

مقایسه حساسیت و ویژگی روشهای تشخیصی توکسوپلاسموز براساس سنجش IgM و IgG

چکیده

زمینه و هدف: توکسوپلاسموز از جمله بیماری‌های مشترک انسان و حیوان است که انتشار وسیعی دارد و در اثر آلودگی به تک یاخته انگلی توکسوپلاسمای (Toxoplasma gondii) ایجاد می‌شود. اکثر آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، در تشخیص این بیماری با مشکلاتی روبه‌رو هستند. هدف از انجام این مطالعه، مقایسه حساسیت و ویژگی روشهای تشخیصی متداول و غیرمتداول توکسوپلاسموز براساس سنجش IgM و IgG و معرفی برترین روش می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تحلیلی مقایسه‌ای، از ۱۰۰ مراجعه کننده مشکوک به علائم توکسوپلاسموز اکتسابی (براساس نظر پزشک) به دو آزمایشگاه در شهرستان‌های کرج و تهران که جهت انجام تست توکسوپلاسموز معرفی شده بودند، نمونه سرمی تهیه شد. سپس نمونه‌های سرمی از نظر وجود یا عدم وجود IgM و IgG، به روشهای ELISA (Enzyme-linked immunoadsorbent assay)، CLIA (Chemiluminescence)، ELFA (Enzyme linked fluorescent assay) و IFA (Indirect fluorescent assay) مورد آزمایش سرولوژیک قرار گرفتند و از آزمون آماری Chi-square جهت مقایسه آنها استفاده گردید.

I دکتر محمدجواد غروی

II دکتر هرمزد اورمزدی

III بهناز قره‌گزلو

IV* الهام‌سادات روئین‌تن

یافته‌ها: در مقایسه با روش IgG ELFA، روش IgG CLIA دارای بیشترین حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی (۱۰۰٪) بود. در مقایسه با روش IgM ELFA، روشهای IgM ELISA و IgM CLIA دارای حساسیت یکسان (۹۲٪) بودند ولی ویژگی روش IgM ELISA (۱۰۰٪)، بیش‌تر از روش IgM CLIA (۹۷/۳٪) بدست آمد. همچنین ارزش اخباری مثبت و منفی در روش IgM ELISA، به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۷/۴٪ و در روش IgM CLIA، به ترتیب ۹۶٪ و ۹۸٪ بدست آمد.

نتیجه‌گیری: با وجود اینکه نتایج بدست آمده از روشهای مورد مقایسه در این مطالعه تقریباً نزدیک به یکدیگر می‌باشند، ولی روشهای اتوماتیک (ELFA و CLIA) به دلیل قابلیت تکرارپذیری بالا، پائین بودن هزینه پرسنلی، صرفه‌جویی در وقت و غیره، ارجح می‌باشند؛ لذا پیشنهاد می‌شود که از این روشها جهت تشخیص توکسوپلاسموز استفاده شود. یادآور می‌گردد جهت اندازه‌گیری IgM، روشهای مزبور مناسب‌ترین روشهای تشخیصی هستند.

کلیدواژه‌ها: ۱- توکسوپلاسموز ۲- حساسیت ۳- ویژگی ۴- روشهای تشخیصی

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۰/۲۰، تاریخ پذیرش: ۸۶/۵/۱

مقدمه

توکسوپلاسموز یک بیماری مشترک بین انسان و حیوان (Zoonosis) است.^(۱ و ۲) بررسی‌های سرولوژی، نشانگر آلودگی انسان و سایر مهره‌داران خونگرم در سراسر جهان می‌باشند؛ قریب ۱/۳ جمعیت جهان به این انگل آلوده هستند.^(۲) توکسوپلاسموز به دو صورت اکتسابی و مادرزادی در انسان دیده می‌شود. از نظر پزشکی،

I) دانشیار و PhD انگل‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.
II) استاد و PhD انگل‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.
III) مربی و کارشناس ارشد ایمنولوژی، دانشکده پیراپزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.
IV) کارشناس ارشد انگل‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.
ایران (* مؤلف مسؤول).

پزشک) به دو آزمایشگاه در شهرستانهای کرج و تهران که جهت انجام تست توکسوپلاسموز معرفی شده بودند، نمونه سرمی تهیه شد. نمونه‌گیری به روش convenience sampling بود. افراد مراجعه کننده سنین مختلفی داشتند و تقریباً از نظر جنس مساوی بودند. نمونه‌های سرمی، از نظر IgG و IgM، به روشهای ELISA، IFA، ELFA و CLIA مورد آزمایش قرار گرفتند.

برای اندازه‌گیری توتال آنتی‌بادی، کیت IFA ساخت شرکت بهار افشان مورد استفاده قرار گرفت. در این روش ابتدا آنتی‌ژن فیگوره (تولید انستیتو پاستور ایران) توکسوپلاسمای گوندی (تاکسی‌ژوئیت) را به فاز ثابت (لام) متصل می‌کنند. در مرحله بعد، از سرم بیمار رقت‌های (۱/۲۰۰، ۱/۱۰۰ و ۱/۲۰) تهیه کرده و به فاز ثابت می‌افزایند. سپس آن را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌کنند. اگر آنتی‌بادی‌های ضد توکسوپلاسمایی در سرم وجود داشته باشند، به آنتی‌ژن فیکس شده بر روی لام متصل می‌شوند. پس از انجام مراحل شستشو، آنتی‌هیومن آنتی‌بادی نشان‌دار شده با ماده فلورسئین را اضافه می‌کنند. در ادامه پس از طی شدن مرحله دوم انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و انجام شستشو، در صورت اتصال آنتی‌هیومن آنتی‌بادی نشان‌دار شده با فلورسئین به آنتی‌بادی باند شده به آنتی‌ژن توکسوپلاسمایی، در زیر میکروسکوپ، رنگ فلورسانس رویت خواهد شد که نشانه مثبت بودن آزمایش می‌باشد.

برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی IgG و IgM به روش ELISA، کیت تشخیصی IgG و IgM توکسوپلاسمای ساخت شرکت Genesis (انگلیسی) مورد استفاده قرار گرفت. در این روش، چاهک‌های میکروپلیت بوسیله آنتی‌ژن‌های خالص شده غشاء توکسوپلاسمای گوندی کوت می‌شوند. سپس با اضافه کردن نمونه سرمی، آنتی‌بادی ضد توکسوپلاسمای گوندی، در صورت وجود، به آنتی‌ژن موجود در فاز جامد متصل می‌گردد. پس از انجام مراحل شستشو، به مجموعه فوق، آنتی‌بادی نشان‌دار شده با آنزیم پراکسیداز اضافه می‌کنند. در ادامه پس از افزودن محصول سوبسترا-کروموژن

توکسوپلاسموز مادرزادی اهمیت بیش‌تری دارد. (۲۹) 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. (۳۰) این روشها شامل روشهای پارازیتولوژی و سرولوژی می‌باشند. (۳۱)

با وجود وفور آلودگی به انگل توکسوپلاسمای، در اکثر آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، روش حساس و مناسبی در جهت شناسایی این عفونت بکار گرفته نمی‌شود و این امر سبب مشکلات فراوان در جامعه می‌گردد. با این وجود مطالعات مقایسه‌ای زیادی در اکثر نقاط جهان بین روشهای مختلف سرولوژیک جهت تشخیص توکسوپلاسموز صورت گرفته است؛ به عنوان نمونه، در یک مطالعه، محققین بررسی مقایسه‌ای بین دو روش Indirect (IFA) و Immuno sorbent agglutination (ISAGA) و (fluorescent assay) انجام دادند و نشان دادند که به علت بروز نتایج مثبت و منفی کاذب در روش IFA، بهتر است از روشهای حساس‌تر و با ویژگی بالاتری نظیر ISAGA و ELISA (Enzyme Linked immunosorbent assay) استفاده شود. (۳۲) در مطالعه دیگری، بررسی مقایسه‌ای بین دو روش ELFA (Enzyme linked fluorescent assay) و CLIA (Chemiluminescence) صورت گرفت، نتایج نشان داد که روش ELFA، ویژگی بیش‌تری در تشخیص عفونت حاد توکسوپلاسمایی دارد. (۳۳)

هدف از انجام مطالعه حاضر، مقایسه حساسیت و ویژگی چهار روش IFA، ELFA، CLIA و ELISA برای اولین بار، در نمونه‌های یکسان و اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین‌های نوع IgG و IgM می‌باشد، تا بدین ترتیب بتوان برترین و مناسب‌ترین روش را بدست آورد و آن را به جامعه آزمایشگاهی معرفی کرد.

روش بررسی

در این مطالعه تحلیلی مقایسه‌ای، از ۱۰۰ مراجعه کننده مشکوک به علائم توکسوپلاسموز اکتسابی (براساس نظر

برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی IgG و IgM به روش ELFA، کیت تشخیصی IgG و IgM توکسوپلاسماساخت شرکت bioMerieux (فرانسوی) و دستگاه VIDAS مورد استفاده قرار گرفت. روش ELFA شامل یک واکنش دو مرحله‌ای آنزیمی با متد ساندویچ می‌باشد که در پایان آزمایش به جای یک محصول رنگی، یک فرآورده با خاصیت فلورسانس ایجاد می‌گردد. در روش ELFA IgG، آنتی‌ژن غشایی و سیتوپلاسمایی توکسوپلاسمای گوندی به فاز جامد SPR (Solid Phase Receptacle) کوت می‌شود و در روش ELFA IgM، آنتی‌بادی‌های ضد زنجیره M انسانی به فاز جامد کوت می‌گردند. پس از اضافه کردن نمونه سرمی، آنتی‌بادی ضد توکسوپلاسمائی، در صورت وجود، به آنتی‌ژن موجود در فاز جامد متصل می‌شود.

پس از انجام مراحل شستشو، به مجموعه فوق، آنتی‌بادی نشان‌دار شده با آنزیم آکالین فسفاتاز و سوبسترای 4-Methyl-umbelliferyl phosphate اضافه می‌شود، که سپس از انکوباسیون و انجام مراحل شستشو، آنزیم آکالین فسفاتاز، این سوبسترا را به 4-Methyl-umbelliferone تبدیل می‌کند. این ماده دارای خاصیت فلورسانس بوده و متناسب با مقدار آنتی‌بادی موجود در سرم است. لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر جهت مقایسه روشها، از آزمون آماری Chi-square استفاده شد.

یافته‌ها

براساس تجربیات قبلی و اینکه این روش براساس avidity پایه‌ریزی شده است، روش ELFA به عنوان معیار فرض شد و سایر روشها نسبت به آن سنجیده شدند.

در روش ELFA IgG، از ۱۰۰ نمونه سرمی مورد مطالعه، ۷۵ نمونه، مثبت و ۲۵ نمونه، منفی شدند. در مطالعه حاضر، حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی این روش ۱۰۰٪ فرض شد.

در روش CLIA IgG، از ۱۰۰ نمونه سرمی مورد مطالعه، ۷۵ نمونه، مثبت و ۲۵ نمونه، منفی شدند. حساسیت، ویژگی و

مناسب، در صورت وجود آنتی‌بادی اختصاصی، تغییر رنگ حاصل می‌شود که نشانه مثبت بودن واکنش است. سپس جذب نوری (Optical density=OD) در چاهک را در طول موج ۶۲۰-۴۵۰ نانومتر قرائت می‌کنند.

برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی IgG و IgM به روش CLIA، کیت تشخیصی IgG و IgM توکسوپلاسماساخت شرکت Diasorin (آمریکائی) و دستگاه LIAISON مورد استفاده قرار گرفت. در پدیده کمی لومینسانس، ترکیبات آلی نظیر لومینول، ایزولومینول و استرهای آکریدینوم در حضور یک عامل اکسید کننده مانند پراکسید هیدروژن و یک کاتالیزور نظیر آنزیم میکروپراکسیداز و یون‌های فلزی، اکسید شده و نور منتشر از فرآورده تهییج شده به شکل یک جرقه ناگهانی از نور (Flash of light) حاصل می‌آید که توسط لومینومتر قرائت می‌گردد.

در روش CLIA IgG، ذرات Magnet (فاز جامد) به وسیله عصاره تاکی زوئیست غیرفعال سویی RH توکسوپلاسمای گوندی کوت شده‌اند. در روش CLIA IgG، آنتی‌بادی IgG مونوکلونال بر ضد آنتی‌بادی IgM انسانی به فاز جامد کوت شده‌اند. نمونه‌های سرمی به ذرات Magnet اضافه می‌شوند. در طی اولین انکوباسیون، آنتی‌بادی ضد توکسوپلاسمایی موجود در نمونه‌های سرمی با آنتی‌ژن موجود در فاز جامد باند می‌شود و سپس با استفاده از محلول شستشو، مواد اضافی غیرباند از محیط خارج می‌گردد. در طی دومین انکوباسیون، آنتی‌بادی مونوکلونال متصل به ایزولومینول (Isoluminul)، با آنتی‌بادی ضد توکسوپلاسمایی باند شده بر روی فاز جامد، واکنش داده و 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 باقیمانده مواد اضافه می‌شود. بر اثر فعل و انفعالات شیمیایی که بر روی ایزولومینول صورت می‌گیرد، جرقه ناگهانی از نور (Flash of light) حاصل می‌شود که توسط لومینومتر قرائت می‌گردد.

و ۱ نمونه منفی با روش IgG ELFA تأیید نگردیدند. حساسیت و ویژگی این روش به ترتیب ۹۷/۳٪ و ۹۶٪ و ارزش اخباری مثبت و منفی نیز به ترتیب ۹۸/۶٪ و ۹۲٪ بود و همخوانی این روش با روش IgG ELFA، ۹۷٪ بدست آمد (جدول شماره ۱ و ۲).

در روش IgM ELFA، از تعداد ۱۰۰ نمونه سرمی مورد مطالعه، ۲۵ نمونه، مثبت و ۷۵ نمونه، منفی شدند. حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی این روش ۱۰۰٪ فرض شد.

در روش IgM CLIA، از ۱۰۰ نمونه سرمی مورد مطالعه، ۲۳ نمونه، مثبت و ۷۳ نمونه، منفی شدند. همچنین ۲ نمونه مثبت و ۲ نمونه منفی با روش IgM ELFA تأیید نگردیدند. حساسیت و ویژگی این روش به ترتیب ۹۲٪ و ۹۷/۳٪ و ارزش اخباری مثبت و منفی به ترتیب ۹۲٪ و ۹۷/۳٪ بود و همخوانی این روش با روش IgM ELFA، ۹۶٪ بدست آمد (جدول شماره ۱ و ۲).

در روش IgM ELISA، از ۱۰۰ نمونه سرمی مورد مطالعه، ۲۳ نمونه، مثبت و ۷۵ نمونه، منفی شدند. همچنین ۲ نمونه منفی با روش IgM ELFA تأیید نگردیدند. حساسیت و ویژگی این روش به ترتیب ۹۲٪ و ۱۰۰٪ و ارزش اخباری مثبت و منفی به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۷/۴٪ بود و همخوانی این روش با روش IgM ELFA، ۹۸٪ بدست آمد (جدول شماره ۱ و ۲).

بحث

در مطالعه حاضر، در مقایسه با روش IgG ELFA، روش IgG CLIA دارای بیشترین حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی (۱۰۰٪) بود و کاملاً با روش IgG ELFA همخوانی داشت و نتایج روشهای IgG ELISA و IFA تقریباً نزدیک به یکدیگر بودند. در مقایسه با روش IgM ELFA، نتایج بدست آمده از روشهای IgM CLIA و IgM ELISA نزدیک به یکدیگر بودند. روشهای IgG ELFA و IgG CLIA کاملاً با یکدیگر همخوانی داشتند و همخوانی روشهای IgG ELISA و IgG ELFA و IFA و IgG ELFA

ارزش اخباری مثبت و منفی این روش ۱۰۰٪ بود و همخوانی آن با روش IgG ELFA، ۱۰۰٪ بدست آمد (جدول شماره ۱ و ۲).

جدول شماره ۱ - حساسیت و ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی روشها در مقایسه با روش ELFA

| حساسیت (%) | ویژگی (%) | ارزش اخباری مثبت (%) | ارزش اخباری منفی (%) | |
|------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------|
| ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | IgG CLIA |
| ۹۷/۳ | ۹۲ | ۹۷/۳ | ۹۲ | IgG ELISA |
| ۹۷/۳ | ۹۶ | ۹۸/۶ | ۹۲ | IFA |

| حساسیت (%) | ویژگی (%) | ارزش اخباری مثبت (%) | ارزش اخباری منفی (%) | |
|------------|-----------|----------------------|----------------------|-----------|
| ۹۲ | ۹۷/۳ | ۹۲ | ۹۷/۳ | IgM CLIA |
| ۹۲ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۹۷/۴ | IgM ELISA |

جدول شماره ۲ - همخوانی و ناهمخوانی روشهای مورد مقایسه

| IgG ELFA (%) | IgG ELISA | IgG CLIA | همخوانی در مقایسه با IgG ELFA (%) |
|--------------|-----------|----------|-----------------------------------|
| ۹۷ | ۹۶ | ۱۰۰ | |
| IgM ELFA (%) | IgM ELISA | IgM CLIA | همخوانی در مقایسه با IgM ELFA (%) |
| ۹۸ | ۹۶ | ۹۶ | |

در روش IgG ELISA، از ۱۰۰ نمونه سرمی مورد مطالعه، ۷۳ نمونه، مثبت و ۲۳ نمونه، منفی شدند. همچنین ۲ نمونه مثبت و ۲ نمونه منفی با روش IgG ELFA تأیید نگردیدند. حساسیت و ویژگی این روش به ترتیب ۹۷/۳٪ و ۹۲٪ و ارزش اخباری مثبت و منفی نیز به ترتیب ۹۷/۳٪ و ۹۲٪ بود و همخوانی این روش با روش IgG ELFA، ۹۶٪ بدست آمد (جدول شماره ۱ و ۲).

در روش IFA، از ۱۰۰ نمونه سرمی مورد مطالعه ۷۳ نمونه، مثبت و ۲۴ نمونه، منفی شدند. همچنین ۲ نمونه مثبت

در حین انجام مراحل آزمایش نسبت به روشهای اتوماتیک بیش تر است. تکرار آزمایشات با تعداد کم نمونه، بسیار هزینه بر بوده و نگهداری نمونه‌ها برای نوبت بعدی آزمایشات باعث صرف نیروی انسانی می‌شود. در روش ELFA و CLIA مراحل انجام آزمایش به صورت اتوماتیک می‌باشد، در نتیجه زمان آزمایش کوتاه‌تر بوده و اشتباهات و خطاهای فردی و تکنیکی حذف می‌گردند.^(۹) در دو روش فوق، تکرارپذیری آزمایشات بالا رفته و هزینه پرسنلی پایین می‌باشد. وجود کالیبراسیون پایدار (حداقل ۲ هفته) سبب می‌شود تا در هر زمانی بتوان نمونه آزمایش را با سرعت و دقت بالا انجام داد که خود باعث از بین رفتن هزینه کالیبراسیون متعدد می‌شود.^(۹) بالاتر بودن محدوده سنجش سبب می‌شود تا در اکثر موارد، آزمایش بر روی نمونه، بدون نیاز به رقیق‌سازی انجام شود.

شایان ذکر است که در میان چهار روش مورد بررسی، تنها در روش CLIA امکان رقیق‌سازی خودکار توسط خود دستگاه وجود دارد. همچنین بالاترین سرعت انجام آزمایشات مربوط به روش CLIA بر روی دستگاه LAISION می‌باشد. به علت اینکه شبکه کامپیوتری آزمایشات به دستگاه‌های اتوماتیک متصل هستند، در نتیجه باعث انتقال نتایج به صورت خودکار شده و در نتیجه خطاهای پرسنلی در ثبت نتایج حذف می‌گردند.

در روش ELFA، استفاده از SPR اختصاصی برای هر Strip، سبب حذف carryover می‌گردد.^(۹) به دلیل کمتر بودن قطعات مکانیکی دستگاه VIDAS، نگهداری این دستگاه بسیار راحت بوده و در نتیجه هزینه‌های مربوط به این امر بسیار کمتر از سایر دستگاه‌ها می‌باشد.^(۹) این دستگاه از نظر اپراتوری ساده‌تر بوده و نیاز به آموزش پرسنلی کمتری دارد.^(۹) آماده مصرف بودن کلیه معرف‌های این روش باعث آسان‌تر شدن مراحل انجام آزمایش می‌گردد.^(۹) در میان چهار روش مورد بررسی، روش ELFA در هر لحظه‌ای از شبانه روز و بدون نیاز به انجام کارهای مقدماتی دیگر، به انجام آزمایش بر روی نمونه می‌پردازد.^(۹)

تقریباً مشابه یکدیگر بودند. در سنجش Igm Toxo همخوانی روشهای مورد مطالعه در مقایسه با Igm ELFA تقریباً مشابه یکدیگر بود (جدول شماره ۱ و ۲).

در یک مطالعه، بررسی مقایسه‌ای بین ۴ روش ELFA بر روی دستگاه Vidas، ELISA بر روی دستگاه Platelia، fluorescent بر روی دستگاه Opus و ELISA بر روی دستگاه Abbot IMX انجام شد. در آن مطالعه، در سنجش آنتی‌بادی Igm، روش Igm ELFA دارای بیش‌ترین ویژگی و ارزش اخباری مثبت بود و در سنجش آنتی‌بادی Igg، حساسیت و ویژگی روشهای فوق تقریباً مشابه یکدیگر بدست آمد.^(۵)

در مطالعه‌ای، بررسی مقایسه‌ای بین روشهای ELISA بر روی دستگاه Abbott IMX، ELISA بر روی دستگاه Bartel، ELISA، Prima بر روی دستگاه Mercia و ELFA بر روی دستگاه VIDAS انجام شد. در آن مطالعه، حساسیت از ۸۸٪ VIDAS تا ۹۴٪ Abbott IMX متغیر بود. محققین آن مطالعه، نشان دادند که نتایج این ۴ روش سرولوژی برای جداسازی آنتی‌بادی Igg ضد توکسوپلاسمایی بسیار مشابه بوده و می‌توانند در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی به منظور اهداف غربالگری بکار روند.^(۶) در مطالعه دیگری برای تأیید نتایج در نمونه‌های مشکوک، از روش ELFA استفاده کردند.^(۷) در مطالعه‌ای، بررسی مقایسه‌ای بین دو روش Chemiluminescence بر روی دستگاه ELFA و LIAISON بر روی دستگاه VIDAS انجام شد و نتایج نشان دادند که روش ELFA، ویژگی بیش‌تری در تشخیص عفونت حاد توکسوپلاسمایی دارد.^(۴)

در مطالعه حاضر، از آنجایی که نتایج بدست آمده از روشهای مورد مطالعه نزدیک به یکدیگر بودند، در نتیجه این چهار روش از جهات دیگر مورد بررسی قرار گرفتند. در روش IFA و ELISA مراحل انجام آزمایش به صورت manual و دستی می‌باشد، در نتیجه تکرارپذیری آزمایش کمتر بوده و احتمال تأثیر فاکتورهای محیطی در آزمایش بر روی نتایج بیش‌تر می‌باشد و همچنین اگر سرم بیمار دارای عوامل بالقوه پاتوژن باشد، شانس آلودگی پرسنل

توکسوپلاسم گوندی با آنتی‌بادی‌های IgM و IgG اختصاصی توکسوپلاسم در خانم‌های در سنین بارداری در تبریز، ماهنامه پزشک و آزمایشگاه، ۱۳۸۴؛ (۱۸): ۳۰-۳۵.

4- Carles MJ, Enault C, Lachaud L, Charachon S. Comparative evaluation of the VIDAS and LIASION toxoplasmosis, cytomegalovirus and rubella panels in a French university hospital. Clin Microbiol Infect 2006; 12(4): 77.

5- Hofgartner WT, Swanzy RM, Bacina SR, Condon J, Gupta M, Matlock PE, et al. Detection of immunoglobulin G(IgG) and IgM antibodies to toxoplasma gondii: Evaluation of four commercial immunoassay systems. J Clin Microbiol Dec 1997; 35: 3313-15.

6- Olsen MA, Root PP. Comparison of four different immunoassays for detection of toxoplasma-specific immunoglobulin G. Diagn Microbiol Infect Dis 1994; 19: 19-24.

۷- بخش علمی شرکت تحقیقاتی تولیدی آریافارمد، کمی لومینسانس، چاپ اول، تهران، انتشارات لحظه، ۱۳۸۲؛ ۱۰۶-۱۰۵.

8- Petersen E, Borobio MV, Guy E, Liesenfeld O, Meroni V, Naessens A. European multicenter study of the liason automated diagnostic system for determination of toxoplasma gondii-specific immunoglobulin G(IgG) and IgM. J Clin Microbiol 2005; 43(4): 1570-74.

9- Biomerieux corporate website[home page on the Internet] Industry: c 2007[updated 2007. July 9] products [about 3 screens]. Available from: http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dyprpage?doc=CNL_PRD_G_CLN_57. Accessed Dec 2006.

10- Horvath KN, Szenasi Z, Danko J, Kucsera I. Value of the IgG avidity in the diagnosis of recent toxoplasmosis: A comparison study of four commercially available anti-toxoplasma gondii IgG avidity assay. Acta Parasitologica 2005; 50: 255-60.

لازم به ذکر است که وجود کیت‌هایی از نوع Avidity جهت روشهای ELFA و CLIA باعث می‌شود تا آزمایشگاه بتواند زمان وقوع عفونت را با دقت بسیار زیاد تعیین نماید، در نتیجه می‌تواند در پاره‌ای از موارد نظیر تشخیص عفونت در مادران باردار بسیار مهم باشد و از انجام درمان‌های غیرضروری که منجر به وارد آمدن خسارات اقتصادی و روانی بالا می‌گردند، خودداری نماید.^(۸، ۱۰) محدودیت‌های این مطالعه فقط می‌توانست بار مالی ناشی از خرید کیت و ملزومات باشد که در طراحی این پروژه از این نظر مشکل خاصی پیش نیامد.

نتیجه‌گیری

در سنجش IgG Toxo پیشنهاد می‌شود تا آزمایشگاه‌ها بسته به سطح و level خود با در نظر گرفتن پارامترهایی نظیر هزینه، زمان، سرعت و غیره، روش خود را انتخاب نمایند، ولی با توجه به اهمیت حیاتی اندازه‌گیری IgM Toxo، لازم است آزمایش مزبور حتی‌الامکان به روش ELFA انجام گردد و در صورت مقدور نبودن آن، روش پیشنهادی، CLIA می‌باشد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله نویسندگان مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از جناب آقای شریف و کلیه پرسنل محترم آزمایشگاه مرکزی فردیس کرج به جهت همکاری در انجام این مطالعه ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

- ۱- دکتر غروی محمدجواد، تک یاخته‌شناسی پزشکی، چاپ سوم، تهران، تیمورزاده نشر طبیب، ۱۳۸۳؛ ۱۲۱-۱۰۶.
- ۲- دکتر اورمزدی هرمزد، انگل‌شناسی پزشکی، جلد دوم، چاپ پنجم، تهران، مؤسسه انتشارات جهاددانشگاهی، ۱۳۷۸؛ ۷-۲۵۶.
- ۳- دکتر رفیع عبدالناصر، قربانزاده بهزاد، حبیبائی هادی و دیباج رامین، بررسی ارزش تشخیصی همراهی آنتی‌بادی‌های IgA اختصاصی

A Comparative Study of the Sensitivity and Specificity of IgM and IgG Assay Techniques in the Diagnosis of Toxoplasmosis

^I
M.J. Qaravi, PhD

^{II}
H. Ourmazdi, PhD

^{III}
B. Gharegoozlo, MSc

^{IV}
*E.S. Roeein Tan, MSc

Abstract

Background & Aim: Toxoplasmosis is a common disease between human and animal with an extensive distribution. It is caused by the parasitical protozoan *Toxoplasma gondii*. Most clinical laboratories have problems with the diagnosis of toxoplasmosis. The aim of this study is the comparison of sensitivity and specificity of conventional and unconventional methods in the diagnosis of Toxoplasmosis based on the measurement of IgM and IgG and introduction of the best method.

Patients and Methods: In this comparative analytical study, from 100 people that physicians suspected of having the Toxoplasmosis symptoms and had been introduced to two laboratories in Tehran and Karaj for toxoplasmosis testing. Serum specimens were prepared and tested with Enzyme-linked immunoadsorbent assay (ELISA), Indirect fluorescent assay (IFA), Chemiluminescence (CLIA) and Enzyme linked fluorescent assay (ELFA). Data was analyzed via Chi-Square.

Results: In comparison with the IgG ELFA method, the IgG CLIA has the most sensitivity, specificity, positive and negative predictive values (100%). In comparison with IgM ELFA, IgM CLIA and IgM ELISA had the same sensitivity (92%), but IgM ELISA had more specificity (100%) than IgM CLIA (97.3%). In IgM ELISA positive and negative predictive values were 100% and 97.4% respectively and in IgM CLIA they were 96% and 98% respectively.

Conclusion: Although results of the comparative methods are near to each other, the automatic methods (CLIA, ELFA) are preferred because of a high reproducibility, reduced personnel expenses, time saving, etc. Therefore we suggest using these methods for diagnosing Toxoplasmosis. Also it is suggested that for measuring IgM, the mentioned methods are the most suitable of diagnostic methods.

Key Words: 1) Toxoplasmosis 2) Sensitivity 3) Specificity 4) Diagnostic Methods

^I) Associate Professor of Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Crossing of Hemmat and Chamran expressway, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

^{II}) Professor of Parasitology, Faculty of Medicine, Crossing of Hemmat and Chamran expressway, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

^{III}) MSc in Immunology, Instructor, Faculty of Paramedical Sciences, Crossing of Hemmat and Chamran expressway, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

^{IV}) MSc in Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Crossing of Hemmat and Chamran expressway, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran. (*Corresponding Author)