DOI: 10.48305/jims.v44.i877.2249

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و چهارم/شماره‌ی ۸۷۷/هفته‌ی چهارم مهر ۱۴۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۵ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۲۰ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۵/۰۷/۳۰

ارزیابی و مقایسه روش‌های ELISA و ELFA در تشخیص انگل توکسوپلاسما گوندیی در زنان قبل از بارداری

فرامرز کوهسار[۱]، صدیقه سادات عرفانی[۲]، رقیه فریدنیا[۳]، اوغل‌نیاز جرجانی[۴]، صادقعلی عظیمی[۲]، حامد کلانی[۲]، ناصر مدانلو[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: توکسوپلاسما گوندیی، انگل اجباری داخل سلولی می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی و مقایسه‌ی عملکرد دو روش ELISA و ELFA نسبت به روش CLIA در تشخیص انگل توکسوپلاسما گوندی می‌باشد.

روش‌ها: در این مطالعه، ۷۲ نمونه از زنان پیش از بارداری که با روش CLIA ۳۴ نمونه آن مثبت و ۳۸ نمونه منفی بودند برای ارزیابی با روش‌هایELISA و ELFA از لحاظ IgG توکسوپلاسما گوندیی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده بر اساس ترسیم منحنی ROC با یکدیگر مقایسه شدند.

یافته‌ها: طی بررسی انجام شده میزان اختصاصیت روش ELFA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی برابر با ۸۱/۵۸ درصد و حساسیت آن برابر با ۹۴/۱۲ بود. بررسی منحنی ROC نشان داد که روش ELFA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی قادر به تفکیک افراد سالم از بیمار می باشد. سطح زیر منحنی ROC برابر با ۰/۹۵ بود که نشان دهنده عملکرد عالی روش ELFA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی می‌باشد. میزان اختصاصیت روش ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی برابر با ۷۹/۴۱ درصد و حساسیت آن برابر با ۸۹/۴۷ بود. بررسی منحنی ROC نشان داد که روش ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی قادر به تفکیک افراد سالم از بیمار می‌باشد. سطح زیر منحنی ROC برابر با ۰/۹۲ بود که نشان‌دهنده‌ی عملکرد عالی روش ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی می‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هر دو روش ELISA و ELFA در تشخیص توکسوپلاسما گوندیی کارآمد هستند، هرچند روش ELFA از اختصاصیت و حساسیت بیشتری برخوردار بود.

واژگان کلیدی: توکسوپلاسما گوندی؛ ELFA؛ ELISA؛ CLIA

ارجاع: کوهسار فرامرز، عرفانی صدیقه‌سادات، فریدنیا رقیه، جرجانی اوغل‌نیاز، عظیمی صادقعلی، کلانی حامد، مدانلو ناصر. **ارزیابی و مقایسه روش‌های ELISA و ELFA در تشخیص انگل توکسوپلاسما گوندیی در زنان قبل از بارداری.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۵؛ ۴۴ (۸۷۷): ۲۲۴۹- ۲۲۵۶.

مقدمه

توکسوپلاسما گوندی انگل داخل سلولی اجباری از شاخه اپی کمپلکسا با انتشار جهانی می‌باشد (۱). غالباً عفونت با این انگل بدون علامت بوده و یا علائم مختصری نظیر لنفادنوپاتی گردن و مشکلات چشمی ایجاد می‌کند (۲). گربه و گربه‌سانان میزبان اصلی انگل هستند. آلودگی معمولاً به دنبال بلع اووسیست‌های اسپوردار از خاک، آب و مواد غذایی و یا از طریق بلع برادی زوئیت‌های موجود در کیست‌های نسجی از طریق مصرف گوشت و فرآورده‌های گوشتی خام و یا کاملاً پخته نشده، ایجاد می‌گردد (۳).

یکی از مهم‌ترین راه‌های سرایت این انگل انتقال از راه جفت می‌باشد. به طوری که از هر هزار نفر، ۵ خانم سرم منفی که در حین حاملگی با توکسوپلاسما گوندی آلوده می‌شوند، انگل را به جنین

۱- استادیار، مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۲ –استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، پژوهشکده علوم بالینی جرجانی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۳ - دکترای تخصصی انگل‌شناسی، مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۴- دانشیار، مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۵- دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، پژوهشکده علوم بالینی جرجانی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: حامد کلانی: استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، پژوهشکده علوم بالینی جرجانی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

Email: hamed.kalani@yahoo.com

خود منتقل می‌کنند و در زمان حاملگی می‌تواند منجر به سقط، مرگ جنین و ناهنجاری مادرزادی شود (٤). خطر عفونت جنین در ۱۳ هفته اول بارداری مادر، حدود ۱۵ درصد بوده و بعد از آن خطر عفونت سریعاً افزایش یافته و در هفته ۳٦ تقریباً به ۷۲ درصد می‌رسد (۵). عوارض ناشی از توکسوپلاسموز مادرزادی با سن جنین نسبت عکس دارد. به طوری که شدت بیماری در نوزادی که در سه ماهه اول حاملگی مبتلا شده، بیشتر از هر زمان دیگر است. خطر وقوع تظاهرات بالینی مثل نارسایی اعضای متعدد و مرگ جنین در داخل رحم، عوارض وخیم عصبی مانند هیدروسفالی، میکرو سفالی، عقب‌افتادگی ذهنی و رتینوکوروئیدیت در صورت ابتلا در سه ماه اول حاملگی بیشتر می‌باشد. چنان چه عفونت در سه ماهه سوم حاملگی اتفاق افتد نوزاد معمولاً در هنگام تولد بدون علامت بوده و علائم دیررس مانند کوریورتینیت در سال های بعد از تولد ظاهر گردد (٤-٦). علائم بالینی توکسوپلاسموز، متنوع بوده و با بیماری‌های دیگر قابل اشتباه است، لذا برای تأیید تشخیص‌های بالینی، استفاده از روش‌های آزمایشگاهی ضروری می‌باشد. این روش‌ها شامل روش‌های پارازیتولوژی و سرولوژی می‌باشند (۳). توکسوپلاسما را می‌توان با روش‌های مختلفی تشخیص داد. امروزه به طور گسترده‌ای شناسایی انگل بر پایه بررسی آنتی‌بادی‌ها می‌باشد، که روش سرولوژیکی با شناسایی ایمونوگلوبولین IgG و IgM کاربرد زیادی دارد. ولی با این حال روش‌های سرولوژی می‌توانند با نتایج مثبت یا منفی کاذب همراه باشند (۷).

هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، مقایسه روش ELISA با ELFA به منظور تعیین آنتی‌بادی اختصاصی IgG جهت تشخیص انگل توکسوپلاسما گوندی می‌باشد.

روش‌ها

این مطالعه از نوع تحلیلی بوده و جامعه‌ی مورد مطالعه شامل زنان با اقدام برای بارداری به منظور بررسی توکسوپلاسموز تشکیل داده شده‌اند. این افراد پس از اخذ رضایت آگاهانه وارد مطالعه شدند. این طرح تحقیقاتی پس از تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گلستان با کد اخلاق IR.GOUMS.REC.1403.213 انجام شده است.

زنان با میانگین ± خطای استاندارد میانگین سن ۲۸ ± ۵/٤ اقدام برای بارداری به منظور بررسی توکسوپلاسموز از هر فرد ۳ میلی‌لیتر نمونه خون گرفته و سرم آن جدا و با استفاده از روش CLIA و با استفاده از کیت تشخیصی MAGLUMI Toxo IgG (CLIA) و دستگاه MAGLUMI 800 ساخت شرکت Snibe چین موارد مثبت (AU/mL ≤ ۲) و منفی (AU/mL > ۲) مشخص شد. بر این اساس ۳٤ (٤۷/۲۲ درصد) نمونه مثبت و ۳۸ (۵۲/۷۷ درصد) نمونه منفی بودند. سرم‌ها تا زمان استفاده در ۲۰- قرار داده شدند.

انجام آزمون ELFA

این آزمون با استفاده از کیت VIDAS TOXO IgG (TXG) Kit ساخت شرکت Biomerieux فرانسه و طبق دستورالعمل کیت انجام شد. برای این منظور تیتر IgG کمتر از ٤ IU/mL به عنوان منفی، IU/mL4 تا ۸ به عنوان مشکوک، و بیشتر از ۸IU/mL به عنوان مثبت در نظر گرفته شد. نمونه‌های مشکوک برای بررسی با منحنی ROC به عنوان منفی درنظر گرفته شدند (۸، ۹).

انجام آزمون ELISA

این آزمون با استفاده از کیت Toxoplasma IgG ELISA ساخت شرکت پیشتاز طب ایران و طبق دستورالعمل کیت و انجام شد. برای این منظور تیتر IgG کمتر از ۹IU/mL به عنوان منفی، ۹IU/mL تا ۱۱ به عنوان مشکوک، و بیشتر از ۱۱IU/mL به عنوان مثبت در نظر گرفته شد. نمونه‌های مشکوک برای بررسی با منحنی ROC به عنوان منفی درنظر گرفته شدند (۸، ۹).

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

میزان تیتر بدست آمده از آزمون ELFA و ELISA را وارد نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه‌ی ۷ کرده و منحنی راک ROC مربوط به هر روش که از آن با نام منحنی مشخصه عملکرد سیستم (Receiver Operating Characteristics) نام برده می‌شود، ترسیم و سطح زیر منحنی دو روش فوق با یکدیگر مقایسه شد.

یافته‌ها

نتایج آزمون ELFA

بر اساس کیت مورد استفاده از ۳٤ نمونه‌ی مثبت مورد آزمایش، ۲۷ (۷۹/٤۱ درصد) نمونه مثبت، ۲ (۵/۸۸ درصد) نمونه منفی، ۵ (۱٤/۷ درصد) نمونه مشکوک بودند. همچنین از ۳۸ نمونه‌ی منفی مورد بررسی، ۳۱ (۸۱/۵۷ درصد) نمونه منفی، ۳ (۷/۸۹ درصد) نمونه مثبت، ٤ (۱۰/۵۲ درصد) نمونه مشکوک بودند.

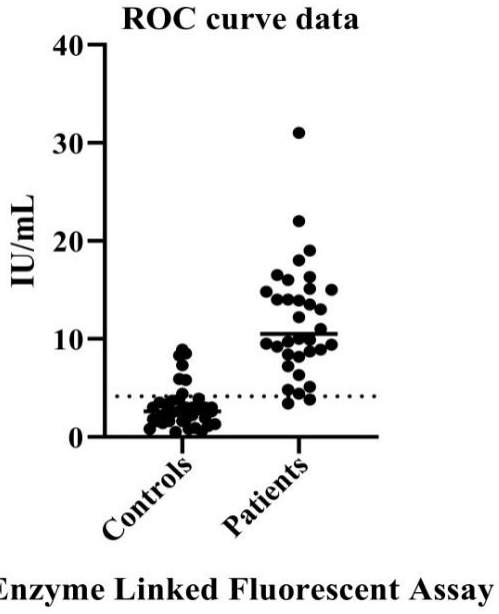
نتایج آزمون ELISA

بر اساس کیت مورد استفاده از ۳٤ نمونه‌ی مثبت مورد آزمایش، ۲۸ (۸۲/۳۵ درصد) نمونه مثبت، ٤ (۱۱/۷٦ درصد) نمونه منفی، ۲ (۵/۸۸ درصد) نمونه مشکوک بودند. همچنین از ۳۸ نمونه‌ی منفی مورد بررسی، ۳۱ (۸۱/۵۷ درصد) نمونه منفی، ۵ (۱۳/۱۵ درصد) نمونه مثبت، ۲ (۵/۲٦ درصد) نمونه مشکوک بودند.

مقایسه‌ی روش ELFA نسبت به CLIA

طی بررسی انجام شده میزان اختصاصیت روش ELFA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی برابر با ۸۱/۵۸ درصد و حساسیت آن برابر با ۹٤/۱۲ بود. بهترین عدد تفکیک (cut off)

بدست آمده ۱۵/٤ IU/mL بوده که در این مقدار اختصاصیت و حساسیت روش ELFA که در بالا گفته شد مشخص شد. شکل ۱ نمونه‌های بررسی شده موارد مثبت و منفی کاذب و حقیقی را بر مبنای عدد ۱۵/٤ IU/mL نشان می‌دهد.



شکل ۱. نمونه‌های بررسی شده و موارد مثبت و منفی کاذب و حقیقی با روش ELFA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی

بررسی منحنی ROC نشان داد که روش ELFA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی قادر به تفکیک افراد سالم از بیمار می‌باشد که این از لحاظ آماری معنی‌دار بود (P < ۰/۰۰۰۱). همچنین سطح زیر منحنی ROC برابر با ۰/۹۵ بود که نشان‌دهنده‌ی عملکرد عالی روش ELFA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی می‌باشد (شکل ۲).

شکل ۳ منحنی ROC موارد بررسی شده را نشان می‌دهد که در آن محور y موارد مثبت حقیقی و محور X موارد مثبت کاذب را نشان می‌دهد. همچنین سطح زیر منحنی (۰/۹۵) نشان داده شده است.

مقایسه‌ی روش ELISA نسبت به CLIA

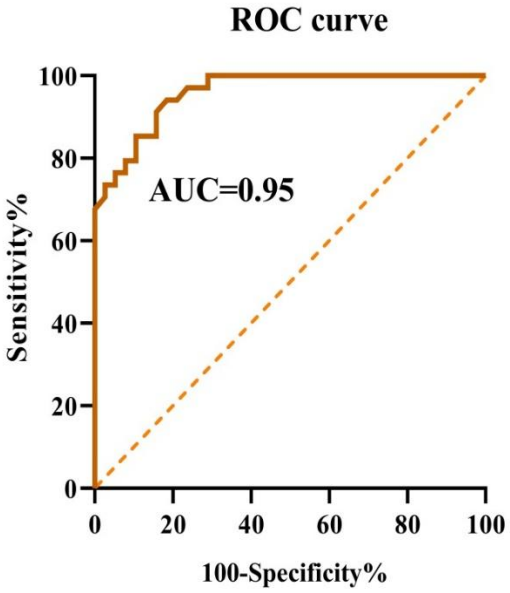
طی بررسی انجام شده میزان اختصاصیت روش ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی برابر با ۷۹/٤۱ درصد و حساسیت آن برابر با ۸۹/٤۷ بود. بهترین عدد تفکیک (cut off) بدست آمده ۹۵/۱۱ IU/mL بوده که در این مقدار اختصاصیت و حساسیت روش ELISA که در بالا گفته شد مشخص شد. شکل ٤ نمونه‌های بررسی شده و موارد مثبت و منفی کاذب و حقیقی را بر مبنای عدد ۹۵/۱۱ IU/mL نشان می‌دهد.

بررسی منحنی ROC نشان داد که روش ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی قادر به تفکیک افراد سالم از بیمار می‌باشد که این از لحاظ آماری معنی‌دار بود (P < ۰/۰۰۰۱). همچنین سطح زیر منحنی ROC برابر با ۰/۹۲ بود که نشان‌دهنده‌ی عملکرد عالی روش ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی می‌باشد (شکل ۵).

Area | Sensitivity & Specificity | ROC curve

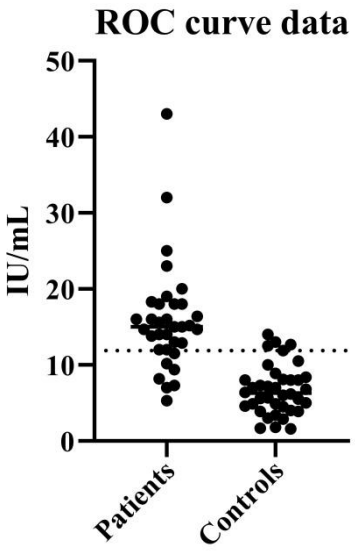
	ROC Area	
1	**Area under the ROC curve**	
2	Area	0.9594
3	Std. Error	0.01902
4	95% confidence interval	0.9221 to 0.9966
5	P value	<0.0001
6		
7	**Data**	
8	Controls	38
9	Patients	34
10	Missing Controls	0
11	Missing Patients	0

شکل ۲. سطح زیر منحنی (AUC) در منحنی ROC مربوط به روش ELFA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی



Enzyme Linked Fluorescent Assay

شکل ۳. نمودار ROC و سطح زیر منحنی (AUC) ROC



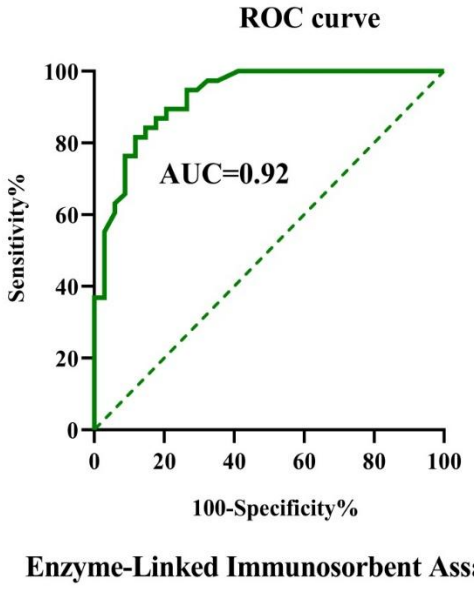
Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

شکل ٤. نمونه‌های بررسی شده و موارد مثبت و منفی کاذب و حقیقی با روش ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی

Area | Sensitivity & Specificity | ROC curve

	ROC Area
1	**Area under the ROC curve**
2	Area 0.9272
3	Std. Error 0.02941
4	95% confidence interval 0.8696 to 0.9849
5	P value <0.0001
6	
7	**Data**
8	Controls (Patients) 34
9	Patients (Controls) 38
10	Missing Controls 0
11	Missing Patients 0

شکل ۵. سطح زیر منحنی (AUC) در منحنی ROC مربوط به روش ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی



شکل ٦. نمودار ROC و سطح زیر منحنی (ROC (AUC

شکل ٦ منحنی ROC موارد بررسی شده را نشان می‌دهد که در آن محور y موارد مثبت حقیقی و محور X موارد مثبت کاذب را نشان می‌دهد. همچنین سطح زیر منحنی (۰/۹۲) نشان داده شده است.

مقایسه‌ی روش ELFA با روش ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندی

اگرچه اختصاصیت و حساسیت روش ELFA نسبت به روش ELISA بیشتر بود اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P > ۰/۰۵). همچنین مقایسه‌ی سطح زیر منحنی ROC نشان داد که دو روش نامبرده از لحاظ عملکردی اختلاف معنی‌داری ندارند (P > ۰/۰۵).

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاظر نشان داد که روش ELFA و ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندیی برای تفکیک افراد سالم از افراد آلوده به انگل دارای عملکرد عالی هستند(P < ۰/۰۰۰۱). با این وجود میزان اختصاصیت و حساسیت آنها تا اندازه ای با یکدیگر متفاوت بود اما این مقدار از لحاظ آماری معنی دار نبود (P > ۰/۰۵).

در این مطالعه، روش CLIA به دلیل حساسیت و اختصاصیت بالا به عنوان مرجع در نظر گرفته شد و دو روش ELFA و ELISA بر مبنای آن سنجیده شد. قدرت تشخیصی روش CLIA ۱ pg/mL در برابر ۵۰۰ pg/mL برای ELFA و ELISA می باشد (۱۰-۱۲). انتخاب یک روش تشخیصی برای یک بیماری به عوامل متعددی مانند در دسترس بودن ابزار کار، سهولت انجام کار، و هزینه آن مرتبط می‌شود (۱۳-۱۵).

به طورکلی در روش‌های سرولوژی مبتنی بر شناسایی آنتی‌بادی انگل توکسوپلاسما انتخاب یک آنتی‌ژن با ایمونوژنسیتی بالا که منجر به تولید مقدار قابل قبولی آنتی‌بادی با افینیتی بالا در بدن میزبان شود دارای اهمیت فراوانی است (۱٦، ۱۷). بر این مبنا مشخص است که حساسیت و اختصاصیت یک روش تشخیصی بر اساس اینکه کدام مرحله از چرخه زندگی انگل توکسوپلاسما گوندی برای مثال تاکی زوئیت و یا برادی زوئیت و یا اینکه کدام نوع از آنتی‌ژن انگل برای مثال آنتی‌ژن‌های غشایی و یا دفعی/ترشحی استفاده شوند، متفاوت می‌باشد (۱۸، ۱۹). نکته مهم دیگر اینکه آنتی‌ژن‌های مورد استفاده در روش‌های تشخیصی سرولوژی در ژنوتیپ‌های مختلف توکسوپلاسما گوندی می‌تواند متفاوت باشد و بنابراین ممکن است حساسیت و اختصاصیت یک روش تشخیصی سرولوژی در جمعیت‌های مختلف متفاوت باشد (۲۰-۲۲).

مطالعات نشان دادند که حساسیت روش ELISA در تشخیص IgG توکسوپلاسما گوندی از روش ELFA بیشتر اما دارای اختصاصیت کمتری می‌باشد (۲۳) که این با نتایج مطالعه‌ی ما از لحاظ بررسی حساسیت دو روش فوق در تضاد بوده اما از لحاظ اختصاصیت همخوانی داشت. همچنین، مطالعه‌ای حساسیت بیشتر روش ELISA (۱۰۰ درصد) در تشخیص IgM توکسوپلاسما گوندی نسبت به روش ELFA (۹۵ درصد) را نشان داد (۱۲). اختصاصیت بیشتر روش ELFA در جایی که تشخیص مثبت کاذب می‌تواند منجر به دریافت دارو شود ارزش تشخیصی بیشتر آن را نسبت به روش ELISA که با مثبت کاذب همراه است نمایان می‌کند (۲۳). مطالعه‌ای که شامل ۸۹ زن باردار بود، عملکرد تست ELFA را برای تشخیص آنتی‌بادی‌ها علیه توکسوپلاسما گوندی ارزیابی کرد. نتایج نشان داد که بر اساس ۹۱ ELFA درصد از سرم‌ها برای آنتی‌بادی‌های IgG مثبت بودند. تکنیک ELFA حساسیت ۹۲ درصدی و اختصاصیت ۸۰ درصدی را برای آنتی‌بادی‌های IgG نشان داد (۲٤، ۲۵) که این از هر دو منظر حساسیت و اختصاصیت همراستا با نتایج مطالعه‌ی ما می‌باشد. تست ELFA IgM (به ویژه کیت VIDAS Toxo IgM) حساسیت ۱۰۰ درصدی و ویژگی ۹۸/٦ درصدی را نشان داد. این نشان می‌دهد که برای تشخیص عفونت‌های حاد توکسوپلاسما گوندی بسیار قابل اعتماد است (۱۲). برخلاف نتایج مطالعه‌ی اخیر، در یک بررسی سیستماتیک، حساسیت ۸/۷۳ ELFA درصد و اختصاصیت آن ۱۰۰ گزارش شد. این نشان می‌دهد که اگرچه ممکن است حساس ترین روش موجود نباشد، اما بسیار اختصاصی می‌باشد، به این معنی که در شناسایی صحیح افراد بدون بیماری مؤثر است. با این وجود، حساسیت و اختصاصیت روش ELFA در مطالعه‌ی ما با نتایج دو مطالعه‌ی اخیر تا اندازه‌ای مغایرت داشت و این می‌تواند به دلیل

استفاده از آنتی‌ژن‌های مختلف در کیت‌های تشخیصی و یا تفاوت بین ژنوتایپ‌های مختلف آلوده کننده انسان که پاسخ‌های ایمنی متفاوتی را در بدن ایجاد می‌کنند باشد.

همانند مطالعه‌ی حاضر، ELISA در برخی از مطالعات حساسیت تقریباً ۹۰/۱ درصدی را نشان داده است که آن را به روشی قابل اعتماد برای تشخیص آنتی‌بادی‌های توکسوپلاسما در بیماران تبدیل کرده است (۲۶). ELISAهای توسعه یافته داخلی حتی عملکرد بالاتری را نشان داده‌اند، با مقادیر حساسیت گزارش شده تا ۹۶/۷ درصد و اختصاصیت تا ۱۰۰ درصد (۲۷).

در مطالعات تطبیقی، اختصاصیت ELISA به طور کلی حدود ۸۵/۹ درصد است که کمتر از سایر آزمایشات سرولوژیکی مانند IFAT (تست آنتی‌بادی ایمونوفلورسانس) و MAT (تست آگلوتیناسیون اصلاح شده) می‌باشد که به ترتیب دارای ویژگی‌های ۹۱/٤ درصد و ۸۸/۹ درصد بودند (۲٦).

یک مطالعه با تمرکز بر نانو ELISAی جدید توسعه یافته، حساسیت ۸۰ درصد و اختصاصیت ۸٦/٦٦ درصد را گزارش کرد (۱۹) که این با نتایج حاصل از مطالعه‌ی ما همخوانی داشت. برخی از کیت‌های تخصصی ELISA به نتایج قابل توجهی دست یافته‌اند، مانند موردی که حساسیت ۹۸.۵ درصد و ویژگی ۱۰۰ درصد را گزارش کرده است، که پتانسیل افزایش دقت تشخیصی را از طریق روش‌های بهینه نشان می‌دهد (۲۸). ELISA یک ابزار ارزشمند برای تشخیص توکسوپلاسموز باقی می‌ماند که حساسیت آن بسته به روش خاص مورد استفاده از حدود ۸۰ درصد تا نزدیک به ۹۸ درصد متغیر است. اختصاصیت آن معمولاً در حدود ۸۵ تا ۱۰۰ درصد است و آن را با سایر تست‌های سرولوژیکی قابل رقابت می‌کند اگرچه در مطالعه‌ی حاضر روش ELFA نسبت به ELISA اختصاصیت و حساسیت بیشتری را نشان داد که البته این اختلاف معنی‌دار نبود. با این حال، بهبود مستمر در طراحی سنجش با تکنیک‌های مختلف می‌تولند در آینده دقت و صحت پارامترهای تشخیصی را برای روش‌های ذکر شده بیشتر می‌کند.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هر دو روش ELISA و ELFA در تشخیص توکسوپلاسما گوندیی کارآمد هستند، هرچند که روش ELFA از اختصاصیت و حساسیت بیشتری برخوردار بود که البته این از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع دکترا رشته‌ی پزشکی با کد ۱۱۳۸۷٦ می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی گلستان به تصویب رسیده و با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات این معاونت تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Djurković-Djaković O, Dupouy-Camet J, van der Giessen J, Dubey JP. Toxoplasmosis: Overview from a One Health perspective. Food Waterborne Parasitol 2019; 18(15): e00054.
2. Alvarado-Esquivel C, Torres-Castorena A, Liesenfeld O, García-López CR, Estrada-Martínez S, Sifuentes-Alvarez A, et al. Seroepidemiology of Toxoplasma gondii infection in pregnant women in rural Durango, Mexico. J Parasitol 2009; 95(2): 271-4.
3. Dalimi A, Abdoli A. Latent toxoplasmosis and human. Iran J Parasitol 2012; 7(1): 1-17.
4. Paquet C, Yudin MH. Toxoplasmosis in pregnancy: prevention, screening, and treatment. J Obstet Gynaecol Can 2013; 35(1): 78-81.
5. Jones J, Lopez A, Wilson M. Congenital toxoplasmosis. Am Fam Physician 2003; 67(10): 2131-8.
6. Molan A, Nosaka K, Hunter M, Wang W. Global status of Toxoplasma gondii infection: systematic review and prevalence snapshots. Trop Biomed 2019; 36(4): 898-925.
7. Zhang K, Lin G, Han Y, Li J. Serological diagnosis of toxoplasmosis and standardization. Clin Chim Acta 2016; 461: 83-9.
8. Patel EU, Bloch EM, Clarke W, Hsieh YH, Boon D, Eby Y, et al. Comparative Performance of Five Commercially Available Serologic Assays To Detect Antibodies to SARS-CoV-2 and Identify Individuals with High Neutralizing Titers. J Clin Microbiol 2021; 59(2): e02257-20.
9. Bagno FF, Sérgio SAR, Figueiredo MM, Godoi LC, Andrade LAF, Salazar NC, et al. Development and validation of an enzyme-linked immunoassay kit for diagnosis and surveillance of COVID-19. J Clin Virol Plus 2022; 2(3): 100101.
10. Chen D, Zhang Y, Xu Y, Shen T, Cheng G, Huang B, et al. Comparison of chemiluminescence immunoassay, enzyme-linked immunosorbent assay and passive agglutination for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection. Ther Clin Risk Manag 2018; 14: 1091-7.
11. Madiyal M, Sagar S, Vishwanath S, Banerjee B, Eshwara VK, Chawla K. Comparing Assay Performance of ELISA and Chemiluminescence Immunoassay in Detecting Antibodies to Hepatitis B Surface Antigen. J Clin Diagn Res 2016; 10(11): DC22-DC25.
12. Qaravi MJ, Ourmazdi H, Gharegoozlo B, Roeein Tan, E.S. A comparative study of the sensitivity and specificity of IgM and IgG assay techniques in the diagnosis of toxoplasmosis [in Persian]. Razi J Med Sci 2008; 14(57): 143-9.

13. Jin X, He R, Ju X, Zhang J, Wang M, Xing C, et al. Development and optimization of an immunoassay for the detection of Hg(II) in lake water. Food Sci Nutr 2019; 7(5): 1615-22.
14. Hernández CA, Pérez-Bernal M, Abreu D, Valdivia O, Delgado M, Dorta D, et al. Step-by-step full factorial design to optimize a quantitative sandwich ELISA. Analytic Biochem 2023; 674: 115195.
15. Gong F, Wei HX, Li Q, Liu L, Li B. Evaluation and Comparison of Serological Methods for COVID-19 Diagnosis. Front Mol Biosci 2021; 8: 682405.
16. Aubert D, Maine GT, Villena I, Hunt JC, Howard L, Sheu M, et al. Recombinant antigens to detect Toxoplasma gondii-specific immunoglobulin G and immunoglobulin M in human sera by enzyme immunoassay. J Clin Microbiol 2000; 38(3): 1144-50.
17. Holec-Gasior L. Toxoplasma gondii recombinant antigens as tools for serodiagnosis of human toxoplasmosis: current status of studies. Clin Vaccine Immunol 2013; 20(9): 1343-51.
18. Daryani A, Kalani H, Sharif M, Ziaei H, Sarvi S, Ahmadpour E. Toxoplasma Gondii: A Review of Excretory Secretory Antigens [in Persian]. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 21(2): 220-32.
19. Khodadadi A, Madani R, Hoghooghi Rad N, Atyabi N. Development of Nano-ELISA Method for Serological Diagnosis of Toxoplasmosis in Mice. Arch Razi Inst 2021; 75(4): 419-26.
20. Khan AH, Noordin R. Serological and molecular rapid diagnostic tests for Toxoplasma infection in humans and animals. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2020; 39(1): 19-30.
21. Sousa S, Fernandes M, Correia da Costa JM. Serotyping, a challenging approach for Toxoplasma gondii typing. Front Med (Lausanne) 2023; 10: 1111509.
22. Appleford PJ, Smith JE. Strain and stage specific variation in Toxoplasma gondii antigens. Int J Parasitol 2000; 30(11): 1187-91.
23. Murata FHA, Previato M, Frederico FB, Barbosa AP, Nakashima F, de Faria GM, Jr., et al. Evaluation of Serological and Molecular Tests Used for the Identification of Toxoplasma gondii Infection in Patients Treated in an Ophthalmology Clinic of a Public Health Service in São Paulo State, Brazil. Front Cell Infect Microbiol 2020; 9: 472.
24. Souza I, Siqueira VDS, Ribeiro IDC, Moraes LSP, Prado D, Rezende SR, et al. Molecular and serological diagnosis of toxoplasmosis: a systematic review and meta-analysis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2023; 65: e19.
25. Sroka J, Wójcik-Fatla A, Zając V, Sawczyn A, Cisak E, Karamon J, et al. Comparison of the efficiency of two commercial kits-ELFA and Western blot in estimating the phase of Toxoplasma gondii infection in pregnant women. Ann Agric Environ Med 2016; 23(4): 570-5.
26. Shaapan RM, El-Nawawi FA, Tawfik MA. Sensitivity and specificity of various serological tests for the detection of Toxoplasma gondii infection in naturally infected sheep. Vet Parasitol 2008; 153(3-4): 359-62.
27. Liyanage K, Wiethoelter A, Hufschmid J, Jabbar A. Descriptive Comparison of ELISAs for the Detection of Toxoplasma gondii Antibodies in Animals: A Systematic Review. Pathogens 2021; 10(5): 605.
28. Sarfraz Ur R, Akbar H, Shabbir MZ, Ullah U, Rashid MI. Development of Human Toxo IgG ELISA Kit, and False-Positivity of Latex Agglutination Test for the Diagnosis of Toxoplasmosis. Pathogens 2021; 10(9): 1111.

DOI: *10.48305/jims.v44.i877.2249*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 44, No. 877, 4th Week, October 2026**

Received: 26.05.2025 Accepted: 11.08.2026 Published: 22.10.2026

Evaluation and Comparison of ELISA and ELFA Methods in the Detection of *Toxoplasma gondii* Parasite in Pre-Pregnancy Women

Faramarz Koohsar[1], Sedigheh Sadat Erfani[2], Roghiyeh Faridnia[3], Oghol Niaz Jorjani[4], Sadegh Ali Azimi[2], Hamed Kalani[2], Naser Modanlo[5]

Original Article

Abstract

Background: *Toxoplasma gondii* is an obligate intracellular parasite. The purpose of this study is to investigate and compare the performance of ELISA and ELFA methods compared to CLIA method in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* parasite.

Methods: In this study, 72 samples from pre-pregnancy women, of which 34 were positive and 38 were negative by CLIA method, were examined for *Toxoplasma gondii* IgG by ELISA and ELFA methods. The results obtained were compared with each other based on drawing the ROC curve.

Findings: The specificity of the ELFA method in the detection of *Toxoplasma gondii* IgG was 81.58% and its sensitivity was 94.12%. The ROC curve analysis showed that the ELFA method in the detection of *Toxoplasma gondii* IgG was able to distinguish healthy individuals from patients. The area under the ROC curve was 0.95, which indicates the excellent performance of the ELFA method in the detection of *Toxoplasma gondii* IgG. The specificity of the ELISA method in the detection of *Toxoplasma gondii* IgG was 79.41% and its sensitivity was 89.47%. The ROC curve analysis showed that the ELISA method in the detection of *Toxoplasma gondii* IgG was able to distinguish healthy individuals from patients. The area under the ROC curve was 0.92, which indicates the excellent performance of the ELISA method in the detection of *Toxoplasma gondii* IgG.

Conclusion: The results of the present study showed that both ELISA and ELFA methods are efficient in the diagnosis of *Toxoplasma gondii*, although the ELFA method had more specificity and sensitivity.

Keywords: CLIA, ELISA, ELFA, *Toxoplasma gondii*

Citation: Koohsar F, Erfani SS, Faridnia R, Jorjani ON, Azimi SA, Kalani H, Modanlo N. **Evaluation and Comparison of ELISA and ELFA Methods in the Detection of *Toxoplasma gondii* Parasite in Pre-Pregnancy Women.** J Isfahan Med Sch 2026; 44(877): 2249-56.

1- Assistant Professor, Laboratory Sciences Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
2- Assistant Professor, Infectious Diseases Research Center, Jorjani Clinical Sciences Research Institute, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
3- PhD of Parasitology, Laboratory Sciences Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
4- Associate Professor, Laboratory Sciences Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
5- Medical Student, Infectious Diseases Research Center, Jorjani Clinical Sciences Research Institute, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
Corresponding Author: Hamed Kalani, Assistant Professor, Infectious Diseases Research Center, Jorjani Clinical Sciences Research Institute, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran; Email: hamed.kalani@yahoo.com