

## تقييم ثلاثة مواد مخبرية للكشف عن الغلوبولين المناعي IgM النوعي لداء المقوسات (Toxoplasmosis) بطريقة القبط المناعي (Immunocapture)

الدكتور مأمون طيار\*

### □ الملخص □

تمت الدراسة باستعمال ثلاث مواد مخبرية موجودة في الأسواق للكشف عن الغلوبولين المناعي IgM النوعي الخاص بداء المقوسات وهي:

- *Isaga bioMérieux*
- *Toxo IgM - EIA Kit bioMérieux*
- *Toxo M EIA Abbott*

تمت بدراسة 110 عينات مأخوذة من 16 مريضاً أثناء التحول المصلي *séroconversion* و 22 حديث ولادة مصاباً بداء المقوسات القوسية الخلقي، و 20 شخصاً استطعت دراسة تطور الأضداد لديهم في المصل.

كانت نتائج الطرث الثلاثة المستخدمة لكشف IgM النوعي جيدة ولكن مع حساسية كبيرة للـ *Isaga* وخاصة عند بدء الإنتان وتشخيص داء المقوسات الخلقي.

تم كشف الغلوبولين المناعي IgM خلال مدة أطول مما هو عليه في اختبار *Rémington* وبمتابعة تطور الأضداد أظهر أنه بإمكاننا كشفه بعد 18 شهراً من التاريخ المتوقع للإصابة وذلك بطريقة الـ *Isaga* و الـ *EIA*.

\* مدرس في قسم الأحياء الدقيقة - كلية الطب - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

Dr. Maamoun TYAR\*

□ ABSTRACT □

*The commercial reagents (Isaga bioMérieux, Toxo IgM-EIA kit bioMérieux, Toxo M EIA Abbott) for the detection of specific IgM antibodies to toxoplasma were evaluated.*

*One hundred ten sera from sixteen patients undergoing a serconversion, twenty two congenital toxoplasmosis and twenty records concerning the kinetic of antibodies were tested with the three reagents.*

*The detection of specific IgM was found satisfactory with a greater sensitivity for Isaga, particularly at the beginning of infection and for the early diagnosis of congenital toxoplasmosis.*

*Specific IgM were detected during a longer of time than admitted on the basis of the Rémington's test.*

*Several kinetic serologies showed the presence of specific IgM up to eighteen months after the supposed onset of the infection. This was observed either with the Isaga or EIA.*

---

\*Lecturer at the Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Tishreen University, Lattakia, Syria.

## المقدمة:

إن تقييم الطرق المصلية الجديدة يتم بصورة عامة خلال مقارنتها مع طريقة مرجعية، إن حساسية اختبار Rémington (7) لكشف IgM النوعي لداء المقوسات قليلة بالنسبة لكثير من المؤلفين (3.8)، لهذا السبب قمت بدراسة وتقييم ثلاث طرق جديدة لكشفه وهي مطروحة في هذا البحث.

### 1- المواد والطرق المستخدمة:

#### 1- المواد المستخدمة:

قمت باستخدام المواد بحسب النشرة المرافقة والموجودة مع كل مجموعة:

#### 1-1- Toxo Isaga biomérieux (2):

حجيرات صغيرة من البولي سترين محسنة مسبقاً بأضداد وحيدة النسيل موجهة ضد السلسلة  $\mu$  (6) البشرية، الغلوبولين IgM الموجود في المصل يرتبط بها ويكشف التفاعل بواسطة مستضدات نوعية موجهة ضد المقوسات.

إن استخدام تراكيز متزايدة من المستضدات يجعل التفاعل نصف كمي.

تفسر النتائج وفق مشعر كما يلي:

0 ← 5 IgM سلبية

6 ← 8 IgM مشكوك بها

9 ← 12 IgM إيجابي

مصل حديثي الولادة والمصل المأخوذة من الحبل السري تستخدم بتمديد 1/20 عوضاً عن

1/100 المستخدمة في الطرق الأخرى.

#### 1-2- Toxo IgM - EIA Kit biomérieux (2):

حجيرات صغيرة من البولي سترين مسبقاً بأضداد وحيدة النسيل موجهة ضد السلسلة  $\mu$  البشرية، الغلوبولين المناعي IgM الموجود في المصل يرتبط بها ويكشف التفاعل بواسطة مستضدات نوعية موسومة بالفوسفاتاز القلوية.

R هي النسبة بين الكثافة الضوئية المصححة للمصل على الكثافة الضوئية المصححة للعتبة والتي

تسمح لنا بتحديد ما يلي:

$R < 0.7$  IgM سلبية

$0.7 < R < 1.4$  IgM مشكوك بها

$R < 1.4$  IgM إيجابي

مصل حديثي الولادة والمصل المأخوذة من الحبل السري تستخدم بتمديد 1/20 و 1/100.

#### 1-3- Toxo M EIA (Abbott):

كريات صغيرة من البولي سترين محسنة مسبقاً بأضداد وحيدة النسيل موجهة ضد السلسلة  $\mu$  البشرية، الغلوبولين المناعي IgM الموجود في المصل يرتبط بها ويكشف التفاعل نوعياً بواسطة مركب ضد - مستضد موسوم بخميرة البيروكسيداز.

القيمة 1 هي النسبة بين الكثافة الضوئية للمصل على الكثافة الضوئية للشاهد ضعيف الإيجابية والتي

تسمح لنا بتحديد ما يلي:

$1 < 0.04$  IgM سلبية

$0.4 < 1 < 0.5$  IgM مشكوك بها

$1 \leq 0.5$  IgM إيجابي

درست المصل بتمديد 1/100.

#### 2- عينات الدراسة:

قمت بدراسة 110 عينات وزعت كالتالي:

#### 1-2- التحول المصلي:

33 عينة من 16 شخصاً قمت بدراستها حيث تم تأكيد التحول المصلي إما بظهور الغلوبولين

المناعي IgG وإما بالارتفاع الملحوظ في معيارها.

## 2-2- داء المقوسات الخلقي:

37 عينة من 23 حالة داء مقوسات خلقي مؤكدة سريريا أو مخبرياً وذلك بمعايرة IgG النوعي المنتج من قبل حديثي الولادة.

## 2-3- متابعة عيار الأضداد:

40 عينة من 20 شخصاً تعرضوا للعدوى منذ شهرين على الأقل وتمت مراقبتهم خلال 18 شهراً حيث لم يكن هناك ارتفاع ملحوظ بعيار IgG خلال هذه الفترة.

## II - النتائج:

### 1- التحول المصلي:

- لم أستطع كشف IgM النوعي لحالة واحدة فقط وذلك بالطرق الثلاثة المستخدمة (أخذت العينة الأولى على الأغلب بعد التعرض للعدوى بشهرين على الأقل).
- 11 عينة كان IgM النوعي إيجابياً بالطرق الثلاثة المستخدمة حيث كانت الإيجابية كالتالي:
  - 5 عينات إيجابية بعد أقل من شهر من التعرض للعدوى.
  - 3 عينات إيجابية بعد شهر إلى شهرين من التعرض للعدوى.
  - عينتان إيجابيتان بعد 2-3 أشهر من التعرض للعدوى.
  - عينة واحدة إيجابية بع 3-4 أشهر من التعرض للعدوى.
- 4 أربعة عينات أخرى متبقية وموجودة في الجدول رقم (1) كانت إيجابيتها كالتالي:
  - حالتان إيجابيتان بعد أقل من شهر من التعرض للعدوى (رقم 1 و 2).
  - حالة واحدة إيجابية بعد أقل من ثلاثة أشهر من التعرض للعدوى (3).
  - حالة واحدة إيجابية بعد أقل من أربعة أشهر من التعرض للعدوى (4).

جدول رقم (1)

EIA			تاريخ أخذ العينة	رقم الحالة
Abott	bioMérieux	Isaga		
-	-	-	95/4/19	حالة رقم 1
-	-	+	95/9/12	
-	-	+	95/9/20	
-	-	+	95/10/20	
±	-	+	95/9/16	حالة رقم 2
+	+	+	95/9/26	
-	-	-	95/7/17	حالة رقم 3
+	-	+	95/10/3	
-	-	-	95/5/30	حالة رقم 4
-	±	+	95/9/26	

## 2- داء المقوسات الخلقي:

- لم أستطع كشف IgM النوعي في ثلاث حالات وذلك بالطرق الثلاث المستخدمة (مصل حديثي ولادة، ومصل من الحبل السري).
- 7 عينات إيجابية بالطرق الثلاث المستخدمة.
- 5 عينات إيجابية فقط بطريق الـ Isaga.
- بالإضافة إلى ذلك فإن الـ Isaga كانت إيجابية مرتين مع الـ EIA Abott وثلاث مرات مع الـ EIA Biomérieux.

• ثلاث حالات كانت إيجابية فقط بطريقة الـ EIA bioMérieux .  
ملاحظة:

تم تصنيف المرضى وفق مجموعتين:  
المجموعة الأولى: حصلت على المصل بعد الولادة مباشرة وفي الأيام الأولى بعدها (17 إضبارة) جدول رقم (2).  
المجموعة الثانية: حصلت على المصل بصورة متأخرة (أسبوع حتى ستة أشهر بعد الولادة) (6 أضايبير) جدول رقم (3).

جدول رقم (2): مقارنة المواد الثلاث عند حديثي الولادة المصابين بداء المقوسات الخلقي (17 إضبارة) أخذت العينات باكراً.

عدد الحالات السلبية	عدد الحالات المشكوك بها	عدد الحالات الإيجابية	النتائج المواد
17/4	17/1	17/12	Isaga
17/8	-	17/9	EIA bioMérieux
17/9	17/2	17/6	EIA Abbott

جدول رقم (3): مقارنة نتائج الطرق الثلاث لكشف Isaga عند حديثي الولادة (أسبوع حتى 6 أشهر) (6 أضايبير) المصابين بداء المقوسات الخلقي (أخذت العينات متأخراً).

عدد الحالات السلبية	عدد الحالات الإيجابية	النتائج المواد
6/1	6/5	Isaga
6/3	6/3	EIA bioMérieux
6/2	6/3 (+ 1 مشكوك بها)	EIA Abbott

3- متابعة عيار الأضداد:

لخصت النتائج بالجدول رقم (4) حيث صنفت المصول بحسب تاريخ أخذ العينة بعد الإصابة بداء المقوسات بـ :

6-2 أشهر

6-12 شهر

12-18 شهر

جدول رقم (4): استمرار بقاء IgM بعد الإصابة بداء المقوسات المكتسب (40 مصلاً).

النتائج	المدة الزمنية بعد العدوى	أقل من 6 أشهر	6-12 شهر	أكثر من سنة
إيجابية	Isaga EIA bioMérieux EIA Abbott	%93	%73	%97
مشكوك بها	Isaga EIA bioMérieux EIA Abbott	%7	%12	%16
سلبية	Isaga EIA bioMérieux EIA Abbott	%-	%15	%5
		%67	%58	%39
		%79	%63	%39
		%17	%19	%17
		%7	%11	%28
		%16	%23	%44
		%14	%26	%33

جدول رقم (5): استمرار بقاء IgM بعد الإصابة بداء المقوسات المكتسب  
'النتائج المفصلة لأربع حالات فقط.'

EIA	مشعر bioMérieux	مشعر Isaga	
0.63 0.60 0.43	1.50 1.10 0.71	11 11 9	حالة رقم 1 الإنتان البدني تموز 95 95/9/9 96/1/13 96/11/24
1.59 1.14 0.52	5.88 5.17 0.40	12 12 9	حالة رقم 2 الإنتان البدني نيسان 94 94/12/19 95/1/2 96/2/1
0.82 0.76 0.78 0.72	2.22 2.05 2.19 1.95	12 12 12 11	حالة رقم 3 الإنتان البدني شباط 95 95/11/24 95/12/8 96/1/2 96/12/9
1.62 0.93 0.51	9.05 3.54 1.16	12 11 8	حالة رقم 4 الإنتان البدني حزيران 95 95/10/4 96/1/17 96/12/30

### III - المناقشة:

خلال الدراسة قمت باختيار حالات تتوافق مع إنتان خلقي أو مكتسب حيث كانت المعطيات السريرية والبيولوجية كافية لتقدير التاريخ المحتمل للعدوى وهذا ما أتاح لي معرفة سرعة الإستجابة المناعية، والمدة الزمنية التي تستطيع بها كشف IgM المصلي، وحساسية مختلف الطرق الأخرى.

• بالنسبة للتحويل المصلي فإن المواد الثلاث المستخدمة تكشف وجود الأضداد من طبيعة IgM ومع ذلك فهناك أربع حالات (الجدول رقم 1) كانت إيجابية بطريقة الـ Isaga بينما لم تكن دائماً بالطرق الأخرى، حيث نلاحظ أن المدة الزمنية بين آخر عينة سلبية والأولى الإيجابية (الحالة رقم 1 و 4) هي أربعة وخمسة أشهر على التوالي وهذا ما يؤكد التناقض السريع لعيار الأضداد من طبيعة IgM المكتشفة بطريقة الـ EIA، أما بالنسبة للحالة رقم (2) فكانت الـ Isaga إيجابية قبل 10-15 يوماً أكثر إيجابية من الـ EIA، والحالة رقم (3) كانت إيجابية بطريقة الـ Isaga والـ EIA Aboott بينما كانت سلبية بطريقة الـ EIA bioMérieux.

• بالنسبة لكشف IgM المصلي عند الإصابة بداء المقوسات الخلقي فإن الـ Isaga كانت أكثر حساسية من الطرق الأخرى، فعندما أخذت العينة عند الولادة فإنها كانت إيجابية في 73% من الحالات مقابل 56% و 38% (جدول رقم 2)، وعندما أخذت العينة بين الأسبوع والستة الأشهر بعد الولادة فإنها كانت إيجابية في

خمس حالات من اصل ست مقابل ثلاث للطرق الأخرى وهذا ما يشير إلى أن معدل IgM يتناقص بسرعة عند حديثي الولادة فقط الطريقة الأكثر حساسية هي التي تسمح لنا بكشفه.

أفضل النتائج لطريقة الـ EIA حصلت عليها بدراسة الشكل الخلفي (5) وهذا ما يوحي بأن تغيير المستحضرات المستضدية أو تمديد المصول يسمح لنا بتحسين حساسية المواد المستعملة بهذه الطريقة:

- تبقى الأضداد من طبيعة IgM بعد الإصابة بداء المقوسات المكتسب عند البالغين لفترة طويلة وهذا على غير ما هو مألوف (4) حيث أنه من الممكن كشفها حتى 18 شهراً بعد الإصابة وهنا أيضاً كانت الـ Isaga أكثر حساسية من الطرق الأخرى، حيث كانت إيجابية بعد سنة من الإصابة في 79% من الحالات مقابل 39% (جدول رقم 4)، مع ذلك يجب أن أتوه إلى أن عدد الحالات المشكوك بها كان مرتفعاً نوعاً ما بالطرق الثلاث وهذا ما يشير إلى استمرار بقاء الغلوبولين المناعي IgM إلى ما بعد المرحلة الحادة من الإبتان.

الدراسة المفصلة لأربع حالات حصلت من خلالها على ثلاث عينات كانت الأخيرة بعد حوالي سنة من بدء الإبتان أظهرت أن تناقص معدل IgM لا يخضع لقانون معين وهكذا:

- الحالة رقم 1: تظهر أن معدل IgM كان قليلاً بعد شهرين من الإبتان البدني وتناقص تدريجياً وبيبطء بحيث أن العينة المأخوذة بعد سنة كانت إيجابية بطريقة الـ Isaga ومشكوك بها بطريقة الـ EIA.
- الحالة رقم 2: استمر بقاء IgM بطريقة الـ Isaga لمدة سنتين بعد الإبتان البدني بينما كانت النتائج سلبية بطريقة الـ EIA biomérieux وإيجابية بطريقة الـ EIA Abbott.
- الحالة رقم 3: استمر بقاء IgM لمدة سنتين تقريباً بعد الإبتان البدني مهما كانت الطريقة المستخدمة.
- الحالة رقم 4: استمر بقاء IgM لمدة طويلة (18 شهراً) بعد الإبتان البدني ولم تكن الـ Isaga أكثر حساسية من الطرق الأخرى.

إذا فزيادة حساسية هذه الطرق والتي نستطيع من خلالها كشف IgM النوعي إلى ما بعد المرحلة الحادة من الإبتان يقودنا إلى أنه علينا أن نفسر بانتباه كبير النتائج الإيجابية للمصول المدروسة بشكل روتيني، فعندما لا يكون لدينا قصة أو أعراض سريرية واضحة فإن كشف IgM النوعي غير كاف لتشخيص الإبتان الفعال أو الإصابة الحديثة فقط الارتفاع الملحوظ في معدل عيار الغلوبولين المناعي IgM النوعي على عينتين بفارق أسبوعين بينهما هو الذي يؤكد ذلك. وعلى العكس فإن الحساسية الجيدة لهذه الطرق المستخدمة تسمح لنا باستبعاد احتمال الإصابة الحديثة وذلك عندما يكون IgM النوعي سلبياً، لذلك فإن أفضل هذه الطرق هي الـ Isaga.

#### التوصيات:

1. يجب علينا اعتماد إحدى الطرق الثلاث المدروسة لكشف IgM النوعي الخاص بداء المقوسات المكتسب وخاصة عند النساء الحوامل اللواتي لا يظهرن أعراضاً سريرية واضحة.
2. إن أفضل هذه الطرق هي طريقة الـ Isaga التي تتميز بإيجابيتها المبكرة جداً وهذا ما يساعدنا على تشخيص داء المقوسات الخلفي وذلك لمعالجة الحالات تحت السريرية حيث تبقى الطرق الأخرى متواضعة ضمن هذا المضمار.
3. يجب علينا أن نفسر بانتباه كبير النتائج الإيجابية للمصول المدروسة بشكل روتيني فعندما لا يكون لدينا قصة أو أعراض سريرية واضحة فإن كشف IgM النوعي غير كاف لتشخيص الإبتان أو الإصابة الحديثة فقط الارتفاع الملحوظ في معدل عيار الغلوبولين المناعي IgG النوعي على عينتين بفارق أسبوعين بينهما هو الذي يؤكد ذلك.

## REFERENCES

## المراجع

1. DEMONTS G. Sur la technique de l'épreuve de lyse des toxoplasmes. Arch Biol Méd., 1995, 31: B 193-B198.
2. DEMONTS G., Naot Y., REMINGTON J.S. - An IgM immuosorbent agglutination assay for diagnosis of infections diseases: diagnosis of acute congenital and acquired toxoplasma infections J. Clin. Microbiol., 1981, 14: 486-491.
3. FILICE G., CARNEVALE G., MERONI V., OLLIARO P., GAGLIARI V., VACCARIE., CAROSI G. - Detection of IgM-anti-toxoplasma antibodies in acute acquired and congenital toxoplasmosis. Boll. Ist. Sieroter Milan, 1984, 63: 454-457.
4. GOBERT J.G., BUFFARD C., CHOCHILLON C. - Diagnostic immunologique de la toxoplasmose chez ls mère et l'enfant. I.S.B., 1985, 11: 188-197.
5. NAOT Y., DESMONTS G., REMINGTON J.S. - IgM enzyme-linked immunosorbent assay test for the diagnosis of congenital toxoplasma infection. J. Pediat., 1981, 98: 32-36.
6. POULETTY Ph., KADOUCHE J., GARCIA-GONZALEZ M., MILHAESCO E., DESMONTS G., THULLIEZ Ph., THOANNES H., PINON J.M. - An antihuman  $\mu$  chain monoclonal antibodies to *Toxoplasma gondii* by reverse imminosorbent assay. J. Immunol. Methods, 1985, 76: 289-298.
7. RMINGTON J.S., MILLER M.J., BROWLER I. - IgM antibodies in acute toxoplasmosis. Diagnostic significance in congenital sases and a method for their rapid demonstration. Rediatrics, 1968, 41: 1082-1091.
8. TRAN MANH SUNG R., RABERTIN H., GARIN J.P. - Intérêt de l'Isaga dans la détection des IgM anti-toxoplasmiques. Bill. Soc. Fr. Parasitol., 1985, 2: 107-110.