

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

• دکتر محمد رضا بنیادی

دپارتمان ایمنولوژی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی

دانشگاه علوم پزشکی تبریز

bonyadir@tbzmed.ac.ir

• شهیندخت پوزش

کارشناس روانشناسی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

خلاصه

زمینه و هدف: اغلب اوقات عفونت با انگل داخل سلولی توکسوپلازما گوندی بدون علائم بوده و یا باعث بیماری بالینی خود محدود شونده می گردد. با این وجود وقتی زن حامله به عفونت فعال توکسوپلازما مبتلا می شود انگل ممکن است به جنین منتقل شود و جنین مبتلا به توکسوپلازما گوندی ممکن است سقط شده و با آسیب جدی نورولوژیک و کوریورینیت مادرزادی مواجه شود. اگر چه متدهای سرولوژیکی برای تشخیص آن موجود هستند لیکن تشخیص عفونت فعال توکسوپلازما گوندی در اوایل حاملگی همواره با چالش ها و مشکلاتی روبرو بوده است. لذا هدف از این مطالعه بررسی اهمیت آویدیتی IgG در تشخیص افتراقی عفونت توکسوپلازما گوندی در اوایل حاملگی می باشد.

متد و مواد: تعداد ۲۲۵ خانم که توسط متخصصین زنان و زایمان مشکوک به عفونت توکسوپلازما تشخیص داده شده و در مرحله ۴-۲ ماهه اولیه حاملگی بودند وارد این مطالعه شدند. آزمایش اندازه گیری ایمونوگلوبولین G و M علیه توکسوپلازما 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 (IgG+, IgM+) ۱۲۴ نفر (۵۵/۱ درصد)، گروه B (IgG+, IgM-) ۹۹ نفر (۴۴ درصد) و گروه

C (IgG-, IgM+) ۲ نفر (۰/۹ درصد). ۵۵ درصد زنان حامله از نظر هر دو 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 توکسوپلازما در حد بالایی 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 توکسوپلازما در زنان حامله یک مسئله جدی است. مشاهده ۴۵/۸ درصد آویدیتی بالا در بین گروه A (IgG+, IgM+) حاکی از آن است که یا IgM 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 توکسوپلازما آن را درمان نمود.

کلمات کلیدی: توکسوپلازما سموزیس حاد، آویدیتی IgG، IgM، حاملگی

مقدمه

اغلب اوقات عفونت با انگل داخل سلولی توکسوپلازما گوندی بدون علائم بوده و یا باعث بیماری بالینی خود محدود شونده می گردد. با این وجود وقتی زن حامله به

عفونت فعال توکسو پلاسما مبتلا می شود انگل ممکن است به جنین منتقل شود و جنین مبتلا به توکسو پلاسما گوندی ممکن است سقط شده و با آسیب جدی نورولوژیک و کوریورینیت مادرزادی مواجه شود. (۱)

اندازه گیری ایمنوگلوبین A, M, G برای تشخیص عفونت اخیر توکسوپلاسما همواره با مشکلاتی مواجه بوده به طوری که IgG زمانی ارزش دارد که تست اولیه منفی ولی برای 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 IgM 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 توکسو پلاسما یا عفونت قدیمی روبرو گردد. اگر تیترا بالای IgG و IgM مثبت قبل از حاملگی بوده باشد جنین در مقابل توکسو پلاسما گوندی محافظت خواهد شد ولی اگر این تست ها مربوط 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 ایمنوگلوبولین ها به آنتی ژن های پلی والان توکسوپلاسمای گوندی استوار بود و برای افتراق گرایش بالای ایمنوگلوبولین 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 توکسو پلاسمازموزیس (مراحل اولیه) کمتر بوده ولی آویدیتی IgG قدیمی خیلی بالا است. 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. (۵ و ۶) در مطالعه Yasodhara تیترا پایین تر از ۳۰٪ را آویدیتی پایین گزارش نموده اند. (۷) تیترا بالا رونده Toxo IgG نیز می تواند در تشخیص عفونت اخیر توکسوپلاسما مفید باشد اما مستلزم زمان زیاد برای تکرار تست Toxo IgG می باشد که می تواند برای جنین خطرات زیادی داشته

باشد. (۸)

تحقیقات زیادی مفید بودن آویدیتی Toxo IgG را پشتیبانی کرده است که می تواند عفونت جدید (فعال بوده) به توکسوپلاسما گوندی را مشخص بنماید (۵ و ۶ و ۷ و ۹ و ۱۰). تشخیص عفونت و درمان به موقع علیه انگل توکسو پلاسما در طی حاملگی ممکن است از ابتلا به عفونت و آسیب جنین جلوگیری کند. (۱۱) بنابراین در مطالعه حاضر اهمیت Avidity IgG در تشخیص افتراقی عفونت توکسوپلاسما گوندی را در اوایل حاملگی بررسی کردیم.

مواد و روش

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

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

تست الیزا: سطح سرمی آنتی بادی IgG و IgM علیه توکسو پلاسما 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 متد 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 توکسوپلاسما اضافه کردیم. در مرحله دوم با محلول غلیظ اوره واکنش

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 توکسوپلازما گوندی آزمایش IgG منفی قبل از حاملگی و مثبت بعد از حاملگی اهمیت زیادی دارد اما به ندرت زنان قبل از حاملگی برای تست های تورچ غربالگری مراجعه می کنند و معمولا خانم های حامله بعد از حاملگی برای کنترل به پزشک متخصص مراجعه می کنند و لذا آزمایش آویدیتی برای تشخیص عفونت فعال توکسوپلازما گوندی ارزش بالایی 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 توکسوپلازما در حد بالایی 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 توکسوپلازما در جامعه ما در عصر حاضر که خانواده ها به سلامت خود و فرزندان شان 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 سوبسترای رنگ زا ریخته و در مرحله آخر با محلول اسید سولفوریک واکنش را متوقف کرده و جذب نوری آن ها را در طول موج 450nm در مقابل طول موج افتراقی 600nm 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 را در سه گروه طبقه بندی نمودیم.
 گروه A (IgG+, IgM +) ... ۱۲۴ نفر (۵۵/۱ درصد)،
 گروه B (IgG+, IgM -) ... ۹۹ نفر (۴۴ درصد) و گروه
 C (IgG-, IgM +) ... ۲ نفر (۰/۹ درصد).

سپس نتایج آویدیتی آن ها را 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 و آویدیتی علیه عفونت توکسوپلازما 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 پلاسما 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 گروه A(IgG+, IgM +). حاکی از آن است که یا IgM 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 توکسو پلاسما آن را درمان نمود.

مطالعات گوناگون تیتراژ آویدیتی را متفاوت گزارش نموده اند از جمله در یک بررسی به سال ۱۹۹۷ آویدیتی پایین را کمتر از ۲۰ درصد (۱) و Joynson و Yasodhara آن را کمتر از ۳۰ درصد (۲ و ۳) و Ermanno کمتر از ۴۰ درصد (۱۲) 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 و 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. Seppä-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 Saracli 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 Szénjsi, Jzsef Danka and Istvn Kucsera. Value of the IgG avidity in the diagnosis of recent toxoplasmosis: A comparative study of four commercially available anti- *Toxoplasma gondii* IgG avidity assays. Acta Parasitologica, 2005, 50(3), 255-260; ISSN 1230-2821.
- 11- Koskiniemi M, Lappalainen M, Hedman K. Toxoplasmosis needs evaluation, overview and proposals. 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.