مقارنة بين طريقتي التراص المباشر والدموي اللامباشر في كشف أضداد المقوسات الغوندية. وتحديد معدل انتشارها عند النساء في سن النشاط التناسلي في اللاذقية

د. تيسير يانس
مدرس في كلية الطب
بجامعة تشرين

د. هيثم اليازجي
محاضر في كلية الطب
بجامعة تشرين

د. ميادة الأعسر
طالبة دراسات عليا ،قسم
المخبر ،طب بشري

أجريت الدراسة على نساء في سن النشاط التناسلي تتراوح أعمارهن بين (١٥- ٤٥) سنة ، في محافظة اللاذقية . أخذت العينات المصلية من نساء يراجعن مشفى الأسد الجامعي وبشكل عشوائي ، وقد استعملنا طريقتين مختلفتين لمعايرة أضداد المقوسات الغوندية ؛ الطريقة الأولى هي التراص المباشر أجريت على ٥٢٩ عينة ، أما الثانية فهي اختبار التراص الدموي غير المباشر التي أجريت على ١٧٥ عينة من السابقة . اشارت النتائج أن معدل انتشار أضداد المقوسات الغوندية هو حوالي ٧٩ /بكلتا الطريقتين. فهنالك توافق في النتائج بينهما ولين في العيار . ونحن ننصح باستعمال طريقة التراص المباشر لأن كل نتيجة بهذا الاختبار تتألف من جزأين :

أ- عيار الأضداد الكلية (IgM + IgG)

ب- عيار IgG (بعد معالجة المصل بمادة D.T.T (دي ثيوتريتول) التي تخرب IgM .

كما نفضل طريقة التراص المباشر لسهولة تطبيقها ، ووثوق نتائجها وثباتها خلال ٢٤ ساعة وقلة كلفتها نسبيا عن التراص الدموي غير المباشر .

ينتشر داء المقوسات Toxoplasmosis بكثرة في جميع أنحاء العالم بمعدل (٢٥ – ٧٥٪). ويصيب الانسان والثدييات الأخرى والطيور. ويسببه طفيلي مقوس الشكل ، كشف لأول مرة سنة ١٩٠٨ عند الجرذان البرية الغوندية فدعي بالمقوسة الغوندية - Toxoplasma gondii . يصنف ضمن البوائغ ، شعبة الأوالي ، فهو من الطفيليات وحيدة الخلية المجبرة على التطفل داخل الخلايا ، أو في سوائل البدن .. وتنتمي جميع ذراريه الى زمرة واحدة ذات صفات ضدية متشابهة.

ويختلف شكل الطفيلي حسب مكان توضعه

١- الأتروفة أو الناشطة Trophozoite

وتواجد داخل مختلف الخلايا ، شكلها مقوس ، يقيس (٣-٧) ميكرومتر طولا و(٢-٤) عرضا ، نهايتها الأمامية حادة تحوي جهاز الحركة وجهاز خرق الأنسجة

٢- الكيس Cyst :

بيضوي أو كروي الشكل ،(٣٠ – ٢٠٠) ميكرومتر قطرا ، يحوي مئات النواشط

٣- البيضة الكيسية Oocyst :

تقيس (١٤ x٩) ميكرومتر، بيضوية

الشكل .

ليس للطفيلي ثوي نوعي ، فهو يتكاثر لاجنسيا بالانشطار عند الثوي الوسط (الانسان ،الطيور ، وبقية الحيوانات) . تنفجر الخلية المصابة محررة النواشط الفتية الى الدوران لتغزو الأنسجة المختلفة ، وخاصة الفقيرة منها بالأضداد ، كالأنسجة العصبية والعضلية والعينية ، وتشكل الأكياس .

أما الثوي النهائي فهو القطة : فهي المستودع الهام للطفيلي والعامل الأكبر في العدوى ، حيث يتم دورته الجنسية في ظهارة أمعائها ، وتطرح البيوض الكيسية في براز ها ، وهذه تصبح معدية فترة طويلة بتوافر الشروط المناسبة . تحدث العدوى في هذا المرض بالطرق التالية :

١- بالنواشط : عن طريق نقل الدم الطازج ، أو تناول الحليب غير المغلي ، وقد تمر في لعاب الحيوانات المنزلية ، أو بواسطة مفصليات الأرجل كالذباب والقراد . وقلما تحدث العدوى المخبرية عبر الجلد المخدوش ، وعمليا لاتحدث من انسان لآخر باستثناء انتقالها من الأم الى جنينها عبر المشيمة ونادرا جدا عبر زرع الأعضاء .

٢- الأكياس : وهي أشكال مقاومة ، تنتقل بتناول الانسان للحوم المصابة النيئة أو غير المطهوة جيدا .

٣- البيوض الكيسية : وهي مقاومة في الوسط الخارجي ، تلوث الماء والخضار والفواكه والتربة ، كما تقوم الحشرات بنقلها من براز القطط الى غذاء الانسان ، وقد تنتقل بالغبار .

هناك شكلان لداء المقوسات :

أ- الداء المكتسب Aquiredt :

وتمر أعراضه بثلاثة أدوار : الصولة الهدوء ، ثم النكس .

وهو حميد غالبا ، وقد يكون خطيرا لاسيما عند الأطفال والمصابين بالعوز المناعي ، وهو سبب التهاب الدماغ والنخاع المميت عندهم ، اذا لم يتم تشخيصه ومعالجته باكرا[3] ويؤدي بعد الشفاء الى مناعة مكتسبة دائمة وواقية .

ب- الداء الخلقي Congenital T. :

فالمقوسات الغوندية احدى الطفيليات التي تعبر المشيمة عند الثدييات لتصيب أجنتها ، مما يشكل تهديدا للنسل الى حد كبير ، ويعتبر الداء الخلقي من الأمراض المسؤولة عن ارتفاع معدل وفيات الأجنة قبل الولادة ، وفي الفترة التي تليها .

تعتمد أهمية الانتان على صغر سن الجنين حين يحدث الخمج الوالدي لأول مرة . فكلما كانت العدوى مبكرة للأم كانت اصابة الجنين معممة ، والتشوهات واضحة [4]، ولكن اصابة الأم لاتعني حتما اصابة الجنين فضلا عن أنه اذا كانت المشيمة سليمة فانها لاتسمح بمرور الطفيلي عبرها ، ويزداد احتمال المرور مع كبر المشيمة ، وتقدم عمر الحمل . لقد أصبح الثلاثي المدرسي : التهاب الشبكية والمشيمة ، استسقاء الرأس المتزايد ، والتكلسات داخل القحف عند حديثي الولادة [4]،والتأثير المضعف في الحياة المتأخرة ، مثل تأخر التطور الروحي الحركي ، الاختلاجات الصرعية وانخفاض معدل الذكاء عبئا ثقيلا على الموارد الطبية في الولايات المتحدة والبلاد الأوربية ، اذ تنفق الأولى حوالي ٤٠

مليون دولار سنويا ، على اعادة تأهيل حوالي ٣٥٠٠ طفل مصاب بالخمج الخلقي ورعايتهم .

وقد مضى مايزيد عن ١٥ عاما منذ أكد ديسمونت وكوفرر في باريس (Desmonts & Couvreur) على خطر وشدة الداء الخلقي ، وعلى أهمية الاستقصاء المنتظم ، وقيمة علاج الأمهات خلال الحمل لمنع انتقال المرض الى الجنين حيث أصبح تقصي عينات الدم قبل الولادة ، للكشف عن انتشار داء المقوسات : كما لاختبار VDRL ، وتحري فيروس التهاب الكبد الانتاني B في المناطق الموبوءة ، فالحقيقة أنه مرض يمكن الوقاية منه ، وحتى حين يحدث الانتان الأولي خلال الحمل ، فان التشخيص المبكر يقود لمعالجة قد تنقص من تواتر وحدة المرض في الوليد بنسبة ٥٠ ٪ ، وعادة لاتسبب المرأة ذات المصل الايجابي قبل الحمل : الانتان عند وليدها ..

ان الكلفة الفعلية لبرامج التقصي تلك في الدول النامية غير معروفة ، ويذكر بأن نسبة الاجهاضات ، المتكررة ،والأذيات الولادية ، والولادة قبل الأوان : مرتفعة في تلك الدول ، وتحتاج مساهمة المقوسات الغوندية في ذلك الى دراسة أدق .

الوبائية :

تحدث الاصابة بالداء في كل الفصول ، ويتساوى فيها الجنسان معا ، كما تزداد نسبة حدوثها مع تقدم العمر وتبعا للمنطقة الجغرافية . تتراوح نسبة المصول الايجابية في U.S فيما بين ٣٠-٤٠ ٪ ، وهي في تونس ٥٠ ٪ ، في فرنسا ٦٠ ٪ ، وتختلف أحيانا بين المدن في القطر نفسه فهي ٣٠ ٪ في جدة بينما في أبها ٥١ ٪ في العربية السعودية .

أشارت الدراسات الفرنسية على الحوامل، الى ان ٠,٨٪ منهن معرضات للاصابة أثناء الحمل ، وبالتالي احتمال اصابة الأجنة ٣٠٠ / ١٠٠ ٠٠٠ ، بينما هي في أوستراليا ٧٠٠ / ١٠٠ ٠٠٠ في المولودين على قيد الحياة .

التشخيص : ١،٦

يعتمد على الأعراض، فحص قعر العين ، تجري التكلسات الدماغية بالأشعة ، وعلى التشخيص المخبري المباشر وغير المباشر :

فالمباشر : فحص مجهري لخزعات الأنسجة المتأذية ،أو سوائل البدن بعد تلوينها .

أما عزل الطفيلي فيتم بعد حقن حيوان التجربة تحت الصفاق وبعد أيام يظهر بكثرة في سائل الحبن ، وقد أمكن مؤخرا زرع المقوسات على المستنبتات النسيجية من الدم أو السائل الدماغي الشوكي خاصة عند المصابين بالخمج والعوز المناعي معا .

أما الطرق المخبرية غير المباشرة: فهي تتحرى وجود الأضداد النوعية في مصل المريض باستخدام مستضدات المقوسات (كاملة أو مستحلبة) ، فالناشطة ذات بنية مستضدية فسيفسائية ، تحوي مستضدات (غشائية ،هيولية ، مختلطة استقلابية) . وتحرض الغشائية منها على تشكيل الأضداد IgG بين اليوم (٧-١٠) من بدء الاصابة ، وتبلغ قيمة عظمى خلال ٢-٣ أسابيع ، ثم تتراجع لتختفي خلال ٣-٥ أشهر . فوجودها يعني خمجا حديثا ، وهي لاتعبر المشيمة لكبر حجم جزيئتها .

أما المستضدات الهيولية فتحرض على تشكيل الأضداد IgG حوالي الأسبوع الثاني من الخمج ، ويرتفع تركيزها بسرعة ، حتى تبلغ قيمة عظمى بعد الشهر الثالث ، ثم تبدأ بالانخفاض ، وتستمر

بضعة اشهر ، ثم تتراجع دون ان تختفي لتثبت عند مستوى معين ، وهذا مايفسر المناعة المكتسبة الابدية الواقية . وتعبر المشيمة الى الجنين ، ويمكن كشفها عند الولادة في ٨٠- ٨٥ من الولدان ويستمر وجودها بعد الولادة ٣-٦ اشهر ثم تختفي .

من الطرق غير المباشرة :

أ- التفاعل الجلدي الأدمي :

يشبه تفاعل السلين ، يتم بحقن مادة المقوسين المستخلصة من مزروع المقوسات ، او من سائل حبن الفأرة ولكنها قد تسبب الصدمة التأقية لذلك ندر استعمالها .

ب- التفاعلات المصلية :

يرتكز التشخيص عليها ، وتطلب بشكل نظامي اثناء الحمل في حال سلبيتها قبله . واهمها :

١- اختبار الصباغ ٧ :

وهو قديم - حساس ، ونوعي ، يعتمد على ظاهرة الانحلال المبكر والنوعي للمقوسات الحية الموضوعة بتماس مصل ممنع .

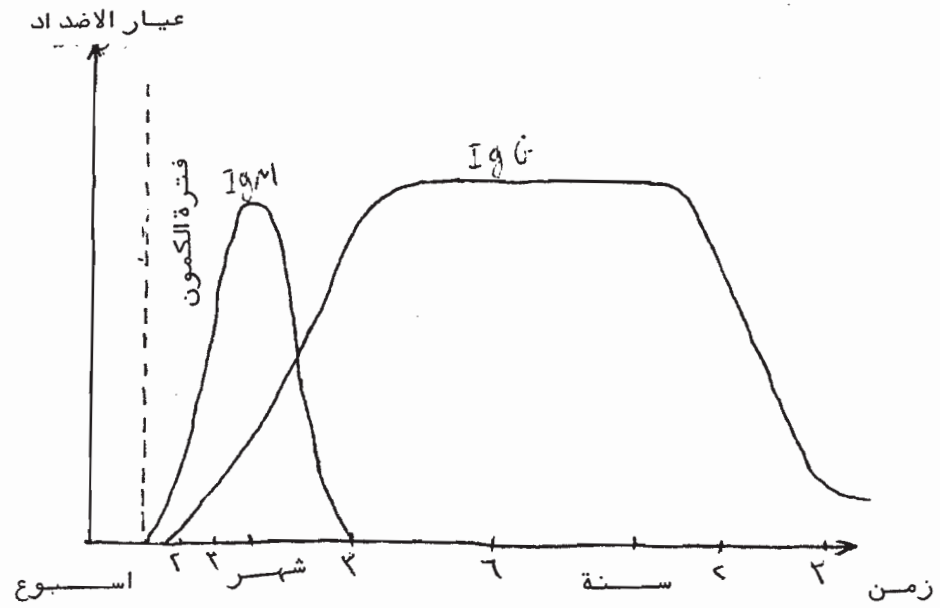
٢- اختبار تثبيت المتممة

فالمتممة الموجودة في المصل الطازج تحل الكريات الحمراء المتحسسة بواسطة اضداد نوعية ويجري على مرحلتين :

أ- المستضد (المقوسات) + الضد (مصل المريض) + مصل طازج (المتممة) .

ب- اضافة : كريات حمراء + اضدادهذه الكريات الحمراء .

اذا كان التفاعل ايجابيا ، والمصل يحوي اضدادا لايتم التفاعل الثاني فلا تنحل الكريات الحمراء ، اماالتفاعل السلبي فتثبت المتممة في المرحلة الثانية وتنحل الكريات الحمراء .



تشكل الاضداد في جسم الانسان المصاب بداءالمقوسات .

٣- الومضان المناعي اللامباشر :

ذو قيمة عظيمة - حساس ونوعي يمكن تلخيص التفاعل :
مستضد + ضد + ضد الضد الموسوم بملدة متألقة (وهو اما او

اذا كان ايجابيا : تتألف النواشط في ضوء الاشعة فوق البنفسجية ، وقد تطورت التقنية في الكشف السريع ومعايرة النوعية لتشخيص الانتان الحديث ، وداء المقوسات الخلقي .

٤- اختبار ريمنغتون :
ومضان مناعي غير مباشر ، يستخدم معقدا للفلورة الانساني

٥- التراص المباشر [٨] :
المبدأ : تشكل تحوصب من المقوسات الموجودة في معلق فورمولي عند اضافة مصل ممنع يحوي اضداد موافقة . والاضداد التي يمكن معايرتها بهذه الطريقة هي من نمط و

٦- اختبار المستضد المحسس [٩] :
يعتمد على مبدأ التراص المباشر نفسه ، ويكشف الاضداد فقط.

٧- التراص الدموي اللامباشر [١٠] :

المبدأ : تتراص الكريات الحمراء المحسسة بالمستضد الذواب للمقوسات عند وجودها مع تمديدات المصل الحاوي على الاضداد النوعية .

٨- المقايسة المناعية الانظيمية او الاليزا [١١] :
هي تفاعل مناعي خمائري ، يوضع المستضد ثم الضد ، ثم يضاف ضد الضد المراد معايرته والموسوم بخميرة ،ثم تضاف ركيزة مناسبة ، ويستعمل مقياس الطيف الضوئي لقياس الكثافة الضوئية التي تعاير الركيزة والتي تدل بدورها على عيار الضد او المستضد ، وهي طريقة سريعة .

٩- اختبارات حديثة جدا : لاتزال قيد الدراسة :
أ- اختبار :
ب- اختبار الشطيرة المضاعفة [١٢].
ج- اختبار الاليزا المعكوس [١٣].
تساعد سلبية النتائج على نفي التشخيص ، بينما تزايد عياراتها يدل على الايجابية .

- يهدف هذا البحث الى تحديد معدل انتشار اضداد المقوسات الغوندية عند النساء في سن النشاط التناسلي في اللاذقية وذلك من خلال استخدام طريقتين مخبريتين في الكشف عنها ، وهما طريقتا التراص المباشر ، والتراص الدموي غير المباشر واجراء مقارنة بينهما لتحديد الطريقة الافضل في الكشف عن وجود اضداد المقوسات .

القسم العملي والنتائج :
تم جمع العينات المصلية من نساء في سن (١٥ - ٤٥ سنة) ، راجعن العيادات الخارجية او الاقسام المختلفة في مشفى الاسد الجامعي ، ولم يعانين من اعراض تتعلق بداء المقوسات مباشرة فكانت العينة عشوائية . وكانت تجري المعايرة اما مباشرة على المصول الطازجة او بعد تجزئتها في عبوتين لكل عينة وحفظها بدرجة (- ٢٠ م^{٥}) مع مراعاة

عدم تكرار الحل والتجميد ..

أجري اختبار التراص المباشر على (٥٢٩) عينة مصلية ، وكل منها قبل وبعد المعالجة بمادة DTT Dithio Tritol التي تخرب الـ IgM النوعية وغير النوعية وتبين أن نسبة انتشار أضداد المقوسات عند النساء هي ٢ر٧٩ / وتراوحت معظم الحالات الايجابية بين التمديدين $\frac{1}{16}$ و $\frac{1}{64}$ بنسبة ٦ر٥٣ / بالنسبة لعدد الحالات الكلية .

كما أجري اختبار التراص الدموي اللامباشر على / ١٧٥ / عينة مصلية من السابقة ، وتم تحري وجود IgG ، فتبين أن نسبة انتشار الأضداد هي ٤ر٧٩ / ، أي توافق النسبة بطريقة التراص المباشر وتراوحت معظم الحالات الايجابية بين التمديدين $\frac{1}{128}$ و $\frac{1}{512}$ بنسبة ٧ر٥٤ / بالنسبة لعدد الحالات الاجمالي .

بمقارنة نتائج الطريقتين : تبين أنهما متوافقتان في النتائج وليس في العيار (التمديد) . ولا يوجد فرق تناسبي ثابت بينهما ، وأنه يجب الانتباه الى تفسير النتائج بطريقة التراص الدموي اللامباشر فهي تعطي قراءات مرتفعة أكثر بكثير من التراص المباشر لذات المصل ، وهي تبدي أحيانا ظاهرة المنطقة ، خاصة في المصول ذات العيارات المرتفعة ، كما تصعب قراءة النتائج أحيانا بهذه الطريقة ، اذ لايمكن تمييز آخر حفرة يحصل فيها التراص . وهذا ما يجعلنا ننصح باستعمال طريقة التراص المباشر أكثر لسهولة تطبيقها ، ووثوق نتائجها وثباتها مدة ٢٤ ساعة ، وقلة كلفتها عن التراص الدموي اللامباشر .

بدراسة استمارات النساء اللواتي تم عيار الأضداد لديهن تبين أنه تزداد نسبة المصول الايجابية مع تقدم العمر، ولكن ليس بشكل واضح وذلك لأن نسبتها مرتفعة منذ سن مبكر ، مما يدل على أن العدوى تحدث باكرا في الحياة ، كما أن معظم الحالات الايجابية وفي مختلف فئات الأعمار تراوحت بين التمديدين $\frac{1}{16}$ و $\frac{1}{64}$.

- لم تترافق الاصابات الحديثة التي كشف فيها وجود IgM بأية أعراض سريرية في الحالات المدروسة ، كما أنها اصابات سليمة .

- لم يلاحظ تباين في نسب التوزع بين نساء المدينة والريف في محافظة اللاذقية سواء عند الحالات الايجابية أو السلبية ، فليس هناك توطن معين للمستضد ، وهذا يعود الى تعدد وسائل انتقال العدوى ، كما تبين تساوي نسبة انتشار الأضداد عند العاملات والمثقفات مع نسبتها عند غيرهن وكذلك فان توزعهن بالنسبة للحالات السلبية متساو ، فلا توجد علاقة مباشرة بين العمل ونسبة اكتساب المناعة .

أوضحت الجداول أنه تتساوى تقريبا نسب من يتناولن اللحوم غير المطهوة جيدا أو الخضار غير النظيفة جيدا ، أو يربين القطط المنزلية سواء في الحالات الايجابية أو السلبية ، فهي كلها عوامل تساهم في انتقال العدوى ، اذا كانت فعلا مصدرا للعدوى .

- كانت نسبة الحوامل المنيعات في دراستنا حوالي ٤ر٧٢ / ، بينما ٤ر٣ / اكتسبن الخمج أثناء الحمل ، وأما ٣ر٢٤ / فمصولهن سلبية ، ويجب تقديم النصائح الوقائية لمثل هؤلاء ، ومراقبة مصولهن طيلة فترة الحمل .

- النساء اللواتي حدثت لديهم اجهاضات حديثة : نسبة المنيعات ٨ر٨٤ / ، وحدث الاجهاض لأسباب أخرى غير داء المقوسات

الا أن ٦ر٧ / كشفت في مصولهن الأضداد

وهنا قد تكون الاصابة الحديثة بالمقوسات سببا للاجهاض ..

- النساء اللواتي ولدن أطفالا توفوا في الفترة حول الولادة ، أو كانت الولادة مبكرة ، أو حدثت لدى الولدان تشوهات خلقية كاستسقاء الرأس ، انعدام الجمجمة أو التأخر الروحي الحركي ، فكانت نسبة المنيعات منهن حوالي ٦٦ر٦ / ، وتكرر حدوث هذه الحالات عند بعض الأمهات أنفسهن في العينة المدروسة .

لكن وجدنا حالة واحدة ارتفعت فيها IgM ، وعند جنينها استسقاء رأس تم تشخيصه باستخدام الأمواج فوق الصوتية ، وحدث الاستسقاء لجنين سابق لديها ، مما يسمح أن نعزو الحالة اما لداء المقوسات المكتسب أثناء الحمل ، أو لأسباب متنوعة أخرى ، ويتم التأكيد بتحري أضداد IgM في دم الجنين .

بناء على الدراسة ، تبين أن ٩٨ر٢٠ / من النساء في سن الانجاب معرضات للاصابة ، ويبقى الخطر أكبر على الحوامل ،ومن ثم على الأجنة والمواليد لذلك نوصي وقاية للجنين باجراء عيار الأضداد قبل الزواج ، وعند التفكير بالحمل وأن تخضع الحامل لفحوص دورية شهرية لمراقبة حدوث ارتفاع الأضداد النوعية ، لتقرير العلاج اللازم ، وفي الوقت الملائم .

كما أن برامج التوعية قبل الحمل ضرورية ، لكي نعرف السكان وخاصة النساء على خطر الاصابة ، وضرورة اتباع الاجراءات الوقائية لتخفيف معدل الاصابة بداء المقوسات الخلقي .

ان تكلفة الاستقصاءات قد تكون مرتفعة ، ولكن الوقاية من داء المقوسات أمر ضروري جدا من وجهة النظر الانسانية .

SUMMARY

This study was performed on women of child - bearing age (15 - 45 years) in Lattakia

Samples have been taken at random, we have used two clifferent methods at the same time ,

The first is DAT (529) samples , and the second (THAT) is done on (175) of the previous samples . The results have indicated that the prevalence of toxoplasma gondii antibodies was about 79% by the two methods, there is agreement in the results but not in titers.

We Prefer to use the DAT because each result of this test consists of two parts :a: Ig total (IgG + IgM) . B : IgG (serum inactivated with DTT which destroys IgM . The test is simple , valid and consistent and it's cost is relatively low .

1- Parasitologye Mycologie . Association Francaise de professeurs de Parasitologie, Editions C. et R.La Madeleine 1982 .

2 - Elements de parasitologi medicale. Y.J.Golvan flammarion Medicine Sciences 1974.

3. Harrison's:Principles of internal medicine,eigth edition. 1978

4. Desmonts G,Couvreur.J: congenital toxoplasmosis : a prospective study of 379 pregnancies.Engl.J Med 1974; 290: 1110 - 1116 .

5 -Saudi Medical Journal 1986,7(4): 346 - 354(Samir M.Ali Abbas , Abdullah H.Basalamah,Frank E.Sere baur and Mariam R.Afonso.

6. Guide des examens des Laboratorre edite par P.Kamoun et J.P. Frejaville . (1981)

7- Sabin , A,B, and Feldman,H.A . (1948).Science.108,660.

8- Desmonts G.Remington J.S:Direct agglutination test for diagnosis of toxoplasma infection:J.Clin Microbiol,11:562 - 568(1980).

9- Hirain,Nagai y.The indirect latex agglutination test.J Med Technol 22 .