نشریه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی البرز، دوره ۴، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۳- صفحات ۱۶-۱۱

تشخیص توکسوپلاسموز در مادران باردار با روش سرولوژی IgG avidity

مونا روزبهانی[1*]، محمدجواد غروی[2]، حسین کشاورز[3]

[1] کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی، گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[2] استاد انگل شناسی پزشکی، گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
[3] استاد انگل شناسی پزشکی، گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۶/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: توکسوپلاسماگوندی(Toxoplasma gondii) عامل توکسوپلاسموز، تک یاخته ای است درون سلولی اجباری که قدرت آلوده کردن اکثر مهره داران خونگرم را دارد. چنانچه مادری در حین بارداری به عفونت مبتلا شود، ممکن است انگل پس از عبور از جفت لطمات و آسیب‌های مختلفی را بر جنین وارد کند. هدف از انجام این مطالعه، بررسی مقایسه ای روش‌های سرولوژیک اندازه گیری IgG و IgM ضد انگل در مادران باردار، و همچنین آزمایش IgG avidity مادران سروکانورتد است و در پایان نتایج این آزمایش‌ها با یکدیگر مقایسه می‌گردد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تحلیلی مقایسه ای، از ۲۱۲۰ مادر باردار مراجعه کننده به مراکز تشخیصی کرج (طی سال ۱۳۹۲) نمونه سرمی تهیه شد. نمونه‌های سرمی از نظر وجود یا عدم وجودIgG و IgM ضد توکسوپلاسما به دو روش(Chemiluminescence)CLIA و (Enzyme Linked Fluorescent Assay) ELFA مورد آزمایش قرار گرفتند. سپس جهت تعیین عفونت حاد و مزمن مادران باردار، نمونه‌های سرمی IgM مثبت با روش سرولوژی IgG Avidity آزمایش شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه از ۲۱۲۰ مادر باردار تعداد ۱۳۶۲ نفر آزمایش IgG ضد توکسوپلاسمای آن‌ها با دو روش ELFA و CLIA به طور تقریبا یکسان مثبت شد. در روش IgM ELFA تعداد ۳۸ نمونه مثبت و ۲ نمونه بوردرلاین بود. در روش IgM CLIA تعداد ۳۷ نمونه مثبت و ۱ نمونه بوردرلاین بود. درIgG Avidity، از ۴۰ نمونه سرمی، ۱۵ نمونه اویدیتی پایین و۲۰ نمونه اویدیتی بالا است. ۵ نمونه سرمی در محدوده بوردرلاین قرار داشت. در این مطالعه ارزش اخباری مثبت روش IgG Avidity، ۵۷٪ محاسبه گردید.

نتیجه‌گیری: هر مادر باردار نیاز به انجام آزمایش IgG/ IgM ضد توکسوپلاسما دارد. هرگاه به موارد IgM مثبت و یا به تعبیری سروکانورتد شدن مادر باردار برخورد کنیم، از تست‌های قاطع تری مانند اندازه گیری IgG Avidity استفاده می کنیم. لازم است پس از لحاظ کلیه روش‌های سرولوژی معتبر و مولکولی برای تصمیم گیری در درمان و یا ختم بارداری از سایر روش‌های حساس و معتبر پارازیتولوژی مانند تلقیح به حیوان حساس آزمایشگاهی و روش PCR در مایع آمنیوتیک جنین استفاده شود.

کلمات کلیدی: روش سرولوژیIgG Avidity ، توکسوپلاسموز، مادران باردار

نویسنده مسئول:
کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی، گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۰۹۱۲-۲۶۸۸۲۹۲
E-mail: mona.roozbehani@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

توکسوپلاسماگوندی(Toxoplasma gondii) عامل توکسوپلاسموز، تک یاخته ای است درون سلولی اجباری که قدرت آلوده کردن اکثر مهره داران خونگرم را دارد. آلودگی به این تک یاخته در انسان و انواع زیادی از پستانداران دیگر و پرندگان، انتشار جهانی دارد.[۱] بررسی‌های سرواپیدمیولوژی وجود پادتن توکسوپلاسما را در سرم خون یک سوم جمعیت بالغ اکثر ممالک دنیا نشان می‌دهد، که بیانگر تماس و آلودگی قبلی آنان با این ارگانیسم و نمایانگر انتشار وسیع و قدرت آلوده کنندگی آن برای انسان است.[۲] اگرچه آلودگی به این تک یاخته فراوان است ولی بیماری ناشی از آن در قیاس با میزان آلودگی بسیار کم است، زیرا اکثر آلودگی‌های اکتسابی بدون علائم بالینی و غیر آشکار هستند. بیماری تحت شرایط خاصی ظاهر می‌شود که بسیاری از آن‌ها ناشناخته است.[۳و۴] علیرغم اینکه توکسوپلاسما به‌ندرت در بزرگسالان باعث ظهور علائم حاد می‌شود چنانچه مادری در حین بارداری به عفونت مبتلا شود، ممکن است انگل پس از عبور از جفت، لطمات و آسیب‌های مختلفی را بر جنین وارد کند. گاهی اوقات ممکن است موجب مرگ جنین شده و منجر به سقط آن شود و یا اینکه نوزاد با ناهنجاری‌های مختلف مانند هیدروسفالی، کلسیفیکاسیون مغزی، عقب ماندگی ذهنی، کودنی و سایر اختلالات سیستم عصبی مرکزی به دنیا آید. اگرچه غالبا نوزاد بدون علائم بالینی به دنیا می‌آید ولی معمولا در عنفوان کودکی و یا نوجوانی علائم بیماری بخصوص اختلالات چشمی و کوریورتینیت و سایر علائم توکسوپلاسموز مادرزادی بروز می‌کند.[۴و۵] لذا ما بر آن شدیم مطالعه ای را تحت عنوان بررسی سرولوژیک IgG و IgM ضد انگل در مادران باردار، و همچنین آزمایش avidity IgG مادران سروکانورتد (Sero converted) انجام دهیم و در پایان نتایج این آزمایش‌ها با یکدیگر مقایسه شوند تا اگر شبهه ای بر اثر ماندگاری IgM قبل از بارداری وجود دارد برطرف شود و بدین ترتیب پزشک متخصص زنان بتواند تکلیف بیمار را از نظر ادامه بارداری، درمان و یا سقط تعیین کند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تحلیلی مقایسه ای از ۲۱۲۰ مادر باردار مراجعه کننده به مراکز تشخیصی کرج (طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲) نمونه سرمی تهیه شد. نمونه گیری به روش convenience sampling بود. افراد مراجعه کننده سنین و ماه‌های بارداری متفاوتی داشتند. نمونه‌های سرمی از نظر IgG و IgM ضد توکسوپلاسما به دو روش (Chemiluminescence)CLIA و (Enzyme Linked Fluorescent Assay) ELFA مورد آزمایش قرار گرفتند. برای اندازه گیری آنتی بادی IgG و IgM به روش ELFA، کیت تشخیصی ساخت شرکت Biomerieux (فرانسه) و دستگاه VIDAS مورد استفاده قرار گرفت. روش ELFA شامل یک واکنش دو مرحله ای آنزیمی با متد ساندویچ می‌باشد که در پایان آزمایش به جای یک محصول رنگی، یک فراورده با خاصیت فلورسانس ایجاد می‌گردد. در روشELFA IgG، آنتی ژن غشایی و سیتوپلاسمایی توکسوپلاسما گوندی به فاز جامد SPR (Solid Phase Receptacle) کوت می‌شود و در روشELFA IgM، آنتی بادی‌های ضد زنجیره M انسانی به فاز جامد کوت می‌گردند. پس از اضافه کردن نمونه سرمی، آنتی بادی ضد توکسوپلاسمایی، در صورت وجود، به آنتی ژن موجود در فاز جامد متصل می‌شود. پس از انجام مراحل شستشو، به مجموعه فوق، آنتی بادی نشان دار شده با آنزیم آلکالین فسفاتاز و سوبسترای 4-Methyl- umbelliferyl phosphate اضافه می‌شود. پس از انکوباسیون و مراحل شستشو، آنزیم آلکالین فسفاتاز این سوبسترا را به4-Methyl-umbelliferone تبدیل می‌کند. این ماده دارای خاصیت فلورسانس بوده و متناسب با مقدار آنتی بادی موجود در سرم است.

برای اندازه گیری آنتی بادی IgG و IgM به روش CLIA، کیت تشخیصی ساخت شرکت Diasorin (ایتالیا) و دستگاه LIAISON مورد استفاده قرار گرفت. در پدیده کمی لومینسانس، ترکیبات آلی نظیر لومینول، ایزولومینول و استرهای اکریدینیوم در حضور یک عامل اکسید کننده مانند پراکسید هیدروژن و یک کاتالیزور نظیر آنزیم میکروپراکسیداز و یون‌های فلزی، اکسیده شده و نور منتشر شده از فراورده تهییج شده به شکل یک جرقه ناگهانی از نور (Flash of light) حاصل می‌آید که توسط لومینومتر

Archive of SID
www.SID.ir

قرائت می‌گردد.

در روش CLIA IgG، ذرات Magnet (فاز جامد) به وسیله عصاره تاکی زوئیت غیر فعال سویه RH توکسوپلاسما گوندی کوت شده اند. در روش CLIA IgM، آنتی بادی IgG مونوکلونال بر ضد آنتی بادی IgM انسانی به فاز جامد کوت شده اند. نمونه‌های سرمی به ذرات Magnet اضافه می‌شوند. طی اولین انکوباسیون، آنتی بادی ضد توکسوپلاسمایی موجود در نمونه‌های سرمی با آنتی ژن موجود در فاز جامد باند می‌شود. سپس با استفاده از محلول شستشو، مواد اضافی غیر باند از محیط خارج می‌گردد. طی دومین انکوباسیون، آنتی بادی مونوکلونال متصل به ایزولومینول، با آنتی بادی ضد توکسوپلاسمایی باند شده بر روی فاز جامد واکنش داده، سپس در اثر شستشوی ثانویه، مواد اضافی غیر باند از محیط خارج می‌گردد. در پایان محلول starter که شامل عامل اکسید کننده(پراکسید هیدروژن) و همچنین کاتالیزور (آنزیم میکروپراکسیداز و یون‌های فلزی) می‌باشد، بر روی باقی مانده مواد اضافه می‌شود. بر اثر فعل و انفعالات شیمیایی که بر روی ایزولومینول صورت می‌گیرد. جرقه ناگهانی حاصل می‌شود که توسط لومینومتر قرائت می‌شود.

جهت تعیین عفونت حاد و مزمن مادران باردار، نمونه‌های سرمیIgM مثبت با روش سرولوژی IgG Avidity آزمایش شدند. بررسی عیار آنتی بادی IgG Avidity به روش ELFA با کیت Biomerieux(فرانسه) و دستگاه VIDAS انجام شد. این روش کاملا شبیه متد IgG/IgM ELFA می‌باشد، با این تفاوت که از یک ماده دناچوره کننده مانند اوره جهت شکستن اتصال آنتی ژن و آنتی‌بادی استفاده می‌شود. این روش به صورت دوتایی (Duplicate) انجام می‌شود.[۶]

یافته‌ها

در این مطالعه از ۲۱۲۰ نفر مادر باردار مراجعه کننده به مراکز تشخیصی کرج (طی سال ۱۳۹۲) که مورد آزمایش سرمی توکسوپلاسما قرار گرفتند، تعداد ۱۳۶۲ نفر آزمایش IgG ضد توکسوپلاسمای آن‌ها با دو روش ELFA و CLIA به طور تقریباً یکسان مثبت شد. در روش ELFA تیتر مثبت برای IgG بالاتر از ۸ IU/ml و تیتر منفی کم تر از ۴ IU/ml و مشکوک بین ۸-۴ IU/ml است. در روش CLIA تیتر مثبت برای IgG بالاتر از ۸/۸ IU/ml و تیتر منفی کم تر از۷/۲ IU/ml و مشکوک بین ۸/۸-۷/۲ IU/ml است.

در روش IgM ELFA تعداد ۳۸ نمونه مثبت و ۲ نمونه بوردرلاین بود (جدول۱). در روش ELFA تیتر مثبت برای IgM بالاتر از ۰/۶۵ IU/ml و تیتر منفی کم تر از ۰/۵۵ IU/ml و مشکوک بیشتر از ۰/۵۵ IU/ml و کمتر از ۰/۶۵ IU/ml است.

در روش IgM CLIA تعداد ۳۷ نمونه مثبت و ۱ نمونه بوردرلاین بود(جدول۱). در روش CLIA تیتر مثبت برای IgM بالاتر از ۸ IU/ml و تیتر منفی کم تر از۶ IU/ml و مشکوک بیشتر از ۶ IU/ml و کمتر از ۸ IU/ml است.

در ELFA IgG Avidity، ۴۰ نمونه سرمی که با روش IgM ELFA مثبت و بوردرلاین بود، مورد بررسی قرار گرفت. از ۴۰ نمونه سرمی، ۱۵ نمونه اویدیتی پایین (Low Avidity) نشان دهنده عفونت حاد و۲۰ نمونه اویدیتی بالا (High Avidity)، نشان دهنده عفونت مزمن است.۵ نمونه سرمی در محدوده بوردرلاین قرار داشت (جدول۱). در تفسیر نتایج این تست، اندکس اویدیتی پایین کمتر از ۰/۲ IU/ml، اویدیتی بالا بیشتر از ۰/۳ IU/ml و اویدیتی میان۰/۳ IU/ml - ۰/۲ در محدوده بوردرلاین قرار دارد. در این مطالعه ارزش اخباری مثبت روش IgG Avidity در مقایسه با روش ELFA و CLIA، ۵۷٪ محاسبه گردید.

جدول ۱: نتایج کلی روش‌های سرولوژی

بررسی سرولوژی	ELFA IgM	**۳۸ نمونه مثبت**	**۲ نمونه بوردرلاین**	_____
	CLIA IgM	**۳۷ نمونه مثبت**	**۱ نمونه بوردرلاین**	_____
	IgG Avidity	**۱۵نمونه اویدیتی پایین**	**۵ نمونه بوردرلاین**	**۲۰ نمونه اویدیتی بالا**

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

توکسوپلاسموز مادرزادی معمولا به هنگامی روی می‌دهد که مادر در حین بارداری برای اولین بار با انگل برخورد داشته باشد. شکل اکتسابی توکسوپلاسموز در اغلب موارد در مادران بدون علامت طی می‌شود. ولی تقریبا در ۲۰٪ موارد ممکن است علائم کلاسیک مانند لنفادنیت و بثورات اگزانتماتیک مشاهده شود.[۱] توکسوپلاسموز مادرزادی از مهم ترین بیماری‌های جنین محسوب می‌شود. ابتلای جنین از طریق عبور انگل از سد جفتی است. بنابراین انگل باید در شکل فعال تاکی زوئیت باشد تا بتواند از سد مذکور عبور کند. هرچه سد جفتی ضخیم تر باشد مقاومت در برابر عبور انگل بیشتر است، لذا شانس عبور انگل در سه ماهه اول بارداری کمتر بوده و تقریبا در ۲۰٪ تا ۲۵٪ موارد احتمال عبور انگل و ابتلای جنین وجود دارد. در سه ماهه دوم بارداری به جهت نازک شدن دیواره جفت تقریبا شانس عبور انگل ۵۰٪ است و بالاخره در سه ماهه سوم بارداری احتمال عبور انگل به جهت تحلیل لایه‌های جفت به ۶۵٪ تا ۸۰٪ می‌رسد. بنابراین خطر عفونت جفت و جنین با افزایش طول دوره بارداری افزایش می‌یابد.[۴] نظر به اینکه علائم بالینی توکسوپلاسموز متنوع و با بیماری‌های دیگر قابل اشتباه است، لذا برای تایید تشخیص‌های بالینی، استفاده از روش‌های آزمایشگاهی ضروری می‌باشد. روش‌های سرولوژیک دارای حساسیت و ویژگی‌های متفاوتی هستند و براساس جداسازی و اندازه گیری آنتی بادی بر مبنای Affinity و Avidity پایه گذاری شده اند. جداسازی آنتی بادی‌های اختصاصی IgG بندرت مشکل ساز می‌باشد و در روش‌های مختلف از حساسیت و ویژگی مطلوبی برخوردار است.[۷]

جداسازی IgM به علت ویژگی کمتر روش‌ها و مشکلات کلینیکی ناشی از نتایج مثبت کاذب ایجاد مشکلات فراوان می‌نماید و منجر به درمان‌های غیر ضروری می‌گردد.[۸]

بر این اساس از ۲۱۲۰ نفر مادر باردار مراجعه کننده به مراکز تشخیصی کرج (طی سال ۱۳۹۲) که مورد آزمایش سرمی توکسوپلاسما قرار گرفتند، تعداد ۱۳۶۲ نفر آزمایش IgG ضد توکسوپلاسمای آن‌ها با دو روش ELFA و CLIA به طور تقریبا یکسان مثبت شد.سپس ایمونوگلوبین IgM این نمونه‌ها با روش‌های سرولوژی سه گانه ELFA ، CLIA، IgG avidity در آزمایشگاه مورد نظر مورد بررسی قرار گرفت. تا بدین ترتیب بتوان، رابطه همخوانی یا احیانا عدم همخوانی آنها را بدست آورد و آن را به جامعه آزمایشگاهی معرفی کرد. ضمن اینکه بتوان تا حدی با ضریب اطمینان قابل قبولی تکلیف مادر باردار را برای ادامه بارداری یا ختم آن روشن نمود.

در مطالعه حاضر، ۳۸ نمونه با روش IgM ELFA مثبت و ۲ نمونه بوردرلاین گردید. با روش IgM CLIA ۳۷ نمونه مثبت و ۱ نمونه بوردرلاین شد. همچنین از ۴۰ نمونه سرمی IgM مثبت و بوردرلاین، ۱۵ نمونه اویدیتی پایین، نشان دهنده عفونت حاد و ۲۰ نمونه اویدیتی بالا، نشان دهنده عفونت مزمن بود. مطابق جدول شماره ۲،درمقایسه با روش IgM ELFA ، روش avidity IgG دارای ارزش اخباری مثبت ۵۷٪ می‌باشد.

مطالعه انجام شده توسط Crucerescu در سال ۲۰۰۲، بر روی ۱۴۴۲ زن باردار در رومانی، ۳۳ نمونه ای که مشکوک به عفونت حاد توکسوپلاسموز بودند با روش IgG avidity بررسی شدند. فقط ۷ نمونه از IgMمثبت با این روش اویدیتی پایین را نشان دادند. در نتیجه روش IgG avidity را یک روش قطعی جهت تشخیص عفونت حاد و مزمن توکسوپلاسموز دانستند.[۹]

مطالعه انجام شده توسط Tanyukselو همکاران در سال ۲۰۰۴ بر روی ۱۰۴ نمونه سرمی، بین روش‌های IgG ELISA / IgM و IgG avidity ELISA نشان داد، روش IgG avidity روش آسانی بوده و قادر به جداسازی آنتی بادی‌های ضد توکسوپلاسمایی می‌باشد. همچنین یک روش قابل قبول جهت افتراق نتایج (حاد و مزمن) است و IgG avidity یک ابزار کمک کننده جهت تشخیص توکسوپلاسموز چشمی بوده و روشی مطمئن برای غربالگری این بیماری در ۳ ماهه اول بارداری است.[۱۰]

در سال ۲۰۱۰ Meroni و Genco در ایتالیا، نمونه سرم ۲۳۶ زن باردار مشکوک به عفونت توکسوپلاسموز را با روش‌های VidasToxoIgM/IgG وLiaison ToxoIgM/IgG مورد بررسی قرار دادند. سپس برای تعیین عفونت حاد و مزمن، نمونه‌ها را با روش‌های VidasToxoIgG Avidity, Liaison ToxoIgG Avidity، Western BlotIgM/IgG، IgM ISAGA بررسی کردند. نتایج نشان داد روش Liaison ToxoIgM/IgG نسبت به روش Vidas ویژگی و حساسیت بیشتری دارد. همچنین روشIgM ISAGA نسبت به

Archive of SID
www.SID.ir

Liaison ویژگی بیشتری دارد اما عیار Toxo IgM را به مدت بسیار طولانی شناسایی می‌کند. روش Western Blot IgM/IgG بیشترین حساسیت و ویژگی را نسبت به کلیه روش‌ها دارد. زیرا با به کارگیری آنتی ژن تخلیص یافته در این روش می‌تواند آنتی بادی را در ابتدای عفونت به خوبی شناسایی کند.[۱۱]

در سال ۲۰۱۳ Villard و همکاران، ۲۰۶ نمونه سرم تعدادی زن باردار و افراد دارای نقص سیستم ایمنی، مشکوک به عفونت توکسوپلاسموز را بررسی نمودند. نمونه‌ها با روش سرولوژی آنتی بادی IgM و IgG ضد توکسوپلاسمایی بررسی شد. سپس جهت تعیین عفونت حاد و مزمن، از تست IgG Avidity با ۴ روش VidasToxoIgG Avidity, Liaison ToxoIgG Avidity, Architect ToxoIgG Avidity, PlateliaToxoIgG Avidity (Bio-Rad) استفاده شد. حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی هر روش محاسبه و بررسی گردید. نتایج نشان داد ارزش اخباری مثبت در توکسوپلاسموز مزمن در کلیه روش‌ها ۱۰۰٪ بود. این بدین معناست که اویدیتی بالا در تشخیص عفونت مزمن توکسوپلاسموز یک مارکر تشخیصی با ارزش می‌باشد. در حالی که ارزش اخباری منفی در روشVidas ۹۹/۲٪ و Architect ۹۵/۳٪ است. در نتیجه IgG Avidity پایین به تنهایی برای تعیین عفونت حاد توکسوپلاسموز قابل اعتماد نمی باشد. همچنین بهترین و ارزان ترین روش در تشخیص عفونت حاد توکسوپلاسموز از روش‌های مذکور، روش Vidas ToxoIgG Avidity می‌باشد.[۶]

در سال ۸۶ غروی، حساسیت و ویژگی روش‌های متداول و غیر متداول توکسوپلاسموز را که شامل روش‌های ELISA, ELFA CLIA, IFA می‌شود بر اساس سنجش IgG و IgM مقایسه نمود. حساسیت و ویژگی روش IgG ELISA به ترتیب ۹۷/۳٪ و ۹۲٪، ارزش اخباری مثبت۹۷/۳٪ و ارزش اخباری منفی ۹۲٪ است. روش IgG IFA حساسیت ۹۷/۳٪، ویژگی ۹۶٪، ارزش اخباری مثبت ۹۸/۶٪ و ارزش اخباری منفی ۹۲٪ است. حساسیت و ویژگی روش IgG ELFA وIgG CLIA ۱۰۰٪ محاسبه شد. حساسیت و ویژگی روش IgM CLIA به ترتیب ۹۲٪ و ۹۷/۳٪ ، ارزش اخباری مثبت ۹۲٪، ارزش اخباری منفی ۹۷/۳٪ و حساسیت و ویژگی روش IgM ELFA ۱۰۰٪ گزارش گردید.[۱۲]

مجموعه مطالعه حاضر و همچنین مقایسه نتایج آن با مطالعات دیگران حاکی از آن است که برای تشخیص قطعی توکسوپلاسموز مادران باردار که منتج به تشخیص آلودگی در جنین می‌شود، باید از روش‌های مختلف سرولوژیکی، مولکولی و حتی پارازیتولوژیکی استفاده نمود.

این بدان معناست که فقط با اکتفا به روش‌های سرولوژی و حتی سنجش‌های دقیق، حساس، معتبر و اختصاصی پادتن‌ها نمی توان تصمیم قاطعانه ای در مورد تیمار بیمار انجام داد و این به چند دلیل می‌باشد: ۱- حساسیت موضوع انتخاب ادامه بارداری و یا ختم آن ۲- حساسیت و اعتبار روش‌های سرولوژی ۳- تعارض‌ها و تناقض‌های احتمالی ماحصل مقایسه نتایج روش‌های سرولوژی.

نکته دیگری که حائز اهمیت است اینکه رکن اصلی تریاد تشخیصی توکسوپلاسموز مادرزادی، علائم بالینی مادر است که باید مورد توجه پزشک زنان قرار گیرد. سایر ارکان این تریاد شامل اندازه گیری IgM مادر و تست‌های سرولوژی شاخص جهت اندازه گیری IgG و همچنین یک روش مولکولی برای شناسایی DNA می‌باشد. حقیقت آن است که نمی توان با یک تست سرولوژیکی صرف، تکلیف آلودگی را تعیین کرد. لذا توصیه می‌شود علاوه بر تکرار انجام آزمایشهای سرولوژیک معمول، اندازه گیری IgM نیز تکرار گردد. اگرچه این نکته جدیدی نمی باشد و تکرار تست از دیرباز مورد نظر محققین بوده است و در تفسیر تست‌های توکسوپلاسما همیشه آن را لحاظ می‌کردند اما امروزه از سایر ادوات و ابزار تشخیصی نیز کمک گرفته می‌شود که به چند نکته آن اشاره خواهد شد.

۱- تکنیک اندازه گیری فوق العاده حائز اهمیت است. همانطور که می‌دانیم هیچ کدام از روش‌های سرولوژی هم خوانی ۱۰۰٪ با یکدیگر ندارند که این با شیوه‌های ساخت کیت، مهارت و دانش اپراتور، دستگاه‌های نشانگر و حتی خطاهای پیش آزمون، فرایند تست و تفسیر نتایج ارتباط دارد.

۲- اندازه گیری IgM وابستگی بسیاری به تکنیک دارد. به عنوان نمونه روش IFA حداکثر بین ۲ تا ۴ هفته ، روش ELISA بین ۲ تا ۴ ماه و روش ELFA و CLIA ۶ تا ۱۲ ماه قدرت شناسایی IgM را دارند. و در نهایت روش IgM ISAGA بین ۱تا ۲ سال IgM ضد توکسوپلاسما را در خون مادر شناسایی می‌کند. از آنجایی که سطح IgM مدت زمان طولانی در خون مادر پایدار می‌ماند که با تکنیک‌های مذکور با ویژگی و حساسیت‌های متفاوت قابل شناسایی

Archive of SID
www.SID.ir

می‌باشد، این منجر به درمان‌های غیر ضروری برای مادران باردار می‌شود. زیرا معلوم شده است صرف وجود یا حضور ایمونوگلوبولین M مبین بیماری جدید نیست. در نتیجه جهت تعیین حاد و مزمن بودن بیماری تست تاییدی IgG Avidity مطرح گردید. علی رغم اینکه مطالعات در بسیاری از موارد اثبات کننده این فرضیه است اما مطالعاتی دیگری صراحت و قاطعیت IgG Avidity را تأیید نمی‌کند. زیرا اویدیتی بالا به طور قطعیت نشان دهنده عفونت مزمن می‌باشد و بیانگر ابتلا به آلودگی در حداقل ۵-۳ ماه گذشته است. در نتیجه اندازه گیری آن تا ماه‌های سوم و چهارم بارداری ارزشمند است اما در سه ماه دوم و سوم بارداری ارزش تشخیصی ندارد.[۱۳] در حالی که اویدیتی پایین، نشان دهنده عفونت حاد است لذا در یک فاصله زمانی بین حاد و مزمن قطعیت تشخیصی وجود ندارد و یا به تعبیری نمی توان جواب این سوال را با قاطعیت داد که آیا خطر آلودگی برای جنین وجود دارد یا خیر. لذا به نظر می‌رسد با روش‌های مولکولی می‌توان این شبهه را برطرف نمود.

در مجموع اعلام می‌دارد هر مادر باردار نیاز به انجام آزمایش IgG / IgM ضد توکسوپلاسما دارد. هرگاه به موارد IgM مثبت و یا به تعبیری سروکانورتد شدن مادر باردار برخورد کردیم، از تست‌های قاطع تری مانند اندازه گیری IgG Avidity استفاده کنیم. هر چند تفسیر قطعی به این آزمایش‌ها ختم نمی شود. گاهی اوقات مطالعات فراتری نیز مورد نیاز است که از آن جمله می‌توان به نمونه گیری از جنین (آمنیوسنتز) اشاره کرد که روشی قاطع در پارازیتولوژی بوده، اما بزرگترین مشکل آن عدم همکاری بیمار و پزشک جهت نمونه گیری (به جهات خطرات احتمالی آن) می‌باشد. در تفسیر نتایج سرولوژی بی نیاز از آزمایش‌های مولکولی نمی‌باشیم. پس از لحاظ کلیه روش‌های سرولوژی معتبر و مولکولی برای تصمیم گیری در درمان و یا ختم بارداری، از سایر روش‌های حساس و معتبر پارازیتولوژی مانند تلقیح به حیوان حساس آزمایشگاهی و روش PCR در مایع آمنیوتیک جنین استفاده شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین و همکاران محترم آزمایشگاه مرکزی فردیس کرج بویژه سرکار خانم فاطمه جدیری مسئول بخش ایمونولوژی و سرولوژی و همچنین آزمایشگاه تحقیقاتی گروه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران به جهت مساعدت برای انجام آزمایش‌ها کمال تشکر و قدردانی را دارد.

References

1. Gharavi MJ, Rahnama N, Jahani MR. Seroepidemiological survey of Toxoplasma infections of mentally retarded children. Iranian J Pub Health 2005; 34(1):19-22.
2. Gharavi MJ, Jalali S, Khademvatan S, et al. Detection of IgM and Ig GantiToxoplasma antibodies in renal transplant recipient using ELFA and ISAGA methods: comparison of pre-and post transplantation status. Annals of Tropical Medicine & Parasitology 2011; 105(5): 367-71.
3. Boothroyd J. Toxoplasma gondii: 25 years and 25 major advances for the field. IJP 2009; 39: 935–46.
4. Gharavi MJ. Textbook of Clinical Protozoology. 4th ed. Iran: Mirmah; 2012: 113-30. [In Persian]
5. GangneuxF ,Dardé M. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. J Clin Microbiol Rev. 2012; 25(2):264.
6. Villard O, Breit L, Cimon B, et al. Comparison of Four Commercially Available Avidity Tests for Toxoplasma gondii-Specific IgG Antibodies. Clin Vaccine Immunol. 2013; 20(2):197.
7. Lappalainen M, Hedman K. Serodiagnosis of toxoplasmosis the impact of measurement of IgG avidity. Ann Ist Super Sanità. 2004; 40(1):81-8.
8. Bobic B, Klun I, Vujanic M, et al. Comparative evaluation of three commercial Toxoplasma-specific IgG antibody avidity tests and significance in different clinical settings. J Clin Microbiol. 2009; 58: 358– 64.
9. Cruceresсu E, Rodica Lovin D. Study on specific IgG Avidity as a tool for recent primary toxoplasma gondii infection diagnosis. AJPM. 2002; 10 (3): 56-62.
10. Tanyuksel M, Guney C, Araz E, et al. Performance of the Immunoglobulin G Avidity and Enzyme Immunoassay IgG/IgM Screening Tests for Differentiation of the Clinical Spectrum of Toxoplasmosis. J Microbiol. 2004; 42: 211-15.
11. Meroni V, Genco F. Screening for toxoplasmosis during pregnancy: One-year experience in an Italian reference laboratory. Scientia Medica (Porto Alegre) 2010;20:35-9.
12. Gharavi MJ ,Oormazdi H,Roointan ES. A Comparative Study on Sensitivity and Specificity of Conventional and Unconventional IgG and IgM Assays for Diagnosis of Toxoplasmosis. Iranian J Publ Health 2008; 37: 42-5.
13. Liesenfeld O, Jose G. Montoya S, et al. Remington. Effect of Testing for IgG Avidity in the Diagnosis of Toxoplasma gondii Infection in Pregnant Women: Experience in a US Reference Laboratory. JID 2001:183.

Archive of SID
www.SID.ir