

## روش الایزا اویدیتی در تشخیص توکسوپلاسموزیس مادرزادی

\*احسان شریعت بهادری: کارشناسی ارشد انگل شناسی، گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران، ایران. (نویسنده مسئول)  
e\_shari2000@yahoo.com

دکتر جاوید صدرائی: دانشیار انگل شناسی، گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران، ایران. sadraej@modares.ac.ir  
دکتر وجیهه مرصوصی: دانشیار و متخصص زنان و زایمان، گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. vmarsos@tums.ac.ir  
سمیه موسوی پور: کارشناسی ارشد پرستاری نوزادان، گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.  
somayyeh.mosavipoor@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۱۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** توکسوپلاسموزیس (Toxoplasmosis) یکی از بیماری های انگلی است که سبب بعضی حالات بالینی عفونی می گردد. یکی از راه های انتقال بیماری توکسوپلاسموزیس مادرزادی از طریق جفت به جنین می باشد که تشخیص این بیماری را در این مرحله بسیار حائز اهمیت می نماید. توکسوپلاسموزیس مادرزادی چنانچه در سه ماهه اول بارداری رخ دهد، به سقط جنین، اختلالات اعصاب مرکزی و چشمی منجر می شود. لذا روش های تشخیصی دقیق در بررسی زنان مبتلا به عفونت توکسوپلاسموز حائز اهمیت می باشد که شامل روش های سرولوژی مانند الایزا و الایزا اویدیتی IgG (Avidity) هستند. هدف از این مطالعه تعیین زمان ابتلاء مادران به انگل توکسوپلازما گوندی (*Toxoplasma gondii*) بود.

**روش کار:** بررسی فوق از نوع مطالعات ارزیابی بود. در این راستا سعی شده است از جمع آوری نمونه های مختلف و بررسی مقایسه ای آنها در تشخیص توکسوپلاسموزیس مادرزادی مانند نمونه های سرمی و مایع آمنیوتیک، استفاده گردد. روش های آماری مورد استفاده در این بررسی با نرم افزار نسخه spss ۱۸ انجام گرفت.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که اکثر مادران مورد بررسی در همین اواخر به انگل توکسوپلازما گوندی مبتلا شده اند و افزایش تیتراژ الایزا اویدیتی با تعداد سقط جنین در آنها در ارتباط است.

**نتیجه گیری:** در روش الایزای ساده تنها تیتراژ آنتی بادی های IgM به درستی اندازه گیری می شوند، اما در روش جدیدتر که الایزا اویدیتی نام دارد، تیتراژ آنتی بادی IgG توکسوپلازما گوندی هم به درستی اندازه گیری می شود هم اینکه زمان ابتلاء مادران به این انگل مشخص می گردد.

**کلیدواژه ها:** توکسوپلازما گوندی، سرم، الایزا اویدیتی، مایع آمنیوتیک، روش های تشخیصی.

### مقدمه

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 می یابد و در حالت High Avidity قرار می گیرد که نشانه عفونت طولانی مدت می باشد (۱ و ۲).

انگل توکسوپلازما از خانواده توکسوپلاسماتیده آ می باشد و اولین بار در جونده کتینو داکتیلوس گوندی مشاهده شد. یکی از راه های انتقال بیماری توکسوپلاسموزیس مادرزادی از طریق جفت به جنین می باشد که تشخیص این بیماری را در این مرحله بسیار حائز اهمیت می نماید. توکسوپلاسموزیس مادرزادی چنانچه در سه ماهه اول بارداری رخ دهد به سقط جنین و اختلالات

یکی از ابزارهای الایزای اویدیتی کشف مراحل حاد یا مزمن بیماری های عفونی مانند توکسوپلازما گوندی است. بعضی مواقع به دلایل مختلف ارزیابی صرفا IgM برای مراحل حاد توکسوپلازما گوندی مفید نیست که از آن جمله می توان به پاسخ های طولانی مدت IgM، تاخیر در تولید این آنتی بادی و یا پاسخ های غیر اختصاصی پلی کلونال (Polyclonal) IgM بر علیه فاکتور های گوناگون نام برد. در سال های اخیر کشف روش الایزای اویدیتی در بررسی عفونت های اخیر با انگل توکسوپلازما گوندی راهکاری مناسب برای این موضوع است که فقط به ارزیابی آنتی بادی از کلاس IgG می پردازد. در اوایل عفونت مقدار

نوزاد را به علائم میکروسفالی یا هیدرو سفالی دچار کند اما ابتلاء جنین در سه ماهه سوم بارداری بیشتر با اختلالات چشمی و کوریوریتینیت (Chorioretinitis) همراه است و این نکته فقط در روش الایزای اویدیتی لحاظ می‌گردد.

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

در حالت های اویدیتی پایین ابتلا مادر در زمان های خیلی دور است اما در حالت اویدیتی بالا ابتلاء مادر در همین اواخر می‌باشد.

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

۷- در روش الایزای ساده در تشخیص توکسوپلاسموزیس نتایج مثبت کاذب فراوان است مانند آنتی بادی در بیماران سیستمیک لوپوس (Systemic Lupus) و یا آرتریت روماتوئید (Rheumatoid Arthritis) اما در الایزای اویدیتی این موضوع مرتفع شده است و نتایج مثبت کاذب وجود ندارد (۱۳ و ۱۴).

### روش کار

روش بررسی از نوع مطالعات ارزیابی بود که در سال ۱۳۸۹ بر روی ۴۸ نمونه سرمی و مایع آمنیوتیک صورت پذیرفت. تمامی محتویات کیت مورد آزمایش بایستی ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش در دمای آزمایشگاه یعنی ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گیرند. در این کیت کلیه کنترل ها، بافر فسفات و بافر اوره آماده برای استفاده می‌باشند و قبل از مصرف بایستی به آرامی تکان داده شوند. کلیه کنترل ها و کالیبراتورهای این روش از نظر تست های HIV و HBS مورد آزمایش قرار گرفته اند و از این 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 پلاسمای تهیه شده با مواد ضد انعقاد مانند EDTA, HEPARIN می‌باشد. کلیه نمونه ها در این روش

اعصاب مرکزی و چشمی منجر می‌شود. لذا روش های تشخیصی دقیق در بررسی زنان مبتلا به عفونت توکسوپلاسموزیس حائز اهمیت می باشد که شامل روش های سرولوژی مانند الایزا و الایزا اویدیتی هستند. در روش الایزای ساده تنها آنتی بادی های IgM و IgG شناسایی می‌شوند اما در روش جدیدتر که در تشخیص این انگل به کار می‌رود و الایزای اویدیتی نام دارد زمان ابتلاء مادر به این انگل بررسی شده و تعیین می‌گردد (۳-۵). هدف از انجام این بررسی، استفاده از روش جدید الایزا اویدیتی در تعیین زمان ابتلا مادران به انگل توکسوپلازما گوندی بود. شواهد سرولوژیک در مورد عفونت های توکسوپلاسمایی در انسان و حیوانات از تمام نقاط دنیا گزارش شده است و نزدیک به ۵۰۰ میلیون نفر از مردم جهان شواهد سرولوژیک از عفونت را دارند. در برخی از مطالعات از جمله هندوستان و آمریکا میزان عفونت در افرادی که گوشت مصرف کرده و آنهایی که مصرف نمی‌کنند مشابه بوده است (۳-۵).

در تشخیص توکسوپلازما گوندی روش های مختلف برای اهداف متنوعی صورت می‌گیرد.

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

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

۳- یافتن نمونه مناسب برای تشخیص انگل توکسوپلازما گوندی (۶-۸).

در تشخیص توکسوپلاسموزیس مادرزادی یافتن آنتی بادی با تیترا مناسب برای عملکرد درمانی مهم است. چه بسا بسیاری از آزمایشگاه های 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 روش های پاتولوژی یا رادیولوژی برای تایید نهایی بیماری می‌نماید.

۴- یافتن زمان مناسب برای ابتلا جنین به انگل توکسوپلازما گوندی که این زمان در درمان نوزاد به دنیا آمده با علائم توکسوپلاسموزیس بسیار مفید است (۹-۱۱).

مثلا ابتلاء جنین در سه ماهه اول ممکن است

برنامه کاری ما حذف شدند.

### انجام آزمایش با کیت الیزای ساده

در این بررسی انجام آزمایش الیزای ساده بر روی کلیه نمونه ها در بیمارستان مذکور و مرکز این سینا انجام گردیده بود و کلیه نمونه‌هایی که از نظر آنتی بادی IgG و IgM علیه انگل توکسوپلازما گوندی مثبت بودند مورد آزمایش الیزا اویدیتی قرار گرفتند. یک سری از نمونه های فوق در مرکز قلب شهید رجائی با دستگاه الیزا ویداس (Vidas) از نظر آنتی بادی IgG توکسوپلازما آزمایش شدند. اساس کار الیزا ویداس به روش الیزا به همراه ایمنوفلورسانس است. روش Gold standard در این مطالعه روش الیزای ساده بود.

### انجام آزمایش با کیت الیزا اویدیتی

مقدار ۱۰۰ μl از نمونه های مورد آزمایش را در چاهک های مخصوص مورد آزمایش ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی گراد آزمایشگاه انکوبه می کنیم. سپس سه مرتبه توسط محلول شستشو به میزان ۳۰۰ μl عمل شستشو را انجام می دهیم که این مرحله بسیار در نتیجه نهایی آزمایش تاثیر گذار است، لذا دقت در این مرحله الزامی است.

در آزمایش نیمه کمی در این مرحله ۱۰۰ μl محلول آنزیم کونژوگه (Conjugate) را در چاهک‌ها ریخته و مدت زمان انکوباسیون در این مرحله نیز ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه می باشد. مجدداً روش شستشو مانند قبل صورت می گیرد و سپس ۱۰۰ μl محلول سوبسترا (Substrata) در چاهک‌های مورد نظر توسط سمپلر (Sampler) می‌ریزیم و پلیت را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه می کنیم. بعد از گذشت مدت زمان لازم ۱۰۰ μl محلول متوقف کننده واکنش را در چاهک های مورد نظر ریخته و در مدت زمان حداکثر ۳۰ دقیقه پلیت را در طول موج ۴۵۰ ناندا با دستگاه ELISA reader قرائت می کنیم.

در روش کمی این آزمایش قبل از اضافه کردن محلول آنزیم کونژوگه یک مرحله اضافه داریم که شامل افزودن محلول های ۲۰۰ μl بافر اوره به

فقط تا مدت زمان ۱۴ روز قابل استفاده است و نمونه های 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 آن با پوست جدا باید خود داری شود. در این روش از کلیه نمونه‌هایی که دارای مقادیر کافی آنتی بادی IgG بر علیه انگل توکسوپلازما گوندی است می توان استفاده کرد که از آن جمله می‌توان مایع آمنیوتیک را نام برد که با روش آمنیوسنتز از مادران باردار دارای سقط جنین مکرر که احتمال وجود آنتی بادی IgG بر علیه انگل توکسوپلازما گوندی را دارند به دست می‌آید.

کلیه نمونه ها بایستی به میزان ۱:۱۰۱ رقیق شوند که شامل ۱۰ لانداسرم یا مایع آمنیوتیک و ۱ سی سی رقیق کننده تست می باشد (بافر رقیق کننده) و باید کاملاً مخلوط گردند.

جهت بررسی توکسوپلازموزیس از کیت تجاری الیزا اویدیتی که بر اساس روش‌های آنزیماتیک عمل می‌کنند و برای روش الیزا از کیت آماده داخلی استفاده گردید. تعداد ۴۸ نمونه سرم و مایع آمنیوتیک از زنان ۲۰ تا ۴۵ ساله ای که دارای آنتی بادی علیه انگل توکسوپلازما می‌باشند تهیه شد که این نمونه ها اکثراً از بیمارستان شریعتی تهران و تعدادی از مرکز ناباروری ابن سینا و آزمایشگاه پاتوبیولوژی مرکزی تهران جمع آوری شدند. روش‌های آزمایش شامل روش الیزا و الیزا اویدیتی بود. کیت آماده مورد استفاده در این آزمایشات کیت یوروایمیون (Euro Immune) نام دارد که بر اساس روش های آنزیماتیک عمل می‌کند. برای جمع آوری نمونه ها ابتدا مادرانی که دارای سابقه سقط جنین و دارای تیترهای 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. در این مطالعه جامعه مورد بررسی ما مادرانی بودند که از نظر توکسوپلازموزیس حاد (IgM) مثبت بودند و در نتیجه مادران منفی از این نظر از

جدول ۱- میانگین الایزاویدیتی نیمه کمی بر روی نمونه مایع آمنیوتیک از مادران مبتلا به توکسوپلاسموزیس

Titer commercial ELISA avidity	تعداد سقط
1.87	۱
1.95	۲
2.27	۳
2.78	۴

جدول ۲- میانگین الایزاویدیتی کمی بر روی نمونه مایع آمنیوتیک از مادران مبتلا به توکسوپلاسموزیس

Titer commercial ELISA avidity	تعداد سقط
45%	۱
52%	۲
59%	۳
67%	۴

جدول ۳- میانگین الایزاویدیتی نیمه کمی بر روی نمونه سرم از مادران مبتلا به توکسوپلاسموزیس

Titer commercial ELISA avidity	تعداد سقط
2.35	۱
2.92	۲
3.13	۳
3.45	۴

جدول ۴- میانگین الایزاویدیتی کمی بر روی نمونه سرم از مادران مبتلا به توکسوپلاسموزیس

Titer commercial ELISA avidity	تعداد سقط
65%	۱
67%	۲
69%	۳
72%	۴

می باشند، ولی گاهی ممکن است آزمایش الایزای ساده یک بیمار از لحاظ آنتی بادی IgG علیه توکسوپلاسم مثبت باشد اما نتیجه اویدیتی وی منفی گردد که به علت نتایج کاذب و مداخله کننده علیه بیماری‌های دیگر مانند آرتریت روماتوئید، سیستمیک لوپوس و برخی عفونت‌های دیگر باشد. به عبارت دیگر نتیجه مثبت الایزا اویدیتی نیمه کمی یک مادر باردار قطعاً وجود آنتی بادی IgG علیه انگل توکسوپلاسم گوندی را

یک سری پلیت‌ها و افزودن  $1 \times 10^6$  محلول فسفات بافر به یک سری دیگر از پلیت‌ها است که در نهایت مقایسه دو پلیت با یکدیگر صورت می‌گیرد. بررسی‌های آماری با نرم افزار spss نسخه صورت پذیرفت. در روش الایزا اویدیتی بافرهای اووه و فسفات استفاده می‌گردند که در الایزای ساده کاربردی ندارند.

### محاسبه نتایج حاصل از روش نیمه کمی الایزای

#### اویدیتی:

حاصل از کنترل یا نمونه های بیمار OD (Optical Density)  
OD حاصل از کالیبراتور ۲ (CAL2)

(رابطه ۱)

که در صورتی که نسبت فوق کمتر از  $0/8$  باشد نتیجه منفی، اگر بین  $0/8$  تا  $1/1$  نتیجه در حد مرز و اگر نتیجه بالاتر از  $1/1$  باشد نتیجه الایزا اویدیتی مثبت است.

### محاسبه نتایج با روش کمی الایزا اویدیتی:

OD سرم بیمار در پلیت های حاوی بافر اووه  
OD سرم بیمار در پلیت های حاوی بافر فسفات

(رابطه ۲)

عدد حاصله در عدد  $100$  ضرب می شود که نتیجه نهایی به صورت درصد بیان می شود و تحت عنوان RIA (Relative Index Avidity) بیان می گردد.

اگر RIA کمتر از  $40\%$  باشد نشانه Low Avidity Antibody است و اگر بین  $40\%$  تا  $60\%$  نشانه Intermediate Avidity، و اگر بالاتر از  $60\%$  باشد High Avidity Antibody را بر علیه انگل توکسوپلاسم گوندی نشان می دهد.

### یافته‌ها

روش نیمه کمی الایزا اویدیتی فقط مثبت یا منفی بودن وجود آنتی بادی را بررسی می کند و در این آزمایش به علت اینکه نمونه های مورد آزمایش همگی تفکیک شده بودند و از لحاظ آنتی بادی IgG علیه توکسوپلاسم گوندی مثبت بودند از لحاظ تست نیمه کمی الایزا اویدیتی نیز مثبت

جدول ۵- بررسی آماری t - test

95% Confidence Interval of the Difference		میانگین	df	t	
Upper limit	Lower limit				
74.1	70.33	72.2	47	76.5	میانگین الایزا اوبدیتی کمی بر روی نمونه سرم از مادران مبتلا به توکسوپلاسموزیس
54.3	51.3	52.8	47	71.1	میانگین الایزا اوبدیتی کمی بر روی نمونه مایع آمنیوتیک از مادران مبتلا به توکسوپلاسموزیس

به این بیماری مبتلا هستند. در برخی از مطالعات از جمله هندوستان و آمریکا میزان عفونت در افرادی که از گوشت تغذیه نموده و آنهایی که از گوشت تغذیه نمی کنند مشابه بوده است. موارد سرولوژیک مثبت با بالا رفتن سن افزایش پیدا می کند و به طور معمول در هر دو جنس مشابه است. در مناطقی که میزان عفونت بالا است در تعداد قابل ملاحظه‌ای از افراد در سال‌های اول عمر آنتی بادی تشکیل می شود و حکایت از ابتلای زودرس آنها می کند. در یک بررسی، آزمایش خون ۵۱۴۹ نفر از ساکنان سواحل دریای خزر، آذربایجان غربی و شمال شرقی استان خوزستان از نظر وجود آنتی بادی توکسوپلازما با روش (Indirect Fluorescent Antibody) IFA نشان داد که در مجموع ۲۷/۶٪ از جمعیت مورد مطالعه با تیتراهای ۲۰ و ۶۴۰۰ مثبت بودند. میزان آلودگی در ساکنان کرانه دریای خزر (گیلان و مازندران) ۵۵/۷٪، آذربایجان غربی ۱۴/۸٪ و اهالی اطراف ایذه ۹/۳٪ بوده است (۱۴-۱۶).

آسمار ۱۳۰۱۸ نمونه سرم خون تهیه شده از یازده استان کشور را به طور تصادفی نمونه برداری و با روش IFA از نظر آنتی بادی توکسوپلازما مورد بررسی قرار داد که ۵۱/۸٪ نمونه ها مثبت بودند. بر اساس این مطالعه، میزان آلودگی به توکسوپلازما در استان های جنوبی کشور کمتر از مناطق شمالی بوده است (۱۴).

از ۲۵۲۰ نمونه خون مادران پس از زایمان در شهرستان آمل که با روش الایزا و IFA مورد بررسی قرار گرفت ۷۵/۲٪ آنتی بادی اختصاصی IgG ضد توکسوپلازما داشتند. در آزمایش ۵۴۰ نمونه سرم زنان باردار در زنجان ۴۷/۵٪ آنتی بادی مثبت بودند (۱۴-۱۶).

تایید می کند. در کلیه مادران مورد بررسی تست الایزای ساده از نظر IgG مثبت بوده و میانگین الایزای اوبدیتی نیمه کمی آنها نیز نشان دهنده وجود آنتی بادی IgG حقیقی توکسوپلاسمایی در سرم آنها می باشد. در روش الایزا اوبدیتی کمی علاوه بر مثبت بودن آزمایش از نظر عفونت توکسوپلاسموزیس، زمان ابتلاء مادر هم مشخص می گردد.

همان گونه که جداول فوق نشان می دهند میانگین تیترا اوبدیتی نیمه کمی و کمی در مادران مبتلا به توکسوپلاسموزیس با افزایش سقط جنین، مشابه دو جدول قبلی، افزایش می یابد. در این جداول نمونه مورد بررسی، نمونه سرم خون و مایع آمنیوتیک مادران مبتلا به توکسوپلاسموزیس است. در جدول ۳ که میانگین های اوبدیتی نیمه کمی را نشان می دهد، در مادران با سابقه ۱ بار سقط جنین میانگین اوبدیتی نیمه کمی ۲/۳۵ است، در حالی که در همین جدول میانگین اوبدیتی نیمه کمی مادران با سابقه ۴ بار سقط جنین ۳/۴۵ می باشد، یا به طور مثال میانگین اوبدیتی کمی در جدول ۴ در مادران با سابقه ۱ بار سقط جنین ۶۵٪ است در حالی که همین میانگین اوبدیتی کمی در مادران با سابقه ۴ بار سقط جنین به ۷۲٪ میرسد.

### بحث و نتیجه گیری

هدف از انجام این مطالعه، استفاده از روش الایزا اوبدیتی در مشخص نمودن زمان دقیق ابتلاء مادران به انگل توکسوپلازما گوندی بود. شواهد سرولوژیک در مورد عفونت های توکسوپلاسمایی در انسان و حیوانات از تمام نقاط دنیا گزارش شده است و نزدیک به ۵۰۰ میلیون نفر از مردم جهان

حاملگی او گذشته و مشکوک به توکسوپلاسموزیس حاد است چند معیار مهم است: ۱- لنفادنوپاتی ۲- یک عیار بالای Dye Test ۳- وجود آنتی بادی (۱۶-۱۸).

در عفونت مزمن توکسوپلاسموزیس بررسی IgG توکسوپلاسم گونیدی حائز اهمیت است اما در بعضی از روش های آزمایشگاهی مثبت بودن این آنتی بادی فقط دال بر مثبت بودن آزمایش نیست و نیاز به آزمایشات تکمیلی مانند الیزا اویدیتی می باشد. البته روش الیزا اویدیتی چندین مزیت دارد که اولاً مثبت بودن آن دلیل قطعی بر وجود آنتی بادی علیه انگل توکسوپلاسم گونیدی است و ثانیاً زمان ابتلای مادر باردار به این انگل را نیز تا حدود زیادی مشخص می کند (۱۶-۱۸). در مطالعات گذشته فقط وجود و یا تیتراژ آنتی بادی علیه انگل توکسوپلاسم گونیدی مورد بررسی قرار می گرفت.

در مادران مورد بررسی در این تحقیق تعدادی از مادران وجود داشتند که نمونه های آنها جمع آوری گردید ولی از لحاظ وجود آنتی بادی IgM و IgG توکسوپلاسمایی منفی بودند. در بررسی این مطالعه از روش جمع آوری نمونه مایع آمینوتیک استفاده گردید که در بررسی فوق مناسب نبودند زیرا به لحاظ داشتن تیتراژ مناسب آنتی بادی IgG در شرایط خوبی قرار نداشتند و تیتراژ این آنتی بادی در نمونه مایع آمینوتیک، تیتراژ کافی نمی باشد ولی مایع آمینوتیک در زنان بارداری که مبتلا به توکسوپلاسموزیس هستند نمونه مناسبی برای آزمایش PCR است (۱۶-۱۸). مهم ترین کاربرد روش الیزا اویدیتی، تعیین زمان ابتلاء مادران، به انگل توکسوپلاسم گونیدی و راهنمایی بهتر پزشک معالج در درمان این بیماری عفونی است.

برای کسب نتایج بهتر بررسی توکسوپلاسموزیس مادرزادی، پیشنهاد می گردد آزمایش سرولوژی در بررسی توکسوپلاسموزیس مادرزادی حتی المقدور بر روی نمونه سرم صورت گیرد و برای تشخیص دقیق تر با روشهای الیزا و ترجیحاً الیزا اویدیتی صورت پذیرد (۱۶-۱۸).

در آزمایش خون پستانداران نواحی مختلف ایران نیز موارد مثبت در گربه ۲۱٪، سگ ۵۳٪، گوسفند ۲۳٪ و گاو ۲۹٪ گزارش شده است. آلودگی پوست سگ ها به انگل می تواند در شرایط عادی حداقل ۴ روز بطول انجامد و تماس کودکان با چنین سگ هایی موجب آلودگی آنها خواهد گردید. این راه انتقال به ویژه در زنان باردار و افرادی که از نقص ایمنی رنج می برند، می تواند با اهمیت باشد (۱۴-۱۶).

در تحقیقی ۱۶۲ عدد از پرندگان خانگی را با روش IHA (Indirect Haemagglutination Antibody) (جستجوی آنتی بادی) و تلقیح مغز آنها به موش از نظر وجود انگل مورد مطالعه قرار داد. در مجموع ۲۹٪ از پرندگان مورد آزمایش با تیتراژهای ۲۰ و ۶۴۰۰ مثبت بودند. اگر در بررسی انگل توکسوپلاسم گونیدی، نمونه سرمی مد نظر است این مقایسه نشان داد که روش ELISA و ترجیحاً ELISA Avidity از دقت بالایی برخوردار می باشد و اگر نمونه های ما به ناچار نمونه مایع آمینوتیک است روش PCR از دقت بالایی برخوردار است (۱۴-۱۶). در این مطالعه مادرانی که فاقد آنتی بادی علیه انگل توکسوپلاسم گونیدی بودند از برنامه کاری ما خارج شدند.

به طور کلی روش تشخیص انگل توکسوپلاسم گونیدی شامل روش های الیزا و الیزای اویدیتی می باشد و در بحث نمونه های مورد آزمایش نمونه سرمی تازه بدست آمده از زنانی که دارای سابقه سقط مکرر جنین دارند ابتدا با روش الیزا و سپس در صورت مثبت بودن با روش الیزای اویدیتی در تشخیص زمان ابتلاء به عفونت مهم است (۱۶-۱۸). آنتی بادی IgM توکسوپلاسم گونیدی در مرحله حاد عفونت توکسوپلاسم گونیدی ساخته می شود و وجود آن در سرم خون قطعاً وجود انگل توکسوپلاسم گونیدی را ثابت می کند. 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

for high levels of vertical transmission in *Toxoplasma gondii*. *Parasitology Journal of Cambridge University*.2009;136: 1877-1885.

10. 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.

11. 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.

12. Kravetz JD, Federman DJ. Toxoplasmosis in pregnancy. *The American Journal of Medicine*. 2005;118:212-216.

13. 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.

14. 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.

15. Peyron F, Lefevre-Pettazoni M, Wallon M, Cozon F, Bissery A, Rabilloud M. Delayed maturation of toxoplasma immunoglobulin G avidity in pregnant women impact of spiramycin treatment and gestational age .*ESCMID* .2007;1(1):1733-1751.

16. 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.

17. Abdolahi SH, Mohammad Kazemi AA. Design of ELISA against toxoplasma gondii IgG in human serum. *Journal of Medical Science in Mazandaran*.1386;62(17) : 14-20. (Persian)

18. Song KJ, Shin JC, Shin JH, Nam HW. Seroprevalence of toxoplasmosis in Korean pregnant women. *KJP*.2005; 43(2): 69-71.

## تقدیر و تشکر

این مقاله بخشی از پایان نامه احسان شریعت بهادری در مقطع کارشناسی ارشد رشته انگل شناسی به راهنمایی دکتر جاوید صدرائی و مشاوره دکتر وجیهه مرصوصی در سال ۱۳۹۰ می باشد که با حمایت دانشگاه تربیت مدرس اجرا شده است. بدینوسیله 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 می شود.

## منابع

1. Horiuchi K, Yabe I, Tajima Y, Kondo T, Takizawa Y, Yamada H, et al. A case of toxoplasma encephalopathy with specific MRI findings diagnosed by IgG avidity index and nested PCR. *PMD*. 2010;50(4):252-256.

2. Hui Zhao G, Zhang MT, Lei LH, Shang CC, Cao DY, Tian TT, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in dairy goats in Shaanxi Province Northwestern China. *Parasites & Vector Journal*. 2011;47(4):1-3.

3. Lee S, Kim JY, Kim YA, Cho SH, Ahn HJ, Woo HM, et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Stray and Household Cats in Regions of Seoul Korea. *KJP*.2010;48(3):267-270.

4. 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.

5. Webster JP. Review of "Toxoplasmosis of Animals and Humans". *Parasites & vector journal*.2010; 112(3): 1-2.

6. Kim WH , Shin EH , Kim JL , Yu SY , Jung BK , Chai JY . Suppression of CD4+ T-Cells in the Spleen of Mice Infected with *Toxoplasma gondii* KI-1 Tachyzoites. *KJP*.2010;48(4):325-329.

7. Daryani A, Zavaran Hosseiny A, Dalimi A. Immune responses against excreted/secreted antigens of *Toxoplasma gondii* tachyzoites in the murine model. *Veterinary Parasitology*.2003; 113: 123-134.

8. Shin EH, Kim DH, Lin A, Lee JWY, Kim HJ, Ahn MH, Chai JY. Evaluation of the Korean Isolate-1 Tachyzoite Antigen for Serodiagnosis of Toxoplasmosis. *Korean journal parasitology*.2008; 46(1): 45-48.

9. Hide G, Morley EK, Hughes JM, Gerwash O, Elmahaishi MS, Elmahaishi KH, et al. Evidence

## IgG Avidity ELISA Test for Diagnosis of congenital toxoplasmosis

\***Ehsan Shariat Bahadory**, Msc. Parasitologist, Department of Medical Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. (\*Corresponding author) [e\\_shari2000@yahoo.com](mailto:e_shari2000@yahoo.com)

**Javid Sadraie**, PhD. Associate Professor of Parasitology, Department of Medical Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. [sadraej@modares.ac.ir](mailto:sadraej@modares.ac.ir).

**Vajihe Marsosi**, MD. Associate Professor of Gynecology, Department of Medicine, Faculty of Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [vmarsos@tums.ac.ir](mailto:vmarsos@tums.ac.ir).

**Somaye Mosavipour**, Msc. Infant Nursery, Department of Medicine, Faculty of Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [somayyeh.mosavipour@gmail.com](mailto:somayyeh.mosavipour@gmail.com)

### Abstract

**Background:** Toxoplasmosis is a parasitic disease which may cause some laboratory symptoms in infected individuals. One of the main ways to transmit this organism is placenta to fetus pathway. If this transmission occur in the third month of pregnancy the abortion, central nerve system and ocular disorders will happen.

Because of this issue, precise techniques such as ELISA & ELISA Avidity for detection of Toxoplasma Antibody (IgG and IgM) are important. The aim of this study was to detect the time of infection of mothers with toxoplasma gondii.

**Methods:** The study method was evaluation assessment. In this survey, the main samples are serum and amniotic fluid that was collected from 48 pregnant women infected with *toxoplasma gondii* in Shariaty hospital. The statistical method was based on spss18 software.

**Results:** The results of this survey showed that, in these pregnant women the infection of *toxoplasma gondii* is occurred and many of them are infected currently and in both samples the mean of ELISA avidity titer elevated that was associated with number of abortion.

**Conclusion:** In simple ELISA technique, the only antibody which can be detected precisely is IgM; but in this technique the IgG antibody is also detected. In this recent technique or ELISA AVIDITY, in addition to detection of IgG antibody against *toxoplasma gondii*, the month of transmission of toxoplasma is interpreted.

**Keywords:** Toxoplasma gondii, Serum, ELISA Avidity, Amniotic fluid, Detection procedures.