

میزان توافق نتایج آزمون ایمونوفلورسانس غیر مستقیم توکسوپلاسموز بین چهار

مرکز آزمایشگاهی

دکتر مهرزاد سرایی صحنه سرایی* - دکتر حسن جهانی هاشمی**

*استادیار انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

**استادیار آمار حیاتی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

تاریخ دریافت مقاله: ۸۵/۶/۲۷

تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۲/۶

چکیده

مقدمه: ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (IFA) از روش‌های آزمون حساس و رایج در بررسی سرولوژی توکسوپلاسموز است. بسیاری از مطالعات سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسموز در ایران با استفاده از این آزمون انجام شده است. مرور مطالعاتی که با استفاده از این آزمون در مناطق مختلف کشور با شرایط آب و هوایی متفاوت انجام شده، وضعیتی را نشان می‌دهد که با توجه به راه اصلی احتمالی انتقال توکسوپلاسموز در ایران جای تأمل دارد و به نظر می‌رسد که این مغایرت‌های احتمالی به علت خطای آزمون در برخی از آزمایشگاه‌ها باشد.

هدف: تعیین میزان توافق نتایج آزمون IFA توکسوپلاسموز بین چهار مرکز آزمایشگاهی.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع ارزیابی بین چند مرکز است. با رعایت اخلاق تحقیق از صد نفر که در سال ۱۳۸۴ برای آزمون‌های پیش از ازدواج به آزمایشگاه مرکز پزشکی جامعه تگر قزوین مراجعه کرده بودند، نمونه سرم تهیه شد. هر نمونه را به چهار قسمت تقسیم کرده و در چهار آزمایشگاه مختلف از نظر ایمونوگلوبولین G (IgG) اختصاصی علیه توکسوپلاسموز به روش IFA مورد آزمایش قرار دادیم. آزمون‌ها طبق پروتکل رایج همان مرکز انجام شد. در تمام آزمایشگاه‌ها رقت‌های ۱:۲۰، ۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰ و بالاتر اندازه‌گیری و عیار $1:20 \leq$ مثبت در نظر گرفته شد. ضریب کاپا بین نتایج هر دو مرکز محاسبه شد.

نتایج: میزان مثبت شدن سرولوژی آزمون IFA توکسوپلاسموز در این چهار مرکز ۷۲، ۴۴، ۳۴ و ۲۳ درصد گزارش شد. ضریب کاپا در موارد مقایسه هر دو مرکز با یکدیگر در بالاترین حد ۰/۳۶ و در پایین‌ترین حد ۰/۱۶ بود.

نتیجه‌گیری: توافق نتایج گزارش شده بین چهار مرکز بیش از حد انتظار پایین بود. به نظر می‌رسد، انجام این آزمون در برخی از آزمایشگاه‌های کشور اشکال‌هایی دارد که باید برطرف شود.

بنابراین، توصیه می‌شود تأثیر هر یک از عوامل مؤثر بر نتایج آزمون IFA توکسوپلاسموز به تفکیک مورد بررسی قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: تست‌های خون‌شناسی / تکنیک ایمونوفلورسانس غیرمستقیم / توکسوپلاسموز / فنون و روش‌های آزمایشگاهی

مقدمه

که تهدیدکننده حیات است. این بیماری انگلی در موارد مادرزادی ممکن است سبب سقط، مرده زایی و عقب ماندگی جسمی و ذهنی شود.

تشخیص توکسوپلاسموز در چهار گروه زنان حامله، جنین و نوزاد، بیماران دچار اختلال ایمنی و افراد مبتلا به کوریورتنیت بسیار حیاتی‌ست. برای تشخیص آزمایشگاهی توکسوپلاسموز از روش‌های سرولوژی، هیستوپاتولوژی، ایمونوهیستوشیمی و مولکولی استفاده می‌شود. روش رایج آن انواع آزمون‌های سرولوژی است

توکسوپلاسموز بیماری انگلی مهمی‌ست که به علت خوردن اووسیست‌های دفع شده با مدفوع گربه و خوردن گوشت خام یا نیم پز حاوی کیست‌های نسجی توکسوپلاسمازوندی اتفاق می‌افتد. فرم مادرزادی آن به سبب انتقال تاکی‌زوئیت‌ها از راه جفت به جنین روی می‌دهد. توکسوپلاسموز در افراد با کفایت عملکرد ایمنی (Immunocompetent) معمولاً سیر خوش‌خیم و خودمحدودشونده دارد ولی در افراد دچار اختلال ایمنی (Immunocompromised) سبب بیماری شدیدی می‌شود

برخی از این گزارش‌ها نشان‌دهنده سیمای واقعی شیوع توکسوپلاسموز در آن منطقه نباشد. ممکن است مغایرت‌های احتمالی مربوط به خطای آزمون باشد. به همین دلیل در این مطالعه مقدماتی میزان توافق نتایج آزمون IgG-IFA توکسوپلاسموز بین چهار مرکز آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

سرم: با رعایت اخلاق تحقیق نمونه سرم از صد نفر که در سال ۱۳۸۴ برای انجام آزمایش‌های پیش از ازدواج به آزمایشگاه مرکز پزشکی جامعه‌نگر قزوین مراجعه کرده بودند، تهیه شد. این مرکز عهده‌دار غربالگری (screen) آزمایش‌های الزامی پیش از ازدواج در استان قزوین است. هر نمونه به چهار قسمت تقسیم شد و در شرایط سرمایی به چهار مرکز انجام‌دهنده آزمون ارسال شد. نمونه‌های سرم تا هنگام آزمایش در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

روش بررسی: این مطالعه از نوع ارزیابی بین چند مرکز (multicenter evaluation) است. چهار مرکز ارزیابی شدند که سه تا دانشگاهی و چهارمی از مراکز پژوهشی کشور بود. با توجه به ضرورت مطالعه و جلب همکاری این مراکز، طبق موافقت قبلی از ذکر اسامی آنها و افراد همکار در این گزارش خودداری شد. این چهار مرکز با علائم A، B، C و D مشخص شدند. همکاران، از پیش در مورد اهداف کاملاً توجیه شده بودند. برای ارزیابی قرار شد که آزمون IFA توکسوپلاسموز در هر مرکز طبق پروتکل رایج در همان مرکز انجام شود و هیچ کدام از کیت تجاری IFA توکسوپلاسموز استفاده نکردند. تمام آنها تاکی زوئیت های سویه RH توکسوپلاسمای گوندی را به عنوان آنتی ژن بکار بردند. در مراکز A و B، آنتی‌ژن یکسان و از یک دسته (batch) بود ولی مراکز B و C هر کدام از آنتی ژن تهیه شده خودشان استفاده کردند، تمام مراکز

که امروزه رایج‌ترین آن آزمون الایزا Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) می‌باشد. در موارد حیاتی بکارگیری آزمون‌های IgG Avidity، Western Blot و Polymerase Chain Reaction (PCR) و توصیه شده است (۱). سرولوژی توکسوپلاسموز مشکلات و محدودیت‌هایی دارد که اساسی‌ترین آنها تمایز عفونت حاد (فعلی) و مزمن (قبلی) از یکدیگر است (۲). مورد مهم دیگر، استانداردسازی این آزمون‌هاست که تلاش‌هایی صورت می‌گیرد تا با تهیه آنتی ژن‌های نو ترکیب به انجام برسد (۳).

انواع آزمون‌های سرولوژی توکسوپلاسموز از جنبه‌های مختلف ارزیابی شده‌اند. در این ارزیابی‌ها معمولاً حساسیت و ویژگی انواع آزمون‌ها (۴) یا انواع کیت‌های یک نوع آزمون (۵) مقایسه شده‌اند. آزمون Indirect Immunofluorescent Antibody (IFA) در این ارزیابی‌ها به عنوان آزمونی حساس پذیرفته شده و سال‌هاست که از آن در مراکز معتبر جهانی همچون Center for Disease Control and Prevention (CDC) استفاده می‌شود. آزمون IFA با وجود حساس بودن، استاندارد نیست. البته، ممکن است که در برخی از آزمایشگاه‌ها روش انجام آزمون استاندارد شده باشد (۶). ممکن است عوامل مختلفی چون آنتی ژن، آنتی هیومن آنتی‌بادی کونژوگه، میکروسکوپ و خواندن میکروسکوپی نتایج بر گزارش عیار نهایی (End Point) آزمون تاثیر بگذارند.

سال‌هاست که در کشور ما از آزمون IFA برای تشخیص توکسوپلاسموز استفاده می‌شود و بسیاری از مطالعات سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسمای با این آزمون انجام شده است. مرور برخی مطالعات انجام شده به کمک این آزمون در مناطق مختلف کشور با شرایط آب و هوایی متفاوت (۷-۹)، وضعیتی را نشان می‌دهد که با توجه به بیولوژی انگل و راه اصلی احتمالی انتقال توکسوپلاسمای در ایران جای تأمل و بررسی دارد. به نظر می‌رسد که

بود. در این دو مرکز ۳۶ مورد عیار گزارش شده یکسان بود. در ۵ مورد عیار در مرکز A بالاتر بود که ۳ مورد آن یک عیار، ۱ مورد آن دو عیار و ۱ مورد آن سه عیار اختلاف داشت. در بقیه موارد عیار گزارش شده مرکز D بالاتر بود، به طوری که در ۲۷ مورد یک عیار، ۱۷ مورد دو عیار، ۱۴ مورد سه عیار و ۱ مورد چهار عیار بیش از مرکز A بود (جدول ۳).

ضریب کاپا بین مراکز B و C برای موارد منفی و ۳ عیار ۱:۲۰، ۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ در ۹۹ نمونه سرم، ۰/۱۶ بود. در این دو مرکز در ۶۲ مورد عیار گزارش شده یکسان بود. در ۲۶ مورد در مرکز C عیار بالاتری گزارش شد که ۲۳ مورد آن یک عیار و ۳ مورد آن دو عیار اختلاف داشت. در ۱۲ مورد عیار در مرکز B بالاتر بود، به طوری که ۱۰ مورد آن یک عیار و ۲ مورد آن دو عیار اختلاف داشت (جدول ۴).

ضریب کاپا بین مراکز B و D برای موارد منفی و ۳ عیار ۱:۲۰، ۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ در ۶۲ نمونه سرم، ۰/۱۶ بود. در این دو مرکز در ۳۳ مورد عیار گزارش شده یکسان بود. تنها در ۱ مورد در مرکز B عیار بالاتری گزارش شد که ۲ عیار اختلاف داشت. در ۶۶ مورد عیار گزارش شده مرکز D بالاتر بود، به طوری که در ۲۱ مورد یک عیار، ۱۳ مورد دو عیار، ۱۴ مورد سه عیار، ۱۰ مورد چهار عیار، ۷ مورد پنج عیار و ۱ مورد شش عیار اختلاف داشت (جدول ۵).

ضریب کاپا بین مراکز C و D برای موارد منفی و عیار ۱:۲۰ در ۵۴ نمونه سرم، ۰/۲ بود. در این دو مرکز در ۳۳ مورد عیار گزارش شده یکسان بود. تنها در ۱ مورد در مرکز C عیار بالاتری گزارش شد که یک عیار اختلاف داشت. در ۶۶ مورد عیار گزارش شده مرکز D بالاتر بود، به طوری که در ۲۵ مورد یک عیار، ۱۳ مورد دو عیار، ۱۲ مورد سه عیار، ۱۳ مورد چهار عیار و ۳ مورد پنج عیار اختلاف داشت (جدول ۶).

پادتن IgG D ضدانسانی (Fluorescein Isothiocyanate-Antibody Conjugated Anti-human IgG) تجاری تهیه کردند که شرکت‌های تولیدکننده آنها متفاوت بودند. سرم‌ها در هر چهار مرکز با رقت‌های ۱:۲۰، ۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰ و رقت‌های سریال بالاتر آزمایش شدند و رقت $\leq 1:20$ مثبت در نظر گرفته شد. برای تعیین میزان توافق نتایج آزمون‌ها بین هر دو مرکز از ضریب کاپا استفاده شد.

نتایج

میزان مثبت شدن سرولوژی (Seropositivity Rate (SPR) توکسوپلاسموز در مراکز A، B، C و D به ترتیب ۴۴، ۲۳، ۳۴ و ۷۲ درصد بود.

مقایسه نتایج آزمون‌ها بین مراکز A و B در جدول ۱ نشان داده شده است. برای محاسبه ضریب کاپا جدول آن باید به صورت مربع باشد (با سطرها و ستون‌ها به تعداد مساوی). این ضریب بین دو مرکز مذکور در موارد منفی (> 0.2) و ۲ عیار ۱:۲۰ و ۱:۱۰۰ در ۸۴ نمونه سرم، ۰/۳۶ بدست آمد. در ۶۲ مورد عیار یکسان بود و تنها در ۳ مورد در مرکز B بیشتر (با یک عیار اختلاف) و در بقیه موارد در مرکز A بالاتر بود، به طوری که در ۱۴ مورد یک عیار، ۱۱ مورد دو عیار، ۶ مورد سه عیار، ۲ مورد چهار عیار و ۲ مورد پنج عیار بیش از مرکز B بود. ضریب کاپا بین مراکز A و C برای موارد منفی و ۳ عیار ۱:۲۰، ۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ در ۸۹ نمونه سرم، ۰/۳۳ بود. در این دو مرکز در ۶۰ مورد عیار یکسان بود و در ۶ مورد در مرکز C عیار بالاتری گزارش شد که ۵ مورد آن یک عیار و ۱ مورد آن دو عیار اختلاف داشت. در بقیه موارد عیار گزارش شده مرکز A بالاتر بود، به طوری که در ۱۷ مورد یک عیار، ۹ مورد دو عیار، ۶ مورد سه عیار و ۲ مورد چهار عیار بیشتر از مرکز B بود (جدول ۲).

ضریب کاپا بین مراکز A و D برای موارد منفی و تمامی عیارها غیر از ۱:۳۲۰۰ در ۹۹ نمونه سرم، ۰/۱۷

جدول ۱: مقایسه نتایج آزمون IgG-IFA Toxoplasmosis یکصد سرم* بین مراکز A و B

جمع	۱:۱۶۰۰	۱:۸۰۰	۱:۴۰۰	۱:۲۰۰	۱:۱۰۰	۱:۲۰	منفی	مرکز A	
								مرکز B	منفی
۷۷	-	۱	۲	۳	۶	۱۱	۵۴	مرکز B	منفی
۱۴	۱	-	۱	۲	۲	۶	۲	مرکز B	۱:۲۰
۷	-	۲	۲	-	۲	۱	-	مرکز B	۱:۱۰۰
۲	-	۱	۱	-	-	-	-	مرکز B	۱:۲۰۰
۱۰۰	۱	۴	۶	۵	۱۰	۱۸	۵۶	جمع	

* سرم ها از افرادی است که برای انجام آزمایشات قبل از ازدواج به آزمایشگاه مراجعه کردند.

جدول ۲: مقایسه نتایج آزمون IgG-IFA Toxoplasmosis یکصد سرم* بین مراکز A و C

جمع	۱:۱۶۰۰	۱:۸۰۰	۱:۴۰۰	۱:۲۰۰	۱:۱۰۰	۱:۲۰	منفی	مرکز A	
								مرکز C	منفی
۶۶	-	-	-	۱	۴	۹	۵۲	مرکز C	منفی
۲۴	-	۱	۴	۳	۵	۷	۴	مرکز C	۱:۲۰
۶	۱	۱	۱	۱	۱	۱	-	مرکز C	۱:۱۰۰
۳	-	۱	۱	-	-	۱	-	مرکز C	۱:۲۰۰
۱	-	۱	-	-	-	-	-	مرکز C	۱:۴۰۰
۱۰۰	۱	۴	۶	۵	۱۰	۱۸	۵۶	جمع	

* سرم ها از افرادی است که برای انجام آزمایشات قبل از ازدواج به آزمایشگاه مراجعه کردند.

جدول ۳: مقایسه نتایج آزمون IgG-IFA Toxoplasmosis یکصد سرم* بین مراکز A و D

جمع	۱:۱۶۰۰	۱:۸۰۰	۱:۴۰۰	۱:۲۰۰	۱:۱۰۰	۱:۲۰	منفی	مرکز A	
								مرکز D	منفی
۲۸	-	-	-	-	۱	۱	۲۶	مرکز D	منفی
۲۶	-	-	۱	-	۲	۴	۱۹	مرکز D	۱:۲۰
۱۱	-	-	-	-	۱	۱	۹	مرکز D	۱:۱۰۰
۶	-	-	-	-	۳	۲	۱	مرکز D	۱:۲۰۰
۱۴	-	-	۱	۱	۱	۱۰	۱	مرکز D	۱:۴۰۰
۱۱	-	۳	۳	۳	۲	-	-	مرکز D	۱:۸۰۰
۳	۱	-	۱	۱	-	-	-	مرکز D	۱:۱۶۰۰
۱	-	۱	-	-	-	-	-	مرکز D	۱:۳۲۰۰
۱۰۰	۱	۴	۶	۵	۱۰	۱۸	۵۶	جمع	

* سرم ها از افرادی است که برای انجام آزمایشات قبل از ازدواج به آزمایشگاه مراجعه کردند.

جدول ۴: مقایسه نتایج آزمون IgG-IFA Toxoplasmosis یکصد سرم* بین مراکز B و C

جمع	۱:۲۰۰	۱:۱۰۰	۱:۲۰	منفی	مرکز B	
					مرکز C	منفی
۶۶	-	۱	۷	۵۸	مرکز C	منفی
۲۴	۱	۲	۳	۱۸	مرکز C	۱:۲۰
۶	۱	۱	۳	۱	مرکز C	۱:۱۰۰
۳	-	۲	۱	-	مرکز C	۱:۲۰۰
۱	-	۱	-	-	مرکز C	۱:۴۰۰
۱۰۰	۲	۷	۱۴	۷۷	جمع	

* سرم ها از افرادی است که برای انجام آزمایشات قبل از ازدواج به آزمایشگاه مراجعه کردند.

جدول ۵: مقایسه نتایج آزمون IgG-IFA Toxoplasmosis یکصد سرم* بین مراکز B و D

مرکز D	مرکز B	منفی	۱:۲۰	۱:۱۰۰	۱:۲۰۰	جمع
منفی	۲۸	۲۸	-	-	-	۲۸
۱:۲۰	۲۰	۵	۱	-	-	۲۶
۱:۱۰۰	۱۱	-	-	-	-	۱۱
۱:۲۰۰	۵	-	۱	-	-	۶
۱:۴۰۰	۸	۵	۱	-	-	۱۴
۱:۸۰۰	۴	۲	۴	۱	-	۱۱
۱:۱۶۰۰	۱	۲	-	-	-	۳
۱:۳۲۰۰	-	-	۱	-	-	۱
جمع	۷۷	۱۴	۷	۲	-	۱۰۰

*سرم ها از افرادی است که برای انجام آزمایشات قبل از ازدواج به آزمایشگاه مراجعه کردند.

جدول ۶: مقایسه نتایج آزمون IgG-IFA Toxoplasmosis یکصد سرم* بین مراکز C و D

مرکز D	مرکز C	منفی	۱:۲۰	۱:۱۰۰	۱:۲۰۰	۱:۴۰۰	جمع
منفی	۲۷	۲۷	۱	-	-	-	۲۸
۱:۲۰	۲۰	۶	-	-	-	-	۲۶
۱:۱۰۰	۹	۲	-	-	-	-	۱۱
۱:۲۰۰	۳	۲	۱	-	-	-	۶
۱:۴۰۰	۵	۷	۱	۱	-	-	۱۴
۱:۸۰۰	۲	۵	۲	۱	۱	-	۱۱
۱:۱۶۰۰	-	۱	۲	-	-	-	۳
۱:۳۲۰۰	-	-	-	۱	-	-	۱
جمع	۶۶	۲۴	۶	۳	۱	-	۱۰۰

*سرم ها از افرادی است که برای انجام آزمایشات قبل از ازدواج به آزمایشگاه مراجعه کردند.

بحث و نتیجه گیری

آزمایشگاهی یا تکثیر در کشت سلولی بدست می آورند. پونکسیون صفاقی، حاوی تاکی زوئیت های داخل و خارج سلولی و سلول های عاری از تاکی زوئیت هاست. تاکی زوئیت ها را می توان با صافی های پلی کربنات خالص کرد ولی این کار در ایران معمول نیست، در نتیجه آنتی ژن هایی که از تکثیر داخل صفاقی تاکی زوئیت ها در هر موش تهیه می شوند از نظر نسبت تاکی زوئیت ها به سلول های صفاقی قدری تفاوت خواهند داشت. انواع کونزوگه های تجاری نیز تفاوت های جزئی دارند که ممکن است این تفاوت آنها از نظر تمایل، نحوه کونزوگه کردن یا حیوانی باشد که

در مطالعه ما میزان توافق نتایج آزمون IFA توکسوپلاسموز بین چهار مرکز بیش از حد انتظار پایین بود. این حد تفاوت پذیرفتنی نیست و نیاز به بررسی دارد. البته، تفاوت نتایج در حد اندک می تواند به ماهیت آزمون مربوط باشد. عوامل مختلف می توانند بر نتایج آن تاثیر بگذارند. مهم ترین آنها، آنتی ژن، کونزوگه آنتی هیومن آنتی بادی کونزوگه، میکروسکوپ و قضاوت چشمی فلورسنت اطراف تاکی زوئیت هاست. برای تهیه آنتی ژن از پیکره کامل تاکی زوئیت های توکسوپلاسموگوندی استفاده می شود. تاکی زوئیت ها را از تکثیر داخل صفاقی در موش های سفید کوچک

تشخیص توکسوپلاسموز در کشور فعالیت دارند و بسیاری از مطالعات سرواپیدمیولوژی توکسوپلازما را در مناطق مختلف کشور هدایت کرده‌اند.

به طور کلی عیارهای گزارش شده در این چهار مرکز به صورت $B < C < A < D$ بود. با توجه به قضاوت میکروسکوپی نتایج آزمون IFA، انتظار داریم که الگوی گزارش افراد در مقایسه با هم بر یک روال خاص باشد. به عبارتی اگر فردی در مقایسه با فرد دیگر عیار پایین‌تر یا بالاتر گزارش کند، بایستی در تمام موارد چنین باشد. ولی در مطالعه ما این مورد عمومیت نداشت. مثلاً، عیار سرمی که در مرکز B، ۱:۲۰۰ بود در مرکز C، ۱:۲۰ گزارش شد. سرمی که مرکز C، عیار ۱:۲۰۰ داشت، در مرکز A، ۱:۲۰ گزارش شد. سرمی که در مرکز D، ۱:۲۰ بود در مرکز A، ۱:۴۰۰ بدست آمد و عیار سرمی که در مرکز D، ۱:۴۰۰ بود در مرکز A، ۱:۲۰ گزارش شد.

در مطالعه ما همچون بسیاری از بررسی‌های سرواپیدمیولوژی توکسوپلازما که به کمک آزمون IFA انجام شده است (۱۲-۷)، سرم‌های با عیار بیشتر یا مساوی ۱:۲۰، مثبت در نظر گرفته شد. با این عیار مورد قبول، SPR صد سرم همسان بین این چهار مرکز از ۱۰ تا ۴۹ درصد تفاوت داشت. این مقدار تفاوت در سروپرولانس سرم‌های یکسان دور از انتظار است و نیاز به بررسی دارد.

چون بسیاری از بررسی‌های سرواپیدمیولوژی توکسوپلازما در کشور با استفاده از این آزمون انجام شده، پیشنهاد می‌کنیم تا این مطالعات بازنگری شده و بررسی جامعی با استفاده از یک آزمون مناسب سرواپیدمیولوژی مانند Modified Agglutination Test (MAT) (۱۳) در کشور انجام شود تا سیمای واقعی‌تری از توزیع جغرافیایی توکسوپلاسموز بدست آید.

در بررسی متون تاکنون مطالعه مشابهی در کشور بدست نیامد. کوشش برای دستیابی به نتیجه مطالعات مشابه در سایر کشورها موفقیت‌آمیز نبود. لذا، مقایسه با نتایج

آنتی‌هیومن آنتی‌بادی از آن تهیه می‌شود، باشند. در بررسی ما کونژوگ‌ها از شرکت‌های تجاری مختلف تهیه شده بودند. قضاوت میکروسکوپی خواندن نتایج آزمون نیز تعیین‌کننده است. به نظر می‌رسد که در گزارش‌دهی عیار نهایی با تشخیص میکروسکوپ بین افراد مجرب و کم تجربه، تفاوت وجود داشته باشد. ممکن است انواع میکروسکوپ‌های ایمونوفلورسانس نیز از نظر فیلتر، طول موج و عمر لامپ فلورسنت با یکدیگر متفاوت باشند. خطای ناشی از کشیدن سمپلر نیز محتمل است.

برای آزمون IFA، سرم در رقت‌های پیاپی آزمایش می‌شود و بالاترین عیاری که فلورسنت سبز درخشان یکپارچه را در سطح تاکی زوئیت‌ها نشان دهد، به عنوان عیار نهایی گزارش می‌شود. در سرم‌های مثبت از نظر پادتن‌های ضد توکسوپلازما، تعیین دقیق عیار نهایی آنها چندان ساده نیست، زیرا در عیار پایین آنتی‌بادی بیشتری در سرم وجود دارد و فلورسنت اطراف تاکی زوئیت‌ها درخشان‌تر خواهد بود ولی با افزایش عیار و رقیق‌تر شدن سرم از میزان آنتی‌بادی‌ها کاسته شده و فلورسنت آن ضعیف‌تر می‌شود. بنابراین، وقتی نتیجه آزمون واحد توسط دو نفر خوانده شود، تفاوت یک عیار در گزارش‌دهی آنها محتمل است ولی تفاوت بیش از آن قابل توجه نیست. در مطالعه ما این وضعیت در تمام موارد مقایسه به ویژه در مقایسه با نتایج مرکز D محسوس‌تر بود. مثلاً، سرمی که عیار آن در مرکز C، ۱:۲۰ گزارش شد، در مرکز D، ۱:۱۶۰۰ بدست آمد یا سرمی با عیار ۱:۲۰ در مرکز B، در مرکز A، ۱:۱۶۰۰ گزارش شد. عیار ۱:۲۰ در مرکز B، در مرکز C، ۱:۲۰۰ بود و سرم منفی در مرکز A در مرکز D، ۱:۴۰۰ گزارش شد. به نظر می‌رسد وقتی بیش از یک عیار تفاوت وجود داشته باشد، عواملی غیر از قضاوت میکروسکوپی نیز دخالت داشته باشند. اگر تفاوت یک عیار آنتی‌بادی قابل قبول باشد، بیشترین میزان توافق بین مراکز B و C بدست آمد. این دو مرکز سال‌هاست که در زمینه

در کشور بازنگری شده و تمام عوامل مؤثر بر نتایج آن به تفکیک بررسی شدند. امیدواریم یافته‌های این مطالعه مورد توجه تمام محققان انگل‌شناس داخل کشور بویژه دست‌اندرکاران تحقیق بر توکسوپلاسموز قرار گیرد و به تشخیص آزمایشگاهی این بیماری انگلی بیش از پیش توجه شود.

تشکر و قدردانی

از کمک‌های شورای محترم پژوهشی دانشگاه و همکاری مرکز تحقیقات علوم پایه دانشکده پزشکی قزوین قدردانی می‌شود. از همکاران ارجمند در سایر مراکز که همکاری بسیار صمیمانه‌ای در اجرای این تحقیق داشتند و به علت ملاحظه اخلاقی و کسب اجازه، از ذکر اسامی آنها خودداری شده است. سپاسگزاری می‌کنیم. از همکاری مرکز تحقیقات علوم پایه دانشکده پزشکی و مرکز پزشکی جامعه نگر قزوین به ویژه آقای فرهاد خباز، آقای دکتر غلامرضا درگاهی و آقای یحیی عبادی نیز سپاسگزاری می‌کنیم.

دیگران میسر نشد. البته، بررسی‌های متعددی برای ارزیابی آزمون‌های سرولوژی توکسوپلاسموز انجام شده که در آنها همبستگی و توافق بالایی بین انواع آزمون‌ها یا انواع کیت‌ها بدست آمده است. در مطالعه Herbrink و همکاران، ضریب همبستگی نتایج آزمون بین چهار آزمایشگاه از نظر سه آزمون سرولوژی توکسوپلاسموز در حد بالایی معنی دار بود (۱۴). در مطالعه Takahashi و Rossi، سه تکنیک ELISA، Antibody Capture و ELISA و Antibody Capture Agglutination حساسیت و ویژگی بالا و نزدیک به هم داشت (۱۵). در مطالعه Marca و همکاران، نتایج بسیار مشابهی با دو آزمون IFA و MAT بدست آمد (۱۶) و در مطالعه Petersen و همکاران، ضریب همبستگی بین سیستم تمام اتوماتیک LIAISON که بر مبنای Chemiluminescence عمل می‌کند و آزمون VIDAS IgG Avidity، ۰/۸۱ بود (۱۷). از بررسی ما می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً بکارگیری آزمون IFA توکسوپلاسموز در برخی از آزمایشگاه‌های کشور اشکال‌هایی داشته باشد. بنابراین، باید این آزمون

منابع

- Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent Developments for Diagnosis of Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 2004; 42:941-945.
- Piergili Fioretti D. Problems and Limitations of Conventional and Innovative Methods for the Diagnosis of Toxoplasmosis in Humans and Animals. *Parasitologia* 2004; 46:177-181.
- Beghetto E, Spadoni A, Bruno L, Buffolano W, Gargano N. Chimeric Antigens of Toxoplasma Gondii: Toward Standardization of Toxoplasmosis Serodiagnosis Using Recombinant Products. *J Clin Microbiol* 2006; 44:2133-2140.
- Marca MC, Ramos JJ, Loste A, Saez T, Sanz MC. Comparison of Indirect Immunofluorescent Antibody Test and Modified Direct Agglutination Test Methods for Detection of Toxoplasma Gondii Antibodies in Adult Sheep in Spain. *Vet Parasitol* 1996; 67:99-103.
- Wilson M, Remington JS, Clavet C, Varney G, Press C, Ware D. Evaluation of Six Commercial Kits for Detection of Human Immunoglobulin M Antibodies to Toxoplasma Gondii. The FDA Toxoplasmosis Ad Hoc Working Group. *J Clin Microbiol* 1997; 35:3112-3115.
- Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of Animals and Man. Florida; CRC press, 1988.
- دریانی، احمد؛ سقا، محسن: سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسموز در زنان مراجعه کننده به آزمایشگاه مرکز بهداشت شهر اردبیل جهت انجام آزمایش‌های قبل از ازدواج. خلاصه مقالات چهارمین همایش سراسری انگل‌شناسی و بیماری‌های انگلی ایران. مشهد؛ دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۸۲، صص: ۱۰۴.
- سرای صحنه سرایی، مهرزاد؛ جهانی هاشمی، حسن؛ دمیچلی، مه‌لقا؛ درگاهی، غلامرضا؛ شیوع توکسوپلاسم گوندیی در دختران مراجعه کننده به

مرکز پزشکی جامعه نگر قزوین جهت انجام آزمایشات قبل از ازدواج، سال ۱۳۸۱. خلاصه مقالات چهارمین همایش سراسری انگل شناسی و بیماری های انگلی ایران. مشهد؛ دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۸۲، صص: ۱۰۹.

۹. فتاحی بافقی، علی؛ انوری، محمد حسین؛ صادقیان، حسین علی؛ ملک پور دهکردی، زهرا؛ جوکار، نرگس؛ مختاریان، کبری؛ جمال الدین اردکانی، شهربانو؛ بررسی سرواپیدمیولوژیک توکسوپلاسموزیس در دختران در شرف ازدواج شهر یزد ۹-۱۳۷۸. خلاصه مقالات سومین کنگره سراسری انگل شناسی پزشکی ایران. ساری؛ دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مازندران، ۱۳۷۹، صص: ۱۶۸.

۱۰. اسماعیلی رستاقی، احمد رضا؛ آسمار، مهدی؛ قربانی، مهدی؛ بررسی توکسوپلاسموز مادرزادی در شهرستان آمل. خلاصه مقالات دومین کنگره سراسری بیماری های انگلی ایران. تهران؛ دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، ۱۳۷۶، صص: ۱۱۸.

۱۱. کشاورز، حسین؛ ناطق پور، مهدی؛ اسکندری، سید اسماعیل؛ بررسی سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسموز در شهرستان اسلام شهر در تابستان ۱۳۷۷. خلاصه مقالات

سومین کنگره سراسری انگل شناسی پزشکی ایران. ساری؛ دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مازندران، ۱۳۷۹، صص: ۱۲۰.

12. Ghorbani M, Edrissian GH, Assad N. Serological Survey of Toxoplasmosis in Northern Part of Iran, Using Indirect Fluorescent Antibody Technique. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1978; 72:369-371.

13. Thulliez P, Remington JS, Santoro F, et al. A New Agglutination Test for Diagnosis of Acute and Chronic Toxoplasma Infection. *Pathol Biol* 1986; 34: 173-177.

14. Herbrink P, Van Loon AM, Rotmans JP, et al. Interlaboratory Evaluation of Indirect Enzyme-linked Immunosorbent Assay, Antibody Capture Enzyme-linked Immunosorbent Assay, and Immunoblotting for Detection of Immunoglobulin M Antibodies to Toxoplasma Gondii. *J Clin Microbiol* 1987; 25:100-105.

15. Takahashi EE, Rossi CL. Use of Three Immunological Techniques for the Detection of Toxoplasma Specific IgA Antibodies in Acute Toxoplasmosis. *J Clin Pathol* 1994; 47:1101-1104.

16. Marca MC, Ramos JJ, Loste A, et al. Comparison of Indirect Immunofluorescent Antibody Test and Modified Direct Agglutination Test Methods for Detection of Toxoplasma Gondii Antibodies in Adult Sheep in Spain. *Vet Parasitol* 1996; 67:99-103.

17. Petersen E, Victoria Borobio M, Guy E, et al. European Multicenter Study of the LIAISON Automated Diagnostic System for Determination of Toxoplasma Gondii- Specific Immunoglobulin G (IgG) and IgM and the IgG Avidity Index 2005; 43:1570-1574.

Toxoplasmosis Indirect Immunofluorescent Antibody Test

Agreement Rate among Four Laboratory Centers

Saraei Sahnesaraei M.(Ph.D)., Jahani Hashemi H.(Ph.D)

Abstract

Introduction: Indirect immunofluorescent antibody (IFA) test is one of the most common serological tests for toxoplasmosis. Some of Toxoplasma seroepidemiological studies used this test in Iran. Review the studies which were performed by this test in different areas of the country with different climates, shows according to main way of transmission of Toxoplasma gondii in Iran, performing the test needed consideration. It seems that these probable contradictions are due to mistakes of the test procedure in some of the laboratories.

Objective: This study was performed to determine the agreement rate of IFA toxoplasmosis test among 4 laboratory centers.

Materials and Methods: The study is a multicenter evaluation. With the consideration of ethical values, serums were prepared from 100 subjects' who had referred for pre-marriage examinations to Qazvin medical community center in the year 2006. Each serum divided to four parts and in each laboratory was examined for specific IgG anti-Toxoplasma antibodies with the IFA test. The tests in each center were performed according to common protocol of that center. The sera in all laboratories were examined at 1:20, 1:100, 1:200 and above. The titration \geq 1:20 was considered as positive. The kappa coefficient between each 2 centers was calculated.

Results: The seropositivity rates of IgG-IFA Toxoplasma test in the 4 centers were 72%, 44%, 34% and 23%. The kappa coefficient in comparing with 2 centers, for upper limit was 0.36 and for the lower limit was 0.16.

Conclusion: In the present study, the agreement rates among the four centers were very lower than our expect. It seems that, performing this test in some of laboratories in country accompanied with some defects that should be corrected. Therefore, we recommend to survey separately.

Key words: Hematologic Tests/ Immuno Fluorescent Technique, Indirect/ Laboratory Techniques and Procedures Toxoplasmosis