

فاطمه السادات قاسمی ۱

دکتر حسین هوشیار ۲*

۱- کارشناس ارشد انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۲- دانشیار گروه انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

* نشانی نویسنده مسئول: گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

تلفن: ۰۹۱۳۳۶۲۳۲۹۲

۰۳۶۱-۵۵۵۰۰۲۱ داخلی ۶۳۷

فاکس: ۰۳۶۱-۵۵۵۱۱۱۲

نشانی الکترونیکی:

hooshyar4@yahoo.com

Hoshyar_h@kaums.ac.ir

مجله علمی سازمان نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران، دوره ۳۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۳: ۶۵-۷۷

● مقاله مروری کد مقاله: ۰۷

بعد از مطالعه این مقاله خوانندگان محترم قادر خواهند بود:

- به عوارض توکسوپلاسموزیس آگاهی یابند.
- با روش‌های تشخیصی توکسوپلاسموزیس آشنا شوند.

اهمیت توکسوپلاسموزیس و روش‌های تشخیصی آزمایشگاهی آن

چکیده

توکسوپلازما گوندی تک یاخته عامل ایجاد بیماری توکسوپلاسموز در اکثر افراد مبتلا عوارض حادی ایجاد نمی‌کند اما ابتلا به این انگل اگر اولین بار در زمان حاملگی اتفاق بیافتد ممکن است به مرگ جنین و سقط آن منجر شود و یا باعث بروز مشکلاتی جنینی مانند معلولیت و ناهنجاری‌های جسمی روانی جنین، آسیب‌های عصبی، و چشمی در جنین گردد. در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی آلودگی به این انگل و یا فعال شدن مجدد آن ممکن است باعث ایجاد نشانه‌هایی مانند آبسه مغزی، انسفالیت و پنومونی شده و به مرگ این بیماران منتهی شود. تشخیص سریع و به موقع این بیماری انگلی خصوصاً در زنان باردار که قبلاً با این انگل برخورد نداشته و از نظر وجود آنتی‌بادی اختصاصی در سرم منفی هستند و نیز در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی، حائز اهمیت زیادی است. در این مقاله روش‌های روتین و روش‌های جدید تشخیص توکسوپلاسموز بررسی و مقایسه شده اند. حساسیت، ویژگی و کاربرد هر کدام از این تست‌ها مورد بحث قرار گرفته است.

واژگان کلیدی: توکسوپلاسموز، تشخیص آزمایشگاهی، سرولوژی

مقدمه

توکسوپلاسموز یک عفونت شایع و پراکنده در تمام سطح دنیا است. این بیماری توسط یک انگل درون سلولی اجباری از دسته تک یاخته‌ها به نام توکسوپلازما گونده‌ای ایجاد می‌شود [۱]. توکسو پلازما گونده‌ای می‌تواند بیشتر حیوانات خون گرم را آلوده کند و حدس زده می‌شود حدود نیمی از جمعیت جهان را آلوده کرده است. این تک یاخته از شاخه اپی کمپلکسا است، این شاخه در بردارنده انگل‌هایی است که ساختار سلولی پیچیده راسی دارند و دو ارگانل ترشحی منحصر به فرد به نام‌های میکرونم و راپتری در آنها مشاهده می‌شود [۲].

آلودگی به توکسوپلازما گونده‌ای در افراد سالم و با سیستم ایمنی با کفایت معمولاً بدون نشانه است. در صورت بروز، نشانه‌ها شبیه به عفونت مونونوکلئوز شامل لنفادنوپاتی، تب، خستگی، درد عضلات، گلودرد و سردرد می‌باشد. اهمیت این انگل در انسان به دلیل ایجاد سقط جنین یا توکسوپلاسموز مادرزادی؛ توکسوپلاسموز چشمی و انسفالیت‌های توکسو پلازمایی است. زنان باردار اگر در زمان حاملگی برای اولین بار به این انگل مبتلا شوند، توکسوپلاسموزیس حاصله ممکن است به مرگ جنین و سقط آن منجر شود و یا باعث بروز مشکلاتی جنینی مانند معلولیت و ناهنجاری‌های جسمی روانی جنین، آسیب‌های عصبی، و چشمی گردد. در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی آلودگی به این انگل و یا فعال شدن مجدد آن ممکن است باعث ایجاد نشانه‌هایی مانند آبسه مغزی، انسفالیت، پنومونی و عفونت منتشر شده و به مرگ این بیماران منتهی شود [۱].

انسان از طریق خوردن آب و سبزیجات آلوده به اوسیست دفع شده همراه مدفوع گربه، خوردن گوشت حاوی کیست نسجی به عفونت مبتلا می‌شود. عفونت مادرزادی، اهدای عضو و انتقال خون و همچنین نوشیدن شیر خام آلوده به تاکی زوئیت از روش‌های دیگر انتقال آلودگی است [۳]. به نظر می‌رسد فرهنگ غذایی و عادت به خوردن مواد و فرآورده‌های گوشتی به صورت خام یا نیمه پز نقش مهمتری در انتقال آلودگی به انسان داشته باشد.

توکسوپلاسموزیس به دو شکل حاد و مزمن مشاهده می‌شود. در طول مرحله حاد عفونت، که به نام توکسوپلاسموز اکتسابی معروف است تاکی زوئیت‌های انگل سریعاً در سلول‌های سیستم رتیکیو اندوتلیال تکثیر شده و بیماری حاد به وسیله این فرم از انگل ایجاد می‌گردد. به دنبال مرحله حاد، که معمولاً با علائم مختصری همراه است، تاکی زوئیت‌های انگل در بافت‌های میزبان پراکنده می‌شوند و فرم کیستی انگل را در ارگان‌های متفاوت خصوصاً مغز، قلب و عضلات اسکلتی ایجاد کرده و باعث به وجود آمدن مرحله نهفته و مزمن می‌شوند. عفونت در افراد با سیستم ایمنی سالم و با کفایت یک بیماری خود محدود شونده است اما منجر به باقی ماندن دائمی و مادام العمر انگل به صورت کیست‌های نسجی در بدن می‌شود [۴]. با ایجاد آلودگی نهفته و مزمن در بدن، فرد در برابر ابتلا مجدد برای همیشه مصون می‌گردد. آلودگی مزمن با این انگل یکی از شایع‌ترین عفونت‌های انگلی انسان است. در

افرادی که آلودگی نهفته دارند و به بیماری‌هایی مانند ایدز یا سرکوب سیستم ایمنی مبتلا می‌شوند ممکن است پاره شدن کیست‌ها و به دنبال آن تکثیر و افزایش تعداد تاکی زوئیت‌ها باعث فعال شدن مجدد عفونت شود. این فعال شدن مجدد توکسوپلازما گونده‌ای معمولاً باعث بروز انسفالیت توکسوپلاسمایی و مرگ بیمار می‌شود [۵]. عفونت در افراد با سیستم ایمنی با کفایت معمولاً بدون نشانه است، اما ممکن است باعث توکسوپلاسموز چشمی و نیز بیماری تهدیدکننده حیات در جنین و نوزادان شود که حاصل از عفونت اولیه مادر و یا عفونت ناشی از فعال شدن مجدد انگل‌های خفته در بیماران با سیستم ایمنی ناقص باشد [۳].

طبق پژوهش‌های انجام شده میزان‌های متفاوتی از شیوع آلودگی مزمن و بدون علائم به این انگل در انسان و حیوانات گزارش شده است، برای مثال براساس مطالعه انجام شده در مصر ۱۲٪ از افراد دارای آنتی‌بادی ضد توکسوپلازما بودند و میزان شیوع در خانم‌ها بیشتر از آقایان بوده است و در مجموع شیوع وجود ایمنوگلوبولین ضد توکسوپلازما در زنان باردار حدود ۱۶٪ بوده است [۶]. مطالعات سرولوژی شیوع آلودگی به توکسوپلازما را از ۷/۵٪ تا ۹۵٪ در نقاط مختلف نشان داده است که این تنوع بیانگر تأثیر عواملی همچون نوع اقلیم، فرهنگ غذایی، میزان آگاهی بهداشتی مردم از توکسوپلازما می‌باشد [۷]. شیوع آلودگی انسان به توکسوپلازما گونده‌ای در شهرهای مختلف ایران نیز مورد بررسی قرار گرفته است، برای مثال ۳۲٪ افراد بررسی شده در کرمان [۸]، ۴۰٪ در ساری [۹]، ۸۶٪ در کاشان [۱۰] و ۳۶-۹۰٪ در تهران [۱۱ و ۱۲] دارای آنتی‌بادی بر علیه این تک یاخته بوده‌اند. آلودگی حیوانات نیز در شهرهای مختلف بررسی شده که آلودگی گربه‌ها در اهواز ۲۵٪ [۱۱]، ارومیه ۳۵٪ [۱۳] و در ساری ۴۰٪ [۹] و آلودگی گوسفند و بز در مناطق مختلف ایران به طور میانگین به ترتیب ۲۵٪ و ۲۰٪ [۱۴] بوده است. ابتلای گربه‌ها در ایران بیشتر از مقادیر جهانی بوده و بیشترین گوشت‌های آلوده به کیست انگل به ترتیب مربوط به گوسفند، بز، مرغ و گاو است [۱۵].

در ایران تعداد بسیار زیادی گربه در کوچه، خیابان و اماکن انسانی پر سه می‌زنند. این حیوان با دفع اووسیت سلامت عمومی انسان و حیوانات را به خطر می‌اندازد [۱۱]. مطالعه‌ای که در منطقه شکیرا در مصر انجام شد ۵۰ نمونه مدفوع گربه گرفته شد و نمونه‌ها از نظر حضور انگل‌های روده‌ای بررسی شدند. بیشترین میزان آلودگی در نمونه‌ها مربوط به توکسوپلازما بوده است [۶]. آلودگی گربه‌ها به این تک یاخته در کاشان ۸۶٪ است [۱۰].

عوارض بیماری و اهمیت تشخیص به موقع:

بیماری توکسوپلاسموز در پزشکی و دامپزشکی و نیز از نظر اقتصادی درخور اهمیت زیادی است زیرا توکسوپلاسموز انسانی می‌تواند منجر به سقط یا بیماری شدید و تهدیدکننده حیات (مانند انسفالیت، رتینیت و میوکاردیت) در جنین‌های در حال تکوین و نیز در بیماران نقص ایمنی شود. اگر چه امروزه داروهای در دسترس تا حدودی می‌توانند توکسوپلاسموز را درمان کنند، اما این داروها در بیماران دارای نقایص ایمنی خصوصاً در مبتلایان به ایدز بسیار کم تحمل می‌شوند، از طرفی داروهای مذکور اثرات جانبی شدید دارند و نیز در درمان عفونت مزمن کاربرد ندارند. به علاوه اخیراً مقاومت در برابر بعضی از این داروها گزارش شده است [۵].

توکسوپلاسموز از نظر اقتصادی و دامپزشکی نیز اهمیت دارد زیرا می‌تواند باعث ایجاد سقط جنین و زایمان زودرس در دام‌ها و حیوانات کشتارگاهی گردد. فلدمن و میلر اولین کسانی بودند توکسوپلاسموزیس را در بزها با آزمایش چارپایان ایالت نیویورک گزارش کردند. از آن زمان این بیماری به عنوان یک عامل مهم در مشکلات تولید مثل گوسفندان و بز در کشورهای مختلف شناخته شده است. عفونت توکسوپلازما گونده‌ای می‌تواند باعث مرگ جنین و سقط در سنین متفاوت بارداری شود. مطالعات نشان می‌دهد توکسوپلاسموزیس مشکل مهمی در ارتباط با گوسفند ایجاد می‌کند به طوری که سالیانه حدود ۱/۴ تا ۴/۷ میلیون دلار ضرر مالی در بر دارد. ماندي و ماسون برای اولین بار توکسوپلاسموزیس را به عنوان یک عامل مهم در عدم تولید مثل بزها معرفی کردند. علی‌رغم اطلاعات کم، به نظر می‌رسد توکسوپلازما از نظر کلینیکی زیان‌های بیشتری به این حیوانات می‌رساند [۱۶].

در مطالعات ۲۰ سال گذشته تأثیرات مختلفی از این بیماری انگلی بر روی بدن انسان بیان شده است. برای مثال توکسوپلاسموزیس نهفته خطر شیذوفرنی و بیماری پارکینسون را افزایش می‌دهد که بر روی رفتار و شخصیت انسان تأثیر می‌گذارد، عملکرد عصب و عضله را مختل می‌کند، خطر خودکشی و تصادفات رانندگی را افزایش

می‌دهد و باعث افزایش احتمال تولد نوزاد پسر می‌شود [۱۷-۱۹]. براساس گزارشات، فعال شدن سیستم ایمنی احتمالاً نقش مهمی در بسیاری از اثرات مشاهده شده از عفونت توکسوپلازما ایفا می‌کند. برای مثال، گفته شده است اشکال در سیستم ایمنی تا حدودی مسؤول ارتباط مشاهده شده میان توکسوپلازموزیس و شیزوفرنی است [۱۱، ۱۹]. همچنین بسیاری از اثرات رفتاری مشاهده شده در توکسوپلازموزیس ممکن است ناشی از افزایش میزان دوپامین در بافت مغز باشد که در پاسخ به تولید IL-۲ توسط سلول‌های ایمنی در محل التهابات منطقه‌ای مغز آلوده مشاهده می‌شود. به طور مشابه، اثر توکسوپلازموزیس نهفته بر تولید مثل انسان نه فقط باعث افزایش احتمال تولد نوزاد پسر می‌شود بلکه بر روی احتمال تولد کودک با سندروم داون و نیز طول دوره بارداری اثر می‌گذارد [۱۱]. فرضیه سرکوب سیستم ایمنی اشاره می‌کند که توکسوپلازما شدت بعضی مکانیزم‌های کنترل کیفیت جنین تازه تشکیل شده را کم و سدهای دفاعی جفت را از بین می‌برد که این مسأله باعث انتقال بیماری از مادر آلوده به جنین در عفونت‌های مادرزادی می‌شود [۴].

با توجه به اهمیت بیماری و مطالب بیان شده فوق تشخیص سریع و به موقع این بیماری خصوصاً در زنان باردار که قبلاً با این انگل برخورد نداشته و از نظر وجود آنتی‌بادی اختصاصی در سرم منفی هستند و نیز در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی، حائز اهمیت زیادی است. غربالگری بیماری باید در اولین زمان ممکن در ابتدای بارداری اتفاق بیافتد و آخرین تست آن در زمان زایمان انجام شود. برنامه غربالگری باید بتواند عفونت در سه ماهه اول، دوم و سوم بارداری را تشخیص دهد زیرا خطر انتقال انگل از مادر به جنین و نتایج حاصل از عفونت آن در زمان‌های مختلف بارداری متفاوت است [۲۰].

روش‌های تشخیصی توکسوپلازموزیس

در توکسوپلازموزیس، رسیدن به تشخیص به موقع و قطعی از طریق انجام همزمان روش‌های سرولوژی، کشت و PCR حاصل خواهد شد.

روش‌های سرولوژی تشخیص توکسوپلازموزیس:

در تشخیص توکسوپلازموزیس روش‌های سرولوژیک بیشترین کاربرد را دارد تمام روش‌های سرولوژیک توکسوپلازما در آزمایشگاه‌های مرجع و آزمایشگاه‌های دانشگاهی و نیز در بعضی مؤسسات خصوصی قابل انجام است. تشخیص عفونت توکسوپلازما گونده‌ای معمولاً با جداسازی آنتی‌بادی IgG و IgM اختصاصی در خون انجام می‌شود، اما این تست نمی‌تواند زمان عفونت را دقیقاً تخمین بزند تا بتوان خطر عفونت مادرزادی جنین را برآورد و پیشگیری نمود [۷]. تمام موارد مشکوک یا در معرض خطر، ابتدا توسط اندازه‌گیری آنتی‌بادی IgG اختصاصی علیه توکسوپلازما غربالگری می‌شوند و مواردی که سطح بالای IgG دارند، به وسیله تست الایزا برای بررسی وجود و تیتراسیون IgM (که برای تشخیص توکسوپلازموزیس حاد زودهنگام بهینه شده است) و تست ثبوت مکمل (CF)، در رقت‌های بین ۱:۴ تا ۱:۱۰۲۴ مورد بررسی قرار می‌گیرند. موارد IgM منفی و IgG مثبت در روش الایزا به عنوان توکسوپلازموزیس مزمن و مربوط به زمان گذشته، شناخته می‌شوند [۴] در حالی که نتیجه IgM مثبت و IgG مثبت یا منفی نشان‌دهنده عفونت حاد است. در صورتی که نتیجه بررسی وجود هر دو ایمنوگلوبولین منفی باشند فرد بدون آلودگی است. لازم به ذکر است در انجام این آزمایشات توجه به نتایج مثبت کاذب و منفی کاذب اهمیت به سزایی دارد.

تست رنگی سابین-فلدمن (Dye Test) [۲۱]، روش‌های مرتبط با آنزیم نظیر IgM ELISA [۲۲]، IgA ELISA [۲۳]، ELISA IgE [۲۴]، روش آگلوتیناسیون (ISAGA) IgE [۲۵] و تست آگلوتیناسیون افتراقی [۲۵] سایر تست‌های سرولوژیک مورد استفاده در تشخیص هستند. تست رنگی سابین-فلدمن و روش ایمنوفلورسانس IFAT که نیازمند تاکی زوئیت‌های سالم هستند حساسیت و اختصاصیت بیشتری در مقایسه با روش‌های لاتکس آگلوتیناسیون، هم‌آگلوتیناسیون و الایزا دارند، زیرا در حین عفونت اولین افزایش قابل توجه IgM و IgG در برخورد با آنتی‌ژن‌های سطحی انگل ایجاد می‌شود [۲۶] که با این دو روش خصوصاً تست رنگی سابین-فلدمن قابل شناسایی و اندازه‌گیری است. روش‌های سرولوژیک روتین، تشخیص توکسوپلازموزیس با حساسیت بالا را فراهم می‌کنند، اما اختصاصیت آنها بسته به نوع تست مورد استفاده متفاوت است [۷].

همچنین کیت الایزا برای جداسازی IgG ضد توکسوپلازما به منظور تعیین اختصاصیت به عنوان تست غربالگری استفاده شده است. از این تست برای تعیین و شناسایی موارد مثبت کاذب روش لاتکس آگلوتیناسون نیز استفاده شده است [۲۷]. با توجه به مطالعاتی که قبلاً با این روش انجام شده است مشاهده شده که تکنیک الایزا از لحاظ مراحل انجام، پیچیدهتر از لاتکس آگلوتیناسیون است، اما استفاده از روش‌های ادغامی IgG و IgM در آن می‌تواند تعداد نمونه‌های فرستاده شده به آزمایشگاه‌های مرجع و زمان صرف شده برای به دست آوردن نتایج نهایی را کاهش دهد [۲۷].

در میان تست‌های قابل اطمینان، تست IgG Avidity زمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد که نمونه سرم فرد در اولین ماه‌های بارداری در دسترس است، اما نتایج Avidity با عیار پایین ممکن است تا یک سال باقی بماند [۲۶].

IgG avidity

پیشرفت روش‌های IgG avidity تشخیص سرولوژیک عفونت توکسوپلازما را متحول کرده است. اندازه‌گیری IgG avidity قدرت این تست را در زمینه‌های کلینیکی متفاوت، خصوصاً در شرایطی که تعیین زمان و تفاوت میان عفونت اولیه و ثانویه بسیار سخت است را نشان می‌دهد. به هر حال هیچ تست آزمایشگاهی به تنهایی تأییدکننده عملکرد خود نیست، بنابراین انتخاب استراتژی تشخیص، ترکیب استفاده از روش‌های با کیفیت بالای برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی‌های IgG، IgM، و IgA و IgG avidity است. نتیجه اندازه‌گیری IgG Avidity در پنج زمینه قابل تفسیر است: عفونت حاد اکتسابی، عفونت اولیه در حین بارداری، توکسوپلاسموزیس مادرزادی، توکسوپلاسموزیس چشمی و عفونت توکسوپلازما در بیماران نقص ایمنی [۲۸].

بررسی IgG Avidity اختصاصی توکسوپلازما به عنوان تست تأییدی در زنان باردار:

تست (Vitek Immuno Diagnostic Assay System) VIDAS

اندازه‌گیری IgG Avidity توکسوپلازما به صورت روش دو مرحله‌ای آنزیم-ساندویچ به همراه روش جداسازی فلوروسنت نهایی (VIDAS Toxo- IgG Avidity kit) انجام می‌شود. در این تکنیک، روش ایمنی آنزیمی (enzyme immunoassay)

با روش جداسازی فلوروسانس که از آنتی‌بادی IgG/IgM مونوکلونال انسانی نشانه دار شده با آلکالین فسفاتاز استفاده می‌کند، ادغام شده است [۷، ۲۹]. این تست به وسیله ماشین تمام خودکار VIDAS انجام می‌شود که به صورت اتوماتیک آزمایش را انجام داده و نتیجه را تفسیر می‌کند.

تست IgG Avidity به منظور کمک به تمایز میان عفونت حاد اخیر و عفونتی که در گذشته اتفاق افتاده است، کاربرد پیدا کرده است. این تست شامل ۶ استریپ حاوی اوره برای جداسازی IgG با تمایل کمتر از مراکز اتصال آنهاست. فقط آنتی‌بادی‌های با تمایل بالا برای گیرنده به صورت باند شده به فاز جامد باقی می‌مانند. نسبت میان تعداد آنتی‌بادی‌های با قدرت اتصال و تمایل بالا (در استریپ‌های تست) به تعداد کل آنتی‌بادی‌ها (کل استریپ‌ها) شاخصی را فراهم می‌آورد که تمایل آنتی‌بادی‌ها به نمونه را مشخص می‌کند [۷]. در تفسیر نتایج، عیار کمتر از (۰/۲) نشان تمایل کم آنتی‌بادی است که معمولاً در عفونت اولیه حاد با توکسوپلازما دیده می‌شود، عیار (۰/۲ تا ۰/۳) نشان تمایل متوسط است که در عفونت‌هایی که حداقل در ماه گذشته اتفاق افتاده است دیده می‌شود، عیار بالاتر از (۰/۳) نشان تمایل بالایی است و معمولاً گویای این است که عفونت در ۱۶ هفته اخیر نبوده است و مربوط به قبل از آن است. سازنده کیت توضیح داده است که در این روش، یک نتیجه Avidity بالا در ۱۶ هفته اول بارداری قادر است احتمال عفونت حاد اخیر در طی بارداری را منفی اعلام کند [۲۹].

در مقایسه با روش PCR، تست تمایلی VIDAS ابزاری کاربردی برای تشخیص عفونت اخیر توکسوپلاسموز در کسانی است که IgM منفی و low- Avidity بوده و یا IgM مثبت و High- Avidity هستند، این تست دارای اختصاصیت حدود ۸۵ تا ۱۰۰٪ است. در نتیجه تست تمایل VIDAS زمانی که به همراه اندازه‌گیری IgG/IgM

انجام شود، تکنیکی ارزشمند برای تعیین احتمال عفونت حاد حاضر و یا اخیر توکسوپلازما گونده‌ای در زنان باردار در سه ماه ابتدایی حاملگی به شمار می‌رود. این امر به طور قابل توجهی پیگیری و مداخلات درمانی غیرضروری را کاهش می‌دهد [۷]. ارزش کیت VIDAS IgG Avidity زمانی است که همزمان با (TSP serological profile) Toxoplasma به منظور تشخیص عفونت اخیر انجام شود، خصوصاً زمانی که فقط یک نمونه سرم در دسترس است [۲۹]. بررسی ارزش تست تمایل IgG در زنان بارداری که مقادیر بالارونده تیتر آنتی‌بادی در طول بارداری از آنها گزارش شده است، نشان می‌دهد که زنان با نتایج تمایل بالایی آنتی‌بادی، حداقل در ۶ تا ۵ ماه گذشته با توکسوپلازما آلوده شده‌اند که این زمان از تمایلات کم تا زیاد آنتی‌بادی بسته به نوع روش مورد بررسی متغیر است. چون تمایل پایین آنتی‌بادی ممکن است برای ماه‌ها باقی بماند، حضور آن به تنهایی نمی‌تواند نشان از عفونت حاد اخیر باشد [۲۹]. ثابت شده است که تست VIDAS Avidity برای تشخیص عفونت توکسوپلازموز اخیر در افراد IgM مثبت بسیار حساس و اختصاصی است [۲۷]، به هر حال در نمونه‌های حاوی آنتی‌بادی‌های با تمایل کم یا متوسط و افراد IgM منفی، تست VIDAS IgG avidity اگر به تنهایی انجام شود گمراه‌کننده است [۷، ۳۰].

یک تست IgM مثبت به دست آمده از یک نمونه سرم احتمالاً نشان‌دهنده یک عفونت حاد است، به هر حال میزان کمی از آنتی‌بادی IgM اختصاصی توکسوپلازما ممکن است مدت‌ها باقی بماند و منجر به یک تفسیر اشتباه شود. در حال حاضر یک تست حساس برای آنتی‌بادی IgM اختصاصی توکسوپلازما و همزمان اندازه‌گیری میزان Avidity IgG آن، بیشترین ارزش تشخیصی را به منظور تعیین زمان عفونت دارد [۷، ۳۱].

تست Avidity نشان‌دهنده یک روش تأییدی فرعی است و زمانی کاربردی‌تر خواهد بود که آنتی‌بادی‌های با تمایل بالا در زنان IgM مثبت و همچنین IgM منفی با تمایل پایین اندازه‌گیری شود. در بعضی مطالعات گفته شده است که تست تمایل یا Avidity تست نباید به عنوان تست تأییدی در زنان باردار با IgG و IgM مورد استفاده قرار گیرد زیرا احتمال دارد، آنتی‌بادی با تمایل کم یا متوسط حاصل، اشتباه تفسیر شود [۷].

در فرانسه تست‌های سرولوژیک منظم در زمان بارداری هر ماه یا هر سه ماه انجام می‌شود، در صورت عدم انجام تست‌های سرولوژیک منظم در حین بارداری، مثلاً در ایالات متحده که متخصصین معمولاً فقط یک نمونه گرفته شده در یک زمان تصادفی حین بارداری را ارسال می‌کنند، نتیجه تست به دست آمده از این یک نمونه نمی‌تواند زمان بروز عفونت در طول بارداری را مشخص کند و در بهترین حالت زمان عفونت فقط تخمین زده می‌شود [۲۸]. در ایالات متحده، تشخیص قطعی عفونت حاد و زمان وقوع آن، به علت عدم انجام آزمایشات غربالگری منظم و استفاده از تنها یک نمونه سرم برای آزمایش، چندان دقیق نیست. در مطالعاتی که در اروپا انجام شده است، بسته به روش به کار گرفته شده، وجود ایمونوگلوبین G ضد توکسوپلازما با تمایل بالا نشان از عدم بروز عفونت در ۳ تا ۵ ماه اول بارداری دارد. در این کشورها از کیت VIDAS برای اندازه‌گیری تمایل IgG استفاده می‌شود که بروز عفونت در ۴ ماه اخیر را اثبات یا رد می‌کند [۲۹]. در ایران استفاده از تست تمایل آنتی‌بادی رواج نیافته و فقط در مطالعات پژوهشی و محدود استفاده شده است.

تست رنگی سابین-فلدمن:

این روش به طور خلاصه براساس سیتولیز وابسته به آنتی‌بادی تاکی زوئیت زنده توکسوپلازما گونده‌ای است. در صورت وجود آنتی‌بادی در سرم و مجاورت آن با انگل زنده و کمپلمان در دمای ۳۷ درجه به علت تغییرات ایجاد شده در انگل، رنگ متیلن بلو نمی‌تواند در آن نفوذ کند. به دلیل اختصاصیت و حساسیت بالا، تست رنگی همچنان به عنوان روش مرجع برای تشخیص سرمی توکسوپلازموزیس شناخته می‌شود [۳۲]. روش کیفی دیگر که حساسیت و اختصاصیت زیادی در تشخیص توکسوپلازما گونده‌ای دارد، تست آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) است. نتایج کیفی حاصل از تست سابین-فلدمن (DT) و تست DAT بسیار به هم نزدیک هستند و ۹۸٪ یکدیگر را تأیید می‌کنند. تفاوت میان تیتر در این دو روش اغلب مربوط به تفاوت در مدت زمان ابتلا فرد به عفونت است. در جریان یک عفونت حاد (اخیر) عیار تیتر در تست DAT معمولاً کمتر از تیتر DT است؛ اما در یک عفونت قدیمی یا مزمن، تیتر DAT بالاتر از DT است. بنابراین، اگر آنتی ژن تست DAT در دسترس باشد، برای استفاده به عنوان تست غربالگری

بسیار ایده‌آل بوده و روشی ساده و ارزان برای مراقبت از زنان سرم منفی در طول دوران بارداری و همچنین جداسازی افراد seroconversions محسوب می‌شود [۲۵].

Direct agglutination test و سایر روش‌های اندازه‌گیری آنتی‌بادی ضد توکسوپلازما گونده‌ای:

تست آگلوتیناسیون مستقیم حساسیت کمتر ولی اختصاصیت بیشتری نسبت به تست لاتکس آگلوتیناسیون دارد. آگلوتیناسیون مستقیم روشی جایگزین برای لاتکس آگلوتیناسیون به عنوان تست غربالگری توکسوپلاسموز است. تست لاتکس آگلوتیناسیون به طور گسترده در کنار dye test به منظور کاهش نتایج اشتباه مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۳]. مطالعات گذشته مناسب بودن این روش به عنوان تست غربالگری را مورد تأیید قرار داده‌اند اما وجود تعداد قابل توجه نتایج مثبت کاذب را نیز ثبت کرده‌اند [۳۴، ۳۵]. بعضی مطالعات به ارزیابی عملکرد تست آگلوتیناسیون مستقیم در جداسازی آنتی‌بادی ضد توکسوپلازما گونده‌ای و مقایسه آن با تکنیک لاتکس آگلوتیناسیون پرداخته‌اند. در واقع، آگلوتیناسیون مستقیم تعداد مثبت‌های کاذب بیشتری نسبت به لاتکس آگلوتیناسیون دارد و باید به عنوان روشی فرعی در تشخیص عفونت توکسوپلازما نسبت به لاتکس آگلوتیناسیون در نظر گرفته شود [۳۳]. البته همچنان گفته می‌شود که روش Dye test حساسیت و اختصاصیت بیشتری در تشخیص توکسوپلاسموز نسبت به این دو روش دارد [۳۳].

تست آگلوتیناسیون تغییر یافته (MAT)

:Modified agglutination test

اساس این تست، آگلوتیناسیون مستقیم تاکی زوئیت‌های فیکس شده با نمونه سرم قبل از درمان همراه با ۲ مرکاپتواتانل (2ME) برای حذف IgM است [۲۵]. آنتی‌ژن این تست، تاکی زوئیت کامل توکسوپلازما است که در فرمالین فیکس شده است (Formalin-fixed whole tachyzoites) و در مجاورت سرم نمونه قرار می‌گیرد. تیتراهای بیشتر از ۱:۲۰ به عنوان مثبت تلقی می‌گردد [۲۵].

روش‌های مولکولی در جداسازی ساختمان انگل:

روش‌های مولکولی وجود انگل را براساس آنتی‌ژن‌های آن و یا قطعه‌ای از ژنوم اثبات می‌کند. استفاده از روش‌های بیولوژی و مولکولی برای تشخیص ساختمان‌های انگل به منظور شناسایی و توصیف آن در حال افزایش است. روش‌های مولکولی به شکل روزافزونی در تشخیص، درمان و مطالعات اپیدمیولوژی بیماری‌های انگلی که در سراسر جهان مردم را درگیر می‌کند، کاربرد یافته و به کاهش شیوع و کنترل مرگ‌ومیر در اثر بیماری‌های انگلی کمک شایانی می‌کند [۳۶]. در دهه اخیر، چندین تست مولکولی برای جداسازی و شناسایی انگل‌ها ابداع شده است. اختصاصیت و حساسیت آنها به تدریج افزایش یافته و انگل‌هایی که در گذشته تشخیص آنها بسیار مشکل بود، امروزه با استفاده از روش‌های مولکولی آسان‌تر تشخیص داده می‌شوند. در نتیجه اکنون این انگل‌ها قبل از ایجاد مشکلات حاد در افراد آلوده، به راحتی درمان می‌شوند [۳۶]. در ادامه چند روش مولکولی مورد استفاده برای تشخیص انگل‌ها خصوصاً توکسوپلازما گونده‌ای توضیح داده خواهد شد.

روش‌های تشخیصی مولکولی برای شناسایی انگل توکسوپلازما شامل: PCR، RAPD، AFLP، RFLP، روش نشانگر

microsatellite، تکنولوژی لومینسانس براساس xMAP، LAMP و روش جدید Real Time PCR است [۳۶]. از آنجایی که روش‌های مولکولی بسیار حساس و اختصاصی هستند، به نظر می‌رسد جایگزین مناسبی برای روش مستقیم میکروسکوپی باشند، با این وجود روش مستقیم میکروسکوپی هنوز به عنوان روش استاندارد طلایی در شناسایی انگل‌ها به شمار می‌آید [۳۶]. مزیت روش‌های سنتی جداسازی انگل، هزینه کمتر همراه با استفاده کمتر از تجهیزات و معرف‌ها و محلول‌های گران‌قیمت است. علاوه بر آن، این تکنیک‌ها می‌توانند زمانی که یک فرد آشنا به میکروسکوپ در دسترس است، به راحتی انجام شوند.

(Polymerase Chain Reaction (PCR):

مهمترین کاربرد PCR فراهم آوردن امکان تکثیر یک قطعه انتخابی از یک ژنوم پیچیده است [۳۶]. این تکنیک روش‌های جایگزینی را به منظور جداسازی پاتوژن‌های اختصاصی در نمونه‌های مختلف نظیر مدفوع فراهم می‌کند. روش‌های مبتنی بر PCR همچنین می‌توانند با تکنیک‌های دیگر مانند RFLP یا nested PCR و سکوانسینگ برای بررسی ژنوتایپینگ ارگانیزم‌ها ادغام و تکمیل شوند. حساسیت جداسازی عوامل انگلی با روش PCR بیشتر از روش میکروسکوپ نوری است، بنابراین روش PCR برای جداسازی تعداد کم انگل در نمونه‌ها کاربرد دارد [۳۶].

علیرغم مزیت تکنیک‌های مبتنی بر PCR، مانند اختصاصیت و حساسیت بالا در جداسازی بعضی انگل‌ها، مهم‌ترین عیب روش‌های PCR زمان بر بودن و عدم ایجاد اطلاعات کمی است. البته اخیراً پیشرفت در این تکنیک‌ها منجر به ابداع روش‌های کمی مانند real-time PCR گردیده است. جداسازی پاتوژن، نمود و بروز ژن‌ها و تمایز اللی از دیگر کاربردهای PCR است [۳۶].

مطالعات گذشته نشان داده‌اند که PCR می‌تواند عفونت توکسوپلازما گونده‌ای را در نمونه خون زنان قبل از حاملگی یا در طول آن نشان دهد [۳۳]. بر این اساس وجود DNA توکسوپلازما گونده‌ی در خون مادر احتمال یک عفونت جدید یا پارازیتی واضح را نشان می‌دهد که این موضوع از نظر کلینیکی اهمیت دارد [۳۴]. با توجه به حساسیت و ویژگی بالایی این تست در جداسازی عفونت اخیر توکسوپلازما در ابتدای حاملگی [۳۵]، استفاده از روش nested-PCR برای نشان دادن ماده ژنتیکی انگل، در زمان کمتری اطلاعات مورد نیاز را به دست می‌دهد [۷]. PCR همچنین در جداسازی عفونت توکسوپلازما از بافت مغز، مایع مغزی نخاعی، مایع لافز برونش‌ها و خون در بیماران مبتلا به ایدز مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج به دست آمده در بعضی مطالعات، استفاده از PCR در تشخیص توکسوپلازما در نمونه خون این بیماران را توصیه می‌کند [۳۴].

انجام آزمایش PCR بر روی نمونه خون، به نظر می‌رسد روشی حساس برای تشخیص توکسوپلازما منتشره و مغزی باشد و یک تشخیص PCR مثبت مارکر مناسبی از فعال شدن مجدد کیست‌های توکسوپلازما در مبتلایان به ایدز است. به علاوه، این روش می‌تواند وسیله‌ای مناسب برای مانیتورینگ درمان باشد. مطالعاتی به منظور تعیین دقیق‌تر زمان لازم برای منفی شدن تست PCR پس از درمان این افراد در حال اجرا است [۳۴]. جداسازی اسید نوکلئیک توکسوپلازما در بافت‌های مغز، نشانگر سودمند بودن استفاده از روش PCR در جداسازی انگل از بیوپسی بافت مغز است [۳۷].

Restriction	Fragment	Length	Polymorphism
--------------------	-----------------	---------------	---------------------

(RFLP):

تکنیک RFLP یکی از معمول‌ترین روش‌های مولکولی مورد استفاده برای تشخیص گونه‌ها و ژنوتیپ انگل‌هایی چون توکسوپلازما گونده‌ای است [۳۶، ۳۸]. این تکنیک ابتدا برای تشخیص تغییرات در سطح DNA استفاده می‌شده است [۳۶]. تکنیک RFLP برای بررسی نمونه‌های مختلف موجود در طبیعت بسیار مناسب است؛ زیرا امکان جداسازی ژنوتیپ‌های چندگانه و بررسی پلی مرفیسم ژنی در نمونه‌های مشابه را فراهم می‌کند [۳۶].

Real-Time Polymerase Chain Reaction:

با این تکنیک قادر به مشاهده پیشرفت PCR در هر بازه زمانی هستیم. Real Time یک سیستم تکثیری آسان، سریع و اتوماتیک است که به عنوان عاملی برای کاهش خطر آلودگی در PCR مرسوم استفاده می‌شود [۳۶]. استفاده از Real Time-PCR به راحتی وجود نوکلئیک اسید در نمونه‌های محیطی مانند بافت را تأیید می‌کند و میزان آلودگی و یا وجود انگل را تخمین می‌زند. علیرغم هزینه‌های بالا Real Time-PCR که ممکن است مانع از استفاده این تکنیک در شرایط و امکانات کم شود، مزیت ویژگی عملکردی و نتیجه سریع، ضامن استفاده آن به عنوان ابزار تشخیصی در عفونت‌های انگلی خصوصاً توکسوپلازما می‌باشد [۳۶].

استفاده از روش Real Time-PCR به عنوان یک متد حساس برای شناسایی توکسوپلازما گونه‌ای در نمونه های انسانی و حیوانی ثابت شده است [۳۶]. این روش برای تشخیص این انگل کاربرد زیادی پیدا کرده است. Real Time-PCR روشی سریع، حساس و کمی برای جداسازی توکسوپلازما در نمونه‌های کلینیکی است و به نظر بسیاری از مؤلفان، در بیماران مبتلا به ایدز که به طور عمومی افزایش سطح ایمونوگلوبولین M و G را ندارند، کاربرد تشخیصی دارد [۳۶، ۳۹].

استفاده از روش PCR در تشخیص توکسوپلازما در نمونه ادرار:

با توجه به انجام این روش در چند پژوهش محدود و نتایج به دست آمده از آنها، می‌توان این روش را روشی مناسب در تشخیص توکسوپلاسموز دانست. در یکی از این پژوهش‌ها، با استفاده از نمونه ادرار و بررسی آن به روش PCR، ابتلاء مادر به توکسوپلاسموزیس فعال را مشخص نموده و سپس با استفاده از روش PCR موارد ابتلاء جنین به توکسوپلاسموزیس را نیز بررسی و تعیین نموده‌اند که نتایج PCR آنها هم مثبت بوده است [۴۰].

Loop - Mediated Isothermal Amplification (LAMP):

LAMP روشی با حساسیت و ویژگی بسیار بالا برای شناسایی و تکثیر اسید نوکلئیک است [۳۶]. این تکنیک توانایی افزایش تعداد کمی کپی مواد ژنتیکی را به ۱۰۸۹ عدد در کمتر از یک ساعت دارد [۳۶، ۴۰]. LAMP قادر است تولید DNA را با اختصاصیت و سرعت بالا در شرایط ایزوترمال انجام دهد. استفاده از تجهیزات ساده، LAMP را به ابزاری در دسترس برای آزمایشگاه‌های کوچک، خصوصاً در مناطق آندمیک روستایی تبدیل کرده است؛ بنابراین به نظر می‌رسد به ابزاری امیدبخش تبدیل شود [۳۶]. اخیراً، انگل‌شناسان تکنیک LAMP را برای جداسازی و شناسایی بسیاری از انگل‌ها همچون کریبتوسپورییدیوم، آنتاموبا هیستولیتیکا، پلاسمودیوم، تریپانوزوم، تنیا، شیسستوزوما، فاسیولا هپاتیکا و فاسیولا ژایگانیتیکا و توکسوپلازما گونه‌ای و انگل‌های حیوانی مانند تیلریا و بابزیا کاربردی کرده‌اند [۳۶، ۴۱].

بر اساس مطالعه Lau و همکاران، با استفاده از این روش جداسازی توکسوپلازما گونه‌ای در خون انسان با حساسیت بالاتر از ۸۵٪ انجام می‌شود که این بیشتر از ارزش تشخیصی Nested PCR (۶۲/۵٪) است، ویژگی هر دو روش ۱۰۰٪ بوده است. ساده بودن، حساسیت و ویژگی بالا، LAMP را به روشی مناسب برای تشخیص روئین عفونت فعال توکسوپلاسموز انسانی تبدیل کرده است [۴۲].

تکثیر ژن، کشت سلولی و تلقیح نمونه به موش:

مهم‌ترین و معتبرترین روش‌های تشخیص توکسوپلاسموز قبل از تولد، عبارتند از: PCR، تلقیح نمونه به موش حساس آزمایشگاهی و تکنیک کشت سلولی بر روی نمونه‌های مایع آمنیوتیک، خون جنین و خون محیطی مادر در زنان باردار با تست سرولوژیکی مثبت [۴۳ و ۴۴]. در این بخش سه روش مورد استفاده در جداسازی توکسوپلازما را با هم مقایسه می‌کنیم. انجام آزمایشات PCR (ژن‌های B1، SAG-1، rDNA) بر روی مایع آمنیوتیک از هفته ۱۸ بارداری، بسیار حساس‌تر و سریع‌تر از پروسه تشخیصی معمول است [۲۶]. ژن B1 توکسوپلازما در خون خرگوش‌های آلوده به وسیله PCR جداسازی شده است. کلون سازی ژن در نمونه تمام خرگوش‌های آلوده و ۶۰٪ نمونه‌های مثبت تلقیح شده به موش، انجام شده است [۴۳]. کشت سلولی کمترین حساسیت ولی بیشترین کاربرد را دارد و روشی در دسترس و گسترده برای جداسازی پارازیتی توکسوپلازما گونه‌ای است. جداسازی و تکثیر ژن روش‌های حساس‌تری نسبت به کشت سلولی هستند و ممکن است در آزمایشگاه‌های کلینیکی به عنوان تکنیک پیشرفته‌تر و خودکار مورد استفاده قرار گیرد [۴۳]. طبق نتایج مطالعه JOHN و همکاران حساس‌ترین روش شناسایی آلودگی، تلقیح به موش است که در این بررسی ۲۰ مورد از موارد مورد مطالعه در حیوان آزمایشگاهی مثبت گردید. در حالیکه فقط ۸ مورد در کشت سلولی و ۱۲ مورد به وسیله کلون کردن ژن مثبت بوده‌اند. تمام نمونه‌های مثبت شده با روش کشت سلولی و کلون ژنی، به وسیله تلقیح به موش نیز مثبت بوده‌اند [۴۳]. مطالعات بافت‌شناسی نمونه‌های

بیولوژیکی نشان می‌دهد تشخیص میکروسکوپی در نمونه‌های بافتی کم انگل زیاد قابل اعتماد نیست، در این صورت تلقیح به موش قابل اعتمادترین روش است حتی اگر جداسازی کیست در مغز موش نیاز به ۴۰ روز زمان داشته باشد. البته تاکی زونیت سویه‌های بیماری‌زا را می‌توان ۳-۴ روز بعد از تلقیح به حیوان آزمایشگاهی از ترشحات صفاق جدا کرد [۲۶]. کشت سلولی که بیشتر در آزمایشگاه‌های کلینیکی ویروس شناسی برای ایزوله کردن ویروس‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد در اینجا نیز کاربرد دارد. تکنیک آنتی‌بادی فلوروسنت غیر مستقیم زمانی که پارازیتی مورد تردید است و یا وقتی اثرات سیتوپاتیک در کشت سلولی مشاهده می‌شود می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر اینکه روش آنتی‌بادی فلوروسنت غیرمستقیم حساس‌تر است، تلقیح به موش نیازمند شرایط نگهداری، بررسی آنتی‌بادی و کشتن حیوان است که برای آزمایشگاه‌های کلینیکی ممکن نیست [۴۳]. تلقیح نمونه به کشت سلولی نیازمند آزمایشگاه‌های تخصصی است و اگر در اثر اتولیز بافتی بقای انگل حفظ نشود این روش با شکست روبرو خواهد شد [۲۶].

تلقیح به موش در ۶۲٪ و کلون سازی ژن و PCR در ۳۷٪ موارد مثبت است. DNA زیاد مانع انجام واکنش PCR می‌شود و محققان تنها قادر به انجام PCR در یک‌دهم میزان خون مورد نیاز برای تلقیح به موش شده‌اند. هر دو روش وابسته به تکثیر هستند، اما رشد انگل در یک موش آلوده همراه با تولید آنتی‌بادی یا ایجاد بیماری است که می‌تواند مؤثرتر از تکثیر به وسیله PCR باشد. کشت سلولی کمترین میزان حساسیت را برای جداسازی پارازیتی توکسوپلازما گونده‌ای در میان سه تکنیک مورد بررسی دارا است و تنها برای ۲۵٪ نمونه‌های کلینیکی و ۴۰٪ کل نمونه‌های مثبت شده با روش تلقیح به موش ممکن است مثبت شود. روش کشت سلولی برای شناسایی پارازیتی توکسوپلازما در انسان به خوبی قابل استفاده است و زمانی که تعداد برابر تاکی زونیت خالص مستقیماً به کشت سلولی وارد شود یا به موش تلقیح شود، حساسیت آن به اندازه تلقیح به موش است. تصور می‌شود لکوسیت‌ها و یا دیگر مواد موجود در نمونه‌های کلینیکی حساسیت روش کشت سلولی را کاهش می‌دهد [۴۳].

PCR از نظر تکنیکی بسیار سخت‌تر، زمان‌بر و گران‌تر است. بنابراین کشت سلولی در آزمایشگاه‌های کلینیکی تکنیک عملی‌تر و در دسترس‌تر برای تشخیص پارازیتی توکسوپلازما است [۴۳]. در مطالعاتی که از PCR قطعه ای از ژن AB1 برای تشخیص سقط با توکسوپلازما استفاده شده است و انگل را در نمونه جفت جدا کردند، حساسیتی مشابه با روش تلقیح به موش برای این تکنیک گزارش نموده‌اند [۲۶]. بهینه‌سازی مراحل استخراج، کلون‌سازی و پرورده جداسازی ممکن است حساسیت واکنش را به میزان یافتن یک انگل در ۱۰۰۰۰۰ سلول انسانی بالا ببرد. ۳۵ تکرار از ژن AB1 در ماده ژنتیکی یک انگل توکسوپلازما باید در میزان ۶۶۰ نانوگرم DNA انسانی (تقریباً میزان ۱۰۰۰۰۰ سلول) قابل شناسایی قرار گیرد. این نتایج نشان می‌دهد PCR ژن AB1 توکسوپلازما می‌تواند جایگزین مناسب برای سایر روش‌های زمان‌بر و غیر مستقیمی باشد که هم اکنون در حال انجام است. ارزیابی این روش در شرایط کاملاً کنترل شده برای نمونه‌های کلینیکی کاملاً ضروری است [۴۵]. به نظر می‌رسد DNA انگل را می‌توان مستقیماً در بافی کوت خون محیطی یافت و جداسازی کرد. از آنجایی که توکسوپلازما به مونوسیت‌ها حمله می‌کند می‌توان با تلقیح بافی کوت به موش نیز آنرا جداسازی کرد [۴۵]. به هر حال در نمونه‌های حیوانی PCR نمونه خون حساس‌تر از کشت بافت یا تلقیح به موش بوده است [۳۳, ۴۲, ۴۶].

کشت بافت:

اگر چه تشخیص قطعی نیازمند جداسازی تاکی زونیت توکسوپلازما گونده‌ای در مقطع بافتی مغز است، اما بیوپسی از مغز ابزاری تهاجمی برای استفاده روتین است. حساسیت جداسازی انگل از خون به وسیله کشت بافت و یا تلقیح به موش قابل بررسی است و نیاز به راه‌های جایگزین اختصاصی و حساس وجود دارد. در بیماران توکسوپلازموز مغزی، تشخیص به وسیله PCR حساسیت (۷۰٪) بسیار بالاتر نسبت به کشت بافتی (۸٪) دارا بوده است [۳۴].

نتیجه: وجود روش‌های متعدد تشخیصی انگل توکسوپلازما گونده‌ای و استفاده از شیوه‌های متفاوت، امکان تشخیص با حساسیت و اختصاصیت بالا را فراهم می‌آورد. در این میان روش‌هایی مانند الایزا با داشتن مراحل ساده، می‌تواند عفونت را با دقت نسبتاً بالایی نشان دهد. تست IgG Avidity به منظور کمک به تمایز

میان عفونت حاد اخیر و عفونتی که در گذشته اتفاق افتاده است کاربرد یافته است. این تست برای تشخیص صحیح و به موقع توکسوپلاسموز در زنان حاملگی بسیار مناسب است. تکنیک‌های مولکولی به علت هزینه‌های بالا و نیاز به افراد آموزش دیده در برنامه‌های تحقیقاتی کاربرد بیشتر داشته و کمتر در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی انجام می‌شود.

کیست نسجی توکسوپلازما گونه‌ای در بافت مغز موش آزمایشگاهی

نتایج مثبت (تاکی زونیت‌های سبز براق) و منفی (تاکی زونیت‌های قرمز) در آزمایش سرم به روش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم

مراجع

- 1- Fong MY, Wong KT, Rohela M, et al. Unusual manifestation of cutaneous Toxoplasmosis in a HIV-positive patient. *Trop Biomed* 2010; 27: 447-450.
- 2- Suzuki Y. Immunopathogenesis of Cerebral Toxoplasmosis. *J Infect Dis* 2002;186:S234-40.
- 3- Goebel S, Gross U, Lüder C.G.K. Inhibition of host cell apoptosis by *Toxoplasma gondii* is accompanied by reduced activation of the caspase cascade and alterations of poly (ADP-ribose) polymerase expression. *J Cell Sci* 2001;114:3495-3505.
- 4- Flegr J, Striz I. Potential immunomodulatory effects of latent Toxoplasmosis in humans. *BMC Infect Dis* 2011;11(1):274.
- 5- Blader IJ, SAEIJ JP. Communication between *Toxoplasma gondii* and its host: impact on parasite growth, development, immune evasion, and virulence. *APMIS* 2009;117:458-476.
- 6- Awadallah M.A.I. Endoparasites of Zoonotic Importance. *Global Veterinaria* 2010;5(6): 348-355.

- 7-Iqbal J, Khalid N. Detection of acute Toxoplasma gondii infection in early pregnancy by IgG avidity and PCR analysis. *J Med Microbiol* 2007;56:1495–1499.
- 8- Akhtardanesh B, Ziaali N, Sharifi H, Rezaei S. Feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus and Toxoplasma gondii in stray and household cats in Kerman-Iran: seroprevalence and correlation with clinical and laboratory findings. *Res Vet Sci.* 2010; 89(2):306-310.
- 9- Sharif M, Daryani A, Nasrolahei M, Ziapour SP. Prevalence of Toxoplasma gondii antibodies in stray cats in Sari, northern Iran. *Trop Anim Health Prod* 2009;41(2):183-187.
- 10-Hooshyar H, Rostamkhani P, Talari S, Arbabi M. Toxoplasma gondii Infection in Stray Cats. *Iranian J Parasitol* 2007; 2(1):18-22.
- 11- Mosallanejad B, Avizeh R, Razi Jalali MH, Pourmehdi M. A study on seroprevalence and coproantigen detection of Toxoplasma gondii in companion cats in Ahvaz area, southwestern Iran. *Iran J Vet Res* 2011;12(2):139-144.
- 12- Arbabi M, Farzadfar H, Hooshyar H. Prevalence of Toxoplasma gondii infection in single women referring to Kashan health centers (2007-2008). *Daneshvar* 2009;16(38):7-12. (In Persian)
- 13- Raeghi S, Sedeghi S, Sedeghi S. Prevalence of Toxoplasma gondii antibodies in cats in Urmia, northwest of Iran. *J Anim Plant Sci* 2011; 21(2):32-134.
- 14- Hashemi-Fesharki R. Seroprevalence of Toxoplasma gondii in cattle, sheep and goats in Iran. *Vet Parasitol* 1996; 61(1):1-3.
- 15- Mostafavi N, Jalali Monfared L. Toxoplasmosis Epidemiology in Iran: A Systematic Review. *J Isfahan Me Sch* 2012; 30(175):74-88. (In Persian)
- 16- Garcia G, Sotomaior C, do Nascimento AJ, Navarro IT, Soccol VT. Toxoplasma gondii in goats from Curitiba, Paraná, Brazil: risks factors and epidemiology. *Rev Bras Parasitol Vet* 2012;21(1): 42-47.
- 17- Fekadu A, Shibre T, Cleare AJ. Toxoplasmosis as a cause for behaviour disorders-overview of evidence and mechanisms. *Folia Parasitologica* 2010;57(2): 105-113.
- 18-Kankova S, et al. Women infected with parasite Toxoplasma have more sons. *Naturwissenschaften* 2007; 94(2):122-127.
- 19- Yolken RH, Dickerson FB, Fuller Torrey E. Toxoplasma and schizoprenia. *Parasite Immunol* 2009; 31(11):706-715.
- 20- Sagel U, Kramer A, Mikolajczyk R. Blind periods” in screening for toxoplasmosis in pregnancy in Austria—a debate. *BMC Infect Dis* 2012; 12(1):118.

- 21- Sabin AB, Feldman HA, Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (Toxoplasma). Science 1948;108(2815):660-663.
- 22-Naot Y, Remington J. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to Toxoplasma gondii: use for diagnosis of acute acquired Toxoplasmosis. J Infect Dis 1980;142(5):757-766.
- 23-Stepick-Biek P, Thulliez P, Araujo FG, Remington JS. IgA Antibodies for Diagnosis of Acute Congenital and Acquired Toxoplasmosis. J Infect Dis 1990;162(1):270-273.
- 24-Wong SY, et al. Role of specific immunoglobulin E in diagnosis of acute Toxoplasma infection and Toxoplasmosis. J Clin Microbiol 1993;31(11):2952-2959.
- 25- Dannemann BR, Vaughan WC, Thulliez P, Remington JS. Differential agglutination test for diagnosis of recently acquired infection with Toxoplasma gondii. J Clin Microbiol 1990;28(9):928-1933.
- 26- Piergili FD. Problems and limitations of conventional and innovative methods for the diagnosis of Toxoplasmosis in humans and animals. Parassitologia 2004;46(1-2):177.
- 27-Petersen E, et al. European multicenter study of the LIAISON automated diagnostic system for determination of Toxoplasma gondii-specific immunoglobulin G (IgG) and IgM and the IgG avidity index. J Clin Microbiol 2005;43(4):1570-1574.
- 28-Lappalainen M, Klaus H. Serodiagnosis of Toxoplasmosis. The impact of measurement of IgG avidity. Ann Ist Super Sanita 2004; 40(1):81-88.
- 29- Montoya JG, Liesenfeld O, Kinney S, Press C, Remington JS. VIDAS test for avidity of Toxoplasma-specific immunoglobulin G for confirmatory testing of pregnant women. J Clin Microbiol 2002;40(7):2504-2508.
- 30- B Lecolier, Pucheu B. Value of the study of IgG avidity for the diagnosis of Toxoplasmosis. Pathol Biol 1993; 41(2):155-159.
- 31- Press C, Montoya JG, Remington JS. Use of a single serum sample for diagnosis of acute toxoplasmosis in pregnant women and other adults. J Clin Microbiol 2005;43(7):3481-3483.
- 32- Sukthana Y, et al. Prevalence of Toxoplasmosis in selected populations in Thailand. J Trop Med Parasitol 2000;23:53-58.
- 33- Elisabeth C, Lachaud L, Crobu L, Bastien P. Comparison of two widely used PCR primer systems for detection of Toxoplasma in amniotic fluid, blood, and tissues. J Clin Microbiol 2004; 42(4):1719-1722.
- 34- Dupouy-Camet J, LAVAREDA S, MASLO K, et al. Detection of Toxoplasma gondii in venous blood from AIDS patients by polymerase

- chain reaction. J Clin Microbiol 1993; 31(7): 866-1869.
- 35- Guy EC, Joynson DH. Potential of the polymerase chain reaction in the diagnosis of active Toxoplasma infection by detection of parasite in blood. J Infect Dis 1995;172(1): 319-322.
- 36- Tavares RG, Staggemeier R, Borges ALP, et al. Molecular techniques for the study and diagnosis of parasite infection. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis 2011;17:239-248.
- 37- Holliman RE, Johnson JD, Savva D. Diagnosis of cerebral Toxoplasmosis in association with AIDS using the polymerase chain reaction. Scand J Infect Dis 1990;22(2): 243-244.
- 38- Quan JH, Kim TY, Choi IU, Lee YH. Genotyping of a Korean isolate of Toxoplasma gondii by multilocus PCR-RFLP and microsatellite analysis. Korean J Parasitol 2008; 46(2):105-108.
- 39- Costa M, et al. Real-time PCR for diagnosis and follow-up of Toxoplasma reactivation after allogeneic stem cell transplantation using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes. J Clin Microbiol 2000;38(8):2929-2932.
- 40- Asmar M, Mansouri F, Razavi MR. Diagnosis of congenital prenatal Toxoplasmosis using urine samples with PCR method. Iran J Trop Infec Dis 2004;9(27):12-18. (In Persian)
- 41- Mori Y, Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. J Infect Chemother 2009;15(2):62-69.
- 42- Lau YL, et al. Specific, sensitive, and rapid diagnosis of active toxoplasmosis by a loop-mediated isothermal amplification method using blood samples from patients. J Clin Microbiol 2010;48(10):3698-3702.
- 43- Hitt J A, Filice G A. Detection of Toxoplasma gondii parasitemia by gene amplification, cell culture, and mouse inoculation. J Clin Microbiol 1992; 30(12):3181-3184.
- 44- Hooshyar H, Rostamkhani P, Arbabi M. Study on growth of Toxoplasma gondii tissue cyst in laboratory mouse. Jundishapur J Microbiol 2009;2(4):140-143.
- 45- Burg JL, Christopher T, Grover M, et al. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, Toxoplasma gondii, by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1989; 27(8):1787-1792.

46-Joss AWL, Chatterton JMW, Evans R, Yen DO. Toxoplasma polymerase chain reaction on experimental blood samples. J Clin Microbiol 1993;38(1):38-43.