

بررسی آنتی بادی‌های IgM و IgG ضد توکسوپلازما گوندی در دهنندگان خون سازمان انتقال خون تهران به روش ELISA

دکتر هرمزد اورمزدی^۱، نفیسه صنیع خانی^{۲*}، دکتر رامتین حدیقی^۳، دکتر لامع اخلاقی^۴، دکتر احمدرضا معمار^۵، دکتر الهام رزمجو^۶

تاریخ دریافت ۸۸/۱۱/۱۲، تاریخ پذیرش ۸۹/۱/۲۲

چکیده

پیش زمینه و هدف: ابتلا به توکسوپلازموزیس در طول دوران بارداری در مادران فاقد آنتی بادی ضد توکسوپلازما می‌تواند منجر به عوارض خطرناک و برگشت ناپذیری در نوزادان شود. توکسوپلازموزیس همچنین در بیماران دچار نقائص سیستم ایمنی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. هدف این مطالعه بررسی شیوع سرمی آنتی بادی‌های ضد توکسوپلازما گوندی در اهدا کنندگان خون به سازمان انتقال خون تهران بوده است.

مواد و روش کار: در این مطالعه توصیفی - مقطعی سرم ۲۵۰ نفر (۱۲۵ نفر زن و ۱۲۵ نفر مرد) از اهدا کنندگان خون در سازمان انتقال خون تهران در سال ۱۳۸۷ به طور تصادفی انتخاب و با استفاده از روش ELISA عیار آنتی بادی‌های IgG و IgM اندازه گرفته شد.

یافته‌ها: طبق نتایج بدست آمده از مجموع ۲۵۰ نفر که ۱۲۵ نفر آنان زن و ۱۲۵ نفر مرد بودند، ۱۳۲ نفر (۵۲/۸ درصد) دارای آنتی بادی IgG و ۹ نفر (۳/۶ درصد) دارای آنتی بادی IgM بر ضد توکسوپلازما گوندی بودند، از جمعیت مردان ۴۸ درصد دارای آنتی بادی IgG و ۵/۶ درصد دارای آنتی بادی IgM بودند و از جمعیت زنان ۶۰/۸ درصد دارای IgG و ۱/۶ درصد IgM مثبت تشخیص داده شدند.

بحث و نتیجه گیری: به دلیل این که در ایران بررسی خون‌های اهدا شده در سازمان انتقال خون از نظر توکسوپلازما گوندی انجام نمی‌شود لذا مطالعات از این دست به سازمان انتقال خون در اهمیت دادن به این انگل خونی - نسجی در طراحی برنامه‌های غربالگری نقش هشدار دهنده دارد.

کلید واژه‌ها: توکسوپلازما گوندی، ELISA، سازمان انتقال خون

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و یکم، شماره دوم، ص ۲۱۶-۲۱۲، تابستان ۱۳۸۹

آدرس مکاتبه: دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، تلفن: ۰۹۱۲۴۴۷۹۴۶۹

E-mail: nafiseh_s2004@yahoo.com

مقدمه

خصوصیات بیولوژیکی این میکروارگانیسم است. توکسوپلازما گوندی اشکال مختلفی را دارا است: یک فرم فعال یا تروفوزوئیت (تاکی زوئیت) که عامل شکل حاد بیماری است. فرم مقاوم انگل یا کیست نسجی که در سیر مزمن بیماری تشکیل می‌شود و اووسیست که تنها در سلول‌های اپی تلیال روده میزبان اصلی یا نهایی یعنی گربه شکل می‌گیرد و با مدفوع دفع شده و برای

توکسوپلازما گوندی انگل درون سلولی اجباری از رده اسپوروزوآ و جزء تک یاختگان انگلی مهم خون و نسج است. میزبان اصلی این انگل گربه و گربه سانان بوده، انسان و سایر پستانداران میزبان واسط این انگل هستند. طیف وسیع میزبانان و امکان زندگی در سلول‌های هسته دار نسوج مختلف از

^۱ دکترای انگل شناسی، استاد دانشگاه علوم پزشکی ایران

^۲ کارشناس ارشد انگل شناسی (نویسنده مسئول)

^۳ دکترای انگل شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی ایران

^۴ دکترای انگل شناسی، استاد دانشگاه علوم پزشکی ایران

^۵ دکترای انگل شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی ایران

^۶ دکترای انگل شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی ایران

انگل شناسی و قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران آزمایش شدند. آزمایش الایزا توسط کیت تشخیصی Trinity ساخت شرکت آمریکایی Biotech انجام شد. در این روش آنتی ژن‌های توکسوپلازما گوندی در ویل‌های میکروپلیت متصل بوده و با اضافه کردن نمونه سرم، در صورت وجود آنتی بادی ضد توکسوپلازما گوندی به آنتی ژن مربوط متصل می‌شد. پس از شستشوی پلیت‌ها به مجموعه فوق آنتی هیومن کونژوگه که با آنزیم Horseradish Peroxidase (HRP) نشان‌دار شده است اضافه می‌نمودیم. در ادامه پس از افزودن محلول سوپسترا-کروموزن در صورت وجود آنتی بادی اختصاصی تغییر رنگ حاصل می‌شد که نشانه مثبت بودن واکنش می‌باشد. در انتها با اضافه کردن محلول متوقف کننده (اسید سولفوریک) واکنش خاتمه می‌یابد و OD نهایی توسط دستگاه ELISA Reader خوانده شد. OD بدست آمده را بر عدد Cut off تقسیم نموده و (Immune Status Ratio) ISR بدست می‌آید و نتایج آزمایش‌ها به صورت کمی و بر حسب ISR گزارش شدند و طبق کیت اگر این مقدار کم‌تر یا مساوی ۹/۰ بود منفی و اگر بیشتر یا مساوی ۱/۱ بود مثبت گزارش شد. سپس نتایج حاصله با استفاده از روش‌های آماری و نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

طبق نتایج بدست آمده در آزمایش ELISA از مجموع ۲۵۰ نفر که ۱۲۵ نفر آنان زن و ۱۲۵ نفر مرد بودند، ۱۳۲ نفر (۵۲/۸ درصد) دارای آنتی بادی IgG (نمودار شماره ۱) و ۹ نفر (۳/۶ درصد) دارای آنتی بادی IgM بر ضد توکسوپلازما گوندی بودند (نمودار شماره ۲)، از جمعیت مردان ۴۸ درصد دارای آنتی‌بادی IgG و ۵/۶ درصد دارای آنتی بادی IgM بودند و از جمعیت زنان ۶۰/۸ درصد دارای IgG و ۱/۶ درصد IgM مثبت تشخیص داده شدند. شاخص‌های آماری در دو جمعیت زن و مرد مورد مطالعه در جداول شماره ۱ و ۲ به صورت جداگانه بررسی شده است.

میزبانان واسط آلوده کننده است (۱). به علت حضور تعداد زیاد گربه‌های ولگرد در شهر و یا روستا، آلودگی محیط زیست به اووسیست و امکان دریافت آن در طول زندگی افراد زیاد است. با توجه به این که در افراد سالم توکسوپلازما سیر آرام و خوش خمی دارد بررسی سرمی افراد از نظر حضور آنتی بادی IgG برای برخورد‌های قبلی با انگل و سیر مزمن بیماری و بررسی IgM برای سیر حاد بیماری در بررسی‌های سرواپیدمیولوژیکی با ارزش است (۲).

بالا بودن عیار آنتی بادی‌های ضد توکسوپلازما رابطه مستقیم با تماس با گربه‌های آلوده دارد و با توجه به این که در ایران نگه داشتن گربه در منزل معمول نیست لذا آلودگی از راه‌های دیگر و تماس غیرمستقیم با گربه است. از آنجا که یکی از راه‌های ابتلا به توکسوپلازما دریافت خون آلوده از طریق انتقال خون است (۲) و از آنجا که دریافت کنندگان خون اغلب افراد دارای نقص سیستم ایمنی و کودکان مبتلا به تالاسمی، آنمی داسی شکل، آنمی آپلاستیک و زنان هستند (۳) و غربالگری خون از نظر توکسوپلازما در سازمان انتقال خون انجام نمی‌گیرد، بررسی خون‌های موجود در سازمان خون را لازم دانستیم.

مواد و روش کار

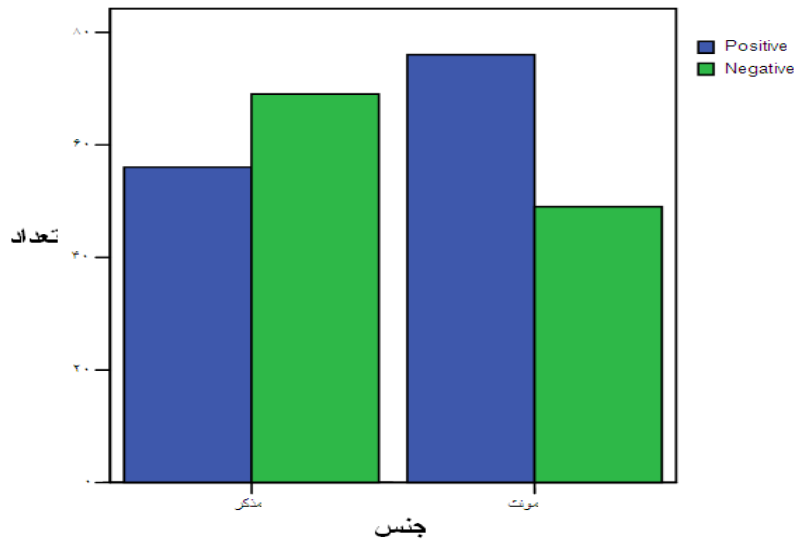
برای انجام آزمایش، ابتدا نمونه‌های خون را که روزانه در سازمان انتقال خون تهران گرفته شده بود را پس از ثبت مشخصات در آزمایشگاه انگل شناسی گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران سانتیفریژ کرده و بعد از جدا کردن سرم‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌کردیم. بررسی‌ها به صورت مطالعه توصیفی - مقطعی بوده و جامعه پژوهش شامل افرادی بودند که برای اهداء خون به مرکز انتقال خون تهران در سال ۱۳۸۷ مراجعه کردند و سلامت آنان جهت اهداء خون توسط پزشک مستقر در مرکز انتقال خون تأیید شد. روش نمونه‌گیری به صورت غیراحتمالی آسان بود. آزمایش روی ۲۵۰ نفر زن و مرد سالم اهدا کننده خون کافی تشخیص داده شد. نمونه‌ها به روش ELISA در آزمایشگاه گروه

جدول شماره (۱): نمودار شاخص‌های آماری IgG و IgM در جمعیت مردهای مورد مطالعه

ماکزیمم	مینیمم	CI (%۹۵)	X±SD	
۱۰/۱۸	۰/۹۰	حد بالا: ۲۶/۲ حد پایین: ۱/۵۳	۲/۰۶±۱/۸۹	IgG
۰/۳/۳	۰/۱۴	حد بالا: ۰/۵۶ حد پایین: ۰/۴۱	۴۲/۰±۴۹/۰	IgM

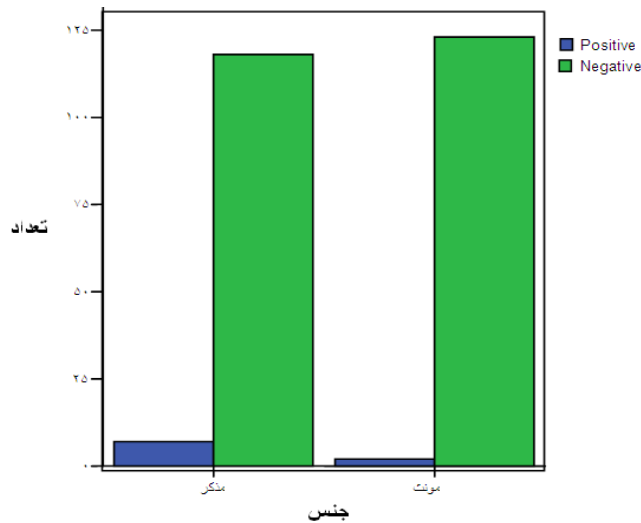
جدول شماره (۲): نمودار شاخص‌های آماری IgM و IgG در جمعیت زن‌های مورد مطالعه

ماکزیمم	مینیمم	*CI (/۹۵)	X±SD	
۱۱/۹۱	۲۶/۰	حد بالا: ۲/۹۴ حد پایین: ۲/۱۱	۳۴/۲±۲/۵۳	IgG
۲۲/۳	۰/۸/۰	حد بالا: ۰/۵۴ حد پایین: ۰/۴۲	۳۳/۰±۰/۴۸	IgM



نمودار شماره (۱): نمودار بررسی IgG-ELISA در جمعیت مورد مطالعه براساس جنس

* از جمعیت مورد مطالعه که ۲۵۰ نفر بودند، از تعداد ۱۲۵ نفر مرد، ۴۸ درصد (۵۶ نفر) دارای آنتی بادی IgG و از تعداد ۱۲۵ نفر زن مورد بررسی ۶۰/۸ درصد (۷۶ نفر) دارای آنتی بادی IgG برضد توکسوپلازما گوندی بودند. که این نمودار تعداد موارد مثبت و منفی را در دو جمعیت زن و مرد نشان می‌دهد.



نمودار شماره (۲): نمودار بررسی IgM-ELISA در جمعیت مورد مطالعه براساس جنس

* از جمعیت مورد مطالعه که ۲۵۰ نفر بودند، از تعداد ۱۲۵ نفر مرد، ۵/۶ درصد (۷ نفر) دارای آنتی بادی IgM و از تعداد ۱۲۵ نفر زن مورد بررسی ۱/۶ درصد (۲ نفر) دارای آنتی بادی IgM برضد توکسوپلازما گوندی بودند. که این نمودار تعداد موارد مثبت و منفی را در دو جمعیت زن و مرد نشان می‌دهد.

* حدود اطمینان را بیان می‌کند و نشان می‌دهد که با اطمینان ۹۵ درصد میانگین واقعی در فاصله بین حد بالا و حد پایین واقع شده است.

بحث و نتیجه گیری

احتمال درگیری و ابتلاء آن‌ها به مرحله خطرناک بیماری زیاد است. توکسوپلازما گوندی می‌تواند به مدت ۵۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در شرایط یخچال بانک خون زنده بماند (۷). Siegal و همکاران او در سال ۱۹۷۱ ابتلاء به توکسوپلازموز را در ۴ نفر فرد مبتلا به لوسمی بعد از دریافت گلبول سفید متراکم (لوکوفرز) آلوده گزارش کردند (۸). گیرنده‌های قلب، ریه و مغز استخوان نیز می‌توانند از طریق انتقال خون در معرض ابتلاء به توکسوپلازموز قرار بگیرند (۹). Ayse Caner و همکاران در ترکیه مطالعه ای روی ۴۰ نفر گیرنده کبد از جهت توکسوپلازموزیس انجام دادند که از نظر سرمی ۵/۶۷ درصد آن‌ها مثبت بودند (۱۰). Adurthi و همکاران در هند روی افرادی که بدخیمی خونی و پیوند گیراستم سلی داشتند بررسی جهت توکسوپلازموزیس حاد انجام دادند که ۱۴ درصد آن‌ها مثبت بودند (۱۱). در ایران قاسمیان و همکاران بررسی آنتی بادی‌های توکسوپلازما گوندی را در افراد دارای بدخیمی در اهواز انجام داده اند که طبق این بررسی ۴۵/۲ درصد دارای آنتی بادی IgG و ۱۰/۳ درصد آن‌ها از نظر آنتی بادی IgM بر ضد توکسوپلازما مثبت بودند (۱۲).

مشاهده آنتی بادی‌های توکسوپلازما در دهنندگان خون در این مطالعه اهمیت بررسی‌های بیشتر را در این زمینه مطرح می‌سازد، از طرف دیگر به دلیل این‌که در ایران بررسی خون‌های اهدا شده در سازمان انتقال خون از نظر توکسوپلازما گوندی انجام نمی‌شود لذا مطالعات از این دست به سازمان انتقال خون در اهمیت دادن به این انگل خونی-نسجی در طراحی برنامه‌های غربالگری نقش هشدار دهنده دارد.

در این مطالعه خون‌های اهدائی در سازمان انتقال خون که بعد از انجام معاینه پزشک روی اهداء کننده و آزمایش‌های روتین خون آماده تزریق به بیماران بودند مورد بررسی قرار گرفتند.

قدردانی و تشکر

با سپاس فراوان از همکاری مدیر کل و پرسنل سازمان منطقه‌ای سازمان انتقال خون تهران و با تشکر از مساعدت اساتید محترم و پرسنل گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران.

References:

1. Black MW, Boothroyd JC. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. *Am Soc Microbiol* 2000; 64(3):607-23

با توجه به منابع موجود یکی از متداول‌ترین عفونت‌های انگلی انسان و سایر مهره داران خون‌گرم آلودگی آن‌ها به توکسوپلازما گوندی است (۱). اگر چه آلودگی در افراد بالغ معمولاً از نوع خوش‌خیم است اما در دوران بارداری ممکن است علایم جدی مانند عقب ماندگی ذهنی یا عوارض شدید عصبی و چشمی در جنین ایجاد شود (۲). این تک یاخته از عوامل انگلی مرگ و میر در مبتلایان به ایدز عنوان شده است و در افراد با نقص سیستم ایمنی موجب انسفالیت و سبب مرگ بیمار می‌شود. خون و محصولات خونی نیز یکی از راه‌های انتقال توکسوپلازما گوندی از فردی به فرد دیگر است. بالا بودن تیترا آنتی بادی توکسوپلازما رابطه مستقیم با تماس با گربه دارد و با توجه به این‌که در ایران نگه داشتن گربه در منزل معمول نیست، بنابراین آلودگی از راه‌های دیگر و تماس غیر مستقیم با گربه صورت می‌گیرد. از آنجا که یکی از راه‌های احتمالی ابتلا به توکسوپلازموز دریافت خون آلوده از طریق انتقال خون است (۳)، بررسی خون‌های موجود در سازمان انتقال خون را لازم دانستیم. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه از مجموع ۲۵۰ نفر که ۱۲۵ نفر آنان زن و ۱۲۵ نفر مرد بودند، ۱۳۲ نفر (۵۲/۸ درصد) دارای آنتی بادی IgG (نمودار شماره ۱) و ۹ نفر (۳/۶ درصد) دارای آنتی بادی IgM بر ضد توکسوپلازما گوندی بودند (نمودار شماره ۲). در مطالعات سرواپیدمیولوژیکی دهنندگان خون از نظر آنتی بادی‌های توکسوپلازما گوندی در شهر کارزناکای هندوستان، ۲۰/۳ درصد از نظر عیار IgG و ۳/۶ درصد IgM مثبت بودند (۴). در جمهوری چک ۳۲/۱ درصد IgG و ۲/۴ درصد IgM مثبت بوده اند (۵)، همچنین از مکزیک ۷/۴ درصد افراد IgG و ۱/۹ درصد IgM مثبت گزارش شده اند (۶). مشاهده آنتی بادی IgM در ۳/۶ درصد از افراد دهنده خون در سازمان انتقال خون تهران بسیار مهم و نیازمند توجه نظر است، زیرا این آنتی بادی مربوط به مرحله حاد بیماری توکسوپلازموز است. از سوی دیگر دریافت کننده‌های خون اکثراً دارای نقص سیستم ایمنی و کودکان مبتلا به تالاسمی، آنمی داسی شکل، آنمی آپلاستیک و زنان هستند و این افراد بسیار مستعد توکسوپلازموز از طریق انتقال خون هستند و از آنجایی که این فراد ایمنی کاملی ندارند

2. Ormazdi H. Medical parasitology. Isfahan: Jahad Daneshgahi Publication; 1993.
3. John DT, Petri WA. Examinations of stool specimens. In: Markell EK, Editor. Medical parasitology. Missouri: Saunders; 2006. P. 393-415.

4. Sundar P, Mahadevan A, Jayshree RS, Subbakrishna DK, Shankar SK. Toxoplasma seroprevalence in healthy voluntary blood donors from urban Karnataka. *Indian J Med Res* 2005; 126: 50-5.
5. Svobodova V, Literak I. Prevalence of IgM and IgG antibodies to toxoplasma gondii in blood donors in the Czech Republic. *Europ J Epidemiol* 1998; 14(8):803-5
6. Alvarado-Esquivel C, Mercado-Suarez MF, Rodríguez-Briones A, Fallad-Torres L, Ayala-Ayala JO, Nevarez-Piedra LJ, et al. Seroepidemiology of infection with toxoplasma gondii in healthy. *BMC Infect Dis* 2007;7:75
7. Vasina SG, Dunaeva ZV. On the length of survival of toxoplasma outside the host organism. *Med Prom SSSR* 1960; 29 : 451-4.
8. Siegel SE, Lunde MN, Gelderman AH, Halterman RH, Brown JA, Lovine AS, et al. Transmission of toxoplasmosis by leukocyte transfusion. *Blood* 1971; 37: 388-94.
9. Wreghitt TG, Hakim M, Gray JJ, Balfour AH, Stovin PG, Stewart S, et al. Toxoplasmosis in heart and heart and lung transplant recipients. *J Clin Pathol* 1989; 42: 194-9.
10. Caner A, Do˘S, Kaya M, Karasu Z, Deg˘irmenci A, Guy E, Kılıc M, Zeytunlu M, et al. Incidence and diagnosis of active toxoplasma infection among liver transplant recipients in Western Turkey. *American Association for the Study of Liver Diseases* 2008, 14:1526-32.
11. Adurthi S, TP Sahoo, Kumar C, Radhika B, Appaji L, Bapsy PP, et al. Acute toxoplasmosis in nonstem cell transplant patients with haematological malignancies: a study from a Regional Cancer Institute in South India. *Hematolog Oncol* 2008; 26: 229–33.
12. Ghasemian M, Maraghi Sh, Saki J, Pedram M. Determination of antibodies (IgG, IgM) against toxoplasma gondii in patients with cancer. *Iran J Parasitol* 2007; 2 (4):1-6.