تشخیص
آزمایشگاهی
Tashkhis
Azmayeshgahi
سال سیزدهم
آذر - دی
۱۳۸۹
شماره ۶۹

توکسوپلاسموزیس در سندروم TORCH

سمیرا الیکائی / کارشناس ارشد انگل شناسی
معصومه سراج / کارشناس علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران- مرکز طبی کودکان

Abstract

Toxoplasmosis in TORCH syndrome

Infectious of mother to some congenital disease lead to congenital disorders that called TORCH syndrome such as Toxoplasmosis, Rubella, Cytomegalovirus (C.M.V(, Herpes simplex virus and any other infections (Syphilis ,HIV, Hepatitis B , ...).

C.M.V is the most important of congenital infections but toxoplasmosis is the most prevalent of these. Toxoplasmosis infection with or with out symptoms is important in medicine, because in the first infectious of pregnant female parasites may transfer from planceta to afterbirth and lead to congenital disease with Severe neurotic and ocular disorders and sometimes makes aborsement .

For diagnosis of toxoplasmosis use several methods. Observation of parasite in the excision biopsy, injection of infectious tissue to sensitive laboratory animals and immunological surveys of specific antibodies with antigens in the serum and any fluid in the body and serological tests in diagnosis of toxoplasmosis such as Dye-test, Complement fixation, Indirect hemagiotinasion (IHA) & Indirect immuno florescent antibody (IFA). Now IgM-Elisa test is used as a sensitive method for diagnosis of congenital toxoplasmosis.

PCR amplification is also used to detect T. gondii DNA in body fluids and tissues. It has been successfully used to diagnose congenital, ocular, cerebral and disseminated toxoplasmosis.

For treatment of toxoplasmosis various drugs are used such as Pyrimethamine, Spiramycin for pregnant females and Clindamycin for ocular toxoplasmosis.

ابتلا مادر به برخی از عفونت ها در دوران حاملگی باعث بروز ناهنجاری های مادرزادی می شود. این عفونت ها که تحت عنوان سندرم TORCH شناخته می شوند شامل توکسوپلاسموزیس (Toxoplasmosis)، سرخجه (Rubella)، سیتومگالوویروس (C.M.V) ، هرپس ویروس سیمپلکس (H.S.V) و برخی عفونت های دیگر (سیفلیس، HIV ، هپاتیت B و...) می باشد.

سیتومگالوویروس مهمترین عفونت داخل رحمی در انسان است که به دنبال عفونت ویرمی مادر از راه خون در بدن جنین منتشر می شود و ممکن است موجب ناشنوائی، عقب ماندگی ذهنی و رتینوکوروئیدیت بشود.

آلودگی با ویروس سرخجه محدود به انسان و از سراسر جهان گزارش شده است. این ویروس از راه تنفس از شخصی به شخص دیگر منتقل می شود و می تواند عامل کوری، از دست دادن شنوائی و عقب ماندگی ذهنی باشد .

آلودگی نوزاد با H.S.V که معمولا در هنگام زایمان رخ می دهد ممکن است منجر به عفونت خارجی پوست، چشم و دهان ، عفونت سیستم اعصاب مرکزی (آنسفالیت) و یا انتشار عفونت به ارگانهای مختلف مثل مغز، کبد و ریه بشود بیشترین علت مرگ و میر نوزادان با ویروس H.S.V نیز به دلیل عفونت منتشره و بشترین علائم مربوط به 2-H.S.V می باشد.

اما توکسوپلاسموزیس شایع ترین عفونت از این گروه است. این بیماری توسط تک یاخته توکسوپلاسما گوندی که در شاخه اپی کامپلکسا قرار می گیرد، ایجاد می شود. بر اساس مطالعات سرم شناسی تخمین زده می شود که یک سوم جمعیت بالغ بیشتر کشور های جهان به این انگل آلوده باشند. معمولا سیر تکاملی انگل در دو میزبان نهایی (گربه و گربه سانان) و دیگری واسط (اکثر مهره داران خونگرم) انجام می گیرد. انسان و سایر مهره داران خونگرم با مصرف مواد آلوده به اواوسیست رسیده انگل و یا کیست نسجی آن آلوده می گردند.

فراوانی کیست های نسجی توکسوپلاسما در گوشت حیوانات (گوسفند ۲۵-۱۰ درصد، خوک ۲۵ درصد و گاو به میزان کمتر) و دفع و پخش اواوسیست های انگل همراه با مدفوع تقریبا یک درصد گربه های آلوده در مناطق مختلف جهان را باید دال بر انتشار وسیع این انگل تک یاخته در دنیا ذکر کرد.

عفونت توکسوپلاسمایی به شکل نهفته و بدون علائم یا همراه با نشانه های بالینی در پزشکی از اهمیت بالایی برخوردار است . زیرا در آلودگی های بار اول نزد زنان باردار ممکن است انگل از جفت عبور کرده به جنین منتقل شود و موجب بیماری مادرزادی همراه با ضایعات شدید دستگاه اعصاب مرکزی و چشم گردد و گاهی باعث مرگ جنین شده و منجر به سقط آن شود.

توکسوپلاسما گونده ای می تواند در زنان بارداری که دچار عفونت اکتسابی شده اند و در دوره حاد بیماری (زمانی که پارازیتمی وجود دارد) می باشند ازجفت عبور کرده و جنین را آلوده نماید. انتقال انگل از مادر به جنین معمولا زمانی اتفاق می افتد که مادر در دوره بارداری برای بار اول آلوده شده باشد.

زنان سالم از نظر ایمنی که قبل از حاملگی عفونت حاد توکسوپلاسما را گذرانده باشند و یا مادران سالمی که یک فرزند توکسوپلاسموزی به دنیا آورده اند می توانند اطمینان داشته باشند که در حاملگی جدید نوزاد آلوده به دنیا نخواهند آورد.

در چهره بالینی توکسوپلاسموز مادرزادی عواملی مانند ویرولانس سویه انگلی ، تعداد ارگانیسمی که از مادر به جنین منتقل می شود و دوره ای از حاملگی که مادر آلوده شده است نقش دارند.

چنانچه آلودگی مادر به توکسوپلاسما در سه ماهه اول بارداری پیش آید ، احتمال عبور انگل از جفت و آلوده شدن جنین کم است (۲۰-۱۵ درصد) ولی اگر انگل از جفت عبور وجنین را آلوده نماید می تواند باعث آسیب های شدید دستگاه عصبی جنین شده و مرگ داخل رحمی و سقط به دنبال داشته باشد.

اگر مادر در سه ماهه سوم بارداری به توکسوپلاسموز آلوده شود، در بیشتر موارد (۶۵ درصد) انگل از جفت عبور کرده و جنین را آلوده می کند ولی عفونت نوزادان در اکثر موارد (۹۰ درصد) بدون علائم بالینی است.

نوزادان توکسوپلاسموزی ممکن است با مجموعه ای از علائم و نشانه های مختلف مانند تب، بیورات جلدی، بزرگی طحال و کبد،یرقان،پوریورا و آسیب های دستگاه اعصاب مرکزی به ویژه هیدروسفالی و یا میکروسفالی ، کلسیفیکاسیون مغز و کوریورتینیت به دنیا آیند.

توکسوپلاسموز چشمی در بیشتر موارد در تعقیب عفونت های مادرزادی در دومین یا سومین دهه عمر بروز می کند،ضایعات بیشتر به بخش خلفی چشم محدود می شوداول شبکیه و بعد مشیمیه زیر آن دچار ضایعه می شود.

برای تشخیص توکسوپلاسموز از روش های مختلفی استفاده می شود.

الف: مشاهده توکسوپلاسما در نسج بیوپسی شده (با روش ایمونوسایتوکمیکال)

ب : تلقیح نسج آلوده (بیوپسی یا نمونه تهیه شده در اتوپسی) به حیوانات آزمایشگاهی حساس (موش سفید کوچک آزمایشگاهی)

ج : بررسی های ایمنولوژیک آنتی بادی اختصاصی یا آنتی ژن در سرم و مایعات بدن

د:بیوپسی غدد لنفاوی وبررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک مشخص آن یکی از روش های مفید در تشخیص بیماری است.

با روش های رنگ آمیزی متداول ، ارگانیسم عامل بیماری به ندرت در نسج دیده می شود اما با استفاده از رنگ آمیزی فلورسنت آنتی بادی در برخی موارد انگل مشاهده شده است .

ه: بررسی مولکولی با ردیابی DNA توکسوپلاسما گونده ای با استفاده از روش PCR

Polymerase chain reaction یا PCR روشی است که با تکثیر DNA انگل توکسوپلاسما ، آن را در مایعات بدن وبافت ردیابی می کنند.

استفاده ازاین روش درتشخیص توکسوپلاسموز مادرزادی ، چشمی، مغزی و منتشره بسیار موفقیت آمیز بوده است. انجام تستPCR برروی مایع آمنیوتیک انقلابی درتشخیص زود هنگام ابتلا جنین به عفونت توکسوپلاسمایی بوده و موجب اجتناب از انجام سایر روشهای تهاجمی بر روی جنین شده است.

به طور کلی PCR به دو منظور اصلی بکار می رود :

۱ - تهیه ی نسخه های متعدد از یک ژن

۲ - بررسی حضور یا عدم حضور یک ژن خاص در یک قطعه DNA .

برای انجام DNA ، PCR یا RNA الگوپرایمر ها، توکلئوتید ها ، آنزیم DNA پلیمرازیا همان Taq پلیمرازو وجود شرایط بافری مناسب و یون منیزیم لازم است.

در اینجا DNA از انگل خارج شده و برای PCRمورد استفاده قرار می گیردبخش هدف برای تکثیر، ژن B1 است . با افزایش دما تا ۹۴ درجه سانتی گراد دو رشته DNA از هم باز شده و با پایین آوردن دما تا حدود ۵۲ درجه سانتی گراد پرایمرها به سکانس مکملشان بر روی DNA متصل شده و با افزایش دما تا حدود ۷۲ درجه سانتی گراد با استفاده از توکلئوتیدهای موجود در محیط و آنزیم Taq پلیمراز، حدواسط بین دوپرایمراز روی DNA الگو ساخته می شود و این پروسه به منظور تکثیرو بر حسب تعداد زنجیره مورد نیاز چندین بار تکرار می شود.

برای دیدن قطعات تکثیر شده DNA می توان براحتی از الکتروفورز برای ژل آگاروز و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده کرد .

آزمون های سرولوژیک در تشخیص توکسوپلاسموز :

سابین - فلدمن (Dye-test) ، ثبوت مکمل ، هماگلوتیناسیون غیرمستقیم و فلورسنت آنتی بادی غیرمستقیم رایج ترین آزمون های سرولوژیک برای تشخیص توکسوپلاسموز هستند در زمان حاضر آزمون الایزا نیز به عنوان یک روش حساس مورد استفاده قرار می گیرد . برخی از روش های سرولوژیک (به خصوص CF و IHA) به دلیل نیاز به آنتی ژن محلول ، ممکن است به طور ضعیف مثبت ویا حتی منفی باشند و لذا در تشخیص توکسوپلاسموز مادرزادی مفید واقع نمی گردند.

تشخیص توکسوپلاسموز حاد براساس روش های سرولوژیک با مشاهده عیارهای بالارونده آنتی بادی تاییدمیشود زیرا ممکن است عیار آنتی بادی برای سال ها پس از عفونت حاد بالا باقی بماند و تشخیص بیماری تنها براساس یک آزمایش سرولوژیک قطعی نیست.

۱- آزمون سابین- فلدمن :

چنانچه ارگانیسم های زنده به دست آمده از اگزودای صفاق موش را برای یک ساعت در۳۷درجه و در مجاورت سرم طبیعی نگهداری کنند انگل ها متورم شده و با آبی فلیائی شدیداً رنگ می گیرند.
این پدیده اساس آزمون سابین-فلدمن را تشکیل می دهد.انگلهایی که سرم حاوی آنتی بادی در شرایط قبل به آن ها اضافه گردد چروکیده و کوچک گشته ، در اثر عمل آنتی بادی و مکمل لیز می شوند و رنگ آبی متیلن را به خود نمی گیرند.
عیار گزارش شده غلظتی از سرم است که در آن نیمی از ارگانیسم ها کشته نشده (رنگ گرفته) و نیمی دیگر نابود شده اند (رنگ ناپذیر).
تشخیص این دو نوع ارگانیسم با کمک فاز میکروسکوپ به آسانی انجام پذیر است.به دلیل نیاز به ارگانیسم زنده برای انجام آزمون ، خطر ابتلای پرسنل ازمایشگاه وجود دارد و لذا باید دقت کافی به کار رود.

۲- آزمون هماگلوتیناسیون غیرمستقیم :

در این روش گلبولهای سرخ حساس شده با آنتی ژن توکسوپلاسما با اضافه کردن سرم حاوی آنتی بادی های ضد توکسوپلاسما، آگلوتینه می شوند.
آنتی بادی در این آزمایش چندین روز دیرتر از آنتی بادی های مربوط به DT ظاهر می شود و می تواند عیار آن تاحد آزمون قبل بالا رود و ضمنا برای زمان طولانی تری در حد بالا باقی می ماند.
از انجا که آنتی بادی هایی که با روش هماگلوتیناسیون ، ثبوت مکمل یا الایزا تشخیص داده می شوند معمولا در زمان طولانی تری نسبت به آنتی بادی های DT در سرم ظاهر می گردند لذا ارزش کمتری در تشخیص عفونت حاد دارند.
این آزمون ها نقش مهمتری در نشان دادن مرحله مزمن عفونت دارند بخصوص وقتی که امکان تکرار یک ازمون سرولوژیک در بیمار نباشد.
IHA در اغلب موارد توکسوپلاسموز مادرزادی منفی بوده است و لذا برای تشخیص انواع مادرزادی بیماری توصیه نمی گردد.

۳- آزمون ثبوت مکمل :

آنتی بادی های ثبوت مکمل به طور عمده در توکسوپلاسموز اکتسابی مطالعه شده است.این آنتی بادی ها دیرتر از آنتی کورهای مربوط به DT ظاهر می شوند و در مواردی که عیار آزمون ایمونو فلورسانس و یا DT از قبل بالا و ثابت باشد می تواند مفید واقع شود.
یک آزمون ثبوت مکمل منفی که بعدامثبت گردد و یا عیار بالا رونده همراه با عیار بالا وثابت DT نشانه یک عفونت فعال است.
این آزمون ممکن است چند سال پس از ابتلا به عفونت منفی گردد و در برخی موارد برای ده سال نیز مثبت باقی مانده است.
از آنجا که آنتی بادی هایی که با روش هماگلوتیناسیون، ثبوت مکمل یا الایزا تشخیص داده می شوند معمولا در زمان طولانی ترنسبت به آنتی بادی های DT در سرم ظاهر میگردند لذا ارزش کمتری در تشخیص عفونت حاد دارند. این آزمونها نقش مهمتری در نشان دادن مرحله عفونت دارند به خصوص وقتی که امکان تکرار یک آزمون سرولوژیک در بیمار نباشد.

۴-آزمون فلورسنت آنتی بادی غیر مستقیم(IFA):

گر چه اکثر محققان برای این آزمون ارزشی معادل DT از نظر اختصاصی بودن قائل هستند ولی واکنش های مثبت کاذب در برخی از سرم ها که حاوی آنتی بادی های ضد هسته باشند مشاهده می گردد. به این دلیل در بیمارانی که به اختلالات نسوج همبندی(لوپوس منتشر یا آرتریت روما توئید) مبتلا هستند علاوه بر انجام آزمون ایمونوفلورسانس برای تائید وجود بیماری از DT یا IHA باید استفاده شود.عیار آنتی بادی می تواند برای سالها بالا باقی مانده و سپس تدریجا کاهش یابد.
باید توجه داشت که در هر دو روش IFA و DT بسته به آزمایشگاهی که آزمون در آن انجام می شود پاسخ ها می تواند متفاوت باشد.
آزمایش IgM فلورسنت آنتی بادی روشی حساس برای تایید تشخیص توکسوپلاسموز اکتسابی حاد یا مادرزادی است. به دنبال عفونت اکتسابی عیار IgM سریعا افزایش می یابد و به ۱:۱۶۰ یا بیشتر نیز می رسدلذا عیار ۱:۱۶۰ یا بیشتر مثبت تلقی می گردد اما باید توجه داشت که عیارهای کمتر نیز احتمال وجود عفونت فعال را رد نمی کند. وجود فاکتور روماتوئید موجب می شود که آزمایش به طور کاذب مثبت شود.

۵- روش الایزا ELISA:

از حساسترین روش های تشخیصی است. آنتی بادیهای ضد هسته و فاکتور روماتوئید در این آزمایش ایجاد اختلال و پاسخ های مثبت کاذب نمی کند.
آزمایش IgM الیزا در تشخیص توکسوپلاسموز مادرزادی بسیار کاربرد دارد. در تشخیص توکسوپلاسموز مادرزادی مشاهده یادتن کلاس IgM توکسوپلاسما در سرم یا مایع مغزی- نخاعی نوزادان نشاندهنده بیماری فعال است. وجود عیار یادتن IgG بالارونده یا بالا و ثابت در سرم نوزادان نیز عفونت فعال را نشان می دهد.

درمان

برای درمان از داروهای مختلفی از جمله پریمتامین یا داراپریم، در زنان باردار از اسپیرومایسین و در توکسوپلاسموز چشمی از کلیندامایسین استفاده می‌شود.

Referencs

1- Shet A Congenital and Perinatal Infections: Throwing New Light with an Old TORCH. Indian J Pediatr. 2010 Oct 16. (Epub ahead of print)

2- کرم زاده مهدی مرغ، طاهری پناه رعوامل عفونی در سقط مکرر- فصلنامه باروری و ناباروری، بهار ۷۹، ۲۴-۲۵.

3- Jones JL, Lopez A, Wilson M. Congenital toxoplasmosis. Am Fam Phys. 2003. 67: 2131-2138.

4- Miller E, Cradock-Watson JE, Pollock TM. Consequences of confirmed maternal rubella at successive stages of pregnancy. Lancet1982. 2: 781-784.

5- Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, Alford CA, Jr. 1982. Maternal cytomegalovirus infection and perinatal transmission. Clin Obstet Gynecol 25: 563-571.

6- Keeson AM. Management of neonatal herpes simplex virus infection. Paediatr Drugs2001. 3: 81-90.

7- Sauerbrei A, Wutzler P. Herpes simplex and varicella-zoster virus infections during pregnancy: current concepts of prevention, diagnosis and therapy. Part 1: herpes simplex virus infections. Med Microbiol Immunol (Berl) .2007.196: 89-94.

8- ادریسیان غ ح، رضائیان م، قربانی م، کشاورز ح و محبعلی م. 1386. تک یاخته شناسی پزشکی. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تهران. 140-162.

9- S Khurana, R Bagga, A Aggarwal, V Lyngdoh, Shivapriya, K Dkdd, N Malla. Serological screening for antenatal toxoplasma infection in India. ORIGINAL ARTICLE . 2010 . 28 (2) : 143-146

10- Yousefi MR, Sefidgar AA, Mostafazadeh A, Omran SM. Serologic evaluation of toxoplasmosis in matrimonial women in Babol, Iran. Pak J Biol Sci. 2007 May 1;10(9):1550-2.

11- مجله دانشگاه علوم پزشکی. IgG و IgM اخوی م، ح اورمزدی م، فره گزلو ب، یونین ت، ا. مقایسه حساسیت و ویژگی روشهای تشخیصی توکسوپلاسموز براساس سنجش. ایران. زمستان 1386. دوره چهاردهم، شماره 57.

12- Grover CM, Thulliez P, Remington JS, Boothroyd JC. Rapid prenatal diagnosis of congenital Toxoplasma infection by using polymerase chain reaction and amniotic fluid. J Clin Microbiol. 1990 Oct;28(10):2297-301.

13-Dupon M, Cazenave J, Pellegrin JL, Ragnaud JM, Cheyrou A, Fischer I, Leng B, Lacut JY. Detection of Toxoplasma gondii by PCR and tissue culture in cerebrospinal fluid and blood of human immunodeficiency virus-seropositive patients. J Clin Microbiol. 1995 Sep;33(9):2421-6.

14-AR Mesmar, M Rezaian, S Rezaie et al.SSU- rRNA Gene Analysis of Cryptosporidium spp. in HIV Positive and Negative Patients. Iranian J Publ Health.2006. 35(4):1-7

15- Pemley SF, Goebel FD, Remington JS. Detection of Toxoplasma gondii in cerebrospinal fluid from AIDS patients by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol. 1992 Nov;30(11):3000-2.