قياس مستوى (IgM ,IgG) وبعض معايير الدم لدى النساء المصابات بطفيلي *Toxoplasma gondii* في محافظة النجف الاشرف.

حقي عبد العباس ميسون خضير عبد العباس

المعهد التقني كوفة

Haki1962..@gmail.com

سليم خضير عبد العباس علي كاظم متعب

كلية العلوم جامعة الكوفة المعهد التقني الكوفة

Abstract

The study was conducted on 200 out patients and 30 healthy women to determine the influences of infected with *Toxoplasma gondii* by using of direct agglutination (Latex) then determine levels of (IgG ,IgM) immunoglobulin and some parameter in women infected with *Toxoplasma gondii* in compared with healthy group. Who have visited Al-Sadder medical city and Al-Hakeem Hospital in Al- Najaf Province during the period from January till August 2012. The current study showed that the number and percentage of positive infected samples were 30 (30%).while the positive IgG antibody were 42(70%) and the IgM antibody 18(30%) and this results detection most the infection were in prevision period also the study revealed the less percent of infection (4.7%) was in age 40-49).while the age (10-19) was (11.9%). The results showed significant decrease ($P<0.05$) Hb , RBCs and WBCs in *Toxoplasma gondii* infection patients in compared to control group. Furthermore the results showed serum IgG and IgM were significant increased ($P< 0.05$) in *Toxoplasma gondii* infection patients in compared to control group also this study revealed that concentration of IgG and IgM different with age of infection.

Key words :t oxoplasma gondii parasite

الخلاصة

صممت هذه الدراسة لتحديد الإصابة بطفيلي*Toxoplasma gondii* لدى النساء المشكوك بإصابتها سريرياً في مدينة النجف الاشرف وذلك باستخدام طريقة الفحص بالتلازن المباشر Latex حيث اشتملت الدراسة الحالية على200 حالة مشكوك بإصابتها سريريا و30 حالة من أشخاص غير مصابين ارتادوا مدينة **الصدر** الطبية ومستشفى الحكيم في محافظة النجف الاشرف للمدة من كانون الثاني حتى آب 2012 . أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن عدد العينات التي أعطت نتيجة موجبة كانت (30) عينة من العينات البالغة (200) عينة أي أن نسبة الإصابة حوالي (30%) في حين أن العينات التي أعطت نتيجة موجبة للأضداد IgG (42) عينة أي بنسبة 70% في حين التي أعطت نتيجة موجبة للأضداد IgM بلغت (18) عينة أي نسبة (30%) وهذا يعطي دليل أن غالبية الإصابة كانت من فترة سابقة وان نسبة الإصابة الحديثة اقل بكثير , كما أوضحت الدراسة الحالية أن نسبة الأضداد IgG سجلت أعلى نسبة في الفئات العمرية (30-39) حيث بلغت (21) ونسبة (50%) تلتها الفئة العمرية (20-29) حيث سجلت (14) ونسبة (33.3%) في حين كانت اقل الفئات العمرية هي المحصورة بين (40 - 49) حيث كانت نسبة الإصابة (4.7%) أما الفئة العمرية (10-19) فكانت نسبتها (11.9%). وقد أوضحت الدراسة الحالية وجود نقص معنوي ($P<0.05$) في تركيز الهيموكلوبين في كريات الدم الحمراء لدى المصابات بطفيلي *Toxoplasma gondii*مقارنة مع مجموعة السيطرة .كما أوضحت الدراسة وجود زيادة معنوية($P<0.05$) في كريات الدم البيضاء في النساء المصابات مقارنة بمجموعة السيطرة .

الكلمات المفتاحية : الكوندية المقوسة

المقدمة

داء القطط مرض ينتج عن الإصابة بطفيلي أحادي الخلية يسمى*Toxoplasma gondii*الذي يمتاز بقدرتهُ على الحركة السريعة والنشيطة واختراق أعضاء جسم المضيف (المصاب) حيث يتكاثر في داخل خلايا الأنسجة والأعضاء المختلفة (Alvarado – Esquivel *et al.*,2006) وقد تم اكتشاف هذا الطفيلي من قبل العالم نيكول عام 1908 , ويمكن أن تكون الإصابة بهذا الطفيلي مزمنة , حيث أن أكياس الطفيلي تبقى كامنة في الخلايا لعدة سنوات, وغير معلوم هل أن ضعف المناعة أو الإصابة بأمراض أخرى تكون السبب في إعادة نشاط الطفيلي ويصيب الخلايا ويحدث المرض (Pinlaor,2000) ففي الإنسان قد يؤثر الطفيلي على العديد من أعضاء الجسم المختلفة مسبباً العديد من

الأعراض التي تشمل الجهاز التنفسي وقد تسبب الالتهاب الرئوي والأعراض المضادة تشابه أعراض الأنفلونزا الخفيفة التي تستمر أيام قليلة (Avelino *et al.* 2004).

يُعد داء القطط من الأمراض الطفيلية التي لديها دورة حياة معقده حيث انه يتكاثر جنسياً في القطط لذلك سمي بهذا الاسم . وتستغرق دورة التكاثر في القطط حوالي (3-5) أيام (Remington *et al.*, 2000) تنتقل الإصابة بصورة رئيسية بواسطة الأغذية الملوثة ببراز القطط أو تناول اللحوم غير المطبوخة جيداً أو تناول الحويصلات Oocyst (Tenter *et al*,.2000) . كما أن المريض ضعيف المناعة يمكن أن يصاب بهذا المرض خاصة الذي أجرى له زرع أعضاء , أو مصاب بالايدز . وهذا المرض لا ينتقل عن طريق الاتصال الجنسي .(Dabritz *et al*,2007) , من اخطر الطرق للإصابة بهذا المرض هي انتقاله عن طريق المشيمة إلى الجنين وتكمن الخطورة في الأشهر الأولى من الحمل , مع أن انتقاله في الأشهر الأخرى يعد أكثر بكثير ونسبة انتقاله عبر المشيمة تصل إلى 45% و 60% من هذه الإصابة لا توجد بها أي أعراض وفي 9% تؤدي إلى وفاة الجنين و 30% تحدث تشوهات خلقية للجنين كثيرة ومنها استسقاء الدماغ وزيادة السائل المحيط بالدماغ والتخلف العقلي والصرع وقد تحدث تغيرات في الشبكية والتي تؤدي إلى العمى(Al-deen, 2002). ففي أمريكا تصل نسبة حدوث ذلك إلى 20% أي أن 400-4000 حالة سنوياً .(Jones ,J *et al* ., 2003) لذا في أمريكا ينصح بأجراء الاختبار والتشخيص للمرض قبل الزواج للتأكد من السلامة من هذا المرض (Rorman *et al*.,2006).

أن تشخيص المرض لا يعتمد على الأعراض السريرية بل يتم عن طريق عزل الطفيلي من السوائل الجسمية كالدم والأنسجة كالمشيمة بالإضافة إلى الفحوصات المصلية مثل التلازن واللاتكس Latex agglutination test وفحص ارتباط الخميرة للادمصاص المناعي IgG-ELISA (الخفاف وعبد الله , 2005) . يتضمن فحص التلازن اللاتكس (LATEX) استخدام حبيبات اللاتكس الخاملة المصنوعة من متعدد البولي ستريت المغطاة بمستضد الطور السريع التكاثر الذي يعطي شبكة من معقدات الضد والمستضد عند وجود الأضداد المخصصة له في المصل والتي تتلازن وتترسب خارج المحلول ويتميز هذا الفحص بسهولة اجرائه وكلفته المناسبة وقلة الوقت والجهد اللازمين لإجرائه (Wilson *et al*., 1990) , أما فحص ارتباط الخميرة للادمصاص المناعي IgG-ELISA فيعتمد على معاملة الأضداد الموجودة في مصول المرضى والمرتبطة مع المستضدات الملتصقة في قاع صفائح المعيارية بالكلوبيولينات المضادة المعلمة بالأنزيم . ويتم القياس الكمي للانزيم عن طريق إضافة المادة الأساس وتفاعلها معه لتعطي اللون الذي يمكن قياس شدته التي تتناسب مع كمية الأضداد المرتبطة (Balsari *et al.*,1980) .ومن خلال هذه الطرق يمكن تحديد وجود الأضداد IgG التي تدل على وجود إصابة سابقة. أما وجود الأضداد نوع IgM وIgG في نفس الوقت فتدل على وجود المرض في الجسم في الوقت الذي اجري فيه الاختبار (Pinlaor *et al*.2000)

جاء الهدف من هذه الدراسة تحديد وجود الأضداد ومدى تأثير الإصابة بالطفيلي على بعض معايير الدم لدى النساء المصابات والتي شملت قياس (RBC Count, Hb, Differential Count).

طريقة العمل

تم جمع عينات الدم البالغة (200) عينة من النساء المشكوك بإصابتهن بداء القطط والمراجعات إلى (المستشفى الزهراء للولادة والأطفال ، مستشفى الحكيم العام) في النجف. والتي تتباين أعمارهن بين(15- 40) سنه , حيث تم سحب (6 مل) من الدم الوريدي ووضع (5مل) في أنبوبة اختبار نظيفة وجافة و (1مل) وضع في أنبوبة حاوية على مانع تخثر EDTA لغرض دراسة معايير الدم . تم عزل المصل من عينة الدم باستخدام جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة /دقيقة ولمدة (10) دقائق وحفظ في درجة حرارة التجميد لحين الاستخدام.

طريقة تشخيص الطفيلي باستخدام أل Latex agglutination test حسب (عبد الله, 2003)

١. نضع محتويات ألكت في درجة حرارة الغرفة
٢. تأخذ 50 مايكروميتر من المصل (قطرة واحدة) في مقطع من الشريحة الزجاجية.
٣. تمزج مكونات الفيلات في ألكت ونظيف قطرة من كل فيال إلى قطرة من العينة.
٤. نمزج القطرتين ونفرشهما على سلايد.
٥. اترك الشريحة الزجاجية على Shaker بدرجة حرارة 80-100 الدقيقة RPM.
٦. بعد ذلك يتم قراءة التلازن أن وجد .

قياس تركيز الكلوبيولينات المناعية المصلية (IgG, IgM) باستعمال طريقة (single Radial immune diffusion)الانتشار المناعي في الهلام حيث تم استعمال العدة المجهزة من شركة (LT) وفق تعليمات الشركة المجهزة وحسب مبدأ (Mancini *et al.*, 1965) حيث وصف العلاقة الخطية بين تركيز المستضد ونصف قطر حلقة الترسيب المناعي التي تتكون في الآكار المحتوي على أضداد النوعية لذلك المستضد وتتلخص الطريقة فيما يلي:

1- وضع 5 مايكروليتر من مصل المريض والأسوياء في الحفر الموجودة في طبق يحتوي على الاكاروز ويتم تغطية الطبق بالغطاء المجهز من الشركة . ترك الطبق بدرجة حرارة الغرفة لمدة 48 ساعة عن تقدير مستوى القطر (IgG, IgM) ينتشر النموذج بصورة شعاعيه خلال الاكاروز ويكون المستضد حلقة ترسيب مع الضد النوعي له .

2- تم قراءة نصف قطر حلقة الترسيب المناعي المتكونة بواسطة (Optical reader) وبعد ذلك حسب تركيز الكلوبيولينات المناعية وكذلك تركيز أجزاء المتتم بالرجوع إلى الجدول القياس المرفق مع العدة التشخيصية .

قياس معايير الدم

تمت قراءة معايير الدم باستخدام جهاز أل Ruby ذات المنشأ الألماني والمصنع في عام 2012 والذي يعتبر من الأجهزة المتطورة التقنية في مستشفى الحكيم العام حيث تم استخدام النصف الثاني من الدم الموضوع في الأنبوبة الحاوية على مانع التخثر, بعد وضعها على الجهاز الهزاز shaker لمدة خمس دقائق ثم وضعت الأنبوبة أسفل ماصة الجهاز الRuby ومن ثم سحب العينة بواسطة ماصة الجهاز الخاصة وبعد مرور 40 ثانية تمت قراءة النتائج والتي تتضمن معايير الدم وكريات الدم البيضاء ونسبها.

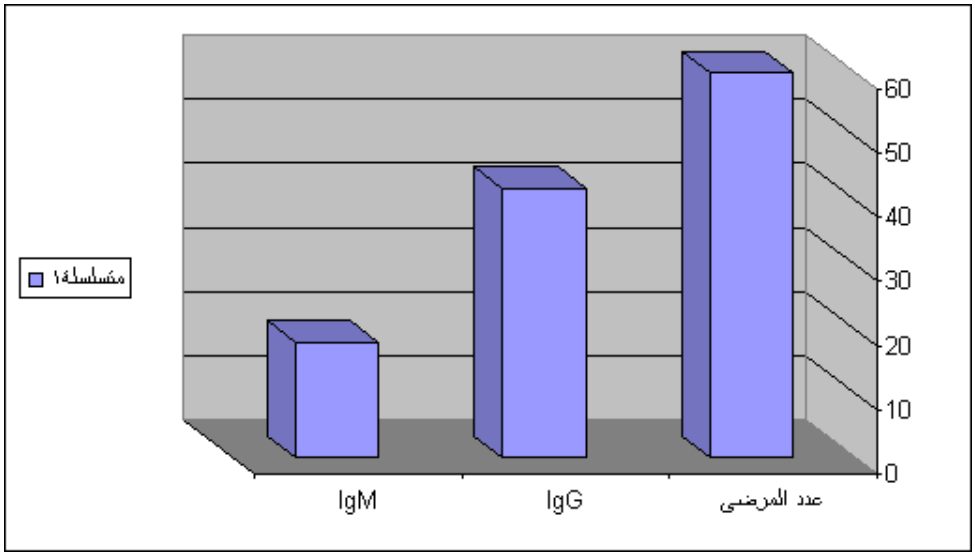
التحليل الإحصائي

تم تحليل النتائج حسب برنامج (5.04, Graph pad software Inc. USA) لسنة (2010) وباستخدام مستوى معنوي (P. Value < 0.05).

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج الدراسة أن عدد العينات التي أعطت نتيجة موجبة كانت (60) من (200) عينة أي أن نسبة الإصابة بلغت (30%) في حين أن العينات التي أعطت نتيجة موجبة للأضداد IgG (42) عينة ونسبة 70% في حين الموجبة للأضداد IgM بلغت (18) عينة ونسبة (30%) وهذا يعطي دليل أن غالبية الإصابة كانت من فترة سابقة وان نسبة الإصابة الحديثة اقل بكثير كما موضح في الشكل(1) . وهذه النتائج متفقة مع دراسة (Salan, 2011) الذي وجد أن نسبة 14.2% كانت موجبة اللاضداد IgG في حين أن نسبة أضداد أل IgM كانت 9.1%

كذلك تتفق مع دراسة (Garman *et al.*,2006) الذي أجرى اختباره على أفراد أصحاء فوجد أن نسبة أضداد IgG لطفيلي *Toxoplasma* كانت 18.2% في حين نسبة أضداد IgM كانت 6.9%.



شكل رقم (1) العلاقة بين عدد المرضى والأضداد IgM , IgG لدى المصابات .

كما أوضحت الدراسة أن الأضداد IgG سجلت أعلى نسبة في الفئات العمرية (30-39) حيث بلغت (50%) تلتها الفئة العمرية (20-29) حيث سجلت (33.3%) في حين كانت اقل الفئات العمرية هي المحصورة بين(40 - 49) حيث كانت نسبة الإصابة (4.7%)أما الفئة العمرية (10-19) فكانت نسبتها (11.9 %) وهذا موضح في الجدول (2) وقد يعود السبب في ذلك إلى أن الفئة العمرية (30-39) التي تُعتبر الفئة العمرية العاملة والتي قد تتعرض إلى مصادر التلوث أكثر من غيرها إضافة إلى ضرورة الاعتماد على الوجبات السريعة حيث أن العادات الغذائية قد يكون لها دوراً مهماً في تباين نسبت الإصابة بين المناطق المختلفة فتناول اللحوم غير المطبوخة بشكل جيد والحاوية على أطوار بطيئة التكاثر يعد من العوامل المهمة في نقل الإصابة وان قلة الاهتمام بالوسائل الصحية يزيد من خطورة تلوث المـــاء والغذاء بأكيـــاس البيض (Oocyst) وتناولها عن طريـــــق الجهاز الهضمي(Lavine and Arrizabalago, 2008).

جدول رقم (2) النتائج الموجبة للأضداد IgG والنسبة المئوية للإصابة.

الفئة العمرية	النتائج الموجبة للأضداد IgG (no=60)	النسبة المئوية %
19-10	5	%11.9
29-20	14	%33.3
39-30	21	%50
49-40	2	%4.7

بينت هذه الدراسة أن نسبة الأضداد IgM تتغير بتغير الفئات العمرية(جدول3) حيث بلغت أعلى نسبة في الفئات العمرية (30-39) وهي 55.5% واقل فئة العمرية كانت (40-49) بنسبة(5.5%)وهذه النتيجة متفقة مع دراسة Sadedi (2007) والذي درس قيم الأضداد في النساء المتزوجات وغير المتزوجات حيث كانت أعلى قيم في الفئات العمرية (30-39) سنة . أن نتائج الدراسة الحالية متفقة إلى ما توصل إليه عثمان (2004) في كركوك والذي حدد الأضداد (IgM, IgG) لدى النساء المصابات بطفيلي *T. gondii*.

جدول رقم (3) النتائج الموجبة للأضداد IgM والنسبة المئوية للإصابة.

الفئة العمرية	النتائج الموجبة للأضداد IgM (no=60)	النسبة المئوية %
19-10	2	%11.1
29-20	5	%27.2
39-30	10	%55.5
49-40	1	%5.5

وقد أوضحت الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي في تركيز الهيموكلوبين في كريات الدم الحمر لدى النساء المصابات بطفيلي *Tooxplasma gondii* مقارنة مع مجموعة السيطرة كما موضح بالجدول(4) وقد يكون هذا الانخفاض نتيجة لحصول نقص في مستوى الحديد بسبب الإصابة بهذا الطفيلي مما يؤدي إلى قلة في تصنيع الهيموكلوبين داخل خلايا الدم الحمر وهذا يؤدي إلى حصول فقر الدم لدى النساء المصابات (Javadi *et al*., 2010)

كما أوضحت الدراسة وجود زيادة معنوية في كريات الدم البيض في النساء المصابات بمقارنة بمجموعة السيطرة كما موضح في الجدول (5) وقد تكون هذه الزيادة نتيجة لزيادة في عدد الخلايا البائية والخلايا الوحيدة فهذه الزيادة قد تكون نتيجة الإصابة بطفيلي *T. gondii* والذي يؤدي إلى تحفيز الجهاز المناعي للمضيف المتمثل بالمناعة الخلطية (Delialioglu *et al*., 2005) .ونتيجة لعدم توفر دراسة حول علاقة إصابة الطفيلي بمعايير الدم لم نتمكن من مقارنة هذه الدراسة مع غيرها من الدراسات حيث أن غالبية الدراسات متعلقة بوبائية المرض ومنها ألكلابي (2008) في محافظة النجف الاشرف و محمد (2008) في محافظة بابل وAgeel (2003) في محافظة صلاح الدين أما الدراسات المتواجدة فغالبيتها كانت على معايير الدم في القطط وهي خارج العراق وخاصة في إيران ولكن متفقة مع ما توصلنا إليها في العراق .

جدول (4): العلاقة بين عدد كريات الدم الحمراء وتركيز الهيموكلوبين في المصابين بطفيلي *T. gondii* مقارنة مع مجموعة السيطرة.

المصابين (n=60)	الأصحاء (n=30)	معايير الدم
5.310±0.041	5.410±0.052	RBCs $10^6/MM^3$
*8.990±0.761	12.142±0.212	Hb g/dl of blood

- فروقات معنوية عند مستوى دلالة $P< 0.05$.

جدول(5) التعداد الكلي والتفريقي لكريات الدم البيض في النساء المصابات بطفيلي *T. gondii* مقارنةً بمجموعة السيطرة.

تعداد كريات الدم البيض	الأصحاء (N=30)	المصابين (N=60)
TLC($X10^3/mm^3$)	5.325±0.187	*8.482±0.362
NEU %	51.417±0.231	50.472±0.141
Lym. %	23.026±0.080	*55.878±0. 102
Mono %	5.527±0.032	*14.015±0.021
Eso. %	2.267±0.137	1.462±0.021
Baso. %	1.061±0.037	1.052±0.011

- فروقات معنوية عند مستوى دلالة $P< 0.05$.

المصادر

الخفاف , فرح حازم , باسمه احمد عبد الله . 2005 كفاءة بعض الاختبارات المصلية المستخدمة في تشخيص داء المقوسات للنساء بسن الإنجاب في محافظة نينوى. مجلة علوم الرافدين / علوم الحياة مجلد ١٦, العدد ٦ .ص ٢٠٢-٢٠ .

عبد الله ،باسمة احمد ،حسن. ش هلة عبد الله . الخفاف ، فرح حازم 2003 ، استخدام اختبار اللاتكس في تشخيص داء - المقوسات في النساء بسن الإنجاب في محافظة نينوى ، مجلة علوم الرافدين. مجلد 14 ، العدد3 ،ص,110-11

Ageel , N.F. 2003. Serological and biochemical study of Toxoplasmosis in Tikit teaching hospital, M.Sc. Thesis college of Medicine , Tikrit University , Iraq.

Al-Deen , M.M. 2000. seroepidemilogical study on Toxoplasmosis with history of abortion . M. Sc. Thesis . collage of medicine , university of Al- Nahrin.

Al-Jalal Sanaa Mohammed Ali Hatem, 2011: The study of some biochemical and physiological parameter in women infected with Toxoplasmosis in Al-Najaf Al-Ashraf Governorate. Ms. D thesis. Dep. Biology, college of education for Girls. University of Kufa. P.148

Al-Kalaby, R. F. 2008. Sero-epidemiological study of Toxoplasmosis among different groups of population in Najaf city , M.Sc. thesis College Medicine . Kufa university . Iraq.

Alvarado –Egquivel, G.,A. sifuentes – Alvarez ,S G.Narro – Duartes, S.Estrada- Martnez , J.H. DazGarea , O. Liesenfeld and S.A. Martnez2006. Seropidemiology of *Toxoplasma gondii* _ infection in pregnant women in a public hospital in northern Mexico , BMC infection Dis.,113:- 2-7

Avelino, M.M, D J. Campos ; J.B. and Castro A.M. 2004. Risk Factors for *Toxoplasma gondii* infection in women of childbearing age . Braz.J. infect .Dis , 8: 164-174

Balsari , A., Pole, G., Molina , V. Dovis . M., Petruzzelli , E ., Beniolo ,A. And Rolleri , E ., 1980. ELISA for Toxoplasma antibody detection : a comparison with other serodiagnostic tests . J Clin .Pathol.,Vol 33, pp . 640-643 .

Carmen ,S.; Gabriela, B. and Renala,H. 2006.Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies a healthy population from Slovakia . European Journal of internal Medicine;470-473.

Dabritz HA , Miller MA , At will ER et *al* 2007 Detection of *Toxoplasma* gondii Oocyst in cat faces and estimates of the environment Oocyst burden .J. Am vet Med Assoc 1 (231) : 1676-1684, doi : 10 .2460/javma .231.11.1676.

Jones , J . L., F. ogunmodede ,J. scheftel , E . Kirkland , A. lopes', J. 2003. schulkin and practices among pregnant women in the united states . infect Dis . obstet .Gyneco 1-11 : 159-145.

.Javadj S.; S.,AsriRezaei , H .Tajik . M .Hadian .F. shokouni2010.Hematological changes of cats with *Toxoplasma gondii* – Specific antibodies .

Lavine , M.D.& Arrizabalaga ,G 2008. Exit from host cells by the pathogenic parasite T.P. Does not require motility Eukaryotic cell , 7:131-140.

Mancini, G, Garbonara, A.O. and Hermans, J.F. 1965.Immunochemical quantitation of antigen by single radial immune diffusion. Immunochemistry 2:235-254.

Mohammad , G. I. 2008 . Study the role of Toxoplasmosis Cytomegalovirus ant phospholipids in Cases of abortion among women in Hilla city . M. Sc, thesis , College of Medicine , University of Babylon , Iraq.

Othman ,Nazakat Fakhraddin . 2004 . Seroprevalence study of *Toxoplasma gondii* among pregnant women Kirkuk City M. Sc. thesis Medicine college Tikirituniv. Iraq Pp. : 70 Pinlaor ,S.; Leumvileevanich , K.; pinlaor, P.; Maleewong, W. and pipitgool , V. (2000). Seropre – Valence of specific total immunoglobulin , IgG & IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* in blood donors from loei province , Northeast Thailand .southeast Asian J. Trop Med public health; 31:123-7

Remington JS., Meleod R., Thullliez P.& Desmonts G 2001 Toxoplasmosisinfectious disease of the fetus &newborn infants in Remington JS. Klein J.(5th)ed. W.B. Saunders ,Philadelphia pa .pp 205.

Roman , E .C.S Zamir, I . Rilkis and H. Ben –David 2006 .Congenital Toxoplasmosis – Prenatal aspects of Toxoplasmosis infection Repred Toxical ., 21 : 458 – 472

Saeedi ,Mohsen , Gholam Reza Veghari and Abdol Jalal Marjani ,(2007) . seroepidemiologic Evaluation of anti-Toxoplasma – Antibodies among women in north of Iran Pakistan Journal of Biological science 10 (14) : 2359 – 2362.

Salan, Mohammad A. 2011.Determination of Antibodies (IgG, IgM) against *Toxoplasma gondii* in some Iraqi individual by using ELISA technique .

Tenter A.m. ,Heckeroth A.R. ,weiss L. m.; 2000. *Toxoplasma gondii* from animals to humans . Int J parasitol30:1217– 1258 . doi : 10.1016/soo 20 – 7519 (00) 00124 -7

Wilson , M. , ware , D.A. and Juranek , D.D. 1990. Serologic aspects of Toxoplasmosis .J. Am. Vet .Med. Asso., vol.196 ,No.2. pp.277-279.