

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين

علي نزار ياسين

الجامعة المستنصرية/ كلية التربية الاساسية

اسراء قاسم العبيدي وحيدة رشيد علي

جامعة بغداد/ كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم)

المستخلص

اعتمد في الدراسة الحالية تشخيص داء مقوسات العين Ocular toxoplasmosis الناجمة عن الاصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* بطرائق مختلفة شملت طريقتين مصليتين هما Latex و الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم ELISA والأخرى جزيئية تمثلت بطريقة تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل التقليدي Conventional PCR مستهدفة الجين B1. بلغت نسبة التشخيص لاختبار اللاتكس ولمجموعة داء مقوسات العين 100% بينما كانت في مجموعة التهابات العينية Uveitis سلبية وبنسبة 100%، وكانت نسبة النتائج الموجبة في مجموعة السيطرة 35.7% وبفارق معنوي بين المجاميع الثلاث ($p < 0.01$). كما سجلت نتائج اختبارات الاليزا فروقات معنوية ايضا ($p < 0.01$) بين مجاميع الدراسة حيث كانت نسب النتائج الموجبة في مجموعة داء مقوسات العين 84% مقابل 31.1% لمجموعة التهابات العينية وسجلت مجموعة السيطرة 41.1% كنتائج موجبة وسميت بمجموعة داء المقوسات عديمة الاعراض Asymptomatic Toxoplasmosis وكان معدل الضد IgG في مجموعة داء مقوسات العين 1.661 ± 0.187 وحدة عالمية /مل وهي أعلى من بقية المجاميع وكذلك الحال للضد IgM لهذه المجموعة اذ بلغ معدل 0.510±1.922 وحدة عالمية /مل. أما نتائج تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل التقليدي PCR Conventional فكانت 10 نتائج موجبة لمجموعة داء مقوسات العين وبنسبة 23.8% بينما سجلت مجموعتا التهابات العينية وداء المقوسات عديمة الاعراض ثلاث نتائج موجبة فقط شكلت نسبتي 21.4% و 8.6% على التوالي ، مع عدم تسجيل فروقات معنوية لتلك

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين
على نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد على

النسب بين مجاميع الدراسة ($p < 0.199$). قد تبين من خلال النتائج اعلاه ان فحص الاليزا يظهر نتائج ايجابية للاصابة بداء مقوسات العين بنسب اعلى وبفارق معنوي مقارنة بما سُجل من نتائج باستعمال فحص Conventional PCR للجين B1 .
الكلمات المفتاحية: داء مقوسات العين، التشخيص ، IgM، IgG ، تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل التقليدي.

المقدمة Introduction

يُعد داء المقوسات Toxoplasmosis او ما يعرف بداء القطط الناجم عن الاصابة بطفيلي المقوس الكونيدي *T. gondii* من الامراض الطفيلية المهمة، إذ يصيب حوالي ثلث سكان العالم فضلاعن إصابته لتنوعية كبيرة من الحيوانات كالثدييات والطيور(1). ينتمي الطفيلي لشعبة الحيوانات الأبتدائية Protozoa ويمتاز بكونه احادي الخلية Unicellular، إجباري التطفل Obligate ويمتلك القابلية على التكاثر داخل الخلايا المنواة للمضيف(2). يتخذ هذا الطفيلي من القطط مضيفاً نهائياً له بينما تتنوع مضائفه الوسطية لتشمل اللبائن، الطيور، الزواحف وحتى الاسماك (1). يصاب الانسان بالمقوس الكونيدي بطرائق عديدة اهمها تناول الغذاء والماء الملوثين بأكياس البيض Oocysts المتواجدة في براز القطط او بتناول اللحوم غير المطبوخة جيداً والحاوية على الاكياس النسيجية Tissue cysts ، كما يلعب الانتقال الخلقي Congenital transmission دوراً بارزاً في انتقال الاصابة اذ تنتقل الحويئات سريعة التكاثر Tachyzoites من الام الحامل الى الجنين عبر المشيمة Placenta (3).

يشكل داء المقوسات العيني Ocular toxoplasmosis (O.T.) او ما يعرف بالتهاب الشبكية والمشيمة الناجم عن المقوسة Toxoplasmic retinochoroiditis احد امراض العيون المهمة التي يسببها طفيلي المقوس الكونيدي(4). اذ يُعد من اكثر الاسباب لحدوث التهاب القرنية الخلفي Posterior uveitis وبنسبة 30-50% مسبباً ضعفاً للبصر Visual impairment للحالات المصابة (5). وتحصل الاصابة به إما كنتيجة متأخرة للانتقال الخلقي أو بأكتساب الاصابة لاحقاً بعد الولادة (6 ، 7)، وترتبط الاصابة بمقوسات العين مع الشبكية ولا تحدث بغيابها على الرغم من ان كثيراً من الحالات المصابة تكون بدون أعراض Asymptomatic الا بعد اشتداد التأثير المرضي

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين
على نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد على

الذي يكون مميزا بقرح شبكية واضحة مؤدية لاعراض منها عدم وضوح الرؤية Blurred vision، العوامات Floaters الخوف من الضوء Photophobia والم في العين (4). ان تفاقم اصابة العين هذه قد تكون سببا مهما لحدوث العمى Blindness (8). تتبع الكثير من الطرائق التشخيصية لداء المقوسات العيني يأتي في مقدمتها التشخيص السريري Clinical diagnosis من قبل طبيب العيون المختص (9). فضلاً عن الطرائق المناعية Immunological methods إذ يتم التحري فيها عن الاضداد المناعية منها الضد IgG و IgM ومن هذه الاختبارات اختبار التلازن test Agglutination واختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (10)، و برزت حالياً الطرائق الجزيئية Molecular methods لتشخيص الاصابة بداء مقوسات العين وتحديدًا لبعض الحالات المتداخلة مع فيروس Herpes وغيرها (9). إذ شكل تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل Polymerase chain reaction (PCR) وسيلة تشخيصية مهمة لكونه يستهدف الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA الخاص بالطفيلي ويضاعفه لذا عد من أكثر الطرائق حساسية ودقة بالمقارنة مع الفحوصات الاخرى (1). لذا فقد هدفت الدراسة الحالية لاعتماد طرائق تشخيصية لداء مقوسات العين مستندة مبدئياً على التشخيص السريري وباعتماد ثلاث طرائق اخرى اثنتان منها مناعية وهي Latex و ELISA والاخرى جزيئية متمثلة بطريقة Conventional PCR مستهدفة الجين B1 لتشخيص الاصابة والتحري عن مدى كفاءتها.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

تم خلال المدة من بداية شهر آذار الى نهاية شهر أيلول عام 2013 جمع 95 عينة من المرضى المراجعين لوحدة أمراض الشبكية Retina unit التابعة لمستشفى ابن الهيثم التعليمي للعيون في بغداد، إذ شخّصت الاصابات من قبل طبيب العيون المختص من خلال الفحص السريري وباستخدام جهاز Slit-lamp biomicroscopy وبطريقة Binocular ophthalmoscopy مع توسيع لحدقة العين Maximum mydriasis وصورت بعض الحالات المرضية بجهاز Funduscopy. كما أخذت مجموعة اخرى مكونة من 84 شخصاً عُدّت كمجموعة سيطرة Control. بعدها جمعت عينات الدم وبواقع 5 مل من الدم الوريدي لكل حالة باستعمال محاقن نبيذة حيث وضع 3

التشخيص المناعي والجزيئي لداء المقوسات العين
على نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد على

مل بالدقيقة ولمدة 5 دقائق بعدها تم سحب المصل باستخدام ماصة دقيقة Micropipette حيث أجري الاختبار المناعي الاول لداء المقوسات الكوندية لجميع عينات الدراسة والمتمثل بفحص اللاتكس LATEX اذ استعملت العدة التشخيصية Huma Tex Toxo من انتاج شركة Human الالمانية ، وعلى اساس نتائج اختبار اللاتكس تم توزيع مجاميع الدراسة فقد شملت مجموعة داء المقوسات العيني Ocular toxoplasmosis 50 مصابا ومجموعة التهابات العينية Uveitis 45 مصابا وقد تراوحت أعمار المجموعتين بين 10-70 سنة . فضلا عن مجموعة السيطرة Control من غير المصابين ظاهريا باي مرض في العين وبلغ عددهم 84 شخصا تراوحت أعمارهم بين 16-60 سنة. واستخدمت عدة فحص اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA لكل من الاضداد IgG و IgM والمصنعة من قبل شركة Biocheck, Inc الامريكية . اما المتبقي من الدم والذي كان بحجم 2 مل فقد وضع في أنابيب بلاستيكية معقمة مزودة بمادة مانعة للتخثر EDTA وحفظت الانابيب بدرجة -20 م° لحين استعمالها في استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA .

من انتاج AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit نوع تم استعمال العدة التجارية شركة Bioneer الكورية وذلك لاستخلاص DNA من عينات الدم لكافة مجاميع الدراسة . بعدها تم قياس تركيز ال DNA باستعمال جهاز Nano drop spectrophotometer ، فضلا عن قياس نقاوة DNA المستخلص وذلك بقراءة الامتصاصية وعلى طول موجي 280/260 نانوميتر. وتم استعمال البادئات النوعية لتضخيم جزء معين من الجين B1 لطيفلي *T. gondii* (11،12) والمجهزة من شركة Bioneer الكورية (جدول 1).

جدول (1): البادئات المستعملة في التحري عن جزء معين من جين B1 لطيفلي *T. gondii*.

Primers Sequence		PCR product size
Forward	5 - AAAAATGTGGGAATGAAAGAG -3	469 bp
Reverse	5 -ACGAATCAACGGAAGTGTAAAT -3	

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين
على نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد على

تم التحضير لتفاعل انزيم البلمرة المتسلسل باستعمال عدة تجارية *AccuPower* [®] PCR PreMix

والمصنعة في شركة (Bioneer) الكورية (جدول 2).

جدول (2): مكونات عدة تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل.

Components	Reaction size (20 µl)
Taq DNA polymerase	1 U
Each: dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	250 Mm
Tris-HCl (pH 9.0)	10 Mm
KCl	30 Mm
MgCl ₂	1.5 Mm
stabilizer, and tracking dye	-

تم تهيئة خليط تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل طبقا لتعليمات الشركة المصنعة (جدول 3).

جدول (3): مكونات خليط تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل.

PCR reaction mixture	Volume (µl)
DNA template	6
Forward primer(10pmol)	2
Reveres primer(10pmol)	2
Free nuclease water	10
Total volume	20

بعد ذلك، تم وضع مكونات الجدول (3) في انابيب عدة تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل جدول(2) بعدها تم نقل جميع انابيب التفاعل الى جهاز الطرد المركزي المازج Exispin vortex centrifuge ونبذت بسرعة 3000 دورة بالدقيقة ولمدة ثلاث دقائق، بعد انتهاء عملية الطرد المركزي لانابيب عدة تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل نقلت مباشرة الى جهاز PCR thermo cycler نوع My Genie 32 Thermal Block PCR من انتاج شركة Bioneer الكورية إذ يتم تضخيم جزء معين من الجين المستهدف B1 وبحجم 469 زوج قاعدي لطفيلي *T. gondii* وبحسب خطوات البرنامج المعد لذلك (جدول4).

جدول (4) : خطوات برنامج تفاعل انزيم البلمره المتسلسل.

Step	Temperature (°C)	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	95	5min	1
Denaturation	95	30sec.	40 cycle
Annealing	52	30sec	
Extension	72	50sec	
Final extension	72	5min	1

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين
على نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد على

اخيراً، تم تحليل نواتج تفاعل انزيم البلمره المتسلسل وذلك بواسطة الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز (2%) مضافا له 2 مايكروليتر من صبغة Ethidium bromide ولمدة ساعتين .

التحليل الاحصائي Statistical Analyses

تم استخدام الحزمة الاحصائية الجاهزة على الحاسبة الشخصية Statistical Package for Science Services (SPSS) إصدار 2010 والمتضمنة الاختبارات الاحصائية الآتية :-

- 1- الجداول الإحصائية الوصفية: (المتوسط الحسابي، الخطأ المعياري، الانحراف المعياري، تقدير 95% فترة ثقة للمتوسط الحسابي).
- 2- معامل التوافق Contingency Coefficient (C.C.) لتقدير قوة العلاقة في جداول الاقتران واختبار مدى معنوية الاقتران.

النتائج Results

اعتمد اختبار اللاتكس Latex test كاختبار مبدئي تشخيصي سريع لكافة مجاميع الدراسة والتي تلخصت نتائجه في الجدول (1) ، إذ كانت مجموعة داء مقوسات العين (O.T.) Ocular Toxoplasmosis ايجابية للفحص وبنسبة 100% بينما كانت مجموعة مرضى التهابات العنبية Uveitis سلبية وبنسبة 100% بينما تباينت النتائج لدى مجموعة السيطرة Control إذ بلغت نسبة النتائج الموجبة 35.7% مقابل 64.3% نتائج سلبية للفحص. ولدى مقارنة أزواج المجاميع مع بعضهما سجلت نتائج مجموعة مرضى داء مقوسات العين معنوية عالية عند مقارنتها بنتائج مجموعة مرضى التهابات العنبية ومجموعة السيطرة باحتمالية ($P < 0.01$). أما نتائج المقارنة بين مجموعتي التهابات العنبية ومجموعة السيطرة فقد سجلت ايضا اختلافا معنويا عاليا و باحتمالية ($P < 0.01$) . ومما يؤكد فعالية هذا الاختبار للتشخيص إذ يعكس نتائج موجبة لأشخاص مصابين بداء المقوسات في مجموعة السيطرة والبالغ عددهم 30 شخصا .

يبين الجدول (2) نتائج فحص الادمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA كأختبار تأكيدى لكافة مجاميع الدراسة إذ كانت عدد النتائج الموجبة لمرضى داء مقوسات العين 42 شخصا شكلوا نسبة 84% بينما سجلت 8 نتائج سالبة لداء مقوسات

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين
على نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد على

العين وبنسبة 16% ، اما مجموعة التهابات العنبية فقد سجلت 14 نتيجة موجبة لداء المقوسات وبنسبة 31.1% وسميت بمجموعة التهابات العنبية الموجبة Positive uveitis و 31 نتيجة سالبة لداء المقوسات وبنسبة 68.9% وسميت بمجموعة التهابات العنبية السالبة Negative uveitis، بينما سجلت مجموعة السيطرة 35 نتيجة موجبة لداء المقوسات وبنسبة 41.7% وسميت بمجموعة داء المقوسات عديمة الاعراض و 49 نتيجة سالبة لداء المقوسات وبنسبة 58.3% إذ شكلت مجموعة السيطرة. ولدى مقارنة أزواج المجاميع مع بعضهما اذ سجلت نتائج مجموعة مرضى داء مقوسات العين معنوية عالية عند مقارنتها بنتائج مجموعة مرضى التهابات العنبية ومجموعة السيطرة باحتمالية ($P < 0.01$). أما نتائج المقارنة بين مجموعتي التهابات العنبية ومجموعة السيطرة فقد سجلت ايضا اختلافا معنويا عاليا و باحتمالية ($P < 0.01$) . ومما يعزز فعالية هذا الفحص للتشخيص إذ يعكس استجابات موجبة لأشخاص مصابين بداء المقوسات في مجموعة التهابات العنبية ومجموعة السيطرة.

يشير جدول(3) إلى المتوسطات الحسابية لمستويات الضد IgG لكافة مجاميع الدراسة مقدرة بوحدة عالمية / مليلتر، إذ سجلت مجموعة داء مقوسات العين أعلى متوسط حسابي لمستوى الضد IgG وبقيمة 1.661 ± 0.187 تلتها مجموعة التهابات العنبية الموجبة وبقيمة 1.596 ± 0.157 و ثم مجموعة داء المقوسات عديمة الاعراض وبقيمة 1.501 ± 0.257 ، بينما سجلت مجموعة التهابات العنبية السالبة ومجموعة السيطرة قيم متدنية للمتوسط الحسابي لمستوى الضد IgG إذ بلغت 0.389 ± 0.190 و 0.350 ± 0.167 على التوالي. وأوضح الجدول نفسه القيم الدنيا والعليا لمستوى الضد IgG المسجلة لكافة مجاميع الدراسة . وتم أيضا قياس معدلات مستويات الضد IgM لكافة مجاميع الدراسة مقدرة بوحدة عالمية / مل و بينت النتائج في الجدول (4) ، فقد سجلت مجموعة مرضى داء مقوسات العين أعلى متوسط حسابي لمستوى الضد IgM وبقيمة 1.922 ± 0.510 تلتها مجموعة التهابات العنبية الموجبة بقيمة 1.867 ± 0.061 ثم مجموعة داء المقوسات عديمة الاعراض وبقيمة 1.744 ± 0.070 ، بينما سجلت مجموعة التهابات العنبية السالبة ومجموعة السيطرة قيم متدنية للمتوسط الحسابي لمستوى الضد IgM إذ بلغت 0.632 ± 0.166 و 0.618 ± 0.236 على التوالي ويوضح الجدول نفسه القيم الدنيا والعليا لمستوى الضد IgM المسجلة لكافة مجاميع الدراسة. تظهر

التأثيرات المرضية الناجمة عن الإصابة بطفيلي *T. gondii* تغيرات واضحة على العين تم توثيقها بمجموعة من الصور لمرضى مصابين بداء مقوسات العين Ocular Toxoplasmosis وحسب الاشكال (2،1).

يبين الجدول (5) والشكل (3) النسب المئوية لنتائج اختبار تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل التقليدي Conventional PCR لمجاميع الدراسة الموجبة لفحص الاليزا ELISA اذ سجلت مجموعة مرضى داء مقوسات العين والبالغ عددها 42 مريضا 10 نتائج موجبة لفحص تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل التقليدي Conventional PCR وبنسبة (23.8%) ، بينما سجلت مجموعة مرضى التهابات العنبية الموجبة والبالغ عددها 14 مريضا 3 نتائج موجبة لفحص تفاعل Conventional PCR وبنسبة بلغت (21.4%) ، اما افراد مجموعة داء المقوسات عديمة الاعراض والبالغ عددها 35 فردا فقد سجلت 3 نتائج موجبة لنفس الفحص وبنسبة (8.6%) ، ولم تسجل اي مجموعة من المجاميع الثلاث فروق معنوية بالنسبة لفحص Conventional PCR وباحتمالية ($P>0.05$) (الشكل 4).

تم اجراء مقارنات بين الاختبارات التشخيصية الثلاثة (Elisa، Latex و Conventional PCR) ولمجاميع الدراسة كافة وكل على حده في ضوء نتائج كل مجموعة. اذ يبين الجدول (6) مقارنة بين الاختبارات التشخيصية لمجموعة داء مقوسات العين بتسجيل فروقات معنوية عالية وباحتمالية ($P<0.01$) اذ كانت النسبة المئوية للنتائج الموجبة لاختبار اللاتكس (100%) ، تلاها فحص الاليزا فقد سجل نسبة (84%)، بينما سجل اختبار تفاعل Conventional PCR نسبة (23.8%) اما النسب المئوية للنتائج السالبة فقد كانت (0.0% ، 16.0% و 76.2%) للاختبارات كافة وعلى التوالي و سجلت ايضا مجموعة التهابات العنبية فروقات معنوية عالية وباحتمالية ($P<0.01$) عند المقارنة بين الاختبارات التشخيصية المستعملة (جدول 7) اذ كانت النسبة المئوية للنتائج الموجبة لاختبار اللاتكس (0.0%)، تلاها فحص الاليزا فقد سجل نسبة (31.1%)، بينما سجل اختبار تفاعل Conventional PCR للنتائج الموجبة نسبة (21.4%) اما النسب المئوية للنتائج السالبة فقد كانت (100% ، 68.9% و 78.6%) لكافة الاختبارات وعلى التوالي و أشار الجدول (8) الى المقارنة بين الاختبارات التشخيصية المستعملة لمجموعة السيطرة اذ سجلت فروقات معنوية عالية وباحتمالية ($P<0.01$) اذ كانت النسبة المئوية

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين
على نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد على

للنتائج الموجبة لاختبار اللاتكس (35.7%)، تلاها فحص الاليزا فقد سجل نسبة (41.7%)، بينما كانت في اختبار تفاعل Conventional PCR بلغت (8.6%) اما النسب المنوية للنتائج السالبة فقد كانت (64.3% ، 58.3% و 91.4%) لكافة الاختبارات وعلى التوالي.

المناقشة Discussion

يعد التشخيص السريري Clinical diagnosis لداء مقوسات العين أولى الوسائل المهمة لتشخيص الإصابة والتي تتميز بتقرحات بؤرية Focal lesions مع وذمة Edema في الشبكية مترافقة مع حافة بيضاء - كريمة زغبية دائرية أحادية الجانب Uni lateral مع وجود نزف Hemorrhage وتضييق للأوعية الدموية الشعرية في منطقة التهاب، وان الغالبية العظمى من هذه الالتهابات تحدث في القطب الخلفي Posterior pole من الشبكية إذ بلغت نسبة حالات التهاب العنينة الخلفي في جنوب البرازيل 60% (6، 13). ويلجأ إلى الاختبارات المناعية في التشخيص لكونها إحدى الطرائق المهمة التي يتم التحري فيها عن الاضداد المناعية التي بارتفاعها تعطي مؤشرا مهما لحدوث الإصابة . ويستخدم اختبار اللاتكس Latex test لكونه فحصاً سريعاً وذا تكلفة قليلة ويمكن تطبيقه بسهولة وعلى عدد كبير من الحالات وخصوصا في الدراسات الوبائية. وبينت النتائج في جدول (1) التشخيص الأولي لداء مقوسات العين وبنسبة 100% مقارنة بنتائج السيطرة التي ادى تطبيق هذا الاختبار على أفرادها الى إفراز مجموعة من الافراد المصابين بداء المقوسات وبدون اعراض مرضية وسميت بمجموعة داء المقوسات عديمة الاعراض والبالغ عدد افرادها 30 فردا شكلوا نسبة 35.7% . ان تأكيد هذا الاختبار لتواجد هذه الاصابات في مجموعة السيطرة يعكس تواجد وانتشار الاصابات تحت السريرية بين الأفراد الأصحاء ظاهرياً ويوضح ما تؤديه المناعة ودورها في السيطرة على الإصابة وتحجيمها وبقائها بهذا الشكل المزمن لدى الكثير من الأفراد وتدل ايضا على دور المضائف الوسطية وطرائق الانتقال الكثيرة للإصابة بهذا الطفيلي (14 ، 15). وأشارت دراسة العبيدي والحكيم (16) الى وجود مثل هذا النوع من الاصابات تحت سريرية في الافراد الاصحاء (السيطرة) وبنسبة 21.9% وسجلت دراسة Solaiman (17) عن انتشار داء المقوسات في عينة من طلبة الجامعة المستنصرية بلغت 44.3% . كما تباينت نسب الاصابات تحت السريرية فسجلت

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين
على نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد على

8 % في كوريا ، 9% في كولومبيا ، 10.2% في تايوان بينما بلغت في الهند وماليزيا 45. % و 55.3% على التوالي (18)، مما أعطى هذا الاختبار بعض الدعم للتشخيص السريري .

طبق اختبار الاليزا ELISA للتحري عن الاضداد IgG و IgM لكونه اختباراً أكثر خصوصية ولكون هذين الضدين ذا علاقة مباشرة بالمرض وتحديد صورته الحادة والمزمنة ، اذ يبين الجدول (2) نتائج هذا الاختبار فقد ظهرت 42 (بنسبة 84%) حالة موجبة لمجموعة داء مقوسات العين مقابل 8 فقط حالة سالبة (بنسبة 16%) وكذلك الحال لمجموعة التهابات العنابية والسيطرة التي ازدادت فيها نسب النتائج الموجبة للفحص والتي يمكن ان يعبر عنها بوجود حالات اصابة غير ظاهرة سريريا ، ووضح جدول (3 و 4) لمستويات الاضداد IgG و IgM في مجاميع الدراسة وتبين ارتفاعاً للمعدل تركيز الضد IgG و IgM في مجموعة داء مقوسات العين وكذلك مجموعة داء المقوسات عديمة الاعراض ومجموعة التهابات العنابية الموجبة. لقد أظهر فحص الضد IgG تحسناً عالياً للمجاميع المدروسة وعزز دور الإصابة المكتسبة بداء مقوسات العين وهذا دعم بما جاء به (19) مؤكداً لتواجد الضد IgG وبتراكيز عالية لدى عموم السكان، ويوضح الجدول (3) ان الغالبية العظمى من مرضى الدراسة الحالية هم في طور المزمّن من الإصابة وذلك لتواجد الضد IgG كما وارجحت دراسة (20) التي اجريت على 34 حالة مصابة بأمراض العيون 12 منهم مصابين بمقوسات العين معززة الجانب المكتسب للمرض، وبشكله المزمّن، وهذا يتفق مع الدراسة الحالية. ويشير الجدول (4) لقلة الحالات الموجبة للضد IgM فقد بلغ مجموعها (14) حالة لكافة المجاميع وهذا يتفق مع دراسة (21) والتي انجزت لمعرفة انتشار الإصابة بالتهابات الشبكية المشيمية الناجمة عن المقوسة الكوندية في محافظة بغداد وسجلت 95.2% حالة موجبة للضد IgG و 4.8% حالة موجبة للضد IgM ، ويفسر هذا لكون الضد IgG هو الكلوبولين المناعي الأساسي في الاستجابة المناعية الثانوية ويرتفع في الإصابات المزمنة في حين يزداد الضد IgM في الإصابات الحادة بالمقوسة الكوندية والتي تتميز بقصر مدتها الزمنية (22).

استعمل اختبار تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل التقليدي Conventional PCR للتحري عن جزء من جين B1 لطفيلي *T. gondii* في عينات دم المرضى والسيطرة من الذين اظهروا استجابة موجبة لفحص الاليزا. سجلت الدراسة الحالية النتائج الموجبة

لاختبار تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل التقليدي جدول (5) شكل (4) لمجموعة داء مقوسات العين بنسبة مئوية بلغت 23.8% بينما كانت النسبة المئوية لمجموعة التهابات العينية الموجبة 21.4% في حين بلغت النسبة المئوية لمجموعة داء المقوسات عديمة الاعراض 8.6%. تم التحري عن جزء معين من جين B1 وبحجم (88) زوج قاعدي ضمن DNA طفيلي *T. gondii* في مجموعة من المرضى المشخصين سريريا بداء مقوسات العين والبالغ عددهم 18 مريضا اذ تبين تسجيل 5 نتائج موجبة لفحص PCR ونسبة مئوية بلغت 28% (23). وفي كوريا تم تسجيل نتيجة موجبة واحدة لداء مقوسات العين باستخدام فحص PCR من مجموعة التهابات العينية المتكررة والبالغ عددها 20 مصابا ونسبة 5% (24) وهذا ينسجم مع نتائج الدراسة الحالية. ان سبب اللجوء الى تقنية PCR في تشخيص داء مقوسات العين بالرغم من كفاءة التشخيص السريري ودقة الفحص المناعي (الليزا) في تعيين الاضداد النوعية IgG و IgM لمستضدات طفيلي *T. gondii* هو ان في بعض الاحيان يحصل تداخل في العلامات السريرية بين داء المقوسات العيني وامراض اخرى كالتهابات العين الفيروسية او امراض المناعة الذاتية Autoimmune diseases (9). وكذلك بالنسبة للفحص المناعي (الليزا) قد تكون تراكيز الاضداد النوعية ليست عالية في المصل كون الاستجابة المناعية ضد داء مقوسات العين تكون محددة وذات فعالية كبيرة في الخلط المائي Aqueous humor والسائل الزجاجي Vitreous fluid للعين كونها تعد من الاعضاء المعزولة مناعيا (25). فضلا عن استهداف طريقة PCR لجين معين ومحدد ضمن المحتوى الجيني لطفيلي المقوس الكوندي مما يعطي تشخيصا للمرض وبنوعية عالية وبالتالي اعطاء العلاج المناسب وبجرع محددة لا سيما اذا كان تشخيص الإصابة بصورة مبكرة (26). قد يعزى سبب نسب التشخيص الجزيئي الواطئة هذه الى كون غالبية مرضى الدراسة الحالية هم في طور المزمّن من الإصابة داعمة التشخيص المصلي نتيجة لارتفاع مستوى الضد IgG في حين يزداد الضد النوعي IgM في الإصابة الحادة بداء مقوسات العين (22، 27) ولقلة تواجد الاطوار الخضرية Tachyzoites في الدم وتمركزها في قرح الشبكية على هيئة أكياس نسيجية Tissue cysts وفي الخلط المائي (28) ولكون العين من الأعضاء المعزولة مناعيا (29) ومما يؤكد أيضا دور الإصابة المكتسبة لكون غالبية مرضى الدراسة الحالية ذوي أعمار كبيرة ومستبعدة للإصابة الخلقية. ان النتيجة السالبة لفحص

PCR لا تعني استبعاد الإصابة الحديثة بداء المقوسات وذلك لوجود عدة اسباب منها قد يكون عدد الاطوار الخضرية للطفيلي في الدم قليلاً او قد يكون حجم DNA المستخلص من الدم قليلاً مقارنة بحجم الدم الكلي لجسم الانسان فضلاً عن احتواء الدم لبعض المكونات تعمل على تثبيط تفاعل PCR ومن هذه المواد Heme، Hemoglobin و Lactoferrin وغيرها (30 ، 31). ويستنتج من نتائج المقارنات في الجداول (6،7 و8) ان اختبار الاليزا يمكن ان يعطي نتائج ايجابية اكثر توافقاً مع الفحص السريري والذي ظهر واضحاً من خلال نتائج نسب التشخيص العالية التي اظهرها ولكافة المجاميع قيد البحث بما يمكن ان يعطي دعماً قوياً للتشخيص السريري (19،22)، اذ لا يمكن الاعتماد بدرجة كبيرة على فحص اللاتكس Latex في التشخيص الدقيق نتيجة لما قد يحصل من تفاعلات قد تعطي نتائج موجبة كاذبة لذا فقد عُد كاختبار مبدئي في التشخيص (18)، اضافة تطبيق اختبار Conventional PCR للتحري عن جين B1 دعماً مهماً لاثبات تواجد طفيلي *T. gondii* المتمركز في العين في عينات الدم ولمختلف المجاميع بالرغم من نتائج التشخيص الواطئة التي حققها نتيجة لقلّة تواجد الاطوار الخضرية Tachyzoites في الدم ولأن غالبية مرضى الدراسة الحالية هم في طور المزمّن من الإصابة (28،29).

المصادر References

- 1- Robert- Gangenux, F. & Dardé, M. L. (2012). Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. Clin. Microbiol. Rev., 25(2):264-296.
- 2- Schwartzman, J.D. (2001). Toxoplasmosis. In: Gillespie, S.H. & Pearson, R.D. (Eds.). Principles and Practice of Clinical Parasitology. John Wiley & Sons Ltd, Chichester England: 113-138.
- 3- Sullivan Jr, W.J. & Jeffers, V. (2012). Mechanisms of *Toxoplasma gondii* persistence and latency. FEMS Microbiol Rev. , 36: 717–733.
- 4- Butler, N. J.; Furtado, J. M.; Winthrop, K. L. & Smith, J. R. (2013). Ocular toxoplasmosis II: clinical features, pathology and management. Clin. Exp. Ophthalmol., 41(1): 95-108.
- 5- Arevalo, J.F.; Belfort, R. Jr.; Muccioli, C. & Espinoza J.V. (2010). Ocular toxoplasmosis in the developing world. Int. Ophthalmol. Clin., 50: 57-69.
- 6- Holland, G. N. (2003). Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. Am. J. Ophthalmol., 136: 973-988.

- 7- Peterson, E.; Kiljsh, A. & Stanford, M. (2012). Epidemiology of ocular toxoplasmosis. *Ocul. Immunol. Inflamm.*, 20(2): 68-75.
- 8- Dupouy-Camet, J.; Talabani, H.; Delair, E.; Lesle, F.; Yera, H. & Brezin, A. P. (2012). Risk factors pathogenesis and diagnosis of ocular toxoplasmosis. In: Daffos, F. ; Forestier, F. ; Capellaa-Pavlovsky, M. ; Thulliez, P.; Aufrant, C.; Valenti, D. & Wendy, L. (Eds.). Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. *Engl. J. Med.*, 318: 271-275.
- 9- Talabani, H.; Asseraf, M.; Year, H.; Delair, E.; Ancelle, T.; Thulliez, P.; Bre`zin, A. P. & Dupouy-Camet, J. (2009). Contributions of immunoblotting, real-time PCR, and the Goldmann-Witmer coefficient to diagnosis of atypical toxoplasmic retinochoroiditis. *J. Clin. Microbiol.*, 47: 2131-2135.
- 10- Weiss, L. M. & Kim, K. (2007). *Toxoplasma gondii* the model apicomplexan: perspectives and methods, Elsevier, Amsterdam: 777 pp.
- 11- Jalal, S.; Nord, C. E.; Lappalainen, M. & Evengard, B. (2004). Rapid and sensitive diagnosis of *Toxoplasma gondii* infections by PCR. *Clin. Microbiol. Infect.*, 10: 937-939.
- 12- Mesquita, R. T.; Vidal, J. E. & Pereira-Chiocola, V. L.(2010). Molecular diagnosis of cerebral toxoplasmosis: comparing markers that determine *Toxoplasma gondii* by PCR in peripheral blood from HIV-infected patients. *Braz. J. Infect Dis.*, 14(4):346-350.
- 13- Garweg, J. G.; De Groot-Mijnes, J. D. F. & Montoya, J. G. (2011). Diagnostic approach to ocular toxoplasmosis. *Ocul. Immunol. Inflamm.*, 19(4): 255-261.
- 14- Montoya, J.G. & Remington, J.S. (1996). Toxoplasmic chorioretinitis in the setting of acute acquired Toxoplasmosis. *Clin. Infec. Dis.*, 23: 277-282.
- 15- Montoya, J. G. & Remington, J. S. (1995). Studies on the serodiagnosis of toxoplasmosis lymphadenitis. *Clin. Infect. Dis.*, 20: 781-790.
- 16- العبيدي، اسراء قاسم والحكيم، عبير فاروق ساكن (2015). دراسة وبائية مصلية لمقوسات العين في المرضى العراقيين. مجلة كلية التربية الاساسية، الجامعة المستنصرية، 21(90): 241-260.
- 17- Solaiman, N. M. (2012). Evaluation of Toxoplasmosis Infection by Using Latex and Eliza Tests and it's Relation with C- reactive Protein. *Diyala J. Pure Sci.*, 8(1):109-115.
- 18- de-la-Torre, A.; López-Castillo, C. A. & Gómez-Marin, J. E. (2009). Incidence and clinical characteristics in a Colombian cohort of ocular toxoplasmosis. *Eye*, 23: 1090-1093.
- 19- Balsari, A.; Poli, G.; Molina, V.; Dovis, M.; Petruzzelli, E.; Boniolo, A. & Roller, E. (1980). ELISA for *Toxoplasma* antibody detection: a

- comparison with other serodiagnostic tests. J. Clin. Pathol., 33(7): 640-643.
- 20- Couvreur, J. & Thulliez, P. (1996). [Acquired toxoplasmosis of ocular or neurologic site: 49 cases]. Presse. Med., 25(9): 438-442. (in French)
- 21-Al-Azawi, A. K. A.; Al-Rawe, I. H. A. & Al-Bayati, R. Y. J. (2013). Seroprevalance of toxoplasmic chorioretinitis in Baghdad province. Int. J. Sci. Nat., 4(1): 68-71.
- 22- Mordue, D. G.; Monroy, F.; La Regina, M.; Dinarello, C. A. & Sibley, L. D. (2001). Acute toxoplasmosis leads to lethal over production of in Th1 Cytokines. J. Immunol., 167(8): 4575-4584.
- 23- Villard, O.; Filisetti, D.; Roch-Deries, F.; Garweg, J.; Flament, J. & Candolfi, E. (2003). Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Immunoblotting, and PCR for Diagnosis of Toxoplasmic Chorioretinitis. J. Clin. Microbiol., 41(8):3537-3541.
- 24-Lee, S. E.; Hong, S. H.; Lee, S. H.; Jengo, Y.; Lim, S. J.; Kwon, O. W.; Kim, S. H.; You, Y. S.; Cho, S. H. & Lee, W. J. (2012). Detection of Ocular *Toxoplasma gondii* Infection in Chronic Irregular Recurrent Uveitis by PCR. Korean J. Parasitol., 50(3):229-231.
- 25-O'connor, G. R. (1978). Uveitis and the immunologically compromised host. Nat. Engl. J. Med., 299: 130-132.
- 26- London, N. J.; Hovakim, A.; Cubillan, L. D.; Siverio, C. D. Jr. & Cunningham, E. J. Jr. (2011). Prevalence clinical characteristics and causes of vision loss in patients with ocular toxoplasmosis. Eur. J. Ophthalmol., 21: 811-819.
- 27-Kortbeek, L. M.; De Melker, H. E.; Veldhuijzen, I. K. & Conyn-Van Spaendonck, M. A. E. (2004). Population-based *Toxoplasma* seroprevalence study in the Netherlands. Epidemiol. and Infect., 132(5): 839-845.
- 28- Couvreur, J. (1999). Problems of congenital toxoplasmosis: evolution over four decades. Press Med., 28:753-757.
- 29- Calderaro, A.; Piccolo, G.; Gorrini, C.; Peruzzi, S.; Zerbini, L.; Bommezzadri, S.; Dettori, G. & Cheezi, C. (2006). Comparison between two Real-time PCR assays and a nested-PCR for the detection of *Toxoplasma gondii*. Acta. Biomed., 77(2):75-80.
- 30-Menotti, J.; Vilela, G.; Romand, S.; Garin, YJ.; Ades, L.; Gluckman, E.; Derouin, F. & Ribaud, P. (2003). Comparison of PCR-enzyme-linked immunosorbent assay and real-time PCR assay for diagnosis of an unusual case of cerebral toxoplasmosis in a stem cell transplant recipient. J. Clin. Microbiol., 41(11): 5313-5316.
- 31- Tlamcani, Z.; Lemkhenete, Z. & Lmimouni, B. E. (2013). Toxoplasmosis: The value of molecular methods in diagnosis compared to conventional methods. J. Microbiol. Infect. Dis., 3(2): 93-99.

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين

على نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد على

الجدول (1): نتائج اختبار اللاتكس Latex ونسبها المئوية والذي بموجبه وزعت مجاميع الدراسة مبدئياً.

C.C. & P-value	Total	Latex Result		No. and Percent	Groups
		Negative	Positive		
C.C. = 0.601 P=0.000 H.S.	50	0	50	No.	O.T.
	100	0.0	100	%	
	45	45	0	No.	Uveitis
	100	100	0.0	%	
	84	54	30	No.	Control
	100	64.3	35.7	%	
	179	99	80	No.	Total
	100	55.3	44.7	%	

H.S.: Highly Significant at $P < 0.01$

الجدول (2): نتائج فحص الاليزا ELISA ونسبها المئوية لمجاميع الدراسة .

C.C.& P-value	Total	ELISA Result		No. and Percent	Groups
		Negative	Positive		
C.C. = 0.389 P=0.000 H.S.	50	8	42	No.	O.T.
	100	16	84	%	
	45	31	14	No.	Uveitis
	100	68.9	31.1	%	
	84	49	35	No.	Control
	100	58.3	41.7	%	
	179	88	91	No.	Total
	100	49.2	50.8	%	

H.S.: Highly Significant at $P < 0.01$

الجدول (3): مستويات الضد IgG مقدرة بوحدة عالمية / مليلتر لمجاميع الدراسة .

Upper Value	Lower Value	95% Confidence Interval for Mean		Standard Error	Standard Deviation	Mean	No. of Positive Samples	The Total No. of Samples	Groups
		Upper Bound	Lower Bound						
2.143	1.319	1.725	1.597	0.032	0.187	1.661	35	42	O.T.
1.831	1.344	1.696	1.496	0.045	0.157	1.596	12	14	Uveitis +
0.702	0.123	0.458	0.319	0.034	0.190	0.389	-	31	Uveitis -
1.897	1.184	1.597	1.405	0.047	0.257	1.501	30	35	Asymptomatic Toxoplasmosis
0.712	0.122	0.399	0.302	0.024	0.167	0.350	-	49	Control

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين
 علي نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد علي

الجدول (4): مستويات الضد IgM مقدرة بوحدة عالمية / مل لمجاميع الدراسة.

Upper Value	Lower Value	95% Confidence Interval for Mean		Std. Error	Std. Dev.	Mean	No. of Positive Samples	The Total No. of Samples	Groups
		Upper Bound	Lower Bound						
2.658	1.472	2.394	1.450	0.193	0.510	1.922	7	42	O.T.
1.91	1.824	2.413	1.321	0.043	0.061	1.867	2	14	Uveitis +
0.768	0.306	0.693	0.571	0.030	0.166	0.632	-	31	Uveitis -
1.858	1.679	1.832	1.657	0.031	0.070	1.744	5	35	Asymptomatic Toxoplasmosis
0.762	0.238	0.686	0.550	0.034	0.236	0.618	-	49	Control

الجدول (5): نتائج اختبار تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل التقليدي Conventional PCR

وبحسب مجاميع الدراسة الموجبة لفحص الاليزا.

C.C.& P-value	Total	Conventional PCR Result		No. and Percent	Groups
		Negative	Positive		
C.C. = 0.185 P=0.199 N.S.	42	32	10	No.	O.T.
	100	76.2	23.8	%	
	14	11	3	No.	Uveitis +
	100	78.6	21.4	%	
	35	32	3	No.	Asymptomatic Toxoplasmosis
	100	91.4	8.6	%	
	91	75	16	No.	Total
	100	82.4	17.6	%	

N.S.: Non Significant at $P > 0.05$

الجدول (6): مقارنة بين الاختبارات التشخيصية المستعملة لمجموعة داء مقوسات العين.

C.C.& P-value	Total	Test Result (O.T.)		No. and Percent	Type of test
		Negative	Positive		
C.C. = 0.556 P=0.000 H.S.	50	0	50	No.	Latex
	100	0.0	100	%	
	50	8	42	No.	ELISA
	100	16	84	%	
	42	32	10	No.	Conventional PCR
	100	76.2	23.8	%	
	148	40	108	No.	Total
	100	27	73	%	

H.S.: Highly Significant at $P < 0.01$

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين
 علي نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد علي

الجدول (7): مقارنة بين الاختبارات التشخيصية المستعملة لمجموعة التهابات العين.

C.C.& P-value	Total	Test Result (Uveitis)		No. and Percent	Type of test
		Negative	Positive		
C.C. = 0.399 P=0.000 H.S.	45	45	0	No.	Latex
	100	100	0.0	%	
	45	31	14	No.	ELISA
	100	68.9	31.1	%	
	14	11	3	No.	Conventional PCR
	100	78.6	21.4	%	
	104	87	17	No.	Total
	100	83.6	16.4	%	

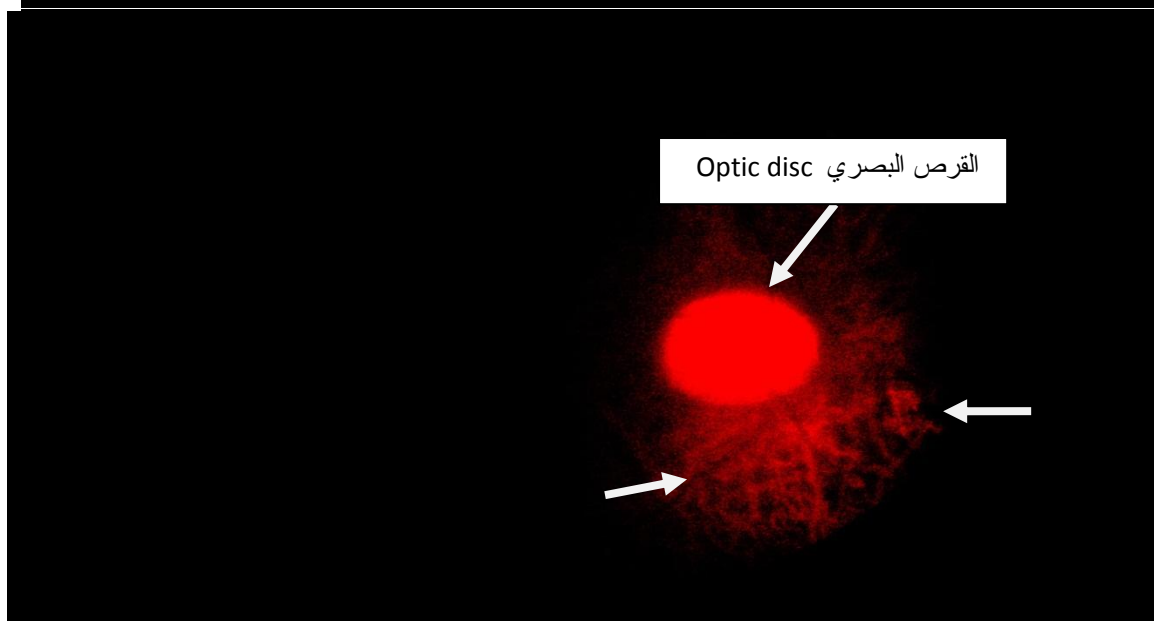
H.S.: Highly Significant at $P < 0.01$

الجدول (8): مقارنة بين الاختبارات التشخيصية المستعملة لمجموعة السيطرة.

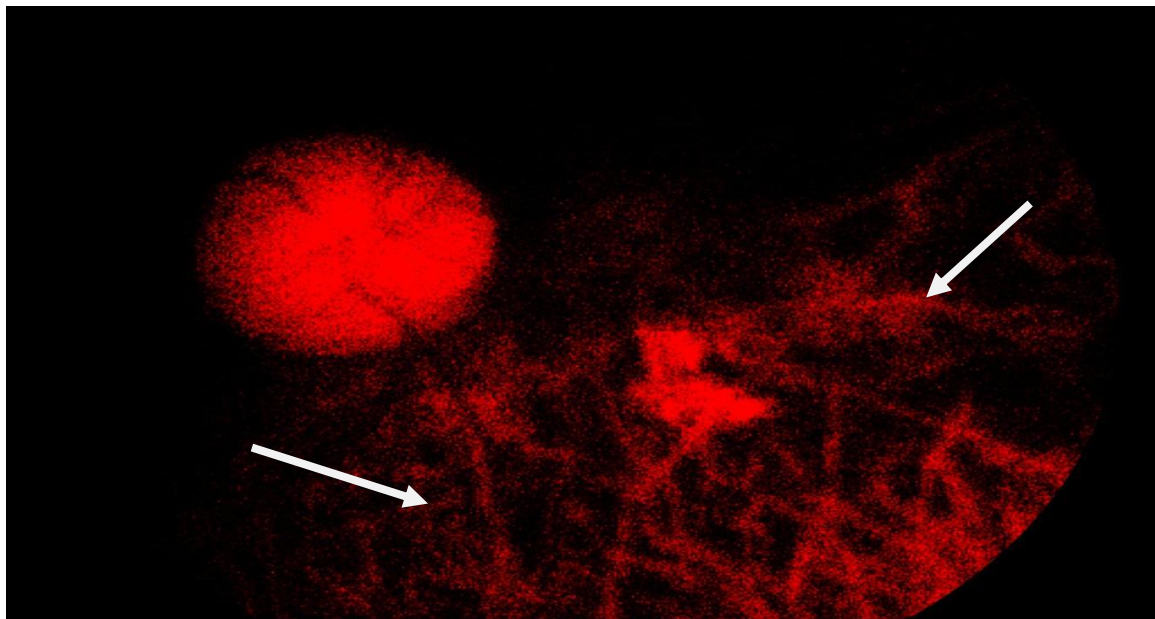
C.C.& P-value	Total	Test Result (Control)		No. and Percent	Type of test
		Negative	Positive		
C.C. = 0.246 P=0.002 H.S.	84	54	30	No.	Latex
	100	64.3	35.7	%	
	84	49	35	No.	ELISA
	100	58.3	41.7	%	
	35	32	3	No.	Conventional PCR
	100	91.4	8.6	%	
	203	135	68	No.	Total
	100	66.5	33.4	%	

H.S.: Highly Significant at $P < 0.01$

التشخيص المناعي والجزيئي لداء مقوسات العين
على نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد على

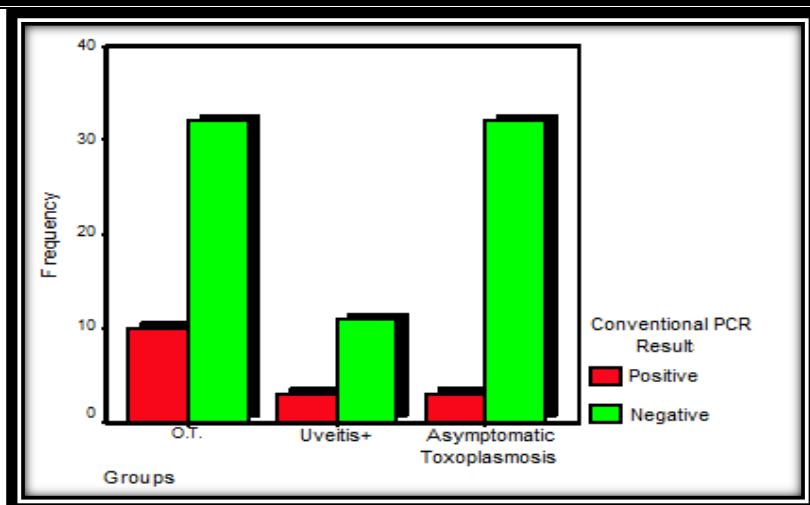


الشكل (1): القرحة Scar منتشرة في شبكية العين نتيجة الإصابة بداء مقوسات العين.

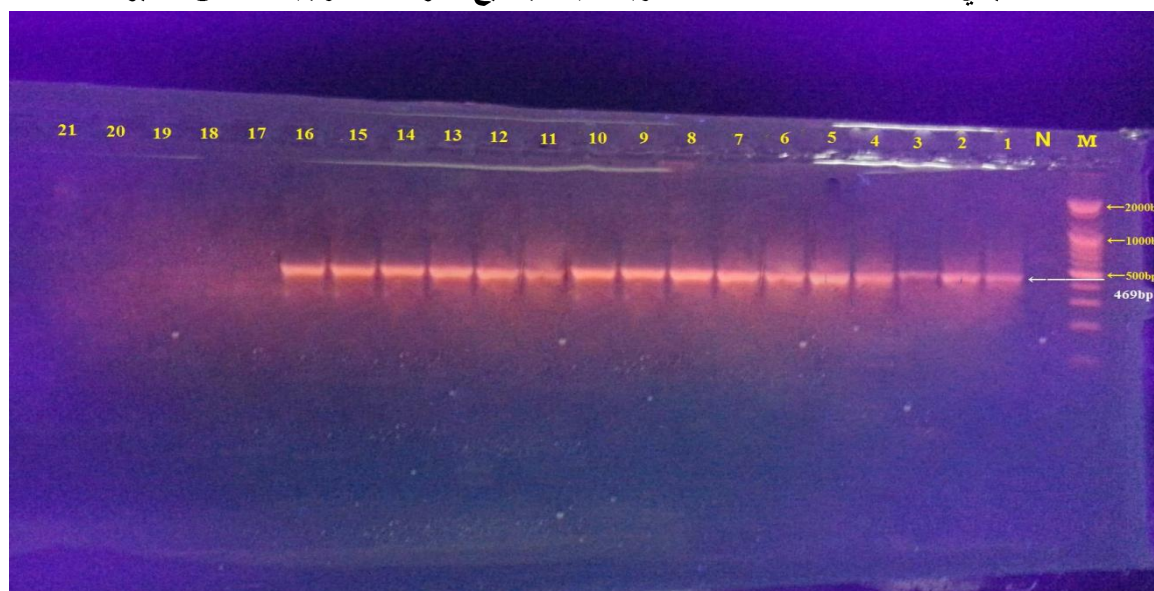


الشكل (2): انتشار لقرح عديدة في شبكية العين بسبب الإصابة المزمنة بداء مقوسات العين.

التشخيص المناعي والجزيئي لحاء مقوسات العين
 علي نزار ياسين ، اسراء قاسم العبيدي ، وحيدة رشيد علي



الشكل (3): الأشرطة البيانية لتوزيع التكرارات المنوية وفق نتائج اختبار تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل التقليدي Conventional PCR وبحسب مجاميع الدراسة الموجبة لفحص الاليزا.



الشكل (4): الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز (2%)، 40 فولت لمدة ساعتين، Ethidium bromide 2 µl والذي يظهر نتائج اختبار تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل التقليدي Conventional PCR للعينات الموجبة لفحص الاليزا لجزء معين وبحجم (469bp) لجين B1.
 Lane: M Ladder DNA (100 bp).
 Lane N: Negative Control.
 Lane (1-10) positive samples (O.T. group).
 Lane (11-13) positive samples (Uveitis + group).
 Lane (14-16) positive samples (Asymptomatic Toxoplasmosis group).
 Lane (17-21) Negative samples.

Immunological and Molecular Diagnosis of Ocular Toxoplasmosis

Ali N. Yaseen Issra K. Al-Aubaidi* Waheeda R. Ali*

Department of Science , College of Basic Education, AL-Mustansiriya University , Baghdad, Iraq.

* Department of Biology, College of Education for pure science (Ibn al- Haitham), University of Baghdad, Baghdad, Iraq.

Abstract

The present study was adopted to investigate diagnostic methods for the ocular toxoplasmosis cause by the infection with parasite *Toxoplasma gondii*, by different methods which included two serological methods (Latex and ELISA) and one molecular method (conventional PCR) which targeted the gene B1. The ratio of diagnosis for Latex test was 100% to ocular toxoplasmosis group, while it was negative with 100% percentage in uveitis patients group. The positive results in control group were 35.7 % and the significant difference between the three groups ($p < 0.01$). As results of the ELISA tests also recorded significant differences ($p < 0.01$) between the study groups where the percentages of positive results in ocular toxoplasmosis group 84% opposite 31.1% in uveitis group. The control group recorded 41.7% positive results and renamed as asymptomatic toxoplasmosis group. The mean of IgG antibody titer in ocular toxoplasmosis group was 1.661 ± 0.187 I.U./ml. which was the top among the rest groups, as well as the IgM antibody titer in this group which 1.922 ± 0.51 I.U./ml. The results of conventional PCR test were 10 positive results in ocular toxoplasmosis group with 23.8% percentage while uveitis and asymptomatic toxoplasmosis recorded three positive results only with 21.4% and 8.6%, respectively, with no significant differences for the record those ratios between the study groups ($p < 0.199$). It has been shown by the above results that the ELISA assay shows positive results for the Ocular Toxoplasmosis infection at a higher percentages and significant difference compared to a record of the results by using Conventional PCR for gene B1.

Key words: Ocular toxoplasmosis, Diagnosis, IgG, IgM, Conventional PCR.