

اهمیت آویدیتی IgG برای تشخیص افتراقی عفونت توکسوپلاسما گوندی در اوایل حاملگی

• شهیندخت پوزش

کارشناس روانشناسی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

• دکتر محمد رضا بنیادی

دپارتمان ایمونولوژی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی

دانشگاه علوم پزشکی تبریز

bonyadir@tbzmed.ac.ir

خانم های حامله IgG-، IgM+ (IgG-, IgM+)C ۲ نفر (۰/۹ درصد). ۵۵ درصد زنان حامله از نظر هردو IgG و IgM مثبت بودند که از بین این ها هم حدود ۷/۱ درصد آویدیتی پایین داشتند که بیانگر عفونت فعال در زنان حامله بود. در این مطالعه ۴۴ درصد خانم های حامله IgG مثبت و IgM منفی بودند که همگی آن ها آویدیتی بالا داشتند و این نشان دهنده این است که در جامعه ما عفونت توکسوپلاسما در حد بالای وجود داشته و زنان قبل از حاملگی با این انگل برخورد داشته اند.

بحث و نتیجه گیری: در مطالعه ما آویدیتی پایین ۷/۱ درصد بوده است و بیانگر این است که در جوامع مختلف هنوز بروز عفونت توکسوپلاسما در زنان حامله یک مسئله جدی است. مشاهده ۴۵/۸ درصد آویدیتی بالا در بین گروه IgM+، IgG+ (A) حاکی از آن است که یا نیمه عمر بالایی دارد و یا حضور IgM کاذب در بیماری های روماتیسمی به طور کاذب آن را مثبت می کند. لذا تست آویدیتی از ارزش بالایی برخوردار بوده و می توان با تشخیص افتراقی و به موقع عفونت فعال توکسوپلاسما آن را درمان نمود.

کلمات کلیدی: توکسوپلاسمازیس حاد، آویدیتی، IgG، IgM

مقدمه

اغلب اوقات عفونت با انگل داخل سلوی توکسوپلاسما گوندی بدون علایم بوده و یا باعث بیماری بالینی خود محدود شونده می گردد. با این وجود وقتی زن حامله به عفونت فعال توکسوپلاسما مبتلا می شود انگل ممکن است به جنین منتقل شود و جنین مبتلا به توکسوپلاسما گوندی ممکن است سقط شده و با آسیب جدی نورولوژنیک و کوریورتینیت مادرزادی مواجه شود. اگر چه متدهای سرولوژیکی برای تشخیص آن موجود هستند لیکن تشخیص عفونت فعال توکسوپلاسما گوندی در اوایل حاملگی همواره با چالش ها و مشکلاتی رویرو بوده است.

لذا هدف از این مطالعه بررسی اهمیت آویدیتی IgG در تشخیص افتراقی عفونت توکسوپلاسما گوندی در اوایل حاملگی می باشد.

متدهای تعددی ۲۲۵ خانم که توسط متخصصین زنان و زایمان مشکوک به عفونت توکسوپلاسما تشخیص داده شده و در مرحله ۴-۲ ماهه اولیه حاملگی بودند وارد این مطالعه شدند. آزمایش اندازه گیری ایمونوگلوبولین G و M علیه توکسوپلاسما گوندی و IgG avidity به روش الیزا اندازه گیری شدند.

نتایج: خانم های حامله را که در چهار ماهه اول حاملگی مورد مطالعه قرار گرفتند در سه گروه طبقه بندی نمودیم: گروه A (۱۲۴ نفر) ۵۵/۱ درصد، گروه B (۴۴ نفر) ۹۹ درصد و گروه





باشد. (۸)

تحقیقات زیادی مفید بودن آویدیتی Toxo IgG را پشتیبانی کرده است که می تواند عفونت جدید (فعال بوده) به توکسوپلاسمای گوندی را مشخص بنماید (۵ و ۶ و ۹ و ۱۰). تشخیص عفونت و درمان به موقع علیه انگل توکسوپلاسمای گوندی ممکن است از ابتلا به عفونت و آسیب جین جلوگیری کند. (۱۱) بنابراین در مطالعه حاضر اهمیت Avidity IgG در تشخیص افتراقی عفونت توکسوپلاسمای گوندی را در اوایل حاملگی بررسی کردیم.

مواد و روش

بیماران: تعداد ۲۲۵ خانم حامله که توسط متخصصین زنان و زایمان مشکوک به عفونت توکسوپلاسمای تشخیص داده شده و در مرحله ۲-۴ ماهه اولیه حاملگی بودند وارد این مطالعه شدند. این خانم های حامله توسط متخصصین مذکور به درمانگاه های تخصصی بخش عفونی بیمارستان سینا و کالینیک ویژه دانشگاه علوم پزشکی تبریز و مطب متخصصین عفونی شهر تبریز ارجاع و سپس متخصصین عفونی هم برای تشخیص فعلی بودن عفونت، بیماران را به آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر بنیادی ارجاع داده بودند (مهر ماه سال ۱۳۸۶ الی مهر ۱۳۸۹) مورد آزمایش Toxo IgM Toxo IgG، Avidity IgG قرار گرفتند.

سرم و آزمایش سرولوزیکی: خون بیماران در همان روز که به آزمایشگاه مراجعت کرده بودند تهیه و در عرض سه روز مورد آزمایش قرار گرفتند.

تست الیزا: سطح سرمی آنتی بادی IgG و IgM علیه توکسوپلاسمای گوندی در اوایل حاملگی در خانم های حامله مطابق دستورالعمل کمپانی سازنده (کیت آکون) اندازه گیری شدند. اندازه گیری Toxo IgG کمی بوده ولی اندازه گیری Toxo IgM با فرمول اندکس (با محاسبه cut off) انجام شد.

آزمایش Avidity IgG: تعیین آویدیتی با متدهای Headmen و همکارانش و با استفاده از کیت Acone انجام شد. برای این آزمایش الیزایی در مرحله اول سرم بیمار را به میکروپلیت های پوشانده شده با آنتی ژن توکسوپلاسمای اضافه کردیم. در مرحله دوم با محلول غلیظ اوره واکنش

عفونت فعال توکسوپلاسمای شود انگل ممکن است به جنین منتقل شود و جنین مبتلا به توکسوپلاسمای گوندی ممکن است سقط شده و با آسیب جدی نوروولوژنیک و کوریورتینیت مادرزادی مواجه شود. (۱)

اندازه گیری ایمونوگلوبولین A,M,G برای تشخیص عفونت اخیر توکسوپلاسمای همواره با مشکلاتی مواجه بوده به طوری که IgG زمانی ارزش دارد که تست اولیه منفی ولی برای IgM بار دوم (چند هفته بعد) مثبت شود. از طرفی در سرم IgM برای ماه ها در خون پایدار باقی می ماند. (۲) همچنین فاکتور روماتوئید RF سبب مثبت کاذب می شود. این حقایق سبب می گردد که وقتی زن حامله ای برای اولین بار با تست Toxo IgG بالا و IgM مثبت روبرو می گردد با مشکل تشخیص افتراقی عفونت اخیر توکسوپلاسمای عفونت قدیمی روبرو گردد. اگر تیتر بالای IgG و IgM مثبت قبل از حاملگی بوده باشد جنین در مقابل توکسوپلاسمای گوندی محافظت خواهد شد ولی اگر این تست ها مریبوط به زمان حاملگی باشد جنین در معرض آسیب جدی خواهد بود. آویدیتی اولین بار با تکنیک دناچوراسیون برای تشخیص روبلوزیس مادرزادی انجام گرفت (۳) اما در سال ۱۹۸۹ Hedman روش جدیدی را ابداع کرد که بر اساس گرایش اتصال ایمونوگلوبولین ها به آنتی ژن های پلی والان توکسوپلاسمای گوندی استوار بود و برای افتراق گرایش بالای ایمونوگلوبولین از غلظت بالای اوره استفاده نمود که این قدرت اتصال را امروزه آویدیتی (Avidity) گویند و این روش را برای آویدیتی Toxo IgG به کار برد. (۴)

آویدیتی IgG در عفونت جدید توکسوپلاسموزیس (مراحل اولیه) کمتر بوده ولی آویدیتی IgG قدیمی خیلی بالاست. طبق تحقیقات به عمل آمده امروزه آویدیتی پایین تر از ۴۰٪ را دال بر عفونت اولیه (فعال) محسوب نموده و آویدیتی بالاتر از ۵۰٪ را دال بر عفونت قدیمی می دانند. آویدیتی پایین گزارش نموده اند. (۷) تیتر بالا رونده Toxo IgG نیز می تواند در تشخیص عفونت اخیر توکسوپلاسمای مفید باشد اما مستلزم زمان زیاد برای تکرار تست Toxo IgG می باشد که می تواند برای جنین خطرات زیادی داشته

در این مطالعه آویدیتی در سه گروه طبقه بندی گردید: ۱- آویدیتی پایین، کمتر از ۴۰، ۲- آویدیتی بالا، بیشتر از ۶۰، ۳- حد مرزی، مساوی یا کمتر از ۶۰ و مساوی یا بیشتر از ۴۰.

بحث

برای تشخیص عفونت توکسوپلاسمما گوندی آزمایش IgG منفی قبل از حاملگی و IgG مثبت بعد از حاملگی برای اهمیت زیادی دارد اما به ندرت زنان قبل از حاملگی برای تست های سورچ غربالگری مراجعه می کنند و عموماً خانم های حامله بعد از حاملگی برای کنترل به پزشک متخصص مراجعه می کنند و لذا آزمایش آویدیتی برای تشخیص عفونت فعال توکسوپلاسمما گوندی ارزش بالای دارد.

در این مطالعه ۴۴ درصد خانم های حامله IgG مثبت و IgM منفی بودند که همگی آن ها آویدیتی بالا داشتند و این نشان دهنده این است که در جامعه ما عفونت توکسوپلاسمما در حد بالای وجود داشته و زنان قبل از حاملگی با این انگل برخورد داشته اند. همچنین در دو الی چهار ماهه اول حاملگی ۵۵ درصد زنان حامله از نظر هر دو IgG و IgM مثبت بودند که از بین اینها هم حدود ۷/۱ درصد آویدیتی پایین داشتند که بیانگر عفونت فعال در زنان حامله بود. عفونت فعال و یا ۷/۱ درصد بروز عفونت توکسوپلاسمما در جامعه ما در عصر حاضر که خانواده ها به سلامت خود و فرزندانشان اهمیت می دهند می تواند یک هشدار به مدیران سلامت کشور باشد چرا که تولد بچه های معلول مثل کوری مادرزادی، میکروسفال و عقب مانده ذهنی بار سنگین اقتصادی و اجتماعی به خانواده و کشور می تواند وارد کند. از طرفی ارزش بالای آزمایش آویدیتی را نشان می دهد که می توان به آسانی عفونت فعال بیماری را تشخیص و درمان نمود. به طوری که در این مطالعه با تشخیص و درمان به موقع عفونت فعال به غیر از یک مورد که خود بیمار از ترس اقدام به سقط جنین نموده بود بقیه درمان شده و بعد از ۶ ماهگی آزمایش آویدیتی همه آن ها بالای ۶۲ درصد گردید که موفقیت درمان را در رابطه با این عفونت نشان می دهد.

کمپلکس آنتی ژن - آنتی بادی را تحت تاثیر قرار دادیم و پس از شستشوی زیادی آنتی بادی سرم در مرحله سوم آنتی بادی ضد IgG نشاندار به محیط آزمایش اضافه کردیم پس از واکنش لازم و شستشوی مجدد در مرحله بعدی سوبستراتی رنگ زاریخته و در مرحله آخر با محلول اسید سولفوریک واکنش را متوقف کرده و جذب نوری آن ها در طول موج ۴۵۰nm در مقابل طول موج افتراقی ۶۰۰nm اندازه گیری نمودیم. آویدیتی براساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Avidity Index (\%)} = \frac{(\text{OD sample treatment with Urea} - \text{OD blank})}{(\text{OD sample treatment without Urea})} * 100$$

داده های به دست آمده از مطالعه به وسیله روش های آماری توصیفی (فراوانی - درصد) و محاسبه ارزش های تشخیصی و با استفاده از نرم افزار آماری (SPSS Ver.14) مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

از بین ۲۲۵ خانم حامله که در چهار ماهه اول حاملگی بودند نتایج آزمایش آن ها در سه گروه طبقه بندی نمودیم. گروه (IgG+, IgM+) A ... نفر (۵۵/۱) ۱۲۴... گروه (IgG+, IgM-) B ... نفر (۴۴) ۹۹... گروه (IgG-, IgM+) C ... نفر (۰/۹) ۲... گروه (IgG-, IgM-) D ... نفر (۰/۰) ۰ درصد. سپس نتایج آویدیتی آن ها براساس این سه گروه بررسی و آنالیز کردیم جدول شماره (۱). در گروه سوم دو خانم حامله وجود داشت که به دلیل منفی بودن Toxo IgG آویدیتی انجام نشد و در گروه دوم که همگی از نظر Toxo IgM منفی بودند آویدیتی آن ها همگی بالا بود که هر دو نتیجه نشان دهنده غیر فعال بودن عفونت می باشد.

Table (۱) : result of Toxo IgG, Toxo IgM,

Avidity IgG in early pregnancy

جدول (۱): نتایج IgG ، IgM آویدیتی علیه عفونت توکسوپلاسمما گوندی در چهار ماهه اول خانم های حامله

	Group A	Group B	Group C	
Avidity	IgG(+), IgM(+)	IgG (+), IgM(-)	IgG (-), IgM(+)	Sum
Low N(%)	16(7.1)	0(0)	0(0)	16(7.1)
High N(%)	103(45.8)	99(44)	0(0)	202(89.8)
Borderline N(%)	5(2.2)	0(0)	2(0.9)	7(3.1)
Sum N(%)	124(55)	(44)	(1)	225(100)

بروز عفونت توکسو پلاسمما در زنان حامله یک مسئله جدی است. در اغلب مطالعات تعداد نمونه ها کمتر از یک صد زن حامله بوده ولی نمونه های مطالعه ما ۲۱۲ زن حامله در اوایل حاملگی بوده است که بر اهمیت آن می افزاید.

نتیجه گیری

مشاهده ۴۵/۸ درصد آویدیتی بالا در بین گروههای IgG+, IgM+ و A) حاکی از آن است که یا IgM عمر بالای دارد و یا حضور IgM کاذب در بیماری های روماتیسمی به طور کاذب آن را مثبت می کند. لذا تست آویدیتی از ارزش بالایی برخوردار بوده و می توان با تشخیص افتراقی و به موقع عفونت فعال توکسو پلاسمما آن را درمان نمود.

مطالعات گوناگون تیتر آویدیتی را متفاوت گزارش نموده اند از جمله در یک بررسی به سال ۱۹۹۷ آویدیتی پایین را کمتر از ۲۰ درصد (۱) و Yasodhara و Joynson آن را کمتر از ۳۰ درصد (۲ و ۳) و Ermanno کمتر از ۴۰ درصد (۴) و Françoise بررسی کمتر از ۵۰ درصد (۹) بیان کرده اند ما هم در این مطالعه آن را کمتر از ۴۰ درصد در نظر گرفته ایم.

در مطالعه ای به سال ۲۰۰۴ روی ۳۷ زن حامله در اوایل حاملگی میزان آویدیتی پایین را ۱۰/۸ درصد آویدیتی بالا ۵۱/۲ درصد پیدا کرده اند (۵) که در مطالعه ما هم آویدیتی پایین ۷/۱ درصد بوده است و بیانگر این است که در جوامع مختلف هنوز

References

- 1- PAL A. JENUM, BABILL STRAY-PEDERSEN, AND ANNE-GERD GUNDERSEN. Improved Diagnosis of Primary Toxoplasma gondii Infection in Early Pregnancy by Determination of Antitoxoplasma Immunoglobulin G Avidity. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Aug. 1997, p. 1972–1977.
- 2- D H M Joynson, R A Payne, B K Rawal. Potential role of IgG avidity for diagnosing Toxoplasmosis. J Clin Pathol 1990;43:1032-1033.
- 3- P Yasodhara, BA Ramalakshmi, M HJ Sarma. -A NEW APPROACH TO DIFFERENTIATE RECENT VS CHRONIC TOXOPLAS infection. Indian journal of Medical Microbiology.:2001;,p.145-148(Vol .19,Issue 3).
- 4- Hedman, K., M. Lappalainen, I. Seppa "la", and O. Ma "kela". 1989. Recent primary Toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Infect. Dis. 159:736–740.
- 5- Mehmet Tanyuksel, Cakir Guney, Engin Araz, M.Ali Saraci and Levent Doganci. Performance of the Immunoglobulin G Avidity and Enzyme Immunoassay IgG/IgM Screening Tests for Differentiation of the Clinical Spectrum of Toxoplasmosis . The Journal of Microbiology, September 2004, p.211-215 . (Vol. 42, No. 3).
- 6- Ermanno Candolfi, Rebecca Pastor, Rachel Huber, Denis Filisetti, Odile Villard. IgG avidity assay firms up the diagnosis of acute toxoplasmosis on the first serum sample in immunocompetent pregnant women. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 58 (2007) 83–88.
- 7- P Yasodhara, BA Ramalakshmi, M HJ Sarma. -A NEW APPROACH TO DIFFERENTIATE RECENT VS CHRONIC TOXOPLAS infection. Indian journal of Medical Microbiology.:2001;,p.145-148(Vol .19,Issue 3).
- 8- D H M Joynson, R A Payne, B K Rawal. Potential role of IgG avidity for diagnosing Toxoplasmosis. J Clin Pathol 1990;43:1032-1033.
- 9- Françoise Gay-Andrieu , Hélène Fricker-Hidalgo, Eva Sickinger et all. Comparative evaluation of the ARCHITECT Toxo IgG, IgM, and IgG Avidity assays for anti-Toxoplasma antibodies detection in pregnant women sera. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 65 (2009) 279–287
- 10- Katalin N. Horvth, Zsuzsanna Széndsi, Jzsef Danka and Istvn Kucsra. Value of the IgG avidity in the diagnosis of recent toxoplasmosis: A comparative study of four commercially available anti- Toxoplasma gondi i IgG avidity assays. Acta Parasitologica, 2005, 50(3), 255–260; ISSN 1230-2821.
- 11-Koskineni M,Lappalainen M,Hedman K. Toxoplasmosis needs evalution, overview and roposals.AJDC:1989;143:724-728.
- 12- Ermanno Candolfi, Rebecca Pastor, Rachel Huber, Denis Filisetti, Odile Villard. IgG avidity assay firms up the diagnosis of acute toxoplasmosis on the first serum sample in immunocompetent pregnant women. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease .58 (2007) 83–88.

