają udział także płytki krwi, działające cytotoksycznie na pasożyta, a także neutrofile i eozynofile, produkujące IL-12, aktywującą komórki NK oraz różne czynniki prozapalne [8, 13, 14].

Odporność swoista

Czynnikiem kontrolującym inwazję *T. gondii* jest swoista odpowiedź immunologiczna – komórkowa oraz humoralna. W organizmach z prawidłową odpornością obecność *T. gondii* stymuluje wytwarzanie swoistych przeciwciał IgG, IgM, IgA i IgE, które wiążąc się z antygenami pozakomórko-

wych pasożytów blokują cytoadhezyny pasożyta oraz aktywują komplement (IgM i IgG). Ogranicza to możliwość przenikania pasożytów do komórek oraz doprowadza do ich lizy. Utworzone kompleksy (antygen *T. gondii*–przeciwciało) indukują proces fagocytozy, eliminujący pasożyta. Jednak obecność przeciwciał nie zapewnia dostatecznej ochrony przed zjadliwymi odmianami pasożyta. Ich efekt jest znaczący dopiero we współdziałaniu z odpornością komórkową [13].

Pierwszymi przeciwciałami pojawiającymi się w ramach odpowiedzi humoralnej organizmu są IgM, które łączą się z antygenami powierzchniowymi toksoplazm. W surowicy, IgM stwierdzane są po ok. tygodniu od zarażenia i w zależności od gatunku i cech osobniczych żywiciela mogą być wykrywane do roku, czasami dłużej. Obecność w organizmie „naturalnych” immunoglobulin IgM może być przyczyną wyników fałszywie dodatnich stwierdzanych w odczynach serologicznych. W następnej kolejności w przebiegu zarażenia pojawiają się przeciwciała IgG, dzielące się na 4 podklasy. Wśród nich IgG1, IgG2, IgG3 uważane są za dominujące, a głównym ich celem są antygeny powierzchniowe pasożyta. Pełnią one ważną rolę w zabezpieczeniu płodu przed zarażeniem. Kolejną klasą przeciwciał są IgA, występujące w dwóch formach: dimerycznej (wydzielniczej, s-IgA) na powierzchni błon śluzowych przewodu pokarmowego oraz monomerycznej – w surowicy. Przeciwciała te zaczynają pojawiać się od drugiego do czwartego tygodnia po zarażeniu, zanikają około 9. miesiąca. IgA nie przekraczają bariery łożyskowej, stąd są dobrym markerem w przypadkach toksoplazmozy wrodzonej. Są wykrywalne przez 4 do 8 miesięcy i mogą być użyteczne w określeniu fazy zarażenia [11, 13].

Odporność komórkowa ma zasadnicze znaczenie w walce organizmu z pasożytem. W procesach odpornościowych podczas inwazji *T. gondii* istotną rolę odgrywają odmiany fenotypowe limfocytów T – CD4+ oraz CD8+, które wywierają wpływ cytotoksyczno-supresorowy na „wolne” pasożyty w krwi oraz komórki zarażone przez pasożyta.

Limfocyty CD8+ uważane są za główną siłę efektorową, odpowiedzialną za ochronę organizmu przed *T. gondii*. Wydzielają cytokiny, które wpływają na wszystkie fazy odpowiedzi immunologicznej, powodując proliferację, różnicowanie i aktywację limfocytów T i B, monocytów – makrofagów, granulocytów i komórek NK. Wśród limfocytów CD8+ występują dwie subpopulacje różniące się

właściami cytotoksycznymi oraz wytwarzanymi cytokinami, Tc1 i Tc2 [8, 13].

Odmiana fenotypowa limfocytów T CD4+ pełni funkcje pomocnicze. CD4+ biorą udział we wczesnej fazie inwazji wydzielając interferon i interleukiny oraz są niezbędne dla wytworzenia odporności poszczepiennej. Wśród limfocytów CD4+ wyróżnia się dwie subpopulacje: Th1 i Th2, odpowiedzialne za wytwarzanie różnych limfokin. Limfocyty Th1 wytwarzają IL-2, IL-12 oraz TNF- β . Natomiast limfocyty Th2 – IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13. Limfocyty Th1 oddziałują na mechanizmy odporności komórkowej poprzez aktywację limfocytów cytotoksycznych oraz makrofagów, a Th2 odgrywają ważną rolę w procesach likwidacji zewnątrzkomórkowych pasożytów na drodze humoralnej. W odpowiedzi na inwazję pasożytniczą uczestniczą również komórki NK (natural killer), LAK (lymphokine-activated killer), a także niespecyficzne komórki efektorowe: monocyty, leukocyty obojętnochłonne i makrofagi. Te ostatnie mogą działać niezależnie lub być aktywowane przez cytokiny, głównie przez IFN- γ i TNF- α [8, 13].

Rola cytokin jako mediatorów reakcji odpornościowych w przebiegu zarażenia *T. gondii* jest bardzo istotna. Cytokiny pełnią tutaj funkcję wspomagającą lub regulującą reakcje odpornościowe. Do cytokin promujących rozwój reakcji komórkowych zalicza się IFN- γ , TNF- α , interleukiny: IL-2, IL-5, IL-6, IL-12, IL-15 i IL-18. Najważniejszą cytokiną jest IFN- γ , produkowany przez limfocyty CD4+ i CD8+ oraz komórki NK. Odpowiedzialne za prezentację antygeny dla komórek efektorowych są makrofagi oraz komórki dendrytyczne. Wytwarzają one interleukinę 12 (IL-12), która aktywuje komórki NK, monocyty i makrofagi do wydzielania IFN- γ . IL-12 ma wpływ na aktywację i cytotoksyczność limfocytów i jest uważana za dominującą cytokinę w adaptacyjnej odpowiedzi układu odpornościowego na zarażenie. Do cytokin regulatorowych dla reakcji komórkowych zalicza się interleukiny IL-4, IL-10 oraz transformujący czynnik wzrostu TGF- β (transforming growth factor- β). Cytokiny te działają antagonistycznie, zabezpieczając organizm przed ewentualnym, niekorzystnym wpływem zbyt dużego wydzielania cytokin wspomagających [9, 13].

Próby immunizacji przeciw toksoplazmozie

Brak jest dotychczas szczepionki przeciwko toksoplazmozie u ludzi. W prowadzonych próbach jej

opracowania wykorzystywane są żywe, atenuowane tachyzoity, frakcje rozpuszczalne, produkty wydzielnicze oraz wydalnicze, cysty, rozpuszczalne frakcje z cyst lub roptrii pasożytów z różnymi adiuwantami: m.in. kompletnym i niekompletnym adiuwantem Freund'a (FCA/FIA), ISCOM (immune stimulating complexes) oraz toksyn cholery. Pomimo tego, że szczepionki zawierające żywe szczepy wydają się najbardziej skuteczne, nie mogą być stosowane u ludzi ze względu na ryzyko rewersji pasożytów do postaci cyst tkankowych. Ma to znaczenie szczególnie w przypadku osób z obniżoną odpornością. W próbach immunizacji myszy z użyciem antygenów powierzchniowych (SAG) w połączeniu z adiuwantem ISCOM, stwierdzano wytworzenie odporności typu komórkowego i niepełną ochronę przed rozwojem zarażenia. Znacznie większą ochronę obserwowano po zastosowaniu SAG1 z liposomami, będącymi dobrymi stymulatorami limfocytów CD8+ [15, 16]. Jednak stosowanie w szczepieniu antygenów specyficznych tylko dla określonego stadium pasożyta (np. tachyzoitów lub bradyzoitów) ogranicza jej przydatność. Dlatego duże nadzieje wiąże się z wykorzystaniem w szczepionkach białek roptrii (głównie ROP2) oraz białek granul o dużej gęstości (m. in. GRA5 i GRA7), które występują u wszystkich form inwazyjnych *T. gondii* [7, 17, 18]. Stosowanie tych białek w szczepieniu myszy powodowało pojawienie się specyficznych przeciwciał w krwi, jak również wykształcenie odporności miejscowej w przewodzie pokarmowym (przeciwciała klasy IgA), co ma istotne znaczenie w zarażeniach *per os* [19]. Inne badania wykazały, że stosowanie w szczepionce kilku białek antygenowych jednocześnie, w istotny sposób zwiększa odpowiedź immunologiczną organizmu [20]. W prowadzonych eksperymentach różnice we wzbudzonej odporności zależały również od drogi podania szczepionki. W próbach uodparniania myszy szczepionką podawaną donosowo uzyskano blisko 60% redukcję powstawania cyst w mózgu [21].

Obecnie podejmowane są próby ze szczepionkami genetycznymi w postaci plazmidów bakteryjnych, zawierających DNA kodujące antygeny powierzchniowe lub wydalniczo-wydzielnicze. W uodparnianiu myszy nowym typem szczepionki, opartej na chimerycznych fimbriach *Escherichia coli* typu Dr z epitopami rekombinowanych antygenów SAG1, GRA1 i MAG1 uzyskano blisko 89% skuteczność w ograniczeniu powstawania cyst w mózgu zwierząt inokulowanych szczepem DX *T. gondii* [22]. Zastosowanie szczepionki z DNA

kodującym SAG1 wydłużało czas życia zarażonych myszy i redukowało liczbę stwierdzanych cyst w mózgu [23]. Słabszą odpowiedź immunologiczną indukowały szczepionki z DNA kodującym GRA4 [24], plazmidów kodujących GRA1, GRA7 i ROP2 [25] lub szczepionki BCG połączonej z GRA1 [26].

Z epidemiologicznego punktu widzenia istotne wydaje się również ograniczanie poprzez szczepienia występowania *T. gondii* u zwierząt, które stanowią ważny rezerwuár pasożyta. Jedyną komercyjną szczepionką „Toxovax”, stosowaną jest u owiec, co zabezpiecza je przez okres co najmniej 18 miesięcy [28]. Istotne znaczenie miałyby zastosowanie szczepionki u kotów, które są pierwotnym źródłem pasożyta w środowisku. Dotychczasowe próby wakcynacji kotów żywymi tachyzoitami szczepu T-263 *T. gondii* (który utracił zdolność tworzenia oocyst), jak wykazano, spowodowały ograniczenie zarażenia również w populacji innych gatunków zwierząt z badanego terenu [27].

Szczepienia zwierząt rzeźnych oprócz ograniczenia zaburzeń w rozrodzie, zmniejszyłyby ryzyko zarażenia ludzi – konsumentów mięsa. O ile przypadki zarażeń *T. gondii* u świń hodowanych w dużych fermach są rzadkie, o tyle istotne wydaje się opracowanie szczepionki dla świń hodowanych w gospodarstwach drobnotowarowych, gdzie zwierzęta mają częsty kontakt z potencjalnymi źródłami pasożyta. Podejmowane próby uodparniania świń szczepionką zawierającą antygeny roptrii ograniczały występowanie cyst pasożyta w tkankach doświadczalnie zarażonych zwierząt [29]. Ze względu na brak udokumentowanych przypadków klinicznych toksoplazmozy u bydła oraz potwierdzoną eksperymentalnie szybką eliminację pasożytów z organizmu tego gatunku, wydaje się, że nie zachodzi konieczność jego immunizacji. Również mięso drobiowe nie stanowi zagrożenia dla zdrowia człowieka, ze względu na mrożenie w trakcie procesu technologicznego oraz działanie wysokiej temperatury przed spożyciem [3, 30].

W przedstawionej pracy poruszono jedynie niektóre aspekty oddziaływania układu immunologicznego na pasożyty *T. gondii*. Należy jednak mieć na uwadze, że pasożyt nie poddaje się biernie tym oddziaływaniom lecz aktywnie modyfikuje funkcje układu immunologicznego zwiększając szanse swojego przetrwania. Istnieje szereg mechanizmów indukowanych przez pasożyta w trakcie inwazji, pozwalających mu na unikanie efektów odpowiedzi immunologicznej (m. in. mimikra molekularna pasożyta, immunosupresja oraz przyspieszenie apopto-

tozy komórek efektorowych) [13]. Ze względu na to, że odporność uzyskana w trakcie naturalnej inwazji nie eliminuje wszystkich pasożytów z organizmu żywiciela [4, 9] można przypuszczać, że opracowanie w przyszłości skutecznej szczepionki dla ludzi, zabezpieczającej w pełni przed inwazją *T. gondii*, może być bardzo trudne.

Literatura

- [1] Dubey J.P., Beattie C.P. 1988. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. CRC Press Inc., Boca Raton.
- [2] Paul M. 2005. Toksoplazmoza - groźna choroba pasożytnicza kobiet ciężarnych i pacjentów z osłabioną funkcją układu odpornościowego. *Kosmos* 54: 77–88.
- [3] Tenter A.M., Heckeroth A.R., Weiss L.M. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology* 30: 1217–1258.
- [4] Dziębała T.H. 2003. Intrygujące aspekty odporności i zapobiegania w toksoplazmozie. *Przegląd Epidemiologiczny* 57: 571–577.
- [5] Długońska H. 2008. Toksoplazmoza – pasożytoza o wielu obliczach. *Polski Merkuriusz Lekarski* 141: 275–277.
- [6] Dytnerka K., Stączek P., Długońska H. 2004. *Toxoplasma gondii* – kosmopolityczny pasożyt o małym zróżnicowaniu genetycznym. *Postępy Mikrobiologii* 43: 141–154.
- [7] Długoska H. 2008. *Toxoplasma* rhoptries: unique secretory organelles and source of promising vaccine proteins for immunoprevention of toxoplasmosis. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* ID 632424: 1–7.
- [8] Długońska H. 2000. Odporność w zarażeniach wywołanych przez *Toxoplasma gondii*. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 54: 53–65.
- [9] Hunter C.A., Reichmann G. 2001. Immunology of *Toxoplasma* infection. In: *Toxoplasmosis: a comprehensive clinical guide*. (Eds. D.H.M. Joynton, T.G. Wreghitt). Cambridge University Press: 43–57.
- [10] Suzuki Y., Orella M.A., Schreiber R.D., Remington J.S. 1988. Interferon- γ : the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. *Science* 240: 516–518.
- [11] Holec L. 2007. Antygeny *Toxoplasma gondii* jako narzędzie w diagnostyce toksoplazmozy. Praca doktorska. Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej.
- [12] Bhopale G.M. 2003. Pathogenesis of toxoplasmosis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 26: 213–222.
- [13] Filisetti D., Candolfi E. 2004. Immune response to *Toxoplasma gondii*. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita* 40: 71–80.
- [14] Innes E.A. 1997. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 20: 131–138.
- [15] Bhopale G.M. 2003. Development of a vaccine for toxoplasmosis: current status. *Microbes and Infection* 5: 457–462.
- [16] Angus C.W., Klivington-Evans D., Dubey J.P., Kovacs J.A. 2000. Immunization with a DNA plasmid encoding the SAG1 (P30) protein of *Toxoplasma gondii* is immunogenic and protective in rodents. *The Journal of Infectious Diseases* 181: 317–324.
- [17] Beckers C.J., Dubremetz J.F., Mercereau-Puijalon O., Joiner K.A. 1994. The *Toxoplasma gondii* rhoptry protein ROP2 is inserted into the parasitophorous vacuole membrane, surrounding the intracellular parasite, and is exposed to the host cell cytoplasm. *The Journal of Cell Biology* 127: 947–961.
- [18] Nakaar V., Ngô H.M., Aaronson E.P., Coppens I., Stedman T.T., Joiner K.A. 2003. Pleiotropic effect due to targeted depletion of secretory rhoptry protein ROP2 in *Toxoplasma gondii*. *Journal of Cell Science* 116: 2311–2320.
- [19] Martin V., Supanitsky A., Echeverria P.C., Litwin S., Tanos T., De Roodt A.R., Guarnera E.A., Angel S.O. 2004. Recombinant GRA4 or ROP2 protein combined with alum or the GRA4 gene provides partial protection in chronic murine models of toxoplasmosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 11: 704–710.
- [20] Mévélec M.N., Bout D., Desolme B., Marchand H., Magné R., Bruneel O., Buzoni-Gatel D. 2005. Evaluation of protective effect of DNA vaccination with genes encoding antigens GRA4 and SAG1 associated with GM-CSF plasmid, against acute, chronic and congenital toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 23: 4489–4499.
- [21] Igarashi M., Kano F., Tamekuni K., Machado R.Z., Navarro I.T., Vidotto O., Vidotto M.C., Garcia J.L. 2008. *Toxoplasma gondii*: Evaluation of an intranasal vaccine using recombinant proteins against brain cyst formation in BALB/c mice. *Experimental Parasitology* 118: 386–392.
- [22] Gatkowska J., Gasior A., Kur J., Długoska H. 2008. *Toxoplasma gondii*: chimeric Dr fimbriae as a recombinant vaccine against toxoplasmosis. *Experimental Parasitology* 118: 266–270.
- [23] Angus C.W., Klivington-Evans D., Dubey J.P., Kovacs J.A. 2000. Immunization with a DNA plasmid encoding the SAG1 (P30) protein of *Toxoplasma gondii* is immunogenic and protective in rodents. *The Journal of Infectious Diseases* 181: 317–324.
- [24] Desolme B., Marie-Noelle M., Buzoni-Gatel D., Bout D. 2000. Induction of protective immunity against toxoplasmosis in mice by DNA immunization with a plasmid encoding *Toxoplasma gondii* GRA4 gene. *Vaccine* 18: 2512–2521.
- [25] Vercammen M., Scorza T., Huygen K., De Braekeleer J., Diet R., Jacobs D., Saman E., Verschuere H., Jacobs D., Saman E., Verschuere H. 2000. DNA

- vaccination with genes encoding *Toxoplasma gondii* antigens GRA1, GRA7 and ROP2 induces partially protective immunity against lethal challenge in mice. *Infection and Immunity* 68: 38–45.
- [26] Supply P., Sutton P., Coughlan S.N., Bilo K., Saman E., Trees A.J., Delauw M.C., Loch C. 1999. Immunogenicity of recombinant BCG producing the GRA1 antigen from *Toxoplasma gondii*. *Vaccine* 17: 705–714.
- [27] Choromanski L., Freyre A., Popiel R., Brown K., Grieve R., Shibley G. 1995. Safety and efficacy of modified live feline *Toxoplasma gondii* vaccine. *Developments in Biological Standardization* 84: 269–81.
- [28] Buxton D., Innes E.A. 1995. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. *Parasitology* 110: S11–16.
- [29] Garcia J.L., Gennari S.M., Navarro I.T., Machado R.Z., Sinhorini I.L., Freire R.L, Marana E.R.M., Tsutsui V., Contente A.P.A., Begale L.P. 2005. Partial protection against tissue cysts formation in pigs vaccinated with crude rhoptry proteins of *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology* 129: 209–217.
- [30] Hill D., Dubey J.P. 2002. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 8: 634–640.

Wpłynęło 5 grudnia 2008

Zaakceptowano 1 kwietnia 2009