

ارزیابی دو روش آنتی بادی ایمنوفلئورسانس غیرمستقیم (IFA) و الایزا (ELISA) در

تشخیص سندرم لارو مهاجر احشائی

اسماعیل فلاح^۱، لیلا محامی اسکوئی^۱، محمود محامی اسکوئی^{۱*}، عبدالرسول صفاییان^۲

۱) گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۲) گروه آمار حیاتی و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۱۳

چکیده

مقدمه: سندرم لارو مهاجر احشائی (VLM) یک بیماری زئونوز بوده که در اثر استقرار لاروهای توکسوکارا کنیس یا توکسوکارا کتی در بافت ها یا اندام ها ایجاد می شود. این مطالعه با هدف ارزیابی و مقایسه روش ذهای ایمنوفلئورسانس غیرمستقیم (IFA) و الایزا (ELISA) در تشخیص سندرم لارو مهاجر احشائی به دنبال یک بررسی سرو اپیدمیولوژیک در شهرستان تبریز انجام گرفته است.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی-تحلیلی ۵۵۸ نفر از افراد ۲۰-۲ سال شهرستان تبریز در سال ۱۳۸۸ به روش تصادفی سهمیه ای انتخاب و نمونه گیری شدند. نمونه های سرمی تهیه شده از نظر وجود آنتی بادی ضد توکسوکارا با استفاده از روش های IFA و ELISA مورد بررسی قرار گرفتند و داده ها با استفاده از آزمون آماری کای دو تجزیه و تحلیل گردیدند.

یافته های پژوهش: از مجموع افراد نمونه گیری شده (۲۳۵ نفر مذکر و ۳۲۳ نفر مؤنث)، از نظر ابتلاء به توکسوکاریازیس، ۱۶۲ نفر (۲۹/۰۴ درصد) مثبت و ۳۹۶ نفر (۷۰/۹۶ درصد) منفی بودند. با استفاده از روش ELISA از مجموع ۵۵۸ نفر تعداد ۱۶۲ نمونه دارای آنتی بادی ضد توکسوکارا بودند. در تست IFA از مجموع ۵۵۸ نفر ۱۶۱ نمونه مثبت و بقیه منفی شدند.

بحث و نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که آزمون IFA جهت تشخیص سندرم لارو مهاجر احشائی از کارایی خوبی برخوردار است ولی نیازمند آزمایشگاه مجهز و پرسنل ورزیده می باشد در صورتی که آزمایش الایزا یک روش ساده و آسان برای تشخیص و مطالعه سرواپیدمیولوژی توکسوکاریازیس می باشد.

واژه های کلیدی: سندرم لارو مهاجر احشائی، توکسوکارا کنیس، توکسوکارا کتی

*نویسنده مسئول: گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

مقدمه

سندرم لارو مهاجر احشایی یک بیماری حاد یا تحت حاد انگلی است که بر اثر مهاجرت و استقرار لاروهای مرحله دوم گروهی از انگل های کرمی نماتودها در بافت های مختلف بدن انسان ایجاد می گردد. مهم ترین عامل VLM نماتود «*Toxocara canis*» می باشد که یک انگل کرمی شایع سگ در سراسر جهان است، (۲،۱). تخم کرم پس از آن که همراه مدفوع سگ در محیط پراکنده گردید، با خورده شدن توسط انسان (از طریق تماس با سگ، خاک خواری، خوردن سبزیجات آلوده، بازی در پارک ها و زمین های بازی آلوده، کشاورزی و غیره) در روده باز شده و لارو آن آزاد می گردد. لارو از طریق جریان خون به کبد، ریه و سایر ارگان ها مهاجرت می کند. لاروها در این اعضاء بلوغ نخواهند یافت و به صورت سرگردان هفته ها و ماه ها باقی مانده و سبب التهاب، خونریزی، نکروز و ارتشاح سلول های ایمنی و در نهایت گرانولوم می گردند، (۳،۴). عامل بیماری عمدتاً انگل های طبیعی حیوانات بوده که در انسان به بلوغ نرسیده و در ارگان های مختلف بدن انسان سرگردان می شوند، (۵). علائم بیماری می تواند از اشکال بدون علامت تا عفونت های برق آسا و حتی مرگ متغیر باشد. به عارضه چشمی حاصل از این لاروها نیز اصطلاحاً سندرم لارو مهاجر چشمی می گویند که جزو وخیم ترین پیامدهای بیماری بوده و از نظر تفریق آن از بدخیمی های چشم کودکان نظیر رتینوبلاستوما مهم می باشد، (۶). آلودگی سگ ها به این انگل در نقاط مختلف دنیا متفاوت است، شیوع آلودگی سگ در اسپانیا ۳۰ درصد، در آلمان ۲۵/۵-۱۵/۲ درصد و در ایتالیا ۶۴-۲۲/۱ درصد به دست آمده است، (۷). مطالعات اپیدمیولوژیک در مورد شیوع عفونت در جوامع انسانی نسبتاً نادر می باشد و لذا تفسیر و مقایسه نتایج بررسی ها هنوز به صورت یک مشکل باقی مانده است. برای تشخیص بیماری در انسان روش های مختلفی وجود دارد که حضور لارو را در بدن فرد تأیید می کند. قطعی ترین روش تشخیص بیماری در مرحله حاد، بیوپسی مستقیم از ضایعات کبد است که به دلیل تهاجمی بودن روش و احتمال بالای عدم مشاهده لارو، روش چندان مطلوبی نبوده و استفاده نمی گردد، (۸). به همین دلیل از روش های دیگری استفاده می شود که از بهترین و مناسب ترین آن ها، روش های سرولوژیکی است که با بکارگیری آنتی ژن دفعی-ترشچی حاصل از لارو مرحله دوم، در تشخیص بیماری کمک کننده است و در اکثر تحقیقات نقاط مختلف دنیا نیز مورد استفاده بوده

است، (۹). در زمینه بررسی شیوع سرولوژیکی توکسوکاریازیس در ایران تحقیقات اندکی صورت گرفته که از جمله این بررسی ها، گزارش منتشر شده توسط سجادی و همکاران در شیراز می باشد، (۱۰). در ایران موارد ثابت شده VLM نیز از تعداد انگشتان دست فراتر نرفته است که البته گزارش اندک موارد نه به دلیل نبود موارد بلکه به سبب مشکلات موجود در تشخیص کلینیکی و آزمایشگاهی بیماری می باشد، (۲). و فور سگ ها در تمامی نواحی روستایی و شهری کشور، وجود تعداد بی شماری سگ ولگرد در محیط زیست انسانی و آلودگی محیط زیست، پارک ها، فضاهای سبز و زمین های کشاورزی به تخم انگل، همگی حاکی از آن است که تماس انسان با انگل در تمامی نواحی کشور وجود داشته و لذا ضرورت بررسی میزان مواجهه و وفور آلودگی در جوامع انسانی با استفاده از روش های تشخیصی مناسب احساس می گردد، (۱۱). شهرستان تبریز دارای بافت شهری متنوعی همراه با بخش های حومه ای فراوان می باشد که هنوز حضور سگ های ولگرد در آن قابل ملاحظه است. با توجه به اهمیت توکسوکاریازیس و کمبود اطلاعات در این زمینه، به نظر می رسد که تعیین میزان شیوع این بیماری با استفاده از تست های آزمایشگاهی مطمئن و تعیین روش آزمایشگاهی مناسب جهت تشخیص توکسوکاریازیس، تعیین میزان آلودگی خاک به تخم انگل و بررسی شیوع کرم بالغ در سگ سانان دارای اهمیت خاصی باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه روش های سرولوژی IFA و ELISA در تشخیص سندرم لارو مهاجر احشایی به منظور دستیابی به یک آزمون آسان، ارزان و قابل اجرا می باشد تا موارد مثبت کاذب و واکنش متقاطع را کم و یا حذف نموده و به تشخیص به موقع و دقیق توکسوکاریازیس کمک نماید.

مواد و روش ها

در این مطالعه ۵۵۸ نمونه به روش تصادفی سهمیه ای انتخاب شدند. بدین ترتیب که ابتدا از طریق اداره آمار استان آذربایجان شرقی اطلاعات جمعیتی شهرستان تبریز دریافت شد. بر اساس سرشماری نفوس و مسکن سال ۱۳۸۵ جمعیت کل شهرستان ۱۳۹۸۰۶۰ نفر بوده که از این تعداد ۴۳۸۴۵۶ نفر در محدوده سنی ۲۰-۲ سال قرار داشتند. بر اساس پراکندگی جمعیتی شهرستان و فرمول تعیین حجم نمونه کوکران، تعداد نمونه مورد نظر (۵۵۸ نفر) برآورد گردید. بعد از کسب موافقت، جمع آوری اطلاعات نمونه تعیین شده با استفاده از پرسش نامه انجام گردید. در این پرسش نامه اطلاعات افراد مورد بررسی شامل: نام،

به منظور انجام تست IFA ابتدا آنتی ژن فیگوره توکسوکارا با استفاده از کرم های توکسوکارای بسته شده به عضله خرگوش و تهیه برش های مکرر با دستگاه میکروتوم به دست آمد که پس از انتقال بر روی لام تا زمان انجام آزمایش در فریزر نگهداری شدند. سپس به تعداد مورد نیاز لام حاوی آنتی ژن را از فریزر خارج نموده و مدت ۱۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار داده تا خشک شوند. در این مدت لام ها را با قلم الماسه شماره گذاری می کنیم و هم چنین به وسیله میکروسکوپ معمولی به عنوان نمونه چند لام را از نظر وجود مقاطع کرم در برش ها بررسی نموده تا از لام های تهیه شده اطمینان حاصل شود. لام ها را به مدت ۱۰ دقیقه در استون قرار داده تا ضمن این که آنتی ژن روی لام فیکس شود، چربی موجود نیز از بین برود. سپس لام ها را در دمای اتاق قرار داده تا خشک شوند. سرم های بیماران و سرم کنترل منفی و مثبت را که در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شده بودند قبلاً از فریزر خارج کرده تا ذوب شوند و پس از شماره گذاری آن ها، در میکروپلیت U شکل، رقت ۱ به ۲۰ از سرم ها تهیه می شود. لام های آماده شده آنتی ژن را در محفظه مرطوب چیده و ۱۰۰ میکرولیتر از سرم های رقیق شده را بر روی آنتی ژن می ریزیم. لام ها به مدت نیم ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار می گیرند. پس از انقضای مدت، لام ها طی دو مرحله ۷ و ۸ دقیقه ای با محلول بافر فسفات شستشو و سپس خشک می شوند. لام ها را دوباره در محفظه مرطوب چیده و روی آن ها کونژوگه آنتی هیومن حاوی اوانس بلو می ریزیم. میزان کونژوگه باید به حدی باشد که سطح آنتی ژن را پوشانده و ضمناً حباب تشکیل نشود. بار دیگر لام ها را به مدت نیم ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده و پس از آن دوباره لام ها طی دو مرحله ۷ و ۸ دقیقه ای با محلول بافر فسفات شستشو و سپس خشک می شوند. لام ها پس از مونته شدن به وسیله گلیسرین، با استفاده از میکروسکوپ فلتورسنت مورد بررسی قرار می گیرند. اگر واکنش مثبت باشد، فلتورسانس زرد سبز زنده درخشانی از خود نشان می دهد و اگر منفی باشد، آنتی ژن فیگوره نمایی شبیه به عضله مخطط داشته و به عبارتی فقط رنگ Evan's Blue را به خود می گیرد و به رنگ قرمز دیده می شود.

یافته های پژوهش

در این تحقیق تعداد ۵۵۸ نمونه سرم از گروه های سنی مختلف تهیه شد که با روش های سرولوژی IFA و

نام خانوادگی، سن، جنس، تاریخچه خاک خ واری و ناخن خواری، تماس با سگ و گربه یا نگهداری سگ و گربه در منزل و یک سری علائم بالینی مربوط به این بیماری ثبت و سپس نمونه ها که شامل ۳-۵ میلی لیتر نمونه خون، یک گسترش خونی جهت تعیین درصد اتوزینوفیل ها و نمونه مدفوع بود، تهیه شدند. پس از جداسازی سرم ها، در فریزر (۲۰- درجه سانتی گراد) نگهداری شدند و سپس با روش های سرولوژیکی IFA و ELISA مورد آزمایش قرار گرفتند. در تکنیک ELISA از آنتی ژن سنتتیک توکسوکارا ساخت شرکت IBL کشور آلمان استفاده شد و در تکنیک IFA آنتی بادی IgG اختصاصی ضد آنتی ژن فیگوره توکسوکارا آزمایش گردید. آزمایش مدفوع با روش فرمالین اتیل استات انجام شد تا در صورت آلوده بودن بیماران با دیگر انگل ها، این موارد از مطالعه حذف و از بروز تورش به علت واکنش متقاطع جلوگیری به عمل آید. برای تعیین میزان اتوزینوفیل های خون محیطی، نیز یک گسترش خونی تهیه شد که پس از رنگ آمیزی با رنگ گیمسا مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS vol.16 و آزمون مجذور کای دو استفاده شد. هم چنین به منظور مقایسه و ارزیابی دو تست ELISA و IFA در این مطالعه، حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری (پیشگوئی) مثبت، ارزش اخباری (پیشگوئی) منفی و اعتبار این دو تست نیز محاسبه گردیدند.

تست ELISA

در این مطالعه تمامی نمونه ها با روش ELISA مورد آزمایش قرار گرفتند. در این بررسی از آنتی ژن دفعی- ترشچی لارو توکسوکارا استفاده شد. نمونه ها را با استفاده از محلول بافر فسفات، با رقت ۱ درصد رقیق نموده و به حفره های میکروپلیت اضافه گردیدند. پس از انکوباسیون ۶۰ دقیقه ای در دمای ۳۷ درجه، مراحل شستشو انجام و سپس کونژوگه پراکسیداز A توکسوکارا به هر حفره اضافه و دوباره مراحل انکوباسیون و شستشو انجام شد. سپس سوبسترای تترامیتیل بنریدین (TMB) به هر حفره اضافه و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در محل تاریک و اتاق مرطوب، جهت توقف واکنش از محلول اسیدسولفوریک ۰/۲ مولار به هر یک از حفرات اضافه شده و نتایج به کمک دستگاه ELISA reader در طول موج 450 nm و در حضور کنترل های مثبت و منفی خوانده شدند.

تست IFA

افراد دارای آنتی بادی توکسوکارا و ۱۴/۸ درصد از افراد بدون آنتی بادی توکسوکارا در منازل خود سگ و گربه نگهداری می کردند. در افراد مورد بررسی بیشترین علائم بالینی مربوط به علائم گوارشی با ۳۹/۴۷ درصد و کمترین مربوط به آلرژی با ۰/۳۵ درصد فراوانی است. میانگین ائوزینوفیل در افراد دارای آنتی بادی توکسوکارا ۵/۳ درصد، در افراد بدون آنتی بادی توکسوکارا ۴/۲ درصد و در کل افراد مورد بررسی ۴/۵ درصد بود. در این مطالعه تمامی نمونه ها با روش ELISA و IFA مورد آزمایش قرار گرفتند. تمام ۳۹۶ نمونه ای که در تست ELISA منفی بودند در تست IFA نیز منفی شدند. از ۱۶۲ نمونه ای که با روش ELISA مثبت شده بودند به غیر از یک مورد که با روش IFA منفی شد در بقیه موارد این دو تست کاملاً هم خوانی داشتند. (جدول شماره ۱) حساسیت و ویژگی تست ELISA به ترتیب ۱۰۰ و ۹۹/۷ درصد، ارزش اخباری مثبت ۹۹/۴ درصد، ارزش اخباری منفی ۱۰۰ درصد و اعتبار تست الیزا ۹۹/۸۵ درصد به دست آمد. هم چنین حساسیت و ویژگی تست IFA به ترتیب ۹۹/۳ و ۱۰۰ درصد، ارزش اخباری مثبت ۱۰۰ درصد، ارزش اخباری منفی ۹۹/۷ درصد و اعتبار تست ایمنوفلئورسانس غیرمستقیم ۹۹/۶۵ درصد محاسبه شد. برای تعیین همبستگی دو تست ELISA و IFA در تشخیص توکسوکاریازیس نیز از آزمون آماری کاپا استفاده شد که نتایج حاصله همبستگی این دو تست را تأیید می کند. (P=0.000)

ELISA مورد آزمایش قرار گرفتند. از مجموع افراد نمونه گیری شده (۲۳۵ نفر مذکر و ۳۲۳ نفر مؤنث)، از نظر ابتلاء به توکسوکاریازیس، ۱۶۲ نفر (۲۹/۰۴ درصد) مثبت و ۳۹۶ نفر (۷۰/۹۶ درصد) منفی بودند. در تست ELISA، ۱۶۲ نمونه مثبت و بقیه منفی شدند. در تست IFA نیز ۱۶۱ مورد مثبت و بقیه منفی شدند. میانگین سنی افراد مورد مطالعه ۱۲/۰۷ سال است که از حداقل ۲ سال تا حداکثر ۲۰ سال متغیر می باشد. میانگین سن در افراد دارای آنتی بادی توکسوکارا ۹/۹ سال و در افراد بدون آنتی بادی ۱۱/۹ سال می باشد. در این بررسی اختلاف معنی داری بین میانگین سنی و ابتلاء به توکسوکاریازیس وجود داشت (P=0.000) به عبارتی در بیماران مبتلا به توکسوکاریازیس میانگین سنی به طور معنی داری کمتر از افراد سالم بود. ۵۷/۹ درصد از افراد مورد مطالعه را جنس مؤنث و ۴۲/۱ درصد را جنس مذکر تشکیل می دادند. فراوانی جنس مؤنث در بین افراد بدون آنتی بادی، ۵۴/۳ درصد و در بین افراد دارای آنتی بادی ۵۹/۳ درصد می باشد. فراوانی جنس مذکر در بین افراد بدون آنتی بادی ۴۵/۷ درصد و در بین افراد دارای آنتی بادی ۴۰/۷ درصد بود. اختلاف معنی داری بین جنسیت و ابتلاء به توکسوکاریازیس مشاهده نشد. ۲۰/۸ درصد از افراد بدون آنتی بادی و ۴۱/۴ درصد از افراد دارای آنتی بادی توکسوکارا سابقه خاک خواری داشتند. ۱/۷ درصد از افراد بدون آنتی بادی و ۱۷/۹ درصد از افراد دارای آنتی - بادی توکسوکارا مبتلا به ناخن خواری بودند. ۵۸ درصد از

جدول شماره ۱. مقایسه فراوانی آنتی بادی توکسوکارا در روش های ELISA و IFA

نوع تست	نتیجه تست	مثبت	منفی	جمع
IFA		۱۶۱	۳۹۷	۵۵۸
ELISA		۱۶۲	۳۹۶	۵۵۸

بحث و نتیجه گیری

تشخیص بیماری در مرحله حاد، بیوپسی مستقیم از ضایعات کبد است اما به دلیل تهاجمی بودن و احتمال بالای عدم مشاهده لارو، روش چندان مطلوبی نبوده و استفاده نمی گردد؛ (۸). هم چنین استفاده از روش های مولکولی اگر چه ابزاری قوی با حساسیت و ویژگی بالا می باشد اما

مطالعات اپیدمیولوژیک در مورد شیوع عفونت توکسوکارا در جوامع انسانی نسبتاً نادر بوده لذا تفسیر و مقایسه نتایج بررسی ها هنوز به صورت یک مشکل باقی مانده است. برای تشخیص سندرم لارو مهاجر احشائی در انسان روش های مختلفی وجود دارد که قطعی ترین روش

بیماری می باشد و اختصاصیت و حساسیت آن نیز بسیار بالاست. آنان با این روش، اطلاعات دقیقی از وضعیت اپیدمیولوژی عفونت توکسوکارا در شمال ایتالیا به دست آوردند، (۱۵). روش الایزا با استفاده از آنتی ژن های سوماتیک توکسوکارا توسط مؤمنی و همکاران در سال ۲۰۰۳ طراحی گردید که حساسیت ۱۰۰ درصد، اختصاصیت ۷۷ درصد و هم چنین ارزش پیشگوئی مثبت و منفی به ترتیب ۶۵/۲ و ۱۰۰ درصد را در مقایسه با روش IFA گزارش نمودند و بر اساس نتایج حاصله، استفاده از آنتی ژن های سوماتیک در تشخیص توکسوکاریازیس با توجه به پایین بودن ویژگی، توصیه نشده است، (۹). در مطالعه ای هم که توسط کوشا و همکاران در سال ۲۰۰۴ به منظور ارزیابی و مقایسه دو روش IFA و ELISA در تشخیص استرونتیلوئیدیازیس انسانی انجام گرفت تکنیک الایزا با حساسیت و ویژگی بالا به عنوان روش آزمایشگاهی مناسب معرفی گردید، (۱۶). در مطالعه حاضر روش های سرولوژی IFA و ELISA جهت تشخیص توکسوکاریازیس مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفتند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که آزمون IFA در تشخیص توکسوکاریازیس از کارایی خوبی برخوردار است ولی نیازمند آزمایشگاه مجهز و پرسنل ورزیده می باشد در صورتی که آزمایش ELISA یک روش ساده و آسان برای تشخیص و مطالعه سرواپیدمیولوژی توکسوکاریازیس می باشد. نتایج این تحقیق، بیانگر سودمند و مناسب بودن آنتی ژن دفعی-ترشچی لارو مرحله دوم توکسوکارا با استفاده از تکنیک ELISA با حساسیت و ویژگی بسیار بالا در تشخیص سندرم لارو مهاجر احشائی می باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مساعدت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز در تصویب و اجرای این طرح قدردانی می گردد. هم چنین از همکاری صمیمانه پرسنل دانشکده پزشکی تبریز سپاسگزاریم.

بکارگیری آن در تشخیص بیماری های انگلی محدودیت هایی به لحاظ امکانات و هزینه دارد. بنا بر این استفاده از روش های تشخیصی دیگر از جمله روش های سرولوژیکی با حساسیت و ویژگی مناسب در تشخیص بیماری کمک کننده است و در اکثر تحقیقات نقاط مختلف دنیا نیز مورد استفاده بوده است، (۹). در مطالعات مختلف از آزمون های سرولوژیکی اختصاصی در تشخیص توکسوکاریازیس نظیر IFA و ELISA با نتایج مطلوب استفاده شده است. در سال ۱۹۷۷، Ruitenberگ و Van-knapen از تکنیک الایزا برای تشخیص عفونت های انگلی تک یاخته و کرمی استفاده نمودند. در این پژوهش، به صورت تجربی میمون - های *Cynimomlogus* را به *Toxocara canis* آلوده کرده و سرم آن ها را با روش Macro-ELISA، Micro-ELISA و IFA مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج بیانگر این مطلب بود که میکرو الایزا حساس تر از ماکرو الایزا و این دو حساس تر از IFA می باشند، (۱۲). در سال ۱۹۷۷، Glickman و Cypess با گسترش کاربرد الایزا به دلیل حساسیت و ویژگی بالای آن، از این تکنیک به منظور جستجوی عفونت توکسوکاریازیس انسانی استفاده نمودند. آنتی ژن مورد استفاده، عصاره حاصل از لارو *Toxocara canis* بود، (۱۳). کارلیر و همکاران در سال ۱۹۸۲ با استفاده از تکنیک ELISA و آنتی ژن دفعی-ترشچی لارو مرحله دوم توکسوکارا کنیس به بررسی سرم بیماران مبتلا به سندرم لارو مهاجر احشائی پرداختند. نتایج نشان داد که به وسیله آنتی ژن دفعی-ترشچی و تکنیک الایزا با پاسخ OD بالاتر از ۰/۳۴ می توان به تفریق و تشخیص بیماران VLM از بیماران مبتلا به آسکاریس و یا دیگر عفونت های انگلی اقدام نمود، (۱۴). در سال ۱۹۸۶، بارنلو و همکاران، با متد ELISA با استفاده از آنتی ژن دفعی-ترشچی لارو مرحله دوم توکسوکارا کنیس و کونژوگه Anti-human IgG به جستجوی بیماری توکسوکاریازیس انسانی پرداختند و عنوان نمودند که این روش، تنها روش سرولوژی مناسب برای تشخیص این

References

- 1- Saebi E. Parasitic diseases in Iran. 2th ed. Tehran Aeig Pub; 2009.P. 253-60. (Persian)
- 2- Arfae A. Clinical helminthology. 5th ed. Tehran Keshavarz Pub; 2002.P. 398-403. (Persian)
- 3- Aydenizoz Ozkayhan M. Soil contamination with ascarid eggs in play grounds in Turkey. J Helminthol 2006; 80: 15-8.
- 4- Stewart JM, Cubillan LD. Prevalence clinical features and causes of vision loss among patients with ocular toxocariasis. Retina Dec 2005; 25: 1005-13.
- 5- Glickman LI, Schantz PM. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. Epidemiol Rev 1982; 10: 143-8.
- 6- Lopez-Velez R, Suaraz de Figueroa M, Gimeno L. Ocular toxocariasis or retinoblastoma? Enferm Infec Microbiol Clin 1995; 13: 242-5.
- 7- Covde- Garcia L, Muro- Alvarez A, Simon- Martin F. Epidemiological studies on toxocarasis and visceral larva migrans in a zone of western Spain. Ann Trop Med Parasitol 1989; 83: 615-20.
- 8-Loukas A, Hintz M, Linder D. A family of genes active during the resting stage of the parasite were cloned and their cDNA sequences determined. Secreted mucins from the parasitic nematode *Toxocara canis* bears diverse mucin domains but shares similar flanking six-cysteine repeat motifs. J Biol Chem 2000; 275: 39600-7.
- 9-Momeni Z, Massoud J, Rokni MB. Immunodiagnosis of visceral larval migrans in humans: evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay. Iranian J Publ Health 2003; 32: 31-4.
- 10- Sadjjadi SM, Khosravi M, Mehrabani D, Oryan A. Seroprevalence of *Toxocara* infection in school children in Shiraz, southern Iran. J Trop Pediatr 2000; 46: 327-30.
- 11- Eslami A. [Veterinary helminthology. Nematoda and Acanthocephala]. Tehran Uni Pub; 1997.P. 133-45. (Persian)
- 12-Ruitenberg EJ, Van-Knapen F. The ELISA and its application to parasitic infections. J Infec Dis 1977; 136 suppl: S 267-73.
- 13-Glickman LT, Cypess RH. *Toxocara* infection in animal hospital employees. Am J public Health 1977; 67: 1193-5.
- 14-Carlier Y, Yang J. The use of an E/S antigen for an ELISA specific sero-diagnosis of visceral larva migrans. Biomed Pharmacother 1982; 36: 39-42.
- 15- Brunello F, Falagiani P, Genchi C. ELISA for the detection of specific IgG antibodies to *Toxocara canis* E/S antigens. Boll Ist Sieroter Milan 1986; 65: 54-60.
- 16- Koosha S, Fesharaki M, Rokni MB. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay in the diagnosis of human strongyloidiasis. Indian J Gastroenterol. 2004; 23:214-6.

Evaluation of Indirect Immunofluorescent Antibody (IFA) Test and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) in Diagnosis of Visceral Larva Migrans

Fallah E¹, Mahami-Oskouei L¹, Mahami-Oskouei M^{1*}, Safaiyan A²

(Received: 10 January, 2013 Accepted: 3 June, 2013)

Abstract

Introduction: Visceral Larva Migrans (VLM) syndrome is a zoonotic disease caused by the establishment of *Toxocara canis* or *Toxocara cati* larva in tissues and organs. This study was performed to evaluate and compare indirect immunofluorescent antibody (IFA) and ELISA tests in the diagnosis of visceral larva migrans after a seroepidemiological survey in Tabriz city.

Materials & Methods: In this cross-sectional study, 558 persons, aged 2-20 years old, were randomly selected from Tabriz city during 2009-2010. Venous blood samples were collected and transferred to the research laboratory. *Toxocara* antibodies were detected by ELISA and IFA methods. Chi-square test was used for statistical analysis of data.

Findings: Of 558 samples (235 male and 323 female), 162(29.04%) had anti-*Toxocara* antibodies and 396(70.96%) were negative. 162 samples were seropositive by ELISA, whereas anti-*Toxocara* antibodies were detected only in 161 samples by IFA method.

Discussion & Conclusion: The results of this study showed that the IFA assay have a good efficiency for the detection of VLM, although the assay demanded an equipped laboratory and trained personnels. However, the ELISA assay is a simple and easy method for the diagnosis and seroepidemiological study of toxocariasis.

Keywords: Visceral larva migrans, *Toxocara canis*, *Toxocara cati*

1. Dept of Parasitology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

2. Dept of Biostatistics, Faculty of Health and Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

* Corresponding author