



Screening for *Toxoplasma gondii* antibodies among cancer patients in Kirkuk province by using some serological tests

Halala Mohammed Abdullah¹

Sadia Shihab Hamad²

college of science, University of Kirkuk^{1,2}

Halalamohammed9@gmail.com

Dc.sadia@yahoo.com

abstract

The present study aims to determine the prevalence of *Toxoplasma gondii* in cancer patients in Azadi Teaching Hospital a group of healthy individuals were used as a control . Several Serological methods such as Latex Agglutination Test LAT, Modified Agglutination Test2-ME, Rapid- Cassette Test and Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) were used to investigate the anti-antibodies against *Toxoplasma gondii* type IgG and IgM.The study was conducted on184person, including 136 cancer patients and 48 normal people have been adopted as control samples. The Blood samples were collected from the beginning of February to the end of November 2014. The results showed that the rate of Toxoplasma infection in cancer patients was 47.06 % for latex agglutination test LAT and 28.70% by using the modified agglutination test 2-ME and 8.8% using the Rapid test, and ELISA test was 24.26%. The chronic infection rate was 18.38% and a rate 2.94% of was for acute infection and mixed infection(acute ,chronic) .

Key words : *Toxoplasma gondii* , cancer patients, serological tests .

التحري عن الأجسام المضادة لطفيلي *Toxoplasma gondii* في مرضى السرطان في محافظة كركوك باستخدام بعض الاختبارات المصلية

سعدية شهاب حمد^٢

هلاله محمد عبدالله^١

جامعة كركوك /كلية العلوم^{١،٢}

Dc.sadia@yahoo.com

Halalamohammed9@gmail.com

الخلاصة

تهدف الدراسة الحالية الى تحديد وبائية الخمج بطفيلي المقوسة الكوندية في مرضى السرطان المراجعين لمستشفى آزادي التعليمي مع مجموعة من الاشخاص ذوي جهاز مناعي طبيعي كمجموعة سيطرة. لغرض الكشف عن داء المقوسات استخدمت عدة طرق مختبرية منها اختبار تالزن اللاتكس LAT، اختبار التالزن المحور 2-ME، اختبار الكاسيت Cassette واختبار ارتباط الإنزيم للأدمصاص المناعي ELISA للتحري عن الأضداد المناعية المضادة للمقوسات الكوندية نوع IgM و IgG في المصول. أجريت هذه الدراسة على ١٨٤ شخص منهم 136 شخصاً مصابين بمرض السرطان و48 من الأشخاص غير مرضى (أصحاء) الذين اعتمدوا كعينات سيطرة وتم جمع عينات الدم للفترة من بداية شهر شباط الى نهاية شهر تشرين الثاني 2014. أظهرت نتائج الدراسة ان معدل الخمج بداء المقوسات في مرضى السرطان كانت بنسبة 47.٠٦% لاختبار تالزن اللاتكس LAT و28.70% باستخدام اختبار التالزن المحور 2ME 8.8% باستخدام اختبار Rapid، أما اختبار ELISA فكانت 24.26%. إنَّ النسبة المنوية للخمج المزمن كانت 18.38% وكانت 2.94% للخمج الحاد والخمج المشترك .

الكلمات الدالة: المقوسة الكوندية، مرضى سرطان، اختبارات المصلية.

1-المقدمة (Introduction)

هنالك العديد من الطفيليات الابتدائية protozoa تسبب أمراضاً كثيرة ومهمة وواسعة الإنتشار وتصيب الملايين من العالم، ومن الامراض التي تسببها الطفيليات على سبيل المثال لا الحصر هي داء المقوسات Toxoplasmosis حيث يُعدُّ من أهم الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان Zoonotic disease والذي يسببه طفيلي يعود الى مجموعة الاكريات Coccidia، صنف البوغيات Sporozoa يعرف بطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* وهو أحد الأوالي الطفيلية الإجبارية المعيشة داخل خلوي Obligate intracellular parasite وإن لهذا الطفيلي القدرة على إصابة مختلف الانسجة في العديد من اللبائن والطيور [1,2]. تُعدُّ لمقوسات الكوندية من الأوالي الطفيلية العالمية الإنتشار [3]. ولعدم وجود مضيف محدد للمرحلة اللاجنسية، فإنه يستطيع أن يتطفل على جميع الثدييات بما في ذلك الإنسان والقطط، في حين أن المرحلة الجنسية تكون محددة في القطط حيث يتمركز الطفيلي في الأمعاء [4]. يحدث الخمج للإنسان عن طريق تناول اللحوم النيئة أو غير المطبوخة جيداً والتي تحتوي على الأكياس النسيجية، أو عن طريق تناول الأغذية الملوثة بأكياس البيض أو عن طريق شرب الحليب غير المبستر الملوث بالحوينات سريعة التكاثر Tachyzoites، أو التعامل مع التربة الملوثة ببراز القطط المصابة، كما تحدث الإصابة عن الأنتقال المشيمي من الأم المصابة الى الجنين فضلاً عن طرق انتقال أخرى مثل زرع الأعضاء، أو نقل الدم [2,5] التأثيرات المرضية للمقوسة الكوندية تكون محددة في الأشخاص ذوي الكفاءة المناعية Immuno-competent individual أو تكون مصحوبة بأعراض شبيهة بالأنفلونزا [6]، أما في الأشخاص المثبتين

مناعياً الذين يظهرون نقصاً مناعياً بسبب استخدام العقاقير المثبطة للمناعة أو المصابين بمتلازمة العوز المناعي المكتسب الإيدز أو أمراض المناعة الذاتية Auto immune disease أو الأمراض السرطانية فضلاً عن المرضى والذين يحتاجون الى نقل الأعضاء، فإن الطفيلي يسلك سلوكاً أنتهازياً Opportunistic منتقلاً من الإصابة المزمنة Chronic الى الإصابة الحادة Acute مسبباً أعراضاً مرضية شديدة للمريض [7].

2- طرائق العمل (Materials and Methods)

جمع العينات Sample collection

جمعت عينات الدم من ١٣٦ مرضى المصابين بالسرطان و ٤٨ اشخاص غير مرضى (احصاء) أعتمدوا كعينات السيطرة وذلك عن طريق سحب 5ممل من ٢ الدم الوريدي باستخدام العصابة Tourniquet ومحقنة طبية سعته ٥ مل أذ قُسم الدم ووضع في انبوبة خالية من مادة مانع التخثر اذا ترك مدة 15-30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة، وبعدها وضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق وتم فصل المصل serum ونقله الى انابيب أبندروف والاحتفاظ به مجمدا في درجة حرارة C° ٢٠- . لحين اجراء الاختبارات المصلية عليه.

الفحوصات المصلية Serological Tests

اختبار تلازن اللاتكس (LAT) Latex Agglutination Tests

استخدمت عدة من انتاج شركة Linear Chemicals الاسبانية ويتم اجراء الفحص عن طريق اختبار تعليق جزيئات اللاتكس المغلفة مع مستخلص الانتجين للكشف عن ضد الطفيلي في عينات مصل الدم ، ظهور او عدم وظهور تلازن مرني يدل على وجود او عدم وجود الاجسام المضادة ضد الطفيلي في العينة المفحوصة .

اختبار التلازن المحور (2-ME) Modified Agglutination Test

أستخدم هذا الاختبار للكشف عن الخمج المزمع IgG حيث يعمل المركب (2-ME2-Mercapto) Ethanol على تحطيم أو اصر IgM وبقاء IgG ومن خلال ذلك يمكن تشخيص نوع الخمج .

اختبار Toxo IgM /IgG Rapid Test –Cassette

تم استخدام عدة من إنتاج شركة CTK Biotech , Inc الامريكية هو عبارة عن التحلل المناعي الكروماتوغرافي السريع يستخدم للكشف والتمييز عن الكلوبولينات المناعية المضادة للمقوسة الكوندية IgM و IgG في مصل الدم البشري.

اختبار إرتباط الإنزيم للأدمصاص المناعي Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

يعتمد الفحص على التفاعل ما بين مستضد المقوسات الكوندية ذي النقاوة العالية والملصق على السطح الداخلي بحفر صفيحة المقايسة المعيارية Microwells وبين الكلوبولين المناعي IgG أو IgM المتخصص في حالة وجوده في المصل المراد تشخيصه مكوناً بذلك معقداً مناعياً (الضد-المستضد – Antibody AntigenI Complex) ، أستخدمت العدة المنتجة من شركة BioCheck الأمريكية.

التحليل الاحصائي Statistical Analysis

حللت النتائج احصائياً باستخدام اختبار مربع كاي واختبار تحليل التباين Anova بتطبيق البرنامج الاحصائي (V.17 minitab) بمستوى معنوية $P < 0,05$ و $P < 0,01$ [8].

3- النتائج والمناقشة (Results and Discussion)

أنواع الأمراض السرطانية وعلاقتها بالخمج

تم إجراء دراسة مسحية لانتشار داء المقوسات في مرضى السرطان في محافظة كركوك لمعرفة مدى تأثير الخمج بهذا الداء على المصابين بمرض السرطان . يتوضح من الجدول (1) إجمالي العينات المستخدمة في الدراسة، إذا بلغ المجموع الكلي للعينات 184 عينة دم توزعت بين 136 عينة دم لكلا الجنسين من الذكور والإناث وبأعمار تتراوح بين 16-81 سنة من مرضى المصابين بأمراض سرطانية مختلفة. 115 عينة من مرضى السرطان والمخمجين بطفيلي المقوسة الكوندية ، أما 21 عينة فتوزعت بين أنواع أخرى من أمراض السرطانية الأخرى مثل سرطان القولون وسرطان الكبد وسرطان العظم وسرطان المرئ ولم يكن لديهم خمج بطفيلي المقوسة الكوندية بالإضافة الى 48 عينة دم أخرى لأشخاص إعتيادين باعتبارهم عينة سيطرة.

عدد المرضى المخمجين بطفيلي المقوسة الكوندية	العدد الكلي للمرضى	أنواع السرطان
17	65	Breast cancer سرطان الثدي
3	13	Lymphoid cancer سرطان اللمفاوي
2	11	Uterus cancer سرطان الرحم
2	8	Leukemia سرطان الدم
1	5	Paraglyphs cancer سرطان الظهر
2	4	Lung cancer سرطان الرئة
2	3	Stomach Cancer سرطان المعدة
1	2	Bladder cancer سرطان المثانة
1	2	Pancreatic cancer سرطان البنكرياس
1	1	Kidney cancer سرطان الكلية
1	1	Parotid gland cancer سرطان الغدة النكفية
33	115	المجموع
0	21	أنواع اخرى من الأمراض السرطانية
33	136	المجموع الكلي

جدول (1): أنواع الأمراض السرطانية وعلاقتها مع الخمج بالمقوسة الكوندية.

الإختبارات المصلية Serological Tests

اختبار تلازن اللاتكس (LAT) Latex Agglutination Test

يبين الجدول (2) أن عدد العينات الموجبة لاختبار LAT لمرضى السرطان كانت 64 أي بنسبة 47.06% بينما أعطت 72 عينة أي بنسبة 52.94% من الحالات نتيجة سالبة دم، في حين كان عدد العينات الموجبة لمجموعة السيطرة 22 حالة موجبة وبنسبة 45.83% و 26 حالة سالبة وبنسبة 54.17%، وبنيت نتائج التحليل الإحصائي أن هنالك فروقات ذات دلالة معنوية عند مستوى احتمالية $p < 0.01$. وهذه النسبة مقارنة لنسبة الدراسات التي قام الباحث [9] حيث بين أن نسبة خمج بالمقوسة الكوندية 45.8% بين النساء المجهضات. في حين لا تتفق مع ما توصل اليه الباحث [10] حيث بين أن نسبة الخمج كانت 34% في عينات نقل الدم في بغداد، و لا تتفق أيضاً مع الباحث [11] حيث بين أن نسبة الخمج بين مرضى انفصام الشخصية في بغداد بنسبة 71.5%. إنَّ اختبار تلازن اللاتكس يستخدم بكثرة في الدراسات المسحية للكشف عن أضرار الطفيلي وذلك لسهولة إجرائه والكلفة المناسبة وقلة الوقت والجهد اللازمين لإجرائه حيث تظهر النتيجة بعد (3-5)

دقائق ويعتمد بصورة أساسية على كفاءة ودقة المستخدم ومهارته في إجراء التقنية كما لا يحتاج الى أجهزة باهضة الثمن ومعقدة لذا يستخدم في الدراسات المسحية لأنه يعطي فقط تصوراً مبدئياً عن التشخيص وحجم الإصابة، ولكن لا يمكن التمييز عن الاضداد المناعية IgM و IgG للطفيلي وكذلك اعتماد

الاختبار العياني في قراءة النتائج وهذه تختلف من باحث الى آخر.

جدول (2): توزيع الحالات الموجبة والسالبة لداء المقوسات Toxoplasmosis في مرضى السرطان باستخدام اختبار

.LAT

إختبار التلازن المحور Modified Agglutination Test

يستخدم 2-ME لتشخيص نوع الخمج إذا كان حاداً او مزمنياً فضلاً عن زيادة الحساسية والخصوصية هذا الإختبار مقارنة مع اختبار اللاتكس حيث بلغت الحالات الموجبة لاختبار 2-ME لمرضى السرطان 39 وبنسبة 28.7%، وبلغ عدد الحالات السالبة 97 بحالة وبنسبة 71.30%، أما مجموعة السيطرة فقد بينت النتائج أن عدد الحالات

إختبار LAT					
النسبة المئوية	الحالات السالبة	النسبة المئوية	الحالات الموجبة	العدد الكلي	العينات
%52.94	72	%47.06	64	136	مرضى السرطان
%54.17	26	%45.83	22	48	مجموعة السيطرة
	98		86	184	المجموع
$X^2 = 20.5116^{**}$ P-Value = 0.00071					

الموجبة 12 حالة موجبة وبنسبة 25% وعدد الحالات السالبة 36 بحالة وبنسبة 75%. وقد بين التحليل الإحصائي أن هنالك فروقاً معنوية عند مستوى احتمالية $P < 0.01$ كما موضح في الجدول (3). وهذا النتائج لا تتفق مع نتائج الباحث [12] حيث بين أن نسبة الخمج 6.35% في الدراسة المصلية لداء المقوسات في محافظة كركوك، وكذلك مع الباحثة [13] حيث بلغت نسبة الخمج 62.5% باستخدام اختبار 2-ME.

جدول (3): توزيع الحالات الموجبة والسالبة لداء المقوسات Toxoplasmosis في مرضى السرطان باستخدام

اختبار ME-2.

اختبار Rapid Test –Cassette

يشير الجدول (4) أن عدد العينات الموجبة لاختبار Rapid IgG كانت 12 و بنسبة 8.8% بالنسبة Rapid IgM كانت 0 في حين كان عدد العينات الموجبة لمجموعة السيطرة 5 حالات موجبة لـ IgG بنسبة المئوية 10.42% أما IgM كانت 0، أوضحت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين المجموعتين ، ونتائج دراستنا لا

أختبار ME-2					
العينات	العدد الكلي	الحالات الموجبة	النسبة المئوية	الحالات السالبة	النسبة المئوية
مرضى السرطان	136	39	28.7%	97	71.3%
مجموعة السيطرة	48	12	25%	36	75%
المجموع	184	51		133	

$\chi^2 = 14.2941^{**}$
P-Value = 0.00061

تتفق مع نسبة مع الباحثة [14] حيث بلغت نسبة الخمج بين مرضى السرطان والمخمجين بداء المقوسات 43.7% للخمج المزمن و12.5% للخمج الحاد، ولا تتفق هذه النسبة مع النتائج التي توصلت اليها الباحثة [15] حيث بلغت نسبة الخمج 19.6% في الأشخاص المتبرعين بالدم في كركوك. يمتاز اختبار الكاسيت ببساطه وسهولة استخدامه وسعره المناسب بالإضافة الى أنه يقرأ نتيجة خلال 15 دقيقة، ألا أنه لا يمتلك درجة عالية من الدقة لكونه قليل الحساسية.

IgM		IgG		العدد الكلي	العينات
الحالات السالبة (النسبة المئوية)	الحالات الموجبة (النسبة المئوية)	الحالات السالبة (النسبة المئوية)	الحالات الموجبة (النسبة المئوية)		
136 (%100)	0 (%0)	124 (%91.2)	12 (%8.8)	136	مرضى السرطان
48 (%100)	0 (%0)	43 (%89.58)	5 (%10.42)	48	مجموعة سيطرة
184	0	167	17	184	المجموع
$\chi^2 = 0$ P-Value = 0		$\chi^2 = 2.88235^{ns}$ P-Value = 0.003			

جدول (4) : توزيع الحالات الموجبة والسالبة لداء المقوسات *Toxoplasmosis* في مرضى السرطان باستخدام اختبار Cassette

اختبار إرتباط الأنزيم للأدمصاص المناعي Enzyme Linked Immunosorbent Assay

أوضحت النتائج المبينة في الجدول (5) النسب المئوية لحالات الخمج للعينات قيد الدراسة باستخدام اختبار ELISA إذ بلغت النسبة المئوية للخمج المزمن لمرضى السرطان 18.38% أما في مجموعة السيطرة فكانت النسبة 16.67% وبين التحليل الإحصائي أن هنالك فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P < 0.01$ ، في حين بلغت النسبة المئوية للخمج الحاد والخمج المشترك (الحاد، المزمن) لمرضى السرطان 2.94% مقارنة مع مجموعة السيطرة ونسبة مئوية 6.25% للخمج الحاد والخمج المشترك. وبين التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين المجموعتين. ونتائج الدراسة الحالية تتفق مع نتائج [16] حيث سجل نسبة الخمج في مرضى السرطان والمخمجين بداء المقوسات 0.77% للخمج الحاد و2.32% للخمج المشترك ولا تتفق في الخمج المزمن حيث بلغت 38.75%، وتتفق مع [17] حيث بلغت نسبة الخمج الحاد 1.58% و0.79% للخمج المشترك ولا تتفق في نسبة الخمج المزمن حيث بلغت 6.02%. وكذلك لا تتفق مع [18] حيث بينوا أن نسبة الخمج في مرضى السرطان الشدي 86.4% للخمج المزمن و7.6% للخمج حاد.

جدول (5): توزيع الحالات الموجبة والسالبة لداء المقوسات *Toxoplasmosis* في مرضى السرطان باستخدام

اختبار ELISA.

اختبار ELISA						
IgG+IgM	IgM		IgG		العدد الكلي	العينات
حالات موجبة (نسبة موجبة)	حالات سالبة (نسبة مئوية)	حالات موجبة (نسبة مئوية)	حالات سالبة (نسبة مئوية)	الحالات الموجبة (النسبة المئوية)		
4 (%2.94)	132 (%97.06)	4 (%2.94)	111 (%81.62)	25 (%18.38)	136	مرضى السرطان
3 (%6.25)	45 (%93.75)	3 (%6.25)	40 (%83.33)	8 (%16.67)	48	مجموعة سيطرة
7	177	7	151	33	184	المجموع
$\chi^2 = 1.142^{ns}$ P-Value = 0.705	$\chi^2 = 0.142^{ns}$ P-Value = 0.705		$\chi^2 = 8.75758^{**}$ P-Value = 0.003			

وهذا التباين في نسبة الخمج يعود الى أنّ معدلات انتشار داء المقوسات بين السكان تختلف اختلافاً كبيراً بين مختلف المناطق الجغرافية داخل البلد الواحد من جهة وبين مختلف البلدان من جهة أخرى، فضلا عن الظروف المناخية من درجة الحرارة والرطوبة وغيرها وكذلك يرتبط التباين بعدد من العوامل المختلفة بما في ذلك العادات الغذائية والعمر ومنطقة السكن والتعامل مع التربة والاتصال مع القطط وحيازتها فضلا عن المستوى الثقافي والصحي بين المناطق المدروسة وكذلك في عدد العينات المفحوصة في كل الدراسة وطرائق الإختبارات المصلية وشدة الخمج والمدة الزمنية التي تمت فيها الدراسة، وكذلك اختلاف النسب في الحساسية والخصوصية كل اختبار في تشخيص المحددات المستضدية لطفيلي المقوسة الكوندية .

المصادر

[1] J. P. Dubey *Toxoplasmosis of Animals and Humans*. 2nd ed. (2010). Pp: 6-8,60-68.



[2] M. Jiménez – Coello ; K. Acosta – Viana ; E. Guzmán – Marín ; M. Puerto – Solís and A. Ortega – Pacheco. Toxoplasmosis: A relevant zoonotic food borne disease in tropical conditions. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 6(12) .(2012).Pp:2956-2964.

[3] B.Cenci-Goga ; P. Rossitto; P. Sechi ; C. McCrindle ; and J. Cullor. Toxoplasma in animals, food, and humans: an old parasite of new concern. *Food borne Pathog. Dis.*, 8.(2011). Pp:751-762.

[4] J. P. Dubey. The history of *Toxoplasma gondii* . The First 100 Years. *J .Eukaryot Microbiol.*,55. (2008).Pp:467–475.

[5] S. Rogerio; R. Patricia; G. Rosiane ; and A. Marco .Congenital Toxoplasmosis: A neglected Disease–Current Brazilian public health policy. *Field Actions Sci. Rep.*, Issue. .(2011).

[6] C. Su and J. Dubey Toxoplasma. Cited by: Molecular detection of food borne pathogens. Edited by Dongyou Liu. CRC. Tylar & France group, (2010). Pp:741 – 753.

[7] J. Remington; R. McLeod ; P. Thulliez ; and G. Desmonts Toxoplasmosis. In: Remington, J.S., Klein, J.O. (editors) *Infectious diseases of the fetus and new born infants* 5th ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia, U.S.A .(2000). Pp: 206-346.

[8] خاشع محمود الراوي .المدخل الى الأحصاء .كلية الزراعة ، جامعة موصل.(٢٠٠٠). ص: ٤٥-٨٥.

[9] J. R. C. AL-Mayahi Epidemiological study on *Toxoplasma gondii* in aborted women in Kut city.M.Sc. Thesis. College of Science. University of Baghdad. (2011). Pp :125.

[10] S.H.M. AL-Saadii .The Effect of Toxoplasmosis on the Level of Some Sex Hormones in Iraqi Men. M.Sc. Thesis, College of Science. University of Baghdad.(2013).Pp:150.