

## مقاله پژوهشی

# طراحی و تهیه کیت الایزا اویدیتی و مقایسه آن با روش الایزا در تشخیص توکسوپلازما گوندی بر روی نمونه‌های سرمی و مایع آمنیوتیک

احسان شریعت بهادری: گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران، ایران

E-mail: E\_Shari2000@yahoo.com

جاوید صدرائی: گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران، ایران  
وجیهه مرصوصی: گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
سمیه موسوی پور: گروه پرستاری، دانشکده پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

دریافت: ۹۱/۶/۱۷ پذیرش: ۹۱/۹/۱۸

## چکیده

**زمینه و اهداف:** یکی از راههای انتقال بیماری توکسوپلازموزیس مادرزادی از طریق جفت به جنین می‌باشد که تشخیص این بیماری را در این مرحله بسیار حائز اهمیت می‌نماید. توکسوپلازموزیس مادرزادی چنانچه در سه ماهه اول بارداری رخ دهد به سقط جنین و اختلالات اعصاب مرکزی و چشمی منجر می‌شود. لذا روشهای تشخیصی دقیق در بررسی زنان مبتلا به عفونت توکسوپلازموزیس حائز اهمیت می‌باشد که شامل روشهای سرولوژی مانند الایزا و الایزا اویدیتی هستند.

**مواد و روش‌ها:** در این مورد از طراحی یک روش دستی الایزا اویدیتی و بررسی و مقایسه نتایج آن با روش تجاری الایزا اویدیتی رایج در آزمایشگاه‌های مختلف استفاده گردیده است. نمونه‌های سرمی و مایع آمنیوتیک از ۴۸ مادر بارداری که سابقه سقط جنین داشته‌اند در بیمارستان شریعتی تهران جمع آوری گردید. برای مقایسه، یک روش الایزای اویدیتی به طریق دستی نیز در دانشگاه تربیت مدرس طراحی گردید. بررسی‌های آماری با نرم افزار Spss نسخه ۱۹ صورت گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج روش الایزا نشان داد که در بیشتر مادران مورد مطالعه، عفونت توکسوپلازموزیس اخیرا رخ داده است.

**نتیجه‌گیری:** تفسیر این مقایسه حاکی از آن است که در تشخیص انگل توکسوپلازما گوندی روش الایزا تنها آنتی بادی IgM را به خوبی اندازه گیری می‌کند اما در روش الایزا اویدیتی هر دو آنتی بادی IgM و IgG به درستی قابل اندازه گیری است. همچنین روش الایزا اویدیتی زمان ابتلای مادر به انگل توکسوپلازما گوندی را تعیین می‌کند.

**کلید واژه‌ها:** توکسوپلازما گوندی، الایزا، الایزا اویدیتی، مایع آمنیوتیک، آنتی بادی IgG

## مقدمه

ژنی تاکی زوئیت و برادی زوئیت با یکدیگر متفاوت هستند. کیست‌ها محتوی ۵۰ تا چندین هزار برادی زوئیت بوده و قطر آنها از ۱۰ تا ۱۰۰ میکرون متفاوت است. در سلولهای اپی تلیال گربه اشکال متنوعی وجود دارد که سرانجام تبدیل به گامتوسیت‌های نر و ماده می‌شوند. ماکروگامتها بارور رشد کرده و تبدیل به اسپوروسیت‌های گرد می‌گردند. اسپوروسیتها سلولهای اپی تلیال گربه را پاره کرده و به هنگام دفع با مدفوع گربه ۱۰ الی ۱۳ میکرون قطر دارند (۱،۲). دیواره اسپوروسیتها دوجداره بوده و محتوی مواد تقسیم نشده است ولی این مواد پس از چند روز از دفع اسپوروسیت تبدیل به ۲ اسپوروسیت می‌شوند. هر اسپوروسیت به نوبه خود دارای ۴ اسپوروزیست است (۳-۵). به طور کلی روش رایج امروزی برای تشخیص توکسوپلازموزیس مادرزادی شامل روشهای الایزا و الایزا اویدیتی است که در روش الایزا، آنتی بادی‌های IgG و IgM و در روش الایزا اویدیتی زمان ابتلاء به انگل توکسوپلازما گوندی مشخص می‌گردد (۶-۸).

یکی از روشهای تشخیصی توکسوپلازموزیس مادرزادی روش الایزا است که با نتایج مثبت کاذبی همراه می‌باشد. امروزه روشی جدیدتر برای تشخیص این بیماری در مادران استفاده می‌شود که روش الایزا اویدیتی نام دارد که هم آنتی بادی علیه انگل و هم زمان ابتلاء به عفونت را مشخص می‌کند (۱،۲). تاکنون طیف وسیعی از گونه‌های توکسوپلازما جدا شده است ولی به نظر میرسد فقط یک گونه از آن قادر به بیماری زایی در انسان باشد. شکل غیر جنسی و با تکثیر فعال انگل در انسان یک انگل داخل سلولی اجباری، گلایی شکل و به اندازه تقریبی ۳ تا ۶ میکرون است. این انگل که تاکی زوئیت نامیده میشود دارای یک غشای سلولی - هسته و اندامک‌های متعددی است. اجتماع تاکی زوئیت‌ها می‌تواند سلول را کاملا اشغال کرده و با ایجاد یک غشاء در اطراف خود تبدیل به یک کیست گردد (۱،۲). در مرحله کیستی انگل برادی زوئیت نامیده شده و به لحاظ متابولیسم آرام است. شواهد موجود نشان می‌دهند که از لحاظ آنتی

## مواد و روش‌ها

ناباروری ابن سینا و آزمایشگاه پاتوبیولوژی مرکزی تهران جمع آوری شدند. روشهای آزمایش شامل روش الایزا و الایزا اویدیتی بود. کیت آماده مورد استفاده در این آزمایشات کیت یورویمیون نام دارد که بر اساس روشهای آنزیماتیک عمل می‌کند. برای جمع آوری نمونه‌ها ابتدا مادرانی که دارای که دارای سابقه سقط جنین و دارای تیتراهای آنتی بادی علیه انگل توکسوپلازما گوندی بودند شناسایی شده و نمونه مایع آمنیوتیک آنها در بیمارستان توسط متخصص زنان و زایمان جمع آوری و سپس همزمان نمونه خون آنها تهیه شد و هر دوی این نمونه‌ها با ثبت تاریخ و مشخصات بیمار از لحاظ سن، تعداد سقطهای جنین، سابقه تماس با گربه و حتی المقدور منطقه سکونت آنها به صورت پرسشنامه‌ای ساده تهیه شد و نمونه‌ها سرم و مایع آمنیوتیک آنها بلافاصله در یخچال ۲۰ درجه سانتیگراد، فریز گردید. کلیه نمونه‌ها بایستی در عرض حداکثر یک هفته مورد آزمایش قرار می‌گرفتند. بررسی های آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ صورت گرفت.

### روش طراحی کیت الایزا اویدیتی

مایع صفاق موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی که ۷ روز قبل با تاکی زوئیت‌های انگل توکسوپلازما گوندی (۱۰<sup>۶</sup> تاکی زوئیت در هر میلی‌لیتر) به روش تلقیح داخل صفاقی آلوده شده بودند، آسپیره گردید و با دور ۱۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سپس مایع رویی به عنوان ترکیب آنتی ژن‌های دفعی ترشحی استخراج گردید. برای این عمل نمک سولفات آمونیوم به تدریج به ظرف حاوی مایع صفاق موش اضافه گردید و یک شب در یخچال و بعد از آن به مدت ۳۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. سپس مایع رویی خارج و رسوب در مقابل بافر تریس ۰/۰۵ مولار دیالیز گردید. سپس کیسه دیالیز را در مقابل جریان شدید هوا قرار داده تا تغلیظ صورت گیرد و میزان پروتئین آن با روش برادفورد تعیین گردید. آنگاه در ویال‌های در پیچ دار تقسیم و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد و در حضور آنتی بیوتیک تا زمان استفاده نگه‌داری گردید. البته بهتر است برای تلقیح از موشهای BALB/C استفاده کرد، زیرا تاکی زوئیت انگل توکسوپلازما گوندی در این نوع موش راحت‌تر و سریعتر بالا می‌آید (۱۳-۹). در روش پوشش‌دهی آنتی ژن‌های انگل از بافر PBS به عنوان بافر پوشش‌دهنده و از بافر PBS و توئین ۸۰ به همراه سرم آلبومین گاوی به عنوان بافر مسدود کننده استفاده گردید. برای تعیین غلظت پروتئین از روش برادفورد با استفاده از رنگ کوماسی بریلینت بلو (کلریمتری) استفاده گردید و با توجه به منحنی استاندارد موجود در کیت مورد آزمایش غلظت پروتئین‌های موجود در سوسپانسیون تهیه شده از صفاق موش، تعیین گردید. برای عمل پوشش دهی نیاز به انکوباسیون ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و برای عمل مسدود کردن نیاز به انکوباسیون ۱ ساعته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بود. برای تعیین نقطه برش (cut off) کیت تهیه شده از بافرهای NAKCN و بافر Pnpp (پارانیتروفینیل فسفات) در دی اتانول آمین استفاده گردید. تست استاندارد مورد استفاده در این آزمایشات روش الایزا ساده بود.

یکی از ابزارهای الایزای اویدیتی کشف مراحل حاد یا مزمن بیماریهای عفونی مانند توکسوپلازما گوندی است. بعضی مواقع به دلایل مختلف ارزیابی صرفا IgM برای مراحل حاد توکسوپلازما گوندی مفید نیست که از آن جمله می‌توان به پاسخ‌های طولانی مدت IgM و تاخیر در تولید این آنتی بادی و یا پاسخ‌های غیراختصاصی پلی کلونال IgM علیه فاکتورهای گوناگون نام برد. در سالهای اخیر کشف روش الایزای اویدیتی در بررسی عفونت‌های اخیر با انگل توکسوپلازما گوندی راهکاری مناسب برای این موضوع است که فقط به ارزیابی آنتی بادی از کلاس IgG می‌پردازد. در اوایل عفونت مقدار آنتی بادی IgG در اتصال به آنتی ژن در حالت LOW AVIDITY قرار دارد و با ادامه عفونت تمایل آنتی بادی مذکور برای آنتی ژن انگل توکسوپلازما گوندی افزایش یافته و در حالت HIGH AVIDITY قرار می‌گیرد که نشانه عفونت طولانی مدت می‌باشد. محتویات کیت مورد آزمایش باید در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد ذخیره سازی شوند و نباید در حالت فریز قرار گیرند. باید حتما به تاریخ انقضای کیت مورد آزمایش دقت شود. تمامی محتویات کیت مورد آزمایش بایستی ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش در دمای آزمایشگاه یعنی ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گیرند. در این کیت کلیه کنترل‌ها، بافر فسفات و بافر اوره آماده برای استفاده می‌باشند و قبل از مصرف بایستی به آرامی تکان داده شوند. کلیه کنترل‌ها و کالیبراتورهای این روش از نظر تستهای HIV و HBS مورد آزمایش قرار گرفته‌اند و از این از نظر مصون هستند ولی کلیه نکات ایمنی در هنگام کار کردن با این کیت می‌بایست لحاظ شود. نمونه مورد استفاده در این آزمایش سرم خون انسانی و یا پلاسما تهیه شده با مواد ضد انعقاد مانند EDTA, HEPARIN, CITRATE بدست آمده است. کلیه نمونه‌ها در این روش فقط تا مدت زمان ۱۴ روز قابل استفاده است و نمونه‌های رقیق شده در همان روز بایستی مورد آزمایش قرار گیرند. کیت مورد استفاده در این آزمایش دارای ماده سمی سدیم آزید است که از تماس مستقیم با پوست جدا باید خود داری شود. در این روش از کلیه نمونه‌هایی که دارای مقادیر کافی آنتی بادی IgG علیه انگل توکسوپلازما گوندی است می‌توان استفاده کرد که از آن جمله می‌توان مایع آمنیوتیک را نام برد که با روش آمنیوستز از مادران باردار دارای سقط جنین مکرر که احتمال وجود آنتی بادی IgG علیه انگل توکسوپلازما گوندی را دارند بدست می‌آید. کلیه نمونه‌ها بایستی به میزان ۱: ۱۰۱ رقیق شوند که شامل ۱۰ لاندا سرم یا مایع آمنیوتیک و ۱ سی سی رقیق کننده تست می‌باشد (بافر رقیق‌کننده) و باید کاملا مخلوط گردند. جهت بررسی توکسوپلازموزیس از کیت الایزا اویدیتی طراحی و ساخته شده در آزمایشگاه انگل شناسی و کیت آماده و تجاری الایزا اویدیتی که بر اساس روشهای آنزیماتیک عمل می‌کنند و برای روش الایزا از کیت آماده داخلی استفاده گردید. تعداد ۴۸ نمونه سرم و مایع آمنیوتیک از زنان ۲۰ تا ۴۵ ساله‌ای که دارای آنتی بادی علیه انگل توکسوپلازما می‌باشند تهیه شد که این نمونه‌ها اکثرا از بیمارستان شریعتی تهران و تعدادی از مرکز

## یافته‌ها

محاسبه نتایج حاصل از روش نیمه کمی الایزای اویدیتی (رابطه ۱):

$$\text{OD حاصل از کنترل یا نمونه‌های بیمار} \\ \text{OD حاصل از کالیبراتور ۲ (CAL2)}$$

در صورتیکه نسبت فوق کمتر از ۰/۸ باشد نتیجه منفی، اگر بین ۰/۸ تا ۱/۱ نتیجه در حد مرز و اگر نتیجه بالاتر از ۱/۱ باشد نتیجه الایزا اویدیتی مثبت است.

محاسبه نتایج با روش کمی الایزا اویدیتی (رابطه ۲):

$$\text{OD سرم بیمار} \\ \text{OD سرم بیمار} / \text{OD پلیت‌های حاوی بافر فوسفات}$$

عدد حاصله در عدد ۱۰۰ ضرب می‌شود که نتیجه نهایی به صورت درصد بیان می‌شود و تحت عنوان RIA بیان می‌گردد. اگر RIA کمتر از ۴۰٪ باشد نشانه LOW AVIDITY ANTIBODY است و اگر RIA بین ۴۰٪ تا ۶۰٪ باشد نشانه INTERMEDIATE AVIDITY است و اگر بالاتر از ۶۰٪ باشد نشانه HIGH AVIDITY ANTIBODY علیه انگل توکسوپلازما گوندی است. روش نیمه کمی الایزا اویدیتی فقط مثبت یا منفی بودن وجود آنتی بادی را بررسی می‌کند و در این آزمایش به علت اینکه نمونه‌های مورد آزمایش همگی تفکیک شده بودند و از لحاظ آنتی بادی IgG علیه توکسوپلازما گوندی مثبت بودند از لحاظ تست نیمه کمی الایزا اویدیتی نیز مثبت می‌باشند، ولی گاهی ممکن است آزمایش الایزای ساده یک بیمار از لحاظ آنتی بادی IgG علیه توکسوپلازما مثبت باشد اما نتیجه اویدیتی وی منفی گردد که به علت نتایج کاذب و مداخله کننده علیه بیماریهای دیگر مانند آرتریت روماتوئید، لوپوس سیستمیک و برخی عفونت‌های دیگر باشد. به عبارت دیگر نتیجه مثبت الایزا اویدیتی نیمه کمی یک مادر باردار قطعا وجود آنتی بادی IgG علیه انگل توکسوپلازما گوندی را تایید می‌کند. در کلیه مادران مورد بررسی تست الایزای ساده از نظر IgG مثبت بوده و میانگین الایزای اویدیتی نیمه کمی آنها نیز نشان دهنده وجود آنتی بادی IgG حقیقی توکسوپلازمایی در سرم آنها می‌باشد. در روش الایزا اویدیتی کمی علاوه بر مثبت بودن آزمایش از نظر عفونت توکسوپلازموزیس، زمان ابتلاء مادر هم مشخص می‌گردد.

همانگونه که در جدول ۱ و ۲ مشاهده می‌گردد میانگین تیتراژ اویدیتی در هر دو حالت کمی و نیمه کمی با افزایش تعداد سقط جنین در مادران باردار افزایش می‌یابد. به طور مثال در جدول ۱ میانگین تیتراژ اویدیتی نیمه کمی مادران با سابقه ۱ بار سقط جنین ۱/۸۷ و همین میانگین در مادران با سابقه ۴ بار سقط جنین به ۲/۷۸ می‌رسد یا به طور مثال در جدول ۲ میانگین تیتراژ اویدیتی کمی مادران با سابقه ۱ بار سقط جنین ۰/۴۵ است در حالیکه همین میانگین در مادران با سابقه ۴ بار سقط جنین به ۰/۶۷ می‌رسد که نشان می‌دهد تیتراژ IgG آنتی بادی علیه انگل توکسوپلازما با افزایش تعداد سقط جنین، سیر صعودی دارد. تمامی این

میانگین‌های تیتراژ اویدیتی در زمانی که کیت مورد نظر به صورت دستی در آزمایشگاه طراحی می‌گردد، افزایش محسوسی را نشان می‌دهد که می‌تواند به علت تازگی آنتی ژن انگلی تهیه شده در آزمایشگاه یا به علت سوس RH استاندارد انگل توکسوپلازما باشد. به طور مثال میانگین تیتراژ اویدیتی نیمه کمی در مادران با سابقه ۱ بار سقط جنین با کیت خارجی ۱/۸۷ است در صورتیکه همین میانگین با کیت طراحی شده داخلی ۱/۹۸ می‌باشد. نمونه‌های مورد بررسی فوق، مایع آمنیوتیک بودند.

جدول ۱: مقایسه میانگین‌های نتایج اویدیتی نیمه کمی مایع آمنیوتیک در زنان دارای سقط جنین مبتلا به توکسوپلازموزیس

تعداد سقط جنین	میانگین تیتراژ اویدیتی کمی مایع آمنیوتیک با کیت خارجی	میانگین تیتراژ اویدیتی نیمه کمی مایع آمنیوتیک با کیت داخلی
۱ بار	۱/۸۷	۱/۹۸
۲ بار	۱/۹۵	۲/۱۱
۳ بار	۲/۲۷	۲/۴۶
۴ بار	۲/۷۸	۲/۹۶

جدول ۲: مقایسه میانگین‌های نتایج اویدیتی کمی مایع آمنیوتیک در زنان دارای سقط جنین مبتلا به توکسوپلازموزیس

تعداد سقط جنین	میانگین تیتراژ اویدیتی کمی مایع آمنیوتیک با کیت خارجی	میانگین تیتراژ اویدیتی کمی مایع آمنیوتیک با کیت طراحی شده
۱ بار	۰/۴۵	۰/۴۸
۲ بار	۰/۵۲	۰/۵۸
۳ بار	۰/۵۹	۰/۶۴
۴ بار	۰/۶۷	۰/۷۱

جدول ۳: مقایسه میانگین‌های نتایج اویدیتی نیمه کمی سرم در زنان دارای سقط جنین مبتلا به توکسوپلازموزیس

تعداد سقط جنین	میانگین تیتراژ اویدیتی کمی سرم با کیت خارجی	میانگین تیتراژ اویدیتی نیمه کمی سرم با کیت طراحی شده
۱ بار	۲/۳۵	۲/۵۶
۲ بار	۲/۹۲	۳/۲۳
۳ بار	۳/۱۳	۳/۵۴
۴ بار	۳/۴۵	۳/۹۳

جدول ۴: مقایسه میانگین‌های نتایج اویدیتی کمی سرم در زنان دارای سقط جنین مبتلا به توکسوپلازموزیس

تعداد سقط جنین	میانگین تیتراژ اویدیتی کمی سرم با کیت خارجی	میانگین تیتراژ اویدیتی کمی سرم با کیت طراحی شده
۱ بار	۰/۶۵	۰/۶۸
۲ بار	۰/۶۷	۰/۶۹
۳ بار	۰/۶۹	۰/۷۳
۴ بار	۰/۷۲	۰/۷۸

همانگونه که جداول ۳ و ۴ نشان می‌دهند میانگین تیتراژ اویدیتی نیمه کمی و کمی در مادران مبتلا به توکسوپلازموزیس با افزایش سقط جنین، مشابه دو جدول قبلی، افزایش می‌یابد. در این دو جدول، نمونه مورد بررسی، نمونه سرم خون مادران مبتلا به توکسوپلازموزیس است. در جدول ۳ که میانگین‌های اویدیتی نیمه کمی را نشان می‌دهد، در مادران با سابقه ۱ بار سقط جنین میانگین اویدیتی نیمه کمی ۲/۳۵، در حالیکه در همین جدول میانگین اویدیتی نیمه کمی مادران با سابقه ۴ بار سقط جنین ۳/۴۵ می‌باشد، یا به طور مثال میانگین اویدیتی کمی (جدول ۴) در مادران

اگر در بررسی انگل توکسوپلازما گوندی، نمونه سرمی مد نظر است این مقایسه نشان داد که روش ELISA و ترجیحا ELISA AVIDITY از دقت بالایی برخوردار می‌باشد. در نمونه‌های مایع آمیوتیک، روش PCR از دقت بالایی برخوردار است (۱۶-۱۸).

به طور کلی روش تشخیص انگل توکسوپلازما گوندی شامل روش‌های الایزا و الایزای اویدیتی می‌باشد و در بحث نمونه‌های مورد آزمایش، نمونه سرمی تازه بدست آمده از زنانی که دارای سابقه سقط مکرر جنین می‌باشند، ابتدا با روش الایزا و سپس در صورت مثبت بودن، با روش الایزای اویدیتی در تشخیص زمان ابتلای به عفونت مهم است و اگر این کیت آزمایش به روش دستی طراحی گردد، این مقدار آنتی بادی از غلظت بالاتری برخوردار خواهد بود.

ورود انگل توکسوپلازما به بدن انسان باعث افزایش یکسری از آنتی بادی‌های مهم از جمله IgG و IgM می‌شود (۱۶-۱۸).

آنتی بادی IgM توکسوپلازما گوندی در مرحله حاد عفونت ساخته می‌شود و وجود آن در سرم خون قطعا وجود انگل را ثابت می‌کند. چنانچه این آنتی بادی با عیار قابل ملاحظه وجود داشته باشد باید روش DYE TEST روی دو نمونه از سرم مادر به فاصله ۳ هفته انجام گردد، و چنانچه در این دو مورد افزایشی در عیار آنتی بادی ملاحظه نگردد، عفونت قبل از حاملگی اتفاق افتاده است و خطری برای جنین ندارد. در زن بارداری که چند ماه از حاملگی او گذشته و مشکوک به توکسوپلازموزیس حاد است چند معیار مهم است:

۱- لنفادنوپاتی ۲- عیار بالای DYE TEST ۳- وجود آنتی بادی IgM

در عفونت مزمن توکسوپلازموزیس بررسی IgG توکسوپلازما گوندی حائز اهمیت است در بعضی از روشهای آزمایشگاهی مثبت بودن این آنتی بادی IgG ضد توکسوپلازما گوندی فقط دال بر مثبت بودن آزمایش نیست و نیاز به آزمایشات تکمیلی مانند الایزا اویدیتی می‌باشد (۱۷). البته روش الایزا اویدیتی چندین مزیت دارد که اولاً مثبت بودن آن دلیل قطعی بر وجود آنتی بادی علیه انگل توکسوپلازما گوندی است و ثانیاً زمان ابتلای مادر باردار به این انگل را نیز تا حدود زیادی مشخص می‌کند (۲۱-۱۹).

### نتیجه‌گیری

در این مطالعه نشان داده شد برای تشخیص IgG توکسوپلازما گوندی به روش الایزا اویدیتی، نمونه سرم خون بیماران نسبت به مایع آمیوتیک ارجحیت دارد که علت آن مقدار و کمیت بالاتر آنتی بادی ضد انگل توکسوپلازما گوندی در نمونه سرم می‌باشد. چنانچه به ناچار برای تشخیص توکسوپلازموزیس مادرزادی، نمونه ارسالی به آزمایشگاه فقط نمونه مایع آمیوتیک باشد می‌توان از روشهای مولکولی مانند PCR استفاده کرد، که این یک روش متداول برای تشخیص توکسوپلازموزیس مادرزادی نمی‌باشد. یکی دیگر از روشهای تشخیص آنتی بادی توکسوپلازما گوندی روش IFA است که روشی رایج می‌باشد. روشهای الایزای ساده و ایمنوفلورسانس برای تشخیص توکسوپلازموزیس مادرزادی با نتایج مثبت کاذبی همراه است که در بیماریهایی مانند آرتریت روماتوئید و لوپوس سیستمیک دیده می‌شود که برای حذف این نتایج کاذب از

با سابقه ۱ بار سقط جنین ۶۵٪ در حالیکه همین میانگین اویدیتی کمی در مادران با سابقه ۴ بار سقط جنین به ۷۲٪ میرسد. در هر دو جدول این مطلب مهم است که میانگین‌های تیر اویدیتی نیمه کمی و کمی در زمانی که کیت مورد آزمایش به طور دستی در آزمایشگاه طراحی می‌گردد، افزایش محسوسی را نشان می‌دهند که علل این امر یا به علت استفاده سوش RH انگل و یا به علت تازگی آنتی ژن مورد بررسی (آنتی ژن توکسوپلازما) می‌باشد.

### بحث

در تشخیص توکسوپلازما گوندی روشهای مختلف برای اهداف متنوعی استفاده می‌شوند.

۱- یافتن روش تشخیصی مطمئن با دقت بالا در عفونت با توکسوپلازما گوندی.

۲- بررسی مقایسه‌ای روش الایزا اویدیتی و الایزا از نظر تشخیص توکسوپلازما گوندی.

۳- بررسی مقایسه‌ای کیت الایزا اویدیتی تهیه شده به روش دستی و کیت آماده الایزا اویدیتی در تشخیص توکسوپلازموزیس (۱۶-۱۴).

۴- یافتن نمونه مناسب برای تشخیص انگل توکسوپلازما گوندی.

در تشخیص توکسوپلازموزیس مادرزادی یافتن آنتی بادی با تیر مناسب برای عملکرد درمانی مهم است. چه بسا بسیاری از آزمایشگاه‌های تشخیص بالینی جواب بیماران را برای این بیماری به پزشک مربوطه گزارش می‌کنند، لیکن بسیاری از این نتایج قابل اعتماد نبوده و پزشک یا درمانگر را مجبور به استفاده از روشهای پاتولوژی یا رادیولوژی برای تایید نهایی بیماری می‌نماید (۱۸-۱۶).

۵- یافتن زمان مناسب برای ابتلای جنین به انگل توکسوپلازما گوندی که این زمان در درمان نوزاد به دنیا آمده با علائم توکسوپلازموزیس بسیار مفید است.

مثلا ابتلای جنین در سه ماهه اول ممکن است نوزاد را به علائم میکروسفالی یا هیدرو سفالی مبتلا کند اما ابتلای جنین در سه ماهه سوم بارداری بیشتر با اختلالات چشمی و کوریورینیت همراه است و این نکته فقط در روش الایزای اویدیتی لحاظ می‌گردد.

۶- زمان ابتلای مادر به انگل توکسوپلازما گوندی در روش الایزای اویدیتی تا حدود زیادی تعیین می‌گردد.

در حالتی اویدیتی پایین ابتلای مادر در زمانهای خیلی دور است اما در حالت اویدیتی بالا ابتلای مادر در همین اواخر می‌باشد.

۷- تفسیر آزمایش در الایزای اویدیتی برای پزشک راحت‌تر است، زیرا نتایج الایزای اویدیتی نتایج با حدود اطمینان ۹۰ درصد برای آنتی بادی علیه انگل توکسوپلازما گوندی است.

۸- در روش الایزای ساده در تشخیص توکسوپلازموزیس نتایج مثبت کاذب فراوان است مانند آنتی بادی در بیماران سیستمیک لوپوس و یا آرتریت روماتوئید اما در الایزای اویدیتی این موضوع مرتفع شده است و نتایج مثبت کاذب وجود ندارد (۱۸).

### پیشنهادات

پیشنهاد می‌گردد برای دستیابی به نتایج بهتر در تشخیص توکسوپلاسموزیس مادرزادی از روش الایزا اویدیتی استفاده گردد.

### تقدیر و تشکر

از کلیه کارکنان بخش سونوگرافی بیمارستان شریعتی تهران، آزمایشگاه ابن سینا و مدیریت محترم گروه انگل شناسی دانشگاه تربیت مدرس جناب آقای دکتر صدرائی، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

روشهای الایزا اویدیتی استفاده می‌شود. پس نتیجه گیری می‌شود که روش الایزا اویدیتی در تشخیص توکسوپلاسموزیس مادرزادی روش مناسب‌تری نسبت به الایزای ساده است که علت آن حذف نتایج مثبت کاذب در الایزا اویدیتی می‌باشد و همچنین نتایج این آزمایش با کیت طراحی شده داخلی نسبت به کیت آماده خارجی، نتایج قابل قبول‌تری بود که علت آن اولاً به دلیل تازگی آنتی ژنهای انگل توکسوپلاسم و ثانیاً به دلیل داخلی و ایرانی بودن سوش مورد استفاده در این بررسی بود.

## References

- Horiuchi K, Yabe I, Tajima Y, Kondo T, Takizawa Y. A case of toxoplasma encephalopathy with specific MRI findings diagnosed by IgG avidity index and nested PCR. *Parasites & Vector Journal* 2010; **50**(4): 252-256.
- Webster JP. Review of "Toxoplasmosis of Animals and Humans. *Parasites & Vector Journal* 2010; **112**(3): 1-2.
- Song KJ, Shin JC, Shin JH, Nam HW. Seroprevalence of toxoplasmosis in Korean pregnant women. *KJP* 2005; **43**(2): 69-71.
- Shin DW, Cha DY, Hua QJ, Cha GH, Lee YH. Seroprevalence of Toxoplasma gondii Infection and Characteristics of Seropositive Patients in General Hospitals in Daejeon Korea. *KJP* 2009; **47**(2): 125-130.
- Borkakoty BJ, Borthakur AK, Gohain M. prevalence of Toxoplasma gondii amongst pregnant women in Assam India. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2007; **25**(4): 431-432.
- Sanad MM, Al olayan EM. Toxoplasma gondii strategy for intracellular survival; is it still enigmatic. *Research Journal Parasitology* 2011; **1**(1): 1-14.
- Quan JH, Hassan HA, Cha GH, Shin DW, Lee YH. Antigenemia and Specific IgM and IgG Antibody Responses in Rabbits Infected with Toxoplasma gondii. *KJP* 2009; **47**(4): 409-412.
- Hide G, Morley EK, Hughes JM, Gerwash O, Elmahaishi MS. Evidence for high levels of vertical transmission in Toxoplasma gondii. *Parasitology Journal of Cambridge University* 2009; **136**: 1877-1885.
- Yasodhara P, Ramalakshmi BA, Sarma MKJ. A new approach to differentiate recent vs chronic toxoplasma infection Avidity ELISA in toxoplasma serology. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2001; **19**(3): 145-148.
- Shin EH, Chun YS, Kim WH. Immune Responses of Mice Intraduodenally Infected with Toxoplasma gondii KI-1 Tachyzoites. *KJP* 2011; **49**(2): 115-123.
- Daryani A, Zavarani Hosseini A, Dalimi A. Immune responses against excreted/secreted antigens of Toxoplasma gondii tachyzoites in the murine model. *Veterinary Parasitology* 2003; **113**: 123-134.
- Abdolahi SH, Mohammad Kazemi AA. Design of ELISA against toxoplasma gondii IgG in human serum. *Journal of medical science in mazandaran* 2007; **62**(17): 14-20.
- Daryani A, Zavarani Hosseini A, Sharif M, Dalimi A, Dehghan MH, Ziaei H. Protective Role of Antigens from Peritoneal Exudates of Infected Mice against Toxoplasmosis. *SID Journal* 2006; **3**(2): 78-85.
- Choi SH, Kim TY, Park SG, Cha GH, Shin DW. Proteomic Analysis of Toxoplasma gondii KI-1 Tachyzoites. *KJP* 2010; **48**(3): 195-201.
- Shin EH, Kim DH, Lin A, Lee JWY, Kim HJ. Evaluation of the Korean Isolate-1 Tachyzoite Antigen for Serodiagnosis of Toxoplasmosis. *Korean Journal Parasitology* 2008; **46**(1): 45-48.
- Lin A, Shin EH, Kim TY, Park JH. Genetic characteristics of the Korean isolate KI-1 of Toxoplasma gondii. *KJP* 2005; **43**(1): 27-32.
- Ghaemian M, Maraghi SH, Saki J, Pedram M. Determination of Antibodies (IgG, IgM) against Toxoplasma gondii in Patients with Cancer. *Iranian J Parasitology* 2007; **4**(2): 1-6.
- Kim WH, Shin EH, Kim JL. Suppression of CD4+ T-Cells in the Spleen of Mice Infected with Toxoplasma gondii KI-1 Tachyzoites. *KJP* 2010; **48**(4): 325-329.
- Kravetz JD, Federman DJ. Toxoplasmosis in pregnancy. *The American Journal of Medicine* 2005; **118**: 212-216.
- Morussi Reis M, Madelena Tessaro MD, Azevedo PA. Toxoplasma-IgM and IgG-Avidity in Single Samples from areas With A High Infection Rate can Determine the Risk of Mother-to-Child Transmission. *Rev Inst Med trop* 2006; **48**(2): 93-94.
- Peyron F, Lefevre-Pettazzoni M, Wallon M, Cozon F, Bissery A. Delayed maturation of toxoplasma immunoglobulin G avidity in pregnant women impact of spiramycin treatment and gestational age. *ESCMID* 2007; **1**(1): 1733-1751.