

14986

**TOXOPLASMOSES'İN SEROLOJİK TANISINDA İKİ FARKLI EIA KİTİ İLE  
SABİN—FELDMAN TESTLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Nihal DOĞAN**

**Anadolu Üniversitesi**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü**  
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca  
Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı  
Parazitoloji Bilim Dalı'nda  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
Olarak Hazırlanmıştır.

**Danışman : Doç. Dr. Yurdanur AKGÜN**

**Aralık 1988**

KABUL VE ONAY SAYFASI

Nihal DOĞAN 'ın Yüksek Lisans tezi olarak hazırladığı "TOXOPLASMO-  
SIS 'İN SEROLOJİK TANISINDA İKİ FARKLI EIA KİTİ İLE SABİN-FELDMAN TESTLE-  
RİNİN KARŞILAŞTIRILMASI" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisans Üstü Öğre-  
tim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edil-  
miştir.

Üye: Prof.Dr. Filiz AKŞİT (imza)

Üye: Doç.Dr. Yurdanur AKGÜN (imza)

Üye: Yrd.Doc.Dr. Tülay KOÇOĞLU (imza)

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu  
nun 22.12.1988 gün ve 103/210 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

(imza)

Prof. Dr. Nurettin BAŞARAN

Enstitü Müdürü

ASLI GİBİDİR

22.12.1988



İsmet YILMAZ

Enstitü Sekreteri

## Ö Z E T

Bu çalışmada; Anadolu Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Kadın Doğum Polikliniğine başvuran düşük, ölü doğum anamnezi veren 307 hastada Toxoplasmosis seropozitifliğini araştırmak, (tanıda kullanılan serolojik testlerin güvenilirliğini ve birbiriyle uyumunu karşılaştırmak amacı ile iki farklı Enzyme Immuno Assay kiti (Ismunit EIA ve Labsystem EIA) kullanılarak bunların birbiriyle ve Sabin-Feldman testi ile karşılaştırılması yapılmıştır. 307 hasta ve 63 kontrol grubuna uygulanan testlere göre; hasta grubunda, yukarıdaki test sırasıyla: % 47.9, % 69.0, %56.8 oranlarında, kontrol grubunda ise, % 34.9, % 58.3, % 41.7 oranlarında seropozitiflik elde edilmiştir. Anti-toxo IgG antikorları açısından her üç test sonuçlarında da büyük bir uyumluluk gözlenirken, anti-toxo IgM antikorları açısından testler arasında uyumluluk gözlenememiştir.

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grupları, gerek anamnez, gerekse klinik özellikleriyle ele alındığında, test sonuçları içinde en güvenilir olanların kontrol antijen içeren ve özgül olmayan reaksiyonların ekarte edilebildiği Ismunit EIA 'e ait olduğu sonucuna varılmıştır. Özellikle anti-toxo IgM testlerinde Labsystem EIA ile özgül olmayan sonuçların yüksekliği dikkati çekmiştir.

Toxoplasmosis tanısında kullanılan serolojik testler içinde EIA 'in üstünlüğü görülmüş, ancak EIA 'in iyi seçimi, dikkatli çalışma, şüpheli değerlerin tekrarlanması konularında titizlik gösterilmesi kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Toxoplasmosis tanısı, ELISA, Sabin-Feldman, düşük, ölü doğum.

## S U M M A R Y

In this study on 307 cases admitted to clinic in the obstretic gynecology department of the Anadolu Universty with abortion, die birth, birth with anomally, to investigate and compare: to seropozytivity of Toxoplazmosis, security of serolojic tests used in diagnostic, conformity of these serolojic tests, two different Enzyme immuno assay kits ( Ismunit EIA and Labssystem EIA ) have been used. The comparation of these tests with Sabin Feldman tests have been reported. The results in the tests applied ( Ismunit, Labssystem, SF ) on 307 patients and on 63 control groups were as follows. In patients the seropozitivity rate was, % 47.9, % 69.0, % 56.8 and in control groups the rate was, %34.9, % 58.3, % 47.7 respectively.

Although a great conformity was observed on results of all the three tests for the anti-toxo-IgG antibody we were not able to observed any conformity in three tests for the anti-toxo-IgM.

It was found out that the tests results of Ismunit EIA in which control antigen was contained and nonspecific reactions could be conselled out were found most confidential. Taking consideration of the history and also clinical symptomp of patients and control groups we worked on. Especially in anti-toxo-IgM tests, the tests results non specific with respect to Labssystem EIA were found in high percentage.

Among the serologic tests used for the diagnos is of toxoplazmosis superiority of EIA was proved with the neccessity of best quality, careful study and repeated tests for the doubtful results.

Key words: Diagnosis of the Toxoplazmosis, ELISA, Sabin-Feldman, abortion, die birth.

## T E Ő E K K Ü R

Bu alışmamın başlangıcında bana ve alışmalarına yn veren, yardım ve ilgilerini esirgemeyen mtevazi insan değerli hocam Prof.Dr. Hüseyin SARNIÇ'ı bu vesile ile Őükran ve rahmetle anarım.

Çalışmalarımın yönlendirilmesinde, bütünlüğe kavuşmasında ve sonuca gelebilmede her aşamada tüm ilgi ve yardımını bana yönelten, fikirleri ile yol gösteren değerli hocam Doç.Dr. Yurdanur AKGÜN'e Őükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında kaynakları, bilgisi ve laboratuvar olanakları ile bana yardımcı olan değerli insan Doç.Dr. Kürşat ALTINTAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmamın gerçekleşmesinde emeği geçen, bana destek olan tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

## İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	i
SUMMARY .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vii
KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Parazitin Doğadaki Formları .....	5
2.1.1. Trofozoitler .....	5
2.1.2. Doku kistleri .....	6
2.1.3. Ookistler .....	7
2.2. Toxoplasma gondii'nin Bulaşım Yolları .....	8
2.2.1. Oral bulaşma .....	8
2.2.2. Konjenital bulaşma .....	9
2.2.3. Parenteral bulaşma .....	10
2.3. Toxoplasmosis'te Patojenez ve Patoloji .....	10
2.3.1. Immunitesi tam olan kişilerde Toxoplasmosis ....	10
2.3.2. İmmün yetmezliklerde kazanılmış veya aktive olmuş Toxoplasmosis .....	11
2.3.3. Oküler Toxoplasmosis .....	12
2.3.4. Konjenital Toxoplasmosis .....	12
2.4. Tanı .....	13
2.4.1. Toxoplasma'nın izolasyonu .....	14
2.4.2. Histolojik inceleme .....	15
2.4.3. Antijene özgül lenfosit transformasyonu .....	15
2.4.4. Antijenin vücut sıvılarında gösterilmesi .....	15
2.4.5. Serolojik testler .....	16
2.4.5.1. Sabin-Feldman testi .....	16
2.4.5.2. İndirekt florasan antikor testi .....	17
2.4.5.3. İndirekt hemaglutinasyon testi (IHA) ....	19
2.4.5.4. Kompleman fiksasyon testi (CF) .....	20
2.4.5.5. Direkt aglutinasyon testi (DA) .....	20
2.4.5.6. Latex aglutinasyon testi (LA) .....	20
2.4.5.7. Presipitasyon ve Flokulasyon .....	21
2.4.5.8. Radyo immün ölçme yöntemi (RIA) .....	21

## İ Ç İ N D E K İ L E R (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.4.5.9. Karbon immunoassay (CIA) .....	21
2.4.5.10. Enzyme Immuno Assay testleri .....	22
2.4.5.11. Double Sandwich IgM ELISA .....	23
2.4.5.12. IgM Immuno sorbent assay .....	23
2.4.5.13. Single use diagnostic system .....	24
2.4.5.14. Immunoblots tekniği .....	24
2.4.6. Deri testleri .....	25
2.5. Tedavi .....	26
2.5.1. İlaçların kullanımı .....	27
2.5.2. Aşı .....	28
2.6. Korunma .....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	30
3.1. Gereçler .....	30
3.1.1. Serumlar .....	30
3.2. Yöntemler .....	31
3.2.1. Sabin-Feldman testi .....	31
3.2.1.1. Aktivatör serum .....	31
3.2.1.2. Antijen .....	32
3.2.1.3. Testin uygulanması .....	32
3.2.2. ELISA yöntemi ile Toxoplasma Ab'lerinin saptanması .....	33
3.2.2.1. Labsystem-Solid-Phase Enzyme Immuno assay	34
3.2.2.1.1. Deneyin yapılışı .....	35
3.2.2.1.2. Deneyin değerlendirilmesi .....	35
3.2.2.2. Choromotitre enzyme immuno assay (Ismunit EIA) .....	35
3.2.2.2.1. Deneyin yapılışı .....	35
3.2.2.2.2. Deneyin değerlendirilmesi .....	36
4. BULGULAR .....	37
5. TARTIŞMA .....	46
6. SONUÇ .....	58
KAYNAKLAR .....	61

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. 110 hasta serumunun SF titreleri ile Ismanit EIA IgG ve IgM absorbanans değerleri .....	39
4.2. 76 hasta serumunun SF titreleri ile Labssystem EIA IgG ve IgM EIU değerleri .....	40

Ç İ Z E L G E L E R   D İ Z İ N İ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Çalışılan testler ve serum sayıları .....	36
4.1. SF ve EIA (Ismunit+Labsystem) olmak üzere üç ayrı deneyin birlikte uygulandığı 47 hastanın test sonuçları .	37
4.2. EIA (Ismunit ve Labsystem) testi uygulanan 55 hastada anti-Toxo-IgG ve IgM test sonuçlarının karşılaştırılması	37
4.3. Anti-Toxo IgG ve IgM Ismunit EIA ile SF testlerinin karşılaştırılması .....	38
4.4. Anti-Toxo IgG ve IgM Labsystem EIA ile SF testlerinin karşılaştırılması .....	41
4.5. Kontrol grubu olarak çalışılan testler ve serum sayıları	41
4.6. EIA (Ismunit ve Labsystem) ve SF olmak üzere üç ayrı deneyin uygulandığı 12 hastanın test sonuçları .....	42
4.7. Düşük, ölü doğum, erken doğum gibi anamnezileri olan anneler ve bunların bebeklerinin Ismunit EIA ve SF test sonuçlarının karşılaştırılması .....	43
4.8. Anti-Toxo IgG ve IgM EIA (Ismunit ve Labsystem), SF testi ile birden fazla çalışılan hastalara ait serum örnekleri .....	44

## KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
Ab	Antikor
Ag	Antijen
ANA	Anti Nükleer Antikor
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CMV	Sitomegalovirüs
EIA	Enzyme Immuno Assay
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
IgM	Immunglobulin M
IgG	Immunglobulin G
IFAT	İndirekt Florasan antikor testi
ml	Mikrolitre
m	mikron
RES	Retikülo endotelyal sistem
RF	Romatoid faktör
SF	Sabin-Feldman

## 1. G İ R İ Ő

Parazitler, günümüzde insan ve hayvan yaşamına ve hatta ekonomiye zarar veren canlılar olarak kabul edilmektedir. *Toxoplasma gondii*'de memelilerin ve kuşların oldukça sık rastlanan zorunlu hücre içi paraziti olup, dünyanın her yerinde yaygındır ve genellikle belirtisiz infeksiyonlar yapmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarda bu sıklığın % 6'dan % 90'a kadar ulaştığı gözlenmiştir. Ülkemizde ise bu oran % 11 ile % 60 arasındadır (4,5,18,24,37).

*Toxoplasma gondii* 70 yılı aşkın bir süredir bilinmesine rağmen, son 20 yıl içerisinde epidemiyolojik çalışmalarda sağlıklı görünümlü kedilerin esas konak oldukları anlaşıldıktan sonra konunun önemi giderek artmıştır (24,36,65).

Son yıllarda intrauterin infeksiyonlardaki rolü dolayısıyla da büyük önem kazanmıştır (5,65).

*Toxoplasma gondii* infeksiyonları erişkinde çoğunlukla belirtisiz seyreder, ancak immunitenin azaldığı durumlarda ağır seyreden hastalık tablosu oluşturur (5,36). *Toxoplasmosis* çoğunlukla belirtisiz seyrettiği için ve klinik vakalarda karakteristik bir hastalık tablosu oluşturmadığından, klinik tanı koymak güçtür ve tanısı laboratuvar yöntemlerine dayanır.

Kesin tanı için direkt yöntemler dediğimiz; kan ve vücut sıvılarında *T. gondii*'nin gösterilmesi, deney hayvanlarına inokülasyon ile bunlardan alınan biyopsi materyalinden etkenin histolojik ve sitolojik gösterilmesidir. Bunlar en güvenilir yöntemler olmakla birlikte negatif sonuçlar alınma olasılığı, yapılma güçlüğü, pahalı ve uzun zaman gerektirdiği için pratik olarak uygulanamamaktadır.

Bu nedenlerden dolayı, *Toxoplasmosis*'in teşhisinde immunolojik yöntemler daha büyük önem kazanmış, daha kolay, daha çabuk olması nede-

niyle de geniş kitlelere yayılmıştır (2,4,5,18,24,35).

İmmunolojik teşhiste birçok yöntem olup, herbirinin avantajları ve dezavantajları vardır. Hepsinin amacı Toxoplasma'ya özgül antikörlerin belirlenmesine yöneliktir. Genellikle farklı testler farklı antikor yanıtı ölçer. Testlerin çoğu yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik gösterebilir. Bu nedenle şüpheli durumlarda birden fazla testle çalışılmalıdır (2,5,7,35,46,59).

Bu amaçla kullanılan eski yöntemler; Aglutinasyon, Presipitasyon, Kompleman birleşmesi, Pasif Hemaglutinasyon gibi testler olup, bunlar tek bir sınıftan immunglobulin'leri ölçtükleri için yalancı negatifliğe yol açabilmektedirler. Ayrıca bu yöntemler tam bir otomasyona uyarlanamamaları nedeniyle çok sayıda örneğin incelenmesi için uygun değildirler (5,10,18,24,35).

Bu durumlar antijen-antikor saptanmasında duyarlılığın artırılmasını gerektirmiş ve reaksiyona giren maddelerden birinin reaksiyonun daha belirgin hale gelmesi amacıyla Florasan, Rodamin gibi boyalarla işaretlenmesi yoluna gidilmiştir. Bu yöntemde kullanılan boyalarda zamanla aktivitelerini yitirmeleri ve kullanılan farklı mikroskopların, farklı bulgulara yol açması ve subjektif bir tanı olması nedeniyle tanı yöntemlerini güçleştirmiştir (5,37).

İlk kez 1948 yılında Sabin ve Feldman tarafından tanımlanan boya testi, Toxoplasmosis tanısı için spesifik bir test olmasına rağmen testin uygulanmasında temini güç birkaç faktöre gerek duyulması ve geniş laboratuvar olanakları gerektirmesi nedeniyle sürekli bu teste tercih edilecek bir test aranmıştır (5,24,35,45,46).

ELISA testi Engwall ve Perlman tarafından 1971 yılında mikrobiyolojinin çeşitli alanlarında uygulanmaya başlanmış bir testtir. Toxoplasmosis tanısında ise ilk kez Voller ve arkadaşları tarafından uygulanmaya başlanmıştır (5,24,37,59).

ELISA yöntemi; pratik, duyarlı, otomasyona uygulanmış olması ve geniş laboratuvar olanaklarına gerek duyulmaması gibi özelliklerinden dolayı, gerek klinik gerekse epidemiyolojik çalışmalarda diğer testlere göre üstünlüğü olan ve aranılan bir test olmuştur (8,10,15,21,37,40,59). Ayrıca ELISA'nın spesifik IgM ve IgG sınıfı antikorları ayrı ayrı araştırma olanaklarını sağlaması diğer bir üstünlüğüdür. Bu sayede infeksiyonun akut yada kronik oluşu hakkında kolaylıkla bilgi sahibi olabiliriz (5,8,10,11,15,26).

Bu çalışmada Toxoplasmosis infeksiyonunun, doğurganlık yaşında olup, daha önce düşük, ölü doğum, anomalili doğum gibi hikayesi olan kadınlarda ELISA IgG, ELISA IgM testleri ve Sabin-Feldman testi ile sero-pozitiflik oranının saptanması amaçlanmıştır. Ayrıca düşük ve anomalili doğum olgularının ne kadarının Toxoplasmosis nedeniyle meydana geldiği değerlendirmeye çalışılmıştır. Bütün bunları araştırırken, farklı firmalara ait iki ELISA kit'i kullanarak, bunların korelasyonunu ve her iki testin SF testi ile arasındaki uyumluluğu kıyaslamaya çalıştık.

## 2. GENEL BİLGİLER

Toxoplasmosis; insan ve diğer birçok memelilerde ve kanatlılarda görülen, *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu bir protozoon infeksiyonudur. Dünyanın her tarafında oldukça sık görülmektedir. Bununla birlikte infeksiyonlu kişilerin yaygınlık oranı ülkelere ve bölgelere göre farklılıklar gösterir (21,24,35).

*Toxoplasma gondii* ilk olarak 1908 yılında Nicolle ve Manceaux tarafından *Cytenodactylus gondii* adlı yabancı bir kemirgende tanımlandı. Deneysel çalışmalarda fareleri birkaç günde öldürdüğü ve çok virulan olduğu anlaşıldı (5,21,24,35,46).

Daha sonraki çalışmalarla bu parazit kuşlardan, köpekten, kemiricilerden ve daha birçok evcil ve yabancı hayvandan izole edilmiştir (36,65).

*T. gondii* insanda ilk kez 1923 yılında Janku tarafından Prag'da hidrocefalili 16 aylık bir bebeğin rektopsisinde tanımlanmıştır. 1938'de Wolf, Cowen ve Paige paraziti 31 günlük bir bebeğin beyninden izole etmişlerdir. Yetişkinlerdeki Toxoplasmosis ilk kez 1940 yılında Pinkerton ve Handerson tarafından bildirilmiştir (46). Yetişkinlerde Toxoplasma'nın göze ve diğer organlara verdiği zararlar ilk kez Frenkel tarafından ileri sürülmüş ve 1952 yılında Wilder'in izlenimleriyle de doğrulanmıştır (21,36,65).

Günümüzde dünyada 500 milyon kadar insanın bu protozoa ile infekte olduğuna dair veriler Feldman, Desmonts, Thalammer ve Jacobs'un yoğun epidemiyolojik incelemeleri ile ortaya çıkarılmıştır (35,36,64,65).

Hutchson'un ilk kez 1967 yılında kedinin *T. gondii*'nin yaşam siklusundaki rolünü belirlemesiyle bu konuda çalışmalar giderek önem kazanmıştır.

*T. gondii*'nin Eimeridae ailesinden evrimini iki ayrı konakta tamamlayan, çeşitli dokularda trofozoitlerinin oluşmasıyla aseksüel ve barsaktan ookistlerinin atılmasıyla sonlanan seksüel çoğalma tiplerinin bulunduğunu göstererek, evriminin gerçek niteliğini ortaya çıkarmıştır. Sistematığı şu şekildedir:

Sınıf: Sporozoa

Takım: Coccididea

Aile : Eimeriae

Soy : Toxoplasma

Tür : Toxoplasma gondii

(5,21,24,35,36,65).

Ülkemizde 1950 yılında Akçay ve arkadaşları paraziti bir köpekte tespit etmişlerdir. Daha sonra 1953 yılında Unat ve arkadaşları bu parazitin varlığını insanda histopatolojik olarak göstermişlerdir (58).

*T. gondii* zorunlu hücre içi paraziti olup; en çok RES, beyin, akciğer, göz gibi organların hücrelerinde çoğalmaktadır (5,21,36,65).

Eimeridae alt takımındaki parazitin ookistleri sabit boyutludur, olgunlaşma sırasında büyümmezler, dış ortam koşullarına dayanıklı bir dönemleri vardır. Ookistlerin içinde sporokistler bulunur. Her sporokist az sayıda sporozoit içerir (5,24,35,65).

Toxoplasma'nın değişik canlılarda bugüne kadar 25 tipi bulunmuş, ancak bunlar arasında önemli bir fark olmadığı anlaşılmıştır (36,65).

## 2.1. Parazitin Doğadaki Formları

### 2.1.1. Trofozoitler

Trofozoitler; muz veya ay şeklinde olup, yaklaşık 4-8  $\mu$ m boyunda ve 2-4  $\mu$ m enindedir. Bir ucu sivri diğer ucu künt olan parazitin çekir-

deği künt olan ucuna daha yakındır. Wright ve Giemsa boya ları ile iyi boyanır. Parazitin trofozoit formu, Sabin-Feldman testi, Florasan antikor testi, ELISA gibi serolojik testlerde antijen olarak kullanılır (24,35,36,46).

Hareketini sağlayan belirli bir organel olmamasına karşın kayma ve burkulma hareketi ile yer değiştirir. Bu form hastalığın akut safhası sırasında görülür. Dondurup eritmek, ısıtmak, kurutmak gibi işlemlere, pepsin ve HCl'ye dayanıksızdır (4,24,35,36,65).

Parazitin hücreye girişi ile ilgili iki mekanizma vardır:

- 1- Makrofaj gibi hücreye fagositoz yoluyla girebilir.
- 2- Konak hücre membranı ve parazitin apikal kutbunun teması aktif invazyon sürecini indükleyebilir. Bu invazyon süreci, parazit ve konak hücrelerinin işbirliğini kapsar.

#### 2.1.2. Doku kistleri

Kistler, yuvarlak yada yuvarlağımsı, 10-120  $\mu$ m bazen daha büyük, etrafı esnek bir duvarla çevrilidir. Kistlerin içinde çok sayıda endodyogenesis bölünmeler sonucu oluşarak, birbirinden ayrılmayan yavrular (bradizoit) bulunur (36).

Kistler iç organlarda, özellikle beyinde, iskelet ve kalp kaslarında, akciğerlerde, gözde bulunurlar ve konağın yaşamı boyunca canlı kalırlar (24,36,65). Bu form infeksiyonun kronik şeklinden sorumludur. Henüz bilinmeyen nedenlerle bu kistin yırtılması sonucu parazitler serbest kalırlar ve buna bağlı olarak akut ve subakut infeksiyonlar ortaya çıkar.

Doku kistleri PAS (Periyodik Asit Schiff) boyası ile iyi boyanır. Kist duvarı argyofilik olduğu için daha zayıf boyanır. Çiğ yada iyi pişmemiş etlerle bulaşlarda bu formun etkinliği büyüktür (5,24,35,36,65).

Bu formun doku içi biçimleri dirençli olmakla birlikte, kistler dış ortamda fazla dayanıklı değildirler. Belli bir süre sonra ölürlür.  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de dondurup eritmek,  $60^{\circ}\text{C}$ 'nin üstünde ısıtmak doku kistlerini tahrip eder. Akut infeksiyon sırasında retikulo endotelyal sistemde oluşan pseudokistler de vardır. Bunların çeperi makrofaj yada konak çeperidir (24, 31, 35, 36).

Pseudokistler, her dokuda oluşabilirler, en çok sinir sisteminde ve buna bağlı olarak gözün retinasında veya kaslarda görünürler, buralarda yıllarca kalırlar. Soğuğa çok dayanıklıdır,  $-75^{\circ}\text{C}$ 'de haftalarca,  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat dayanırlar (36, 65).

### 2.1.3. Ookistler

Bu form sadece kedi ve kedigillerin barsaklarında oluşur.  $10-12\ \mu$  büyüklüğünde, yuvarlak ve iki tabakalı duvarla çevrilidir, içlerinde sporozoit bulunur (5, 36, 65).

Ookistler, *T. gondii*'nin yaşam siklusunu belirleyen formdur. 1970'li yıllarda kedilerin barsaklarında gözlenmiştir. Kediler, *T. gondii*'nin herhangi bir formunu sindirim yoluyla alırsa, ince barsak epitelinde aseksüel çoğalma ile (Şizogoni) merozoitler, seksüel çoğalma (Sporogoni) ile de ookistler oluşur. Bunlar dışkı ile dış ortama atıldıkları anda hastalık oluşturma yeteneğinde değildirler, bunun için sporlanmaları gereklidir. Dış ortamda uygun şartlarda 1-4 günde sporokist haline dönüşürler.  $4^{\circ}\text{C}$ 'nin altında sporlanma oluşmaz. Bunlar oluştuktan sonra hastalık yapma yeteneklerini uzun süre korumaktadırlar. Toprak ve gübrede bir yıldan fazla canlı kalabilirler. Ookistler kedigillerden başka hayvanlarda oluşmadığı için, kediler son konak, diğer et ve ot yiyen hayvanlar ise ara konak olmaktadır (5, 24, 36).

Toxoplasma kurumaya duyarlı, liyofilizasyona ise dayanıklıdır. Tavuk embriyonunda üretilebilmekte ve virulansını 3 yıl kadar koruyabilmektedir. Dokuda, hücrede ve deney hayvanlarının periton sıvısında en iyi üreme gösterirler (21,24,35,36,64,65).

İnsanda serolojik reaksiyonların pozitifliği yaşla birlikte git-tikçe artar. Örneğin İngiltere'de ve Fransa'da yapılan çalışmalarda 10 yaşına kadar pozitiflik oranı % 10 iken, 20 yaşından sonra bu oran % 50-80'lere kadar çıkmaktadır. Ülkemizde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda da prevalansın % 11-60 arasında değiştiği gözlenmiştir (4,5,24,35,46).

Cinsiyetler önemli bir fark göstermez fakat coğrafi farklılıklar vardır. Toxoplasma infeksiyonuna soğuk bölgelerde, sıcak ve kurak bölgelerde ve yükseklerde daha az rastlanır. Rakımın yüksek olduğu ve kurak bölgelerde ookistlerin topraktaki gelişimi etkilendiği için buralarda Toxoplasma insidansı çok düşük bulunmuştur (21,22,24).

Yapılan bir çalışmada Douglas et al. Kolarado'da dağlık bir bölgede, hamile kadınlarda prevalansı SF ile % 3 oranında bulmuşlardır (22).

Toxoplasma prevalansının düşük olduğu yerler İzlanda, kuzeyde İsveç, Arizona'dır. Oysa tropikal adalar ve kıyı bölgelerinde yüksek orandır, tabii bunun istisnaları da bulunabilir. İzole tropikal topluluklar olduğu gibi, evcil ve vahşi kedigillerle ilişkisi olmayan Eskimolar da prevalansın % 13-40 arasında bulunması ilginçtir. Farklılığın alandan alana değişimi henüz açıklanamamıştır (24,31,35).

## 2.2. Toxoplasma gondii'nin Bulaşım Yolları

### 2.2.1. Oral bulaşma

Oral bulaşımında kedi pisliğindeki infeksiif ookistlerin yutulması ile veya doku kistleri içeren hayvan etlerinin çiğ yada az pişmiş yen-

mesi ile olur. İnsanların çoğu, infeksiyonun evcil hayvan (sığır, koyun, domuz, tavuk) etlerinden ve et ürünlerinden kazanmaktadır. Doku kistleri koyun etinde % 10, domuz etinde % 25, sığır etinde % 10 oranlarında bulunmuştur. Bu oranlardan da görüldüğü gibi infeksiyonun yayılımında çiğ yada az pişmiş etlerin kaynak olabileceği gözlenmiştir. Ookistlerin dış ortamda onsekiz aya kadar canlı kalabileceği gösterilmiştir. Kişisel ve çevre sağlığı iyi olmayan yerlerde bu önemli bir kaynak olabilir (24,35,36,48).

Epidemiyolojik çalışmalarda et ve et ürünleriyle, kedilerle temasın Toxoplasmosis'in prevalansı arasında bir korelasyon kurulmuştur. Sarnıç; kasap, veteriner, hayvan sağlık memuru gibi hayvanlarla ve etlerle teması fazla kişilerde prevalansı % 46.73 oranında bulmuştur. Hayvanlarla ilişkisi olmayan kontrol grubunda bu oran % 19.04'tür. Çiftçilikle uğraşanlarda da yüksek oranda pozitiflik gözlenmiştir (5,50).

İnsanların sekresyonlarından trofozoitlerin izolasyonu bildirilmemesine rağmen plasental geçiş dışında insandan insana direkt geçiş yayınlanmamıştır.

Çiğ yumurta, süt ile bulaşma, laboratuvarında çalışanların kaza ile inokulasyon yoluyla infeksiyonu alması mümkünse de çok nadir olan durumlardır (5,24,35,46).

### 2.2.2. Konjenital bulaşma

Konjenital geçiş, Toxoplasma bulaş yollarının en önemlilerindedir. Bir kadın hamileliği sırasında etkeni alırsa konjenital geçiş olabilmektedir. Eğer hamilelik öncesi saptanabilir bir Ab düzeyi varsa, fetüs yönünden bir infeksiyon riski yoktur, çünkü her yıl yüzlerce konjenital infeksiyon oluşuyor ve mortalite oranı on bin canlı doğumda 1-4'tür.

Konjenital geçiş riski her trimester de farklı bir artış gösterir.

1.nci Trimester'de % 17

2.nci Trimester'de % 65

3.ncü Trimester'de kazanılan infeksiyon 1 ve 2'ye göre daha az defektlere neden olmaktadır.

### 2.2.3. Parenteral bulaşma

Toxoplasmosis'de daha az olarakta kan transfüzyonu, lökosit infüzyonu, organ transplantasyonu ile de bulaşma oluşabilir (5, 21, 24, 35).

### 2.3. Toxoplasmosis'te Patojenez ve Patoloji

T. gondii'nin kist ve trofozoitleri vücuda girdikten sonra, peptik ve triptik sindirim enzimlerinin yardımıyla hücre duvarları parçalanır ve serbest kalırlar. Sindirim sistemi mukozasını invaze ederek konak hücrelerini tahrip eder, komşu hücrelere geçerler. Buradan da diğer doku ve organlara kan yoluyla yayılıp kistleşirler (5, 36, 65).

Trofozoitlerin proliferasyonu ile nekroz odakları oluşur ve yoğun mononükleer hücre reaksiyonuna yol açar. Hücresel ve humoral immunitenin gelişimi ile hücre harabiyeti sonlanır. Lezyonda az miktarda konsolidasyon ve granülom oluşabilir, kalsifikasyon genellikle beyinde sınırlıdır ve konjenital vakalarda görülür. İnfeksiyon olguların çoğunda belirti vermeden sessiz olarak seyreder. Bu nedenle ayrımı kolaylaştırmak amacıyla Toxoplasmosis'i 4 ayrı klinik formda inceleyebiliriz (5, 24, 46).

#### 2.3.1. İmmunitesi tam olan kişilerde Toxoplasmosis

İnfeksiyon olguların çoğunda belirtisiz seyreder. En belirgin

bulgu lenfadenopati'dir. Çoğunlukla kulak arkası, koltuk altı lenf bezlerinde şişme ile birlikte ateş, gece terlemesi, miyalji, boğaz ağrısı, makulo papüler döküntüler, hepatosplenomegali ve halsizlik görülebilir. Lenfadenopati yerel veya sistemik olabilir. Bazen akut veya fulminant öldürücü bir hastalık halinde gelişebilir. Nedeni ortaya çıkarılamayan lenfadenopati'lerin % 15'inin Toxoplasmosis nedeniyle meydana geldiği ileri sürülmektedir. Bu klinik tablo infeksiyöz mononükleosis veya CMV infeksiyonunu andırabilir, bunlar genellikle konjenital infeksiyonun geç ortaya çıkan belirtileridir (5,21,35,46,65).

### 2.3.2. İmmun yetmezliklerde kazanılmış veya aktive olmuş Toxoplasmosis

Malign hastalıklar, organ transplantasyonları ve kollogen hastalıklar nedeniyle immunosupresif tedavi gören kişiler, uyuşturucu ilaç alışkanlığı olanlar, homoseksüeller ve AIDS'liler Toxoplasmosis yönünden risk altındadır (1,5,16,31,35,52).

Konjenital Toxoplasmosis'li yeni doğanlarda, kemik iliği hastalıklarında, splenoktemili retiküloendotelyal sistem hastalıkları gibi immun yetmezliklerinde Toxoplasma ölümcül seyreden bir hastalık tablosu oluşturur. En çok görülen belirtiler SSS ile ilgilidir. Bu gibi hastalarda Toxoplasmosis genellikle latent bir infeksiyonun reaktivasyonu sonucu ortaya çıkar. Böyle öldürücü durumların % 90'ından fazlasında ensefalit görülür. Nekrotizan miyokardit ve pnömoni de görülen tablolar arasındadır. İmmun sistemi baskılanmış kişilerde Fisher et al. Burkit lenfomalı ve kemik iliği nakli olan bir olguda, immun yetersizlik sonucu Toxoplasma'nın nüks ettiğini bildirmiştir (16,31,35,52).

1987'de Dennis Shanks et al. AIDS'li bir çocukta Toxoplasma'ya bağlı ensefalit'i rapor etmişlerdir. Bebeğin ve annenin serolojik testleri negatif olduğu halde kafa tomografisinde Toxoplasma'ya bağlı lez-

yonlar görülmüştür. Histolojik kesitlerinde de kistler görülmüştür (52).

Kanserli hastalarda da ilaçla tedavinin, tedavi olmayanlara göre ve tedavinin şekline göre Toxoplasma'nın artışında veya nüks edişindeki rolü bu hastalarda yapılan çalışmalarda gözlenmiştir. Kemoterapi ve radyoterapi görenlerde, görmeyenlere göre daha yüksek serum antikoru elde edilmiştir (1,52).

### 2.3.3. Oküler Toxoplasmosis

Genellikle asemptomatik bir konjenital infeksiyonun sonradan ortaya çıkan anormal bir durumudur. Semptomlar en çok 20-30 yaşlarından sonra ortaya çıkmaktadır. Sonradan olan olgularda, lezyon tek taraflıdır. Konjenital olgularda, körlük yada kalıcı maküler zararlar vardır ve lezyon çift taraflıdır.

Amerika ve Avrupa'da korioretinitit'lerin önemli bir nedenidir. Olguların yaklaşık % 35'inde etkendir, karakteristik belirtisi nekrotizan retinittir (5,21,24,46).

### 2.3.4. Konjenital Toxoplasmosis

Konjenital Toxoplasmosis annenin hamilelik sırasında geçirdiği akut infeksiyon yada daha önceki infeksiyonun aktivasyonu sonucudur. Hamileliği sırasında akut yada kazanılmış infeksiyon geçiren anneden plasenta yoluyla fetusa geçme riski % 50'den azdır ve bunların da çoğunluğu subklinik seyredir. Fetus için risk, maternal infeksiyonun oluşma zamanı ile ilişkilidir.

Gebeliğin ilk trimesterinde alınan infeksiyonlarda fetus'un infekte olma riski çok azdır, fakat olması halinde fetal harabiyet çok

fazladır. Buna karşılık son trimesterde fetusa bulaşma riski çok fazladır, ancak çoğunlukla belirtisiz seyreder, nadiren ağır lezyonlara yol açtığı bildirilmiştir (5,23,24,36,46,65).

Konjenital Toxoplasmosis'te klinik bulgular bazen hiç belirti vermeyen infeksiyonlar şeklinde veya doğumdan sonra farklı zamanlarda se-keller gelişebilir ki bunlara korioretinit, strabismus, körlük, epilepsi, mental gerilik, anemi, sarılık, trombositopeni, ensefalit, pnomoni, mikrosefali, hidrosefali, serebral kalsifikasyon dahildir.

Desmots et al. 1000 konjenital Toxoplasmosis vakasının 3/4'ünde merkezi sinir sistemi bulguları, 1/4'ünde korioretinitis, % 16'sında serebral kalsifikasyon saptamışlardır. Doğumdan hemen sonra tedaviye başlandığında belirtilerin belirgin bir şekilde azaldığını gözlemişlerdir (5,35,46).

Gebelikten önce seropozitif kişilerin bağışıklık kazandıkları ve gebelik süresi içinde primer akut bir infeksiyonun söz konusu olmadığı ve konjenital Toxoplasmosis yönünden riskli olmadıkları kabul edilmektedir (5,23,31,41,43,46).

Birçok araştırmacı Toxoplasmosis'i kızamıkçık infeksiyonuna benzetmektedirler, yani hamilelikte alınsa bile bir kez infeksiyon yapar ve çocuğa geçerse zararlı olabilir, ilk infeksiyondan sonra annenin bağışıklık sistemi tekrar infeksiyona izin vermez. Ancak bazı araştırmacılar latent uterus infeksiyonunun yaşam boyu kalabileceğini ve plasental veya fetal infeksiyonlara yol açabileceğini bildirmişlerse de bu konu tartışmalıdır (5,24,31,35,46).

#### 2.4. Tanı

Toxoplasmosis'in klinik bulguları çoğunlukla belirtisiz seyrettiği ve çok değişken olduğu için ayırıcı tanı önemlidir. En çok Hodgkin diğer

lenfomalar, tüberküloz, brusella, sarkoidosis, sıtma, lösemi, infeksiyoz mononükleosis, eritroblastosis fötalis, çeşitli arbovirus ve sitomegalovirusun oluşturduğu hastalıklar ve diğer malign hastalıklarla karıştırılabilir (1,5,16,21,33,35,52).

Toxoplasmosis genellikle belirtisiz seyretmesi, belirli bir klinik tanının konulma zorluğu olmasına rağmen, göz kliniğinde uveitis ve korioretinit olgularında, kadın doğum kliniğinde tekrarlayan abortus, erken doğum, ölü doğum olgularında, bebeklerde hidrosefali, mikrosefali, serebral kalsifikasyon olgularında ve lenfodenopati hastalarda Toxoplasmosis birinci derecede düşünülmesi gereken bir olgudur (5,18,24,35,36,39,41,46,65).

Kesin tanı için, laboratuvar yöntemlerine başvurulmalıdır. Tanıda kullanılan laboratuvar yöntemleri şunlardır:

#### 2.4.1. Toxoplasma'nın izolasyonu

En önemli ve kesin tanı yöntemidir. Akut infeksiyonu gösterir. İzolasyon için;

a- Hayvan deneyleri: Kan, vücut sıvıları veya doku parçaları, farelerin periton veya beyin içine inokulasyonu ile yapılır. Bu işlem her laboratuvarında yapılması ve sonuç alınması güç bir yöntemdir (24,35,46).

b- Doku kültürleri: Daha az hassas ve zordur.

c- Direkt mikroskopi: Özellikle lenf bezi ponksiyonundan ve ateşli vakalarda, kandan yayma, sürme preparat yapılarak parazit aranır (24,31,37,46).

#### 2.4.2. Histolojik inceleme

Biyopsi materyali hematoksilen eozin ile boyanarak incelenir. Trofozoitlerin gösterilmesi akut infeksiyon göstergesidir. Mikroskopik incelemede Florasan antikör boyamanın yararı olabilir, fakat bazen nonspesifik boyanmalar görülür. Doku kesitleri peroksidaz substratı ile muamele edilirse başarılı sonuçlar alınır. Doku kesitlerinde kist şekillerinin görülmesi akut infeksiyonu düşündürür fakat ispatlamaz, ayrıca parazitin görülmemesinde hastalığın olmadığını göstermez (21,35).

#### 2.4.3. Antijene özgül lenfosit transformasyonu

Erişkinlerde daha önceki infeksiyonu göstermede özgül ve duyarlı bir yöntemdir. Ayrıca iki aylık ve daha büyük bebeklerde de konjenital Toxoplasmosis tanısında başarıyla kullanılmaktadır.

Son zamanlarda lenfadenopati formu, kazanılmış akut Toxoplasma infeksiyonlu hastaların periferik kanlarında yardımcı/baskılayıcı T lenfosit oranlarında bozukluklar olduğu gösterilmiştir. Bu bozukluklar, infeksiyonun kazanılmasından sonra aylar boyu sürebilir ve infeksiyon için spesifik değildir (35,46).

#### 2.4.4. Antijenin vücut sıvılarında gösterilmesi

Antijenin vücut sıvılarında gösterilmesi akut Toxoplasmosis tanısında önemli bir yer tutar (6,46). Bu amaçla serum, BOS yada amnion sıvıda aranabilir.

ELISA tekniği akut infeksiyonu ölçmede en iyi yöntemdir ve çeşitli şekilleri bulunmaktadır. Antijenemiği gösterebilmek akut Toxoplasmosis

tanısında çok önemli bir yer tutar.

Remington et al. Toxoplasmosis'lu hastaların % 62.2'sinde ELISA ile antijenemiyi tesbit edebilmişlerdir. Antijenin serumda her zaman tesbit edilememesinin birçok nedenleri olmakla beraber, dolaşımdaki yüksek titrelili Ab'ların varlığı, hazırlanan Ab'lar için hangi Ag'lerin seçildiği, bu Ag'lerin determinantları, Ab'ların poliklonal yada monoklonal oluşu önemli faktörler arasındadır.

Araujo et al. antijeneminin saptanmasında fare monoklonal Ab'larını kullanmışlardır (6,45,46).

#### 2.4.5. Serolojik testler

Toxoplasmosis'te direkt yöntemler her zaman yapılamamakta ve başarılı olunamamaktadır. Bu nedenle serolojik testlerle Toxoplasma'ya karşı spesifik Ab'ların gösterilmesi tanıda oldukça önemlidir (5,21,24,46,65).

Serolojik tanıda en büyük sorun insan popülasyonunda yüksek prevalansta Toxoplasma Ab'larına rastlanmasıdır.

Genellikle farklı testler farklı Ab yanıtı ölçerler. Testlerden bazıları yalancı pozitiflik veya yalancı negatiflik gösterebilir. Bu nedenle klinisyen bu problemleri bilmeli ve gerektiğinde referans laboratuvarlarına başvurmalıdır (5,21,24,35).

##### 2.4.5.1. Sabin Feldman testi

İlk kez 1948 yılında Sabin ve Feldman tarafından tanımlanan referans serolojik bir testtir (5,18,21,23,24,46).

Canlı *Toxoplasma* trofozoitlerinin komplemana benzer aktivatör faktör yardımı ile Ab'la karşılaştıkları zaman metilen mavisi ile boyanmalarına, Ab olmadığı zaman ise metilen mavisi ile parlak maviye boyanmaları esasına dayanır.

SF testinin modifiye şekli olan Lizis test, Lelong ve Desmonts tarafından tarif edilmiştir. Aralarındaki fark yöntemin uygulanış ve okunuşundadır (2,5,7,30,48,49).

Bu test primer olarak infeksiyonun başlangıcından 1-2 hafta sonra ortaya çıkan ve 6-8 haftada pik yapan, 1-2 yılda düşen Ab'ları ölçer. Düşük titrelerde, bazende yüksek titrelerde yıllarca pozitif kalabilir (10,24,26,35,59).

Sabin Feldman testi bugüne kadar *Toxoplasmosis* tanısında en duyarlı ve en güvenilir bir test olarak yerini korumuştur. Akut ve kronik olgularda sonuçlara güvenilmesi ve çapraz reaksiyon vermemesi nedeniyle spesifik bir testtir, fakat sürekli fare pasajlarına gerek duyulması ve aktivatör denen yardımcı faktörün bulunma güçlüğü, çabuk bozulması gibi etkenler nedeniyle her laboratuvarında uygulanması zor ve pahalı bir yöntemdir. Ayrıca canlı Ag'lerle çalışılması da özel bir risk oluşturur (5,21,46,59,65). Bazen pasaj yapılan farelerden elde edilen Ab'lar nedeniyle de yalancı pozitiflik oluşabilir, bazen de farenin asit sıvısının uygun olmamasına bağlı olarak her zaman çalışmayabilir. Bu gibi nedenler alternatif testler için çalışmaların devamını gerekli görmüştür (5,24,59).

#### 2.4.5.2. İndirekt Florasan Antikor Testi (IFA - IgG ve IgM)

1942'de Coons ve Caplan tarafından uygulanmıştır. *Toxoplasmosis* için kullanılması Goldman'ın florasan inhibisyon çalışmalarıyla olmuştur.

IFA testi, SF testinden daha emniyetli ve yapılması daha kolay bir testtir. Bu testte ölü Toxoplasma'ların lam preparasyonları, hasta serumunun seri dilusyonları ile inkube edilir.

IgG- IFA testinde; Ag ile Ab arasındaki spesifik reaksiyon, serum IgG'sine karşı hazırlanmış fluorescein ile işaretli antiserum ile gösterilebilir. Florasan mikroskopunda incelendiğinde pozitif bir reaksiyon Toxoplasma'ların çevresindeki sarı-yeşil parlaklık ile saptanabilir.

SF ile benzer Ab'ları ölçer ve sonuçları birbiriyle paralellik gösterir. Enfeksiyondan 1-2 hafta sonra beliren ve 6-8 haftada en yüksek titreye ulaşan Ab'ları ölçer. Yükselen Ab titresi akut enfeksiyonu gösterir (10,17,18,55,61).

Birçok araştırmacı bu iki testi karşılaştırmış ve aralarında %92.5 ile % 97.5 oranında uygunluk saptamışlardır (55,61).

Canlı organizmalar ile çalışılmaması kullanılan Ag'nin uzun süre saklanabilmesi, testin istenilen zamanda çalışılabilmesi, kolay, güvenilir ve ucuz olması, her laboratuvarında uygulanabilmesi IFA testini SF testine üstün kılmıştır (5,55,61).

IFA testinde ANA 'lar ve RF ' dan dolayı yalancı pozitif reaksiyonlar meydana gelebilir. SLE'lu hastalarda çapraz reaksiyonlar nedeniyle de yalancı pozitiflik verebilir (5,24,57).

IgM- IFA testi; akut, kazanılmış ve konjenital enfeksiyonların tanısında başarıyla kullanılmaktadır (5,10,21,33,35,46). Akut enfeksiyonun tanısında çok önemlidir, çünkü IgM Ab'ları IgG'den daha önce ortaya çıkar ve daha hızlı azalır. Olguların çoğunda IgM- IFA test Ab'ları hızla yükselir (1:80-1:1000 düzeylerine), sonra 1:10 ve 1:20 titrelerine düşer (12,21,26,33,35,38). Genellikle birkaç ay içerisinde kaybolurlar, fakat bazı hastalarda düşük titrelerde 1 yıldan fazla kalabilir.

Bazı durumlarda akut Toxoplasma enfeksiyonunda hastanın immun ye-

tersizliği nedeniyle negatif sonuç verebilmektedir. Konjenital Toxoplasmos'lu yeni doğanda IgM- IFA'nın negatif olduğu durumlar gözlenmiştir. Bazen de aktif oküler Toxoplasmos'lu hastalarda negatiflik gözlenmiştir. Ayrıca yalancı pozitifliğide neden olabilir (24,25,46,57).

Bazı durumlarda ise, serumdaki yüksek IgG titresi konpetetif inhibisyon sonucu yalancı negatif sonuçlar alınabilmektedir. Bunu önlemek amacı ile birçok yöntemler kullanılmaktadır (Ultrasantrifugasyon, sukroz gradient santrifugasyon, jel filtrasyon ve Stafilokok protein A gibi). Bunlar zaman alıcı ve laboratuvar cihazı gerektiren işlemlerdir.

CM-Bio-Gel A, Ion exchange kromatografi kısa sürede IgG'leri ayırmada kullanılabilir (38).

#### 2.4.5.3. İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA)

Jacobs ve Lunde tarafından tanımlanmıştır. Uygun dilusyonları yapılmış serumlar, üzerleri Ag'le kaplanmış koyun eritrositleri süspansiyonu ile muamele edilir. İnkubasyon edildikten sonra, eritrositlerin aglutinasyonları değerlendirilir.

Bu test SF testi ve IFA testine göre farklı antikor yanıtı ölçer (5,7,18). IHA testi SF testi ve IFA'dan 1-2 hafta daha geç yükselen Ab'ları ölçer. Titreleler daha yüksek ve daha uzun süre pozitif kalır. Yalancı negatif sonuçlar verebilmesi nedeniyle, konjenital infeksiyon ve hamilelikteki akut infeksiyon tanısında kullanılmaz. Yalnızca infeksiyonun takibini tespit etmede değer taşır (5,24,35).

Balfour et al. IHA testte fareden gelen infeksiyonlar nedeniyle bazen yanlış sonuçlar alınabileceğini, ayrıca farklı laboratuvarlarda farklı sonuçlar alınması nedeniyle standardilizasyona gerek duyulduğunu söylemişlerdir (2,5,7,21,24,51).

#### 2.4.5.4. Kompleman Fiksasyon Testi (CF)

Serum Ab'larının Toxoplasma eriyik Ag molekülleriyle birleşirken ortamda bulunan komplemanı bağlaması veya kullanması esasına dayanır.

SF testi Ab'larından birkaç hafta sonra ortaya çıkan fakat daha önce düşen Ab'ları ölçer. CF testi, yıllarca pozitif kalabilir. Araştırmacılar bu testin Toxoplasma'nın tanısında yalnız başına kullanılmasının doğru olmayacağını, diğer testlerle birlikte uygulanması gerektiğini vurgulamaktadırlar.

Yüksek SF testi titreleriyle birlikte artan CF testi titreleri veya negatif bir testin pozitif dönmeye aktif bir infeksiyonu gösterir. Standardize edilememiş olması nedeniyle sonuçlar laboratuvarlar arası farklılıklar göstermektedir (5,24,35,59).

#### 2.4.5.5. Direkt Aglutinasyon Testi (DA)

Uygulaması basit bir testtir, gebelik ve epidemiyolojik taramalarda kullanılabilir. Toxoplasma'ların formalin ile öldürülmüş süspansiyonu Ag olarak kullanılır. Serumda bulunan doğal IgM Ab'ları bu testte sıklıkla non spesifik aglutinasyona sebep olursa da bu problem teste 2-Merkapto etanol ilavesiyle giderilebilir.

Bir tarama testidir. Pozitif olguların non spesifik aglutinasyonlara neden olabileceği düşünülerek SF testi veya ELISA yöntemiyle doğrulanması gerekir (5,7,12,21,35,46).

#### 2.4.5.6. Latex Aglutinasyon Testi (LA)

Inaktive edilmiş Toxoplasma Ag'leri ile kaplı lateks parçacıkları-

nın, serumda spesifik Ab'ların varlığında aglutinasyon oluşturmasına dayalı bir testtir.

Araştırmalar sonucunda bu testle SF ve IHA arasında uyumluluk bulunmuştur. Yapılması kolay ve okunması basit bir testtir (7,9,40).

#### 2.4.5.7. Presipitasyon ve Flokulasyon

Jel içinde uygulanan çift yönlü immunodifuzyon yöntemidir. Bu yöntemler çok miktarda Ag gerektirdikleri ve deneylerin uzun sürmesi nedeniyle pratik değildir ve kullanılmamaktadır (5,18,36).

#### 2.4.5.8. Radyoimmun ölçme yöntemi (RIA)

Bu yöntemlerde saptanmak istenen Ag'e karşı hazırlanmış Ab ve radyoaktif bir izotopla işaretlenmiş Ag'den hazırlanmış bir test sistemidir. Toxoplasma Ab'larının saptanmasında başarılı sonuçlar vermektedir, fakat her laboratuvarında kullanılamamaktadır. Radyoizotopla çalışıldığı için tehlikelidir ve özel laboratuvarlara gereksinim vardır (5,21).

#### 2.4.5.9. Karbon Immunoassay (CIA)

Eşit miktarlarda dilue edilmiş hasta serumu ve Ag süspansiyonu karıştırılır, mikroskop lamı üzerinde 10 µl karbon süspansiyonu, 10 µl serum+Ag ilave edilerek lamelle üzeri kapatılıp ışık mikroskopunda 400X ve 1000X'de okunur. Pratik ve ucuz bir yöntemdir (5,14).

#### 2.4.5.10. Enzyme Immuno Assay Testleri (EIA - IgG ve IgM)

ELISA tekniği ilk kez Engwall ve Perlmann tarafından biyolojik emi olan substratların ölçülmesinde kullanılmıştır. Son yıllarda giderek birçok tekniğin yerini almaya başlamıştır.

Enzim-substrat reaksiyonları sonucu oluşan renk değişikliği ile enzim miktarının belirlenmesine yöneliktir.

ELISA ile Ag ve Ab aranmasında kullanılan çeşitli teknikler vardır. Bunlar:

- 1- ELISA ile Ab aranması
  - a- Indirekt yöntem
  - b- Enzim- antienzim yöntemi
- 2- ELISA ile Ag aranması.

ELISA Toxoplasmosis'in tanısında Voller et al. tarafından kullanılmaya başlanılmış ve son yıllarda birçok tekniğin yerini almıştır. Bu teknikte enzim ile işaretlenmiş antiglobulin kullanılarak Ab aranır. Bu amaçla polivinil veya polisitren yüzeyler Ag ile kaplanır, hasta serumu ile muamele edilir. Ag-Ab birleşmesinden sonra enzim ile işaretlenmiş anti-insan IgG'si eklenir. Enzime zgl substratın eklenmesinden sonra oluşan renk reaksiyonu gözle veya spektrofotometreyle değerlendirilir (8,10,15,24,31,33,35,46,59,60,63,64).

IgG ELISA bizde ve diğer ülkelerdeki araştırmacıların yaptığı çalışmalarda SF testi ile uygunluk göstermiştir (9,10,14,33,59,60,63).

ELISA IgM testi; T. gondii'ye karşı ilk oluşan Ab'lardan IgM'i ler. Akut ve konjenital infeksiyonun teşhisinde önemli bir testtir. Testin uygulanışı ELISA IgG'de olduğu gibidir.

Yapılan bir araştırmada kesin konjenital Toxoplasmos'lu 55 yeni doğan çocuktan 43'nde (% 72.7) pozitif sonuç vermiştir. Aynı deney

IgM- IFA'da %25.4 oranında pozitif bulunmuştur.

Bazı durumlarda RF ve ANA'dan dolayı yalancı pozitiflik görülsede, bu oran IgM- IFA'dan daha azdır. Özgül ve duyarlı bir testtir (5,6,20, 26,27,33,37,40,42,43,44,45,57,62).

#### 2.4.5.11. Double Sandwich IgM ELISA (DS - IgM - ELISA)

1980 yılında Noat and Remington tarafından Toxoplasma'ya karşı IgM Ab'lerinin gösterilmesi için geliştirilmiş bir tekniktir (11,33,37). Bu test hem IgM ELISA'dan, hem de IgM- IFA'dan daha duyarlı ve özgül bir testtir. Bu yöntemde insan IgM'ine karşı spesifik antiserum bağlanmış çukurlar sadece bu immunglobulin sınıfı ile reaksiyona girer, IgG yıkama ile uzaklaştırılır. T. gondii'ye karşı bir enzim konjuge antiserumunun kullanılması ile test serumunda Toxoplasmaya karşı IgM Ab'lerinin titresi belirlenir. RF ve ANA'dan etkilenmemesi nedeniyle yalancı pozitiflik oranı minimum düzeydedir. Bu test RF ve ANA pozitif hastalar için geliştirilmiş bir testtir. Konjenital Toxoplasmosis olgularında % 75 oranında özgül IgM Ab'lerini saptayabilmektedir (34,35,45,46,56).

#### 2.4.5.12. IgM - Immuno Sorbent Assay (IgM - ISA)

IgM Ab'lerinin ortaya çıkarılmasında formalin ile muamele edilmiş trofozoitler veya Ag'le kaplanmış latex partikülleri kullanılır.

Bu test yapılması kolay, duyarlı, bir enzim konjugatına ihtiyaç göstermeyen özgül bir testtir. Aglutinasyon testinde olduğu gibi, çıplak gözle kolaylıkla okunur. Serumda RF ve ANA'ların varlığı yalancı pozitif sonuçlara neden olmaz (11,12,24,35,44).

#### 2.4.5.13. Single Use Diagnostic System (SUDS)

Son yıllarda Toxoplasma'nın serolojik tanısında immun ölçme testlerine bir yenisi olarak geliştirilen "Single Use Diagnostic System" çabuk ve kolay bir metottur.

Bu testin 50 µl serum ile 10 dakikada tamamlandığı ve hiçbir alete gerek duyulmadığı bildirilmiştir.

Yapılan araştırmalarda 353 serum örneği, SUDS, IHA, IFA ile çalışılmış ve IHA ile % 91.9 oranında uyum bulunmuş, IFA ile bu uyum % 95.3 ve SUDS testi % 100'lük duyarlılık ve % 89.3'lük özgüllük vermiştir.

Toxoplasma Ab'ları için SUDS testi; latex'e bağlanmış T. gondii solubl Ag'leri içeren solid faz immunosorbentli enzim immunoassay'a dayanmaktadır. SUDS testinin sonuçları çok kısa sürede sonuç vermesi, araç ve ekipmana gerek duyulmaması, 50 µl serumla çalışılabilmesi gibi nedenlerle iyi bir tarama testi olarak geliştirilebilecek bir tekniktir (54).

#### 2.4.5.14. Immunoblots tekniği

Son yıllarda Toxoplasmosis tanısı için geliştirilmekte olan diğer bir testte Immunoblot tekniğidir. Serumdaki Ag'lerin molekül ağırlığına dayanarak kromatografik kağıt üzerinde bantlar oluşturmalarıdır (32,42, 43,44,45). Toxoplasmosis'te, akut safhada bu bantlar 35.000 k.daltona tekabül etmektedir ve bu bant en güçlü antikor yanıttır. Enfeksiyon geçirmeyenlerde bu bantlar oluşmamaktadır.

Bu amaçla Potasman et al. 12 konjenital enfeksiyonlu çocuk ve annenin serumlarında Ab yanıtı saptamak için ve organizmanın Ag'lerini incelemek için, SF testi ve IgM Immunosorbent assay'la karşılaştırmışlar.

ve sonuçlar arasında uyumluluk bulmuşlardır (42,43).

Bu test DS - IgM ELISA ile de uygunluk göstermektedir. Ayrıca sonuçlar ISA - IgM ve DS - IgM'den daha süratli alınır.

Remington et al. bu teknikte kullanılacak Ag'lerin SDS ve 2-Mer-kapto etanol ile muamele edildiğinde daha iyi sonuçlar verdiğini ileri sürmüşlerdir (44,45).

#### 2.4.6. Deri testleri

Deri testleri daha çok epidemiyolojik çalışmalarda, toplumda kronik infeksiyonun prevalansının tespiti için kullanılır. Akut infeksiyonun tanısında değeri yoktur. Hücresel bağışıklığı ölçer. Standardize edilmiş olup, yalancı pozitif sonuçlara az rastlanır (24,31,35,47).

Deri içine 0,1 cc Ag verilir, 48 saat sonraki muayenelerde Toxoplasmosis allerjisi incelenir. İncelemede endurasyonun 10 mm'den daha büyük olması pozitif olarak kabul edilir (46,49,50).

Rougier and Ambroise adlı araştırmacılar Toxoplasmik immunitenin gösterilmesi amacıyla, Excretory - Secretory (ES) Toxoplasma Ag ile Multipuncture deri testini kullanmışlardır (47).

Toxoplasma infeksiyonunun kronikmi yoksa akutmu olduğuna genellikle titre seyrine bakılarak karar verilebilir. Bu titre değerinin negatiften pozitifte dönüştüğü durumlarda belirgindir. Ab titresinin yüksekliği hastalığın şiddeti ile paralellik göstermez. Tek bir testte elde edilen yüksek titre değeri tanı için yeterli değildir. Akut bir infeksiyon tanısı, negatiften pozitif bir titreye serokonversiyon veya üç haftalık ara ile düşük titreden pozitifliğe yükselme ile konur. SF ve IFA testinde, titrenin 1:1000 veya yüksek bulunması, IgM-ISA'da 1:80, ELISA IgM titresinin cut off'un üzerinde olması akut infeksiyonu gösterir.

Negatif bir IgM testi, akut infeksiyon tanısından uzaklaştırır ancak bunun tersi olan durumlarda vardır. Örneğin IgM- IFA testinde IgM Ab'unun varlığının gösterilememesi akut infeksiyonun bulunmadığı anlamına gelmez, çünkü erişkinlerdeki akut Toxoplasmosis'in yaklaşık % 25'inin bu testle negatif sonuç verdiği ileri sürülmüştür. Bu nedenle de şüpheli hamilelerin ve konjenital yeni doğanın araştırılmasında daha güvenilir yöntemler tercih edilmelidir (23,24,33,35,37,41,44,46).

Göz Toxoplasmozunu için tipik bir retinal lezyon ve serolojik testler pozitif ise tanı konulabilir.

Yeni doğanda konjenital infeksiyonun tanısı aşağıdaki faktörlere bağlıdır:

- 1- SF veya ELISA - IgM'de yükselen titreler veya devamlılık.
- 2- Doğumdan sonra IgM Ab titresinde pozitiflik.

IgG Ab'ları anneden fetusa plasenta yolu ile geçebildiği için yeni doğanda IgG Ab titreleri annede geçirilmekte olan veya geçirilmiş bir infeksiyonu yansıtır.

İmmün sistemi baskılanmış hastalarda yetersiz Ab yanıtı nedeniyle serolojik testler tanıda yeterli olmayabilir. Bu gibi durumlarda biyopsi materyali, ateşli durumlarda kandan yayma preparat yapılması daha doğrudur (1,16,21,24,52).

## 2.5. Tedavi

Medikal tedaviye başlanması ve tedavi süresi hastanın semptomlarına ve klinik durumuna bağlıdır. Gebe olmayan kişide akut Toxoplasmosis tedavisinde ve konjenital Toxoplasmosis'te; Pyrimethamine + Sulfadiazin kombinasyonu kullanılır. Bu iki ilaç beraber verildiklerinde sinerjik etki gösterirler. Bu ilaçlar parazitin trofozoit formuna etkilidir,

doku kisti formları dirençli olduğu için kronik infeksiyonda tedavinin yararı olmaz. Bu formlar kanlanması oldukça az doku ve organlarda kistler oluşturarak oluşan Ab'lardan ve ilaçların etkisinden kendilerini korurlar.

Pyrimethamine, folik asit antogonisti olduğu için, anemi ve loko-peniye yol açabilir, bu nedenle tedavi haftalık hemogramlarla sürdürülmelidir. Tedavide folik asidinde birlikte verilmesi, istenmeyen yan etkilerin ortaya çıkma riskini azaltabilir. Tedavide gerekirse kortikosteroidlerde kullanılabilir.

Gebelerde özellikle ilk trimesterde Pyrimethamin önerilmez, daha az toksik etkili olan Spiramisin kullanılmalıdır.

Tedavi Toxoplasmos'lu gebelerde fetal infeksiyon olasılığını ortadan kaldırmaz, ancak insidansını azaltır (21,35,36,46,65).

### 2.5.1. İlaçların kullanımı

Pyrimethamine: Oral yolla verilir, idame dozu 25 mgr.dır. İlave olarak 10 mgr. folik asit verilir.

Sulfodiazin veya Trisulfopyrimidon: Oral olarak verilir (kg/75 mgr).

Folik Asit: İki günde bir 5 mgr. oral olarak verilir.

Spiramisin: Şüpheli vakalarda oral olarak 100 mgr/kg/gün verilir.

Toxoplasmosis'in kesin tedavisi bugün için bilinmiyor, bir remisyon tedavisi uygulanmaktadır. Bu tedavinin süresinin de şahsın direncine bağlı olarak değişebileceği kanısına varılmıştır (4,5,24,31,36,65).

### 2.5.2. Aşı

Toxoplasmosis'e bağlı olarak gelişen Ab'ların sağladığı korunma, ayrıca T lenfositlerin aktivasyonu sonucu gelişen hücre sel immunité Toxoplasmosis'te aşı uygulaması çalışmalarına yol açmıştır. Aşı özellikle yüksek risk taşıyan bölgelerde yaşayan, hamile kalmak isteyen Toxoplasmosis yönünden seronegatif kadınların veya immunosupresif hastaların korunması için değerli bir uygulama olabilir (3).

İrradiasyonla attenue edilen parazitler kullanılarak yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar alınmıştır. Patojen olmayan bir Coccidium, Hammondia hammondi'nin canlı ookistlerini içeren aşının keçilerdeki deneysel çalışmalarda konjenital geçişi önlemede etkili olduğu gözlenmiştir. Son zamanlarda bulunan persistan olmayan bir Toxoplasma suşunun (ts - 4) aşısı için iyi bir aday olduğu bildirilmektedir (13).

Altıntaş, bu amaçla Cs - 137 kullanarak uygun radyasyon dozunda attenue aşısı elde etmiş ve gebe 12 tavşana intraperitoneal vermiştir. Bunlardan sadece 2 tanesi düşük yapmıştır. Benzer deneyler farelerde uygulandığında Toxoplasma'nın letal etkisinin sıfıra indiğı gözlenmiştir (3).

### 2.6. Korunma

Günümüzde Toxoplasma infeksiyonuna karşı ne aktif, ne de pasif immunizasyon söz konusudur. Toxoplasmosis'in bulaşım kaynakları ve bulaşım yolları bilindikten sonra, korunmada bazı önemli adımlar atılmıştır.

Kediler bulaşımında önemli bir kaynak teşkil ettiği için, başıboş kediler yok edilmeli, ev kedilerinde ise sürekli parazit kontrolu yapılarak, dışkıları % 10'luk formalin ile muamele edilip öyle atılmalıdır.

Diğer önemli bir bulaşım kaynağı olan çiğ yada az pişmiş etle bes-

lenmeden kaçınılmalıdır. Özellikle hamile ve hücre sel bağışıklığı azalmış kişiler bu iki faktörden korunmalıdır. Etler 60<sup>o</sup> C'nin üzerinde en az 15 dakika pişirilerek yenmelidir. Bu ısıda kistler ölürler.

Özellikle seronegatif gebelerin her ay serolojik kontrolden geçirilmeleri önerilmektedir. Ancak her gebeye serolojik testlerin uygulanması pratik olmayan, zor bir yöntemdir. Bu nedenle korunmada en etkin ve ucuz yöntem sağlık eğitimidir.

Diğer bir önlem olarak, immun baskılanmış hastalarda kan ve organ transplantasyonlarında seropozitif donörlerden almamak gereklidir (5,21, 23,24,35,36,65).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Serumlar

Çalışmamızda kullanılan serumlar Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Doğum Polikliniğine başvuran; daha önce düşük, ölü doğum, anomalili doğum gibi şikayetleri olan, yaşları 17 - 40 arasında değişen 307 hamile kadından temin edilmiştir.

Kontrol grubu olarakta yine aynı kliniğe başvuran sağlıklı görümlü, hiçbir şikayeti olmayan hamileler ile Hastanemiz Kadın Doğum Servisinde doğum yapan 63 kadından temin edilmiştir.

Takibe aldığımız Toxoplasmosis pozitif hamilelerden bazıları hamilelikleri sırasında ve doğumda bebekten kan örneği alınarak Toxoplasma Ab'u yönünden izlenmişlerdir.

Alınan kan örnekleri serumlarına ayrıldıktan sonra üç deney tüpüne taksim edilerek ağızları parafilmlendi ve test uygulanıncaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$  derecede bekletildi.

Toxoplasmosis'in serolojisinde yapılan testler arasındaki uyumu kontrol etmek ve test sonuçlarını daha iyi değerlendirebilmek amacıyla üç ayrı test uygulanmıştır. Bu testlerin ikisi farklı firmalara ait (Ismunit EIA ile Lab system EIA) ELISA kit'leri olup, bunlar arasındaki uyumuda karşılaştırmaya çalıştık.

Kullandığımız diğer test ise bugüne kadar Toxoplasmosis'in tanısında hala özgüllüğünü koruyan Sabin - Feldman boya testidir.

### 3.2. Yöntemler

#### 3.2.1. Sabin - Feldman Testi

Bu yöntemin esası özgül antikorların aktivatör serum varlığında ve alkali ortamda (PH: 11) canlı *T. gondii* trofozoitlerinin boyanmalarına engel olucu tesirinin ortaya çıkarılması üzerine kurulmuştur. Metilen mavisinin etil alkoldeki % 2'lik doymuş eriyiği boyanan madde olarak kullanılır (2,30,48,49).

Çalışmamızda uyguladığımız yöntem Sabin - Feldman boya testinin Lelong ve Desmonts tarafından başkalaştırılmış şekli olan Lysis testi-  
dir (2,49).

Bu yöntemde de yine aktivatör serum varlığında özel Ab'larla karşılaşan canlı *T. gondii* parazitlerinin hücre zarının bozulması ve sitoplazma partiküllerinin kaybı sonucu faz-kontrast mikroskobu ile bakıda parazitlerin kararmış, granüllü, ışık kırıcı özelliklerini kaybetmiş olmaları, antikor bulundurmayan serumlarla karşılaşan parazitlerin ise, parlak, düzgün cidarlı, ışık kırıcı görünümünü korumaları esasına dayanır. Bu testin SF testinden farkı sadece yöntemin uygulanış ve okunuşundadır.

##### 3.2.1.1. Aktivatör serum :

Testte inaktive olan serumlardaki *T. gondii*'ye karşı oluşan Ab'ların canlı parazit üzerine etkisinin ortaya çıkabilmesi için aktivatör seruma ihtiyaç vardır. Bir insan komplemanı olan bu serumun özellikleri kesin olarak saptanamamıştır. Aktivatör serum properdin, Magnezyum ve komplemanın C2, C3, C4 fraksiyonlarını kapsar. Aksesuar faktör olarak nitelendirilen bu özellik, her insan serumunda bulunmadığı gibi

bulunanlarda da farklı güçtedir (49).

Bizim çalışmamızda kullandığımız aktivatör serum Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi personelinden daha önce yapılan taramalar sonucunda tespit edilmiştir. Bu özellikteki serum ancak yüz kişinin iki ile üçünde bulunabilmektedir.

### 3.2.1.2. Antijen

SF testinde Ag olarak kullanılan canlı parazitler üç günde bir yapılan pasajlarla fare peritonunda üretilmektedir. Ag'in SF deneyinde kullanıma uygun olup olmadığı ön testlerle her testin yapılışından önce belirlenir. Farelerden infeksiyondan 72 saat sonra alınan periton exudaları, mikroskop sahasında 10-20 parazit görülecek şekilde sulandırıldıktan sonra sporlara önlü arkalı yerleştirilen iki sıra tübe her süspansiyon için ön ve arka tüplere birer damla parazit süspansiyonu, ön tüplere birer damla pozitif serum, ikişer damla aktivatör serum, arka tüplere birer damla aktivatör serum damlatıldı. Tüpler 30 dakika 37°C derecede Benmaride reaksiyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda kontrolleri yapılan exudaların uygun olanı test için ayrıldı (2,30,48).

### 3.2.1.3. Testin uygulanması

- Testin yapılışından önce bütün serumlar 56°C derecede 30 dakika bekletilerek inaktive edildi.

- Serum sulandırılmaları 7 x 100, reaksiyon 7 x 50 mm.'lik tüplerde yapıldı.

- Serumlar klasik yöntemlerle 1:4, 1:16, ....., 1:4096'ya kadar PH:7.2 tampon solusyonla sulandırıldı.

- Her serum örneği için bir tüp alındı. Bu tübe pastör pipeti ile 1:16 serum sulandırımından bir damla damlatıldı.

- Ayrıca iki ayrı tüpte daha önce titresi belli olan pozitif serum ve negatif serumlara da aynı işlem uygulandı (Kontrol serumları).

- Tüpler hafifçe çalkalandıktan sonra 37°C derecelik ılık su banyosunda 30 dakika bekletildi.

- Her tüpten birer damla örnek alınıp lam üzerine damlatıldı, üzeri lamel ile kapatılarak faz-kontrast mikroskopta değerlendirmeye geçildi. Pozitif sonuçlarda Lizis görüldü ve aynı şekilde bir üst titreleri çalışıldı.

- Pozitiflik sınırı 1:16 titre olarak benimsendi.

- Uyguladığımız yöntemde parazitlerin en az % 80'i kararmış, şişmiş, patlamış, ışık kırıcı özelliğini kaybetmiş olanlar pozitif, % 50 ile % 80 arasında aynı görünümü verenler şüpheli olarak kabul edildi. 1:16 sulandırımı pozitif olan serumların 1:4096'ya kadar sulandırılmaları yapılarak aynı şekilde teste sokuldu ve üst titreleri saptandı.

### 3.2.2. ELISA yöntemi ile Toxoplasma Antikorlarının saptanması

ELISA yöntemi; doğurganlık yaşındaki kadınlarda ve Toxoplasmosis şüpheli yeni doğanda Toxoplasma gondii Ab'larının araştırılmasında diğer bir yöntem olarak uygulandı ve SF testi ile kıyaslaması yapıldı.

Toxoplasma'ya özgül IgG ve IgM Ab'larının kantitatif olarak EIA ile belirlenmesinde iki ayrı firmaya ait EIA kit'i kullanıldı.

### 3.2.2.1. Lab system-Solid-Phase Enzyme Immuno Assay

#### 3.2.2.1.1. Deneyin yapılışı

- ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) derecede saklanmış olan hasta serumları çözülerek oda ısısına getirildi. IgG için 1:200, IgM için 1:100 oranında diluent buffer ile dilue edildi.

- Ag'le kaplı 12x19 çukur içeren kuvet bloklar kullanıldı. Her çalışma reagent blank, negatif serum kontrol, pozitif serum kontrol ve hasta serumları (çift çukur) dublikate olarak çalışıldı ve her çukura bu örneklerden 200 mikrolitre konuldu.

-  $37^{\circ}\text{C}$  derecede inkübe edildi (IgG için 90 dakika, IgM için 120 dakika).

- Birinci yıkama; her çukura 400 µl yıkama sıvısı kondu, 1 dakika beklendi ve boşaltıldı, işlem üç kez tekrarlandı.

- Her çukura 200 µl konjugat solusyonu eklendi (Alkalen phosphatase-konjuge anti-human IgG veya IgM, domuzda hazırlanmış).

-  $37^{\circ}\text{C}$  derecede 120 dakika inkübe edildi (IgG ve IgM).

- İkinci yıkama (bütün çukurlar 3 kez yıkanır).

- Her çukura 200 µl substrat solusyonu eklendi. Para-Nitrophenyl phosphate (PNPP).

-  $37^{\circ}\text{C}$  derecede 30 dakika inkübe edildi.

- Her çukura 200 µl 1 M NaOH stop solusyonu ilave edildi.

- A 405 nm'de Uniscan-II EIA okuyucusunda absorbens değerleri okundu.

### 3.2.2.1.2. Deneyin değerlendirilmesi

Lab system'de okunan absorbans değerleri aşağıdaki formül ile EIA Units'e çevrildi (Enzyme Immun Units).

$$EIU = \frac{\text{Hasta serumu (abs)} - \text{Reagent blank (abs)}}{\text{Pozitif kontrol (abs)} - \text{Reagent blank (abs)}} \times 100$$

Toxo IgG için değerlendirme	Toxo IgM için değerlendirme
10 EIU ve aşağısı, negatif	20 EIU ve aşağısı, negatif
10-20 EIU, şüpheli pozitif	21-40 EIU, şüpheli pozitif
21-60 EIU, zayıf pozitif	41 EIU ve üstü, pozitif
61-130 EIU, pozitif	
130 EIU ve üstü, kuvvetli poz.	

### 3.2.2.2. Chromotitre Enzyme - Immuno Assay (İsmunit EIA)

#### 3.2.2.2.1. Deneyin yapılışı

- Ag kaplı mikropate çukurları yıkama sıvısı ile yıkanır. Çukur yıkama sıvısı ile tam doldurularak bir dakika bekletilir, boşaltılır. Bu işlem 3 kez tekrarlanır.

- Hasta serumları diluent ile 1:300 oranında dilue edildi.

- Her serum örneğinden özgül Ag'li iki çukura, kontrol Ag'li bir çukura olmak üzere toplam üç çukura 100'er µl kondu. Aynı işlem (-) negatif ve (+) pozitif kontrol serumları için de tekrarlandı.

- 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

- Birinci yıkama (1'er dakika bekletilip boşaltılarak üç kez yıkama solusyonu ile yıkanır).

- Her çukura 100 µl. konjugat solusyonu eklendi (Peroxidase - Con-  
juge - anti human IgG ve IgM keçide hazırlanmış).
- 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi.
- İkinci yıkama (aynı).
- Her çukura 100 µl. substrat solusyonu eklendi (Ortho phenylene  
diamine OPD).
- 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi.
- Her çukura 100 µl. 2,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> stop solusyonu eklendi.
- A<sub>492</sub> nm'de absorbens değerleri okundu.

#### 3.2.2.2.2. Deneyin değerlendirilmesi

Chromotitre (Ismunit) EIA'de okunan absorbens değerleri şu şekil-  
de hesaplandı:

(+) pozitif serum kontrol absorbens değerleri ortalaması ile (-)  
negatif serum kontrol absorbens değerleri ortalaması toplanır, bulunan  
değer her kit'de ayrıca belirtilmiş olan K katsayısı ile çarpılır ve  
cut off (sınır) değer bulunur. Bu değer altındaki hasta sonuçları  
(-) negatif olarak kabul edilir. Cut off değer +0.100 aralığındaki  
değerler şüpheli olarak kabul edilip deney tekrarlanmalıdır. Bunun üye-  
rindeki değerler (+) pozitif olarak kabul edildi.

Çizelge 3.1. Çalışılan testler ve serum sayıları.

Deneyler	Ismunit EIA	Ismunit EIA	Ismunit EIA	Lab Sys.EIA SF	Ismunit EIA
	Lab Sys.EIA SF	Lab Sys.EIA	SF		
Serum Sayısı	47	55	110	76	170

## 4. B U L G U L A R

Çalışmamıza aldığımız 307 hasta ve 63 kontrol grubuna ait serum örneklerinde, iki farklı firmaya ait ELISA kit'i (Ismunit EIA ve Lab system EIA) ile Sabin- Feldman deneylerinin sonuçları aşağıda gösterilmiştir.

Her üç deneyin birlikte çalışıldığı hasta serumunun sonuçları Çizelge 4.1.'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1. SF ve EIA (Ismunit+Lab system) olmak üzere üç ayrı deneyin birlikte uygulandığı 47 hastanın test sonuçları.

	SABIN FELDMAN		ISMUNIT EIA		LAB SYSTEM EIA	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
+	30	63.8	29	61.7	36	76.6
-	17	36.2	18	38.3	11	23.4
TOPLAM	47	100	47	100	47	100

EIA testi uygulanan serumlarda, IgG yada IgM'lerden birisinin veya her ikisinin pozitif olması halinde bu serum örneği pozitif olarak yorumlanmıştır. En çok pozitiflik oranı Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi Lab system EIA'de (% 76.6) gözlenmiştir.

Çizelge 4.2. EIA (Ismunit ve Lab system) testi uygulanan 55 hastada anti-Toxo IgG ve IgM test sonuçlarının karşılaştırılması (a: IgG, b: IgM değerlerinin karşılaştırılması).

a

ISMUNIT EIA IgG	LAB SYSTEM EIA IgG		TOPLAM
	+	-	
+	31	0	31
-	0	24	24
TOPLAM	31	24	55

b

ISMUNIT EIA IgM	LAB SYSTEM EIA IgM		TOPLAM
	+	-	
+	9	2	11
-	20	24	44
TOPLAM	29	26	55

Çizelge 4.2.a.'da iki EIA testinin IgG'leri arasında ileri düzeyde uyum saptanmıştır ( $\chi^2 = 0.00$ ,  $P < 0.001^{xxx}$ ). Çizelge 4.2.b.'de ise, iki EIA testinin IgM'leri arasındaki ilişki önemli olarak saptanmıştır. Ancak çizelgede de görüldüğü gibi Lab system IgM EIA değerlerinde (+) pozitiflik oranı, Ismunit EIA IgM'e göre daha yüksek olarak gözlenmiştir.

Test sonuçları tek tek ele alındığında Ismunit EIA uygulanan 288 hastada % 47.9 oranında, Lab system EIA uygulanan 84 hastada % 69.0, SF uygulanan 139 hastada % 56.8 oranında pozitiflik saptanmıştır.

Çizelge 4.3. Anti-Toxo IgG ve IgM Ismunit EIA ile SF testlerinin karşılaştırılması (a: IgG EIA ve SF, b: IgM EIA ve SF, c: IgG+IgM EIA ve SF karşılaştırılması).

a				b				c			
ISMUNIT EIA IgG	SF		TOPLAM	ISMUNIT EIA IgM	SF		TOPLAM	ISMUNIT IgG+IgM	SF		TOPLAM
	+	-			+	-			+	-	
+	57	2	59	+	9	3	12	+	57	5	62
-	6	45	51	-	54	44	98	-	6	42	48
TOPLAM	63	47	110	TOPLAM	63	47	110	TOPLAM	63	47	110

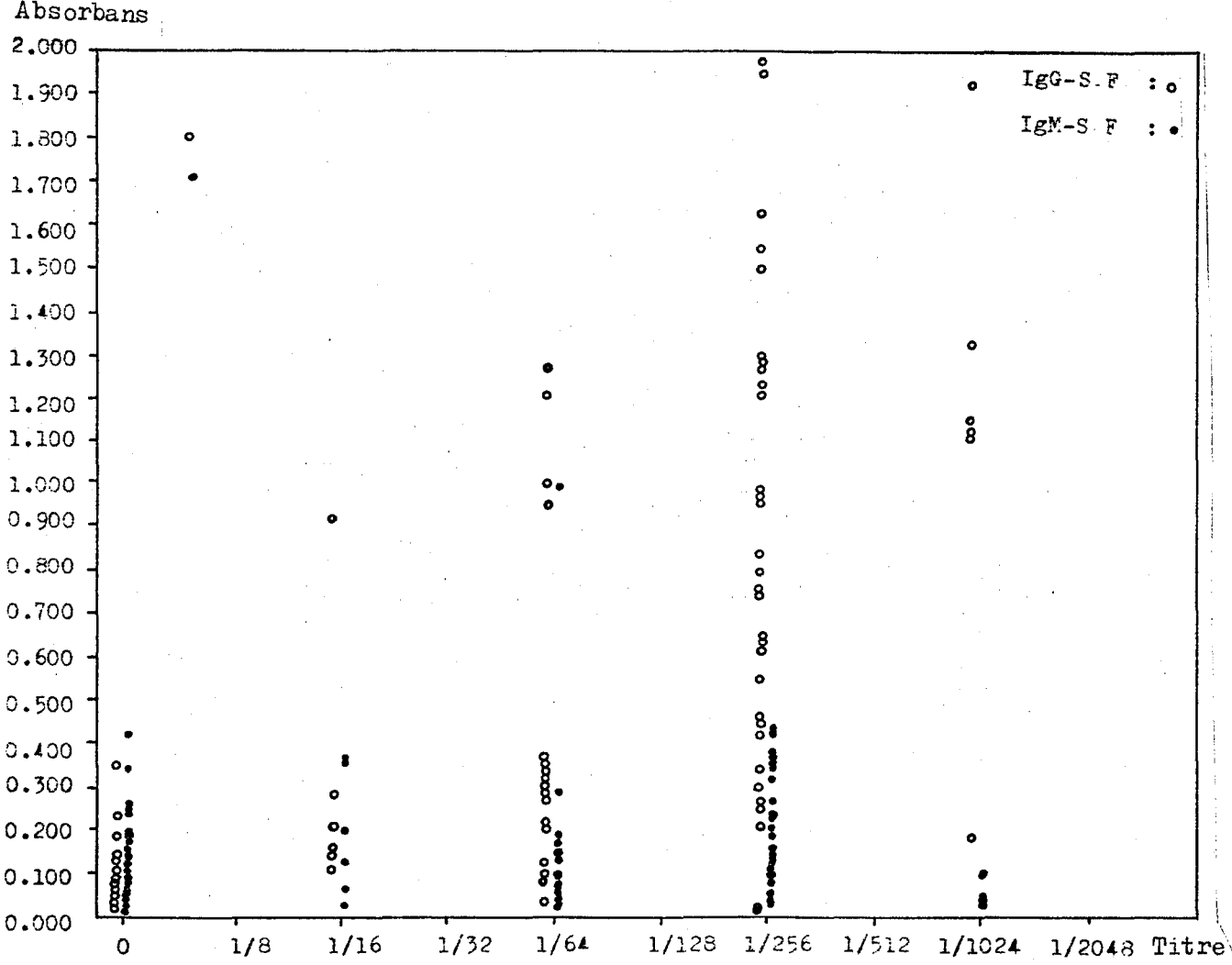
Çizelge 4.3.a.'da görüldüğü gibi iki test arasında (Ismunit EIA IgG ile SF) önemli düzeyde bir uyum gözlenmektedir ( $P < 0.001^{xxx}$ ).

Sadece Ismunit EIA IgM değerleri alınarak SF testi ile karşılaştırıldığında, iki test arasında uyum gözlenmemektedir (Çizelge 4.2.b).

SF testi total Ab (IgG+IgM) değerlerini içermektedir, buna rağmen SF (-) negatif, Ismunit EIA (+) pozitif olan 3 olgu saptanmıştır.

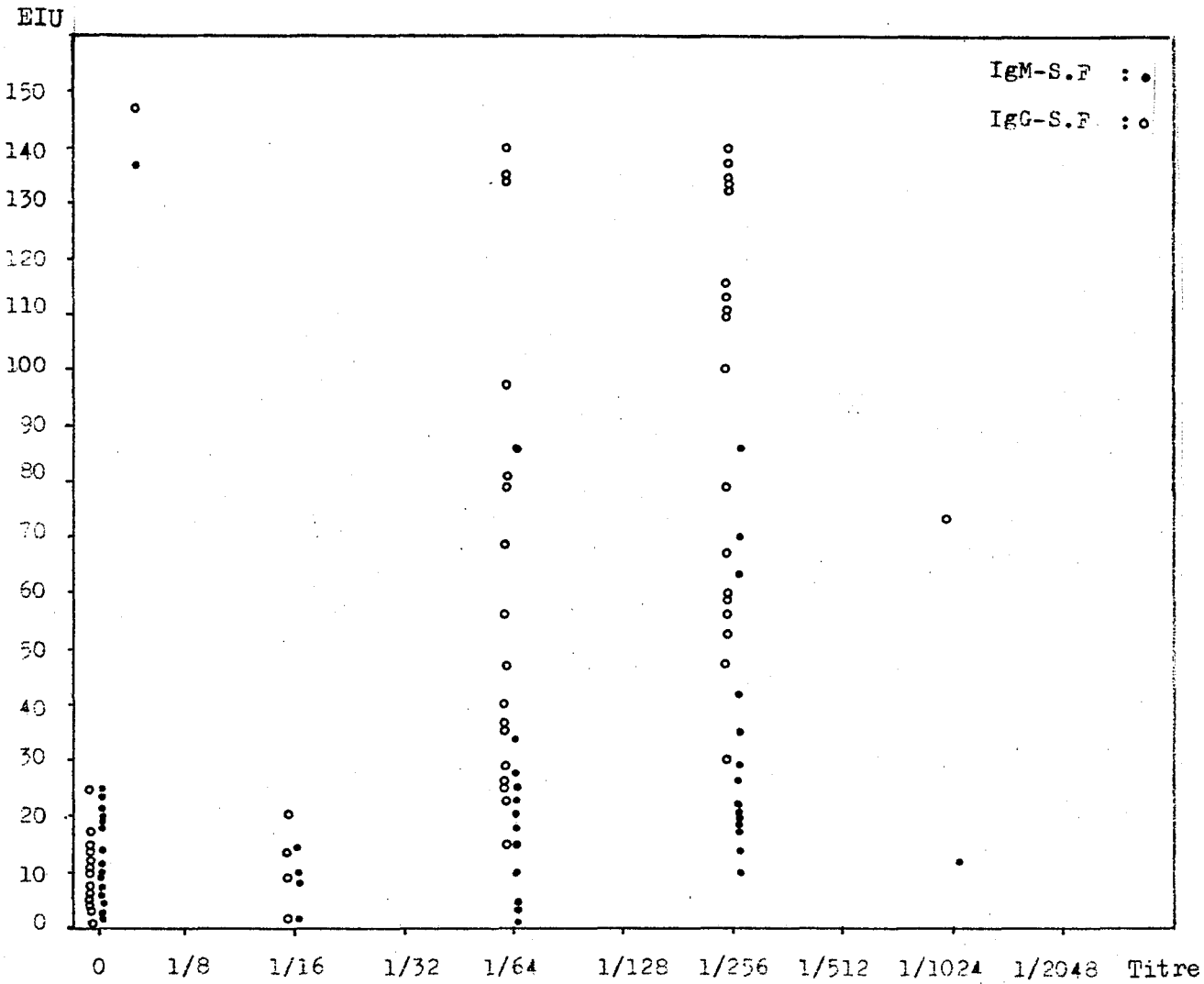
Ismunit EIA IgG ve IgM'lerden herhangi birisi yada ikisinin pozitifliğini SF testi ile karşılaştırıldığı Çizelge 4.3.c.'de önemli düzeyde bir uyum gözlenmektedir ( $P < 0.001^{xxx}$ ).

Aynı gruba ait 110 hasta serumunun SF titreleri ile İsmunit EIA IgG ve IgM absorbanans değerleri karşılaştırmalı olarak Şekil 1.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. 110 hasta serumunun SF titreleri ile İsmunit EIA IgG ve IgM absorbanans değerleri

Şekil 4.1.'de görüldüğü gibi SF titresini 1:256 olmasına karşın çok yüksek EIA IgG absorbanans değerleri veren serum sayısının yüksekliği dikkati çekmektedir. Ayrıca 1:1024 gibi yüksek SF titreli az sayıda serumda ise, EIA IgM değerlerinin düşüklüğü gözlenmektedir.



Şekil 4.2. 76 hasta serumunun SF titreleri ile Lab system EIA IgG ve IgM EIU değerleri.

Çizelge 4.4.'te verilen 76 hastaya ait serum örneğinde SF titreleri ile Lab system EIA IgG ve IgM absorban değerleri Enzyme Immun Unit (EIU) şeklinde hesaplanarak Şekil 4.2.'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Şekilde SF titresi 1:64 ve 1:256 olmasına karşın EIA IgG değerleri oldukça yüksek bulunan serum sayısının fazlalığı dikkati çekmektedir. Ayrıca İsmunit EIA ve SF değerlerinin karşılaştırılmasında (Şekil 4.1.) olduğu gibi SF titreleri 1:64 ve 1:256 olan çok sayıda serum örneğinin Lab system EIA IgM değerlerinin düşüklüğü, hatta negatifliği gözlenmektedir.

Çizelge 4.4. Anti-Toxo IgG ve IgM Lab system EIA ile SF testlerinin karşılaştırılması (a: IgG EIA ve SF, b: IgM EIA ve SF, c: IgG+IgM EIA ve SF).

a				b				c			
LAB SYSTEM EIA IgG	SF		TOPLAM	LAB SYSTEM EIA IgM	SF		TOPLAM	LAB SYSTEM EIA IgG+IgM	SF		TOPLAM
	+	-			+	-			+	-	
+	42	1	43	+	27	10	37	+	42	12	54
-	4	29	33	-	19	20	39	-	4	18	22
TOPLAM	46	30	76	TOPLAM	46	30	76	TOPLAM	46	30	76

SF ve EIA (İsmunit ve Lab system) deney sonuçlarını karşılaştıran çizelgelerde görüldüğü gibi EIA ve SF testleri, özgül Toxo Ab'u olan IgG yönünden karşılaştırıldığında, iki test yöntemi arasında ileri düzeyde uyumluluk saptanmıştır. Ancak özgül Toxo Ab'u olan IgM'ler açısından EIA ile SF karşılaştırıldığında, özellikle Lab system sonuçlarında daha fazla olmak üzere, uyum gözlenememiştir.

SF total Ab'u ölçen bir test olmasına karşın EIA ile IgM pozitifliği bulunan 3 olgu (İsmunit) ile Lab system'de 10 olgu olmak üzere toplam 13 olgu negatif sonuç vermiştir.

Kontrol grubu olarak alınan 63 hastaya ait serum örnekleri de üç test yöntemiyle çalışılarak sonuçları karşılaştırılmıştır. Kontrol grubunda çalışılan testler ve örnek sayıları Çizelge 4.5.'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Kontrol grubu olarak çalışılan testler ve serum sayıları.

Testler	İsmunit EIA Lab Sys.EIA SF	İsmunit EIA Lab Sys.EIA	İsmunit EIA SF	İsmunit EIA Lab Sys.EIA SF	İsmunit EIA
Örnek Sayısı	12	12	24	12	39

Her üç deneyin birlikte çalışıldığı hasta serumunun sonuçları, Çizelge 4.6.'da özetlenmiştir.

Çizelge 4.6. EIA (Ismunit ve Lab system) ve SF olmak üzere üç ayrı deneyin uygulandığı 12 hastanın test sonuçları.

	SABIN FRIDMAN		ISMUNIT EIA		LAB SYSTEM EIA	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
+	5	41.7	4	33.3	7	58.3
-	7	58.3	8	66.7	5	41.7
TOPLAM	12	100	12	100	12	100

EIA testi uygulanan serumlarda, IgG yada IgM'lerden birisinin veya her ikisinin pozitif olması halinde bu serum örneği pozitif olarak yorumlanmıştır. En çok pozitiflik, Lab system EIA'de gözlenmiştir (% 58.3). Ismunit EIA'de pozitiflik oranı daha az bulunmuştur (% 33.3).

Kontrol grubu olarak sağlıklı hamilelerden alınan serum örneklerinde, EIA (Lab system ve Ismunit) ile SF testleri arasında, IgG yada IgM'lerden herhangi birisinin yada her ikisinin pozitif olarak değerlendirilmesi halinde testler arasında ileri derecede bir uyumluluk gözleendiği halde, sadece IgM EIA anti-Toxo Ab'ları bakımından ele alındığında bu uyumluluk gözlenememiştir.

Kontrol grubundaki 63 hastanın testleri tek tek ele alındığında Ismunit EIA uygulanan 63 hastada % 34.9, Lab system EIA uygulanan 12 hastada % 58.3, SF uygulanan 24 hastada % 41.7 oranında pozitiflik saptanmıştır.

Daha önce düşük, ölü doğum, erken doğum gibi anamezi olan, bazılarında Toxo Ab'u saptanan ve bir kısmında Toxoplasma tedavisi uygulanan bir grup hastanın gebeliği sırasında ve bunların bebeklerinden alınan serum örneklerinde Ismunit EIA IgG- IgM testleri ve SF testi ile çalışılarak sonuçları Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Düşük, ölü doğum, erken doğum gibi anamnezileri olan anneler ve bunların bebeklerinin İsmunit EIA ve SF test sonuçlarının karşılaştırılması.

NO	HASTA ADI	IgG EIA ABSORBANS-YORUM	IgM EIA ABSORBANS-YORUM	SF TİTRELERİ-YORUM
1	A.A.	0.907 Poz.	0.070 Neg.	
	A.Bebek	0.889 Poz.	0.052 Neg.	
2	A.U.	0.973 Poz.	0.154 Neg.	
	U.Bebek	1.116 Poz.	0.041 Neg.	
3	S.S.	2.223 Poz.	0.100 Neg.	1/1024 Poz.
	S.Bebek	1.900 Poz.	0.093 Neg.	
4	H.A.	0.021 Neg.	0.066 Neg.	
	A.Bebek	0.047 Neg.	0.051 Neg.	
5	P.U.	0.207 Neg.	0.157 Neg.	
	U.Bebek	0.191 Neg.	0.161 Neg.	
6	S.Ü.	0.992 Poz.	0.247 Neg.	1/256 Poz.
	Ü.Bebek	1.154 Poz.	0.132 Neg.	
7	E.T.	0.613 Poz.	0.382 Neg.	1/256 Poz.
	T.Bebek	0.637 Poz.	0.280 Neg.	
8	H.T.	0.051 Neg.	0.274 Neg.	∅ Neg.
	T.Bebek	0.094 Neg.	0.118 Neg.	
9	E.M.	1.482 Poz.	0.332 Neg.	1/256 Poz.
	M.Bebek	0.980 Poz.	0.287 Neg.	
10	S.B.	1.251 Poz.	0.047 Neg.	1/1024 Poz.
	B.Bebek	1.115 Poz.	0.033 Neg.	
11	M.T.	0.292 Poz.	0.107 Neg.	1/256 Poz.
	T.Bebek	0.428 Poz.	0.037 Neg.	
12	S.İ.	0.577 Poz.	0.165 Neg.	1/256 Poz.
	İ.Bebek	0.497 Poz.	0.106 Neg.	
13	B.D.	0.302 Poz.	0.119 Neg.	1/256 Poz.
	D.Bebek	0.307 Poz.	0.101 Neg.	
14	M.M.	0.201 Neg.	0.077 Neg.	∅ Neg.
	M.Bebek	0.112 Neg.	0.090 Neg.	
15	Y.P.	0.310 Poz.	0.098 Neg.	1/64 Poz.
	P.Bebek	0.281 Poz.	0.107 Neg.	
16	H.K.	0.105 Neg.	0.187 Neg.	∅ Neg.
	K.Bebek	0.092 Neg.	0.109 Neg.	

Çizelge 4.7.'de anne ve bebeğin test sonuçları arasında büyük bir uyumluluk gözlenmiştir.

Çalışmamızda; düşük, ölü doğum, erken doğum gibi şikayetleri olan bir grup hasta anti Toxo Ab'larındaki artış yada azalışı kontrol edebilmek amacıyla, belirli sürelerde serum örnekleri alınarak testler tekrarlanmıştır.

Takibe alınan hastaların ve bunların test sonuçları Çizelge 4.8. de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Anti-Toxo IgG ve IgM EIA (İsmunit ve Lab system), SF testi ile birden fazla çalışılan hastalara ait serum örnekleri.

NO	HASTA ADI	TARİHLER	LAB SYSTEM EIA*		İSMUNIT EIA**		SF***
			IgG	IgM	IgG	IgM	
1	G.K.	11.12.87	6	18			
		22. 4.88	11	14	0.082	0.561	
		29. 4.88			0.055	0.459	
2	H.K.	6.11.87	22	18	0.301	0.200	
		13.11.87	18	9			1/64
		18.12.87	11	3			1/64
3	H.T.	13.11.87	1	23			∅
		18.12.87			0.051	0.274	
		25. 3.88			0.104	0.325	
4	K.K.	12. 2.87			0.105	0.040	
		11. 3.88			0.307	0.059	∅
		8. 4.88			0.357	0.056	
5	K.Y.	18. 4.88			0.620	0.216	1/256
		3. 5.88			0.838	0.393	
		13. 5.88			0.607	0.248	
6	M.B.	13.11.87	36	86			1/64
		8.12.87	57	186			1/64
		12. 2.88			0.030	0.184	
7	M.S.	6. 5.88			1.823	0.527	
		8. 5.88			1.820	0.719	
		13. 5.88			1.640	0.616	
8	S.Y.	11.12.87	133	42			
		12. 2.88			0.274	0.149	1/256
		18. 4.88			0.814	0.139	1/1024

(NOT: Çizelge 4.8. bir sonraki sayfada devam etmektedir.)

NO	HASTA ADI	TARİHLER	LAB SYSTEM EIA*		ISMUNIT EIA**		SF***
			IgG	IgM	IgG	IgM	
9	S.A.	12. 2.88			0.004	0.051	∅
		18. 3.88			0.104	0.060	∅
		18. 4.88			0.105	0.403	
10	Z.D.	4.11.87	6	21			∅
		11.12.87	6	10			∅
		25.12.87	41	11			
		19. 2.88			0.201	0.151	
11	A.N.	6.11.87	61	21			1/256
		12. 2.88			0.343	0.095	
		4. 3.88			0.677	0.248	1/256
		29. 5.88			0.837	0.224	
12	B.G.	13.10.87	1	25			∅
		11.12.87	3	2			
		22. 4.88			0.221	0.057	∅
13	D.S.	29. 4.88			0.238	0.716	1/256
		6. 5.88			0.232	0.454	
		20. 5.88			0.154	0.330	
		27. 6.88			0.110	0.422	
14	E.T.	27.11.87	65	47			1/256
		25.12.87	110	70			1/256
		29. 4.88			0.781	0.421	
		6. 5.88			0.613	0.382	
15	E.K.	28.11.87	12	20			∅
		25. 2.87	16	60			
		4. 2.88			0.110	0.113	
16	E.M.	18. 3.88			2.482	0.432	1/1024
		25. 3.88			0.959	0.098	
		1. 4.88			1.300	0.125	

\*: Test sonuçları ünite olarak değerlendirilmiştir.

\*\* : Test sonuçları absorbans olarak değerlendirilmiştir.

\*\*\*: Test sonuçları titre olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.8.'de görüldüğü gibi, birden fazla çalışılan 16 hastaya ait serum örneklerinde önemli derecede bir titre artış yada azalışı gözlenememiştir.

## 5. T A R T I Ő M A

Toxoplasma gondii, dünyanın her yerinde sıklıkla rastlanan ve zoonotik infeksiyonlar oluşturan bir protozoon'dur. Infeksiyon büyük bir sıklık gösterirken, hastalık olgusu protozoon'un latent tabiatı nedeniyle enderdir, ancak bir takım faktörler bu fırsatçı patojeni harekete geçirmektedirler (24).

Toxoplasmosis'in sebep olduğu olgular; konjenital veya akkiz olmak üzere iki ayrı klinik göstermektedirler. Hamilelik sırasında kazanılan infeksiyon plasenta yolu ile fetus'u infekte ederek konjenital anomalilere neden olabildiği gibi, ölü doğum ve düşüklere de neden olmaktadır (5,46,65).

Gerek konjenital, gerekse akkiz Toxoplasmosis'in laboratuvar tanısı, örnekten etkenin izole edilmesi veya infeksiyon sırasında oluşan özgül antikorların saptanması esasına dayanır. Son yıllarda serolojik testler giderek daha büyük önem kazanmıştır.

T. gondii'nin serolojisi için farklı özgülük ve duyarlılıkta olan birçok test uygulanmaktadır.

SF, IFAT, IHA, LA, KBD, DA gibi testler protozoona karşı oluşan Ab'ları saptarken; FAT ve ELISA gibi yöntemler protozoon'a karşı oluşan özgül IgG ve IgM Ab'larının alınan örneklerdeki titre değişimini ölçerler (5,24,35,46).

Çalışmamızda 17 - 40 yaşları arasındaki düşük, ölü doğum, anomali-li doğum gibi Şikayetleri nedeniyle Hastanemiz Kadın Doğum Polikliniğine başvuran kadınlardaki Toxoplasma seropozitiflik oranının ölçülmesinde, son yıllarda yaygın olarak kullanılan, duyarlı bir test olarak kabul edilen ELISA yöntemi ile saptanması ve Toxoplasmosis tanısında en güvenilir klasik deney olan SF testi ile ELISA'nın karşılaştırılması teşkil etmektedir. Aynı zamanda iki farklı firmaya ait ELISA kit'i

kullanarak bunlar arasındaki uyumu da kıyaslamaya çalıştık.

Çizelge 4.1.'de her üç deneyin birlikte çalışıldığı 47 serum örneğinin test sonuçları karşılaştırılmıştır. Burada SF testi total Ab yanıtı ölçen bir test olduğu için bizde EIA testlerinin (Ismunit+Lab system) IgG ve IgM değerlerini birlikte gözönüne alarak karşılaştırmayı uygun gördük.

Uygulanan üç deneyde en yüksek pozitiflik oranı, Lab system EIA'de % 76.6 gözlenirken, en düşük pozitiflik oranı ise % 61.7 olarak Ismunit EIA'de saptanmıştır. Bu üç deneyde pozitiflik bakımından Ismunit EIA (% 61.7) ve SF testi (% 63.8) birbirlerine daha yakın değerlerde bulunarak uyumluluklarının diğer teste göre daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Bilindiği gibi SF boya testi, tanımlandığı 1948 yılından beri Toxoplasmosis serolojisine yerleşmiş özgül bir testtir. Toxoplasmosis'te rutin bir tanı yöntemi olarak bugünde güvenle kullanılan SF testi; canlı Ag'e gerek duyulması, her testte Ag'in yeniden hazırlanması, aktivatör faktör bulma güçlüğü ve özel laboratuvar koşullarına gerek duyulması nedeniyle, her laboratuvarında uygulanması güç, pahalı, riskli ve geniş çaplı taramalara uygun olmayan bir yöntemdir. Bu güçlükleri nedeniyle SF testine alternatif bir test aranmıştır (15,59,61,63).

ELISA testi; Voller et al. tanımlamalarından itibaren, araştırmacılar tarafından SF testi de dahil olmak üzere birçok Toxoplasma serolojik testi ile karşılaştırılmıştır. Biz de bu çalışmamızda iki farklı firmaya ait ELISA kit'ini birbiriyle ve SF testine karşı kıyaslamaya çalıştık.

Çizelge 4.2.a'da görüldüğü gibi çalışılan 55 serumdaki anti Toxo IgG değerleri her iki EIA'de de % 56.4 (31 olgu) oranında pozitif olarak saptanmış ve iki EIA testinin IgG'leri arasında ileri düzeyde bir uyumluluk olduğu gözlenmiştir. Birinin pozitif, diğerinin negatif olduğu bir olguya rastlanmamıştır. Bu oran istatistiksel olarakta doğru-

lanmıştır ( $P < 0.001^{xxx}$ ).

Aynı testlerin anti Toxo - IgM'leri birbiriyle kıyaslandığında, (Çizelge 4.2.b) bir uyumluluk saptanamamıştır ( $P < 0.05^x$ ). İsmunit IgM EIA ile 55 hastada 11 olgu (% 20) pozitif olarak saptanırken, Lab system IgM EIA'de 55 hastada 29 olgu (% 52.7) gibi oldukça yüksek oranda pozitiflik bulunmuştur.

İsmunit EIA testi gerek IgG, gerekse IgM Ab'larını ölçerken kontrollü olarak test edilmektedir. Her deneyde gereç ve yöntemlerde anlatıldığı gibi; her bir serum örneği için, özgül Ag'li iki çukur, kontrol Ag'li (özgül Ag içermeyen) bir çukur, olmak üzere toplam üç çukurla çalışılmıştır. Aynı işlem negatif (-) ve pozitif (+) kontrol serumları içinde tekrarlanmıştır.

Deney değerlendirilmesi gereç ve yöntemlerde açıklandığı şekilde yapılmış ve bir sınır (cut off) değeri hesaplanmıştır. Bu değer altındaki sonuçlar negatif, sınır değer (cut off) + 0.100 aralığı şüpheli, cut off'un üzerindeki değerler ise pozitif olarak kabul edilmiştir. Şüpheli değer saptananlarda test tekrar edilmiştir.

Bizim çalışmamızda İsmunit EIA deneyinde cut off değerleri en çok 0.250 - 0.500 civarında gözlemlendi.

Diğer taraftan İsmunit EIA'de kontrol Ag çukurlarında da çalışma yapılmış olması, özgül olmayan reaksiyonların ayırt edilmesini kolaylaştırmış ve deneyin özgüllüğünü artırmıştır.

Tozzi et al. yaptıkları bir çalışmada da iki farklı firmaya ait ELISA kit'leri karşılaştırılmış (Toxonostika IgG ve IgM ile Eti Toxok IgG ve IgM) anti Toxo IgG Ab'ları bakımından her iki testle çalışılan 431 serum örneğinde % 95 oranında birlikte pozitiflik saptanmıştır. Ancak 15 serum örneğinde Eti Toxok IgM pozitifliği % 60 bulunurken, Toxonostika ile bu oran % 40 olarak saptanmıştır. IgM tipi Ab'lar açısından iki farklı ELISA kit'indeki sonuçların uyum göstermediği görülmüştür (57).

Fransa'da yapılan bir çalışmada farklı Ag ve farklı enzim konjugatı kullanarak ELISA IgG testi uygulanan üç ayrı laboratuvarında aynı serum örneklerinde elde edilen sonuçlar düşük ve yüksek Ab düzeyleri açısından birbiriyle uyumlu bulunmuştur. Aynı serum örnekleri SF ve KBD ile de test edilmiş ve sonuçları ELISA deneyleri ile uyumlu bulunmuştur (10).

Çalışmamızda 110 hasta serumu Ismunit EIA IgG ve IgM ile SF testiyle karşılaştırılmış, Çizelge 4.3.a'da da görüldüğü gibi Ismunit EIA'in anti Toxo IgG Ab'ları ile SF testinin birbiriyle karşılaştırmalarında aralarında ileri düzeyde bir uyumluluk saptanmıştır ( $P < 0.001^{xxx}$ ). Ismunit IgG EIA ile pozitiflik oranı % 53.6, SF ile pozitiflik oranı % 57.3 olarak bulunmuştur. Ismunit IgG negatif iken SF testi pozitif olan altı hasta saptanmıştır. İki örnekte ise SF negatif iken Ismunit IgG'de pozitiflik gözlenmiş olmasına rağmen, bu sonuçlar istatistik açıdan önemli bir fark oluşturmamaktadır (pozitif olgular SF testinde en çok 1/64-1/256 titreler arasında gözlenirken, Ismunit EIA'de bu oran 0.200-0.500 absorbans değerleri arasında saptanmıştır).

ELISA IgG ve SF'nin karşılaştırıldığı birçok çalışmada da bizim sonuçlarımıza paralel sonuçlar alınmıştır (8,9,10,15,26,57,59,60).

Voller et al. (1976) ELISA IgG ve SF testi arasındaki uyumluluğu vurgulamaktadırlar (59).

Ayrıca Woodward'ın (1982) çalışmasında, bizim çalışmamıza yakın bir paralellik göstermektedir (63).

Ülkemizde yapılan araştırmalarda da diğer araştırmacıların bulgularına benzer sonuçlar alınmıştır. Cantürk (1988) 96 serum örneğini ELISA IgG ve SF ile çalışmış ve iki testin uyumluluğunu % 97.9, duyarlılığını % 97.2 bulmuştur (9).

Bizim bulgularımız ve literatürde bildirilen bulguların uyumluluğu ELISA IgG testinin zor bir test olan SF testi yerine alternatif bir test olarak pratikte, özellikle taramalarda kolaylıkla uygulanabileceği fikri-

ni vermektedir. Ancak pozitif ve negatif serumların uyumluluğunun yanı sıra, SF testindeki titre değeri ile ELISA IgG testindeki absorbans değerleri arasında bazı farklılıklar göze çarpmaktadır. Çeşitli metodlar arasındaki uyumsuzluğun nedeni; farklı Ag kompozisyonlarından ileri gelmektedir. Örneğin IFA ve SF'de yüzeysel membran Ag'i kullanıldığı halde, ELISA'da organizmanın total ekstrakt Ag'i kullanılmaktadır (57,61,63).

Aynı hastalara ait 110 serum örneği sadece İsmunit EIA IgM ile SF pozitifliği açısından karşılaştırıldığında (Çizelge 4.3.b) iki test arasında bir uyum gözlenememektedir ( $P > 0.05$  ns). Her iki test ile pozitif olan dokuz olgu (% 8.2) saptanmıştır. Testler tek tek ele alındığında, pozitiflik oranı SF testinde 63 olguda (% 57.3), İsmunit EIA IgM'de 12 olguda (% 10.9) bulunmuştur. Bunu da iki testin farklı Ab'ların ölçümünü yapmış olmasına bağlıyoruz. SF pozitif iken İsmunit EIA IgM negatif olan 54 olgu saptanırken, SF'nin negatif olduğu üç olguda da İsmunit IgM pozitifliği saptanmıştır. Diğer taraftan, her iki testle pozitif bulunan 9 olguda SF testi değerleri, 1:64-1:256 titreleri arasında gözlenmişlerdir. Oysa akut Toxoplasmosis infeksiyonunda SF titrelerinin 1:256 titreden daha yüksek olması beklenmektedir. Ayrıca üç serum örneğinde İsmunit IgM pozitif olduğu halde SF testi ile negatif sonuç alınmıştır.

Birçok araştırmacı IgM tipi Ab'lar azalırken SF testi titrelerinin arttığını bildirmişlerdir (5,10,26,57,59,62).

Wielard'ın (1983) yaptığı bir çalışmada IgM ELISA ve SF testleri karşılaştırılmış, SF testinde pozitiflik oranı ELISA IgM'e göre daha düşük bulunmuştur. Fakat aynı kişilerden dört ve on ay sonra tekrar serum örneği alınarak çalışıldığında, SF'nin pozitiflik oranında büyük bir artış gözlenmiştir. Aynı çalışmada IgM ELISA'nın duyarlılığı 20 konjenital infekte serum örneğinde üç ayrı günde altı defa çalışılarak % 92.1 olarak bulunmuştur (62).

Burada da görüldüğü gibi konjenital veya yeni kazanılmış Toxoplasmosis infeksiyonunun tanısında IgM ELISA yüksek spesifiklik ve duyarlılık gösteren bir testtir.

IgM ELISA testi, yine IgM sınıfı Ab'ları ölçen bir test olan IgM IFA testi ile birçok araştırmacı tarafından karşılaştırılmıştır.

Joss et al. (1984) çalışmalarında IgM ELISA'da, IgM IFA'ya göre duyarlılığı % 92.1 bulunmuştur. IgM IFA ve IgM ELISA'nın pozitifliği % 88.2 olarak saptanırken, aynı serumlar SF ile test edildiğinde % 40 pozitiflik gözlenmiştir (26).

Noat et al. (1980) SF, IFA-IgM ve ELISA IgM testlerini; yakın geçmişte Toxoplasmosis geçirmiş hastalarda ve konjenital Toxoplasmosis'li bebeklerde SF titresi ve IFA IgM negatif bulunup, ELISA IgM ile pozitif olan sonuçlar saptayabilmişlerdir.

IgM IFA'da RF ve ANA'dan dolayı meydana gelen yalancı pozitifliğe IgM ELISA'da daha az rastlanmaktadır. Özellikle DS-ELISA'da IgM yönteminde bu olasılık tamamen ortadan kalkmaktadır. ELISA IgM, IFA IgM'e göre yapılması ve duyarlılığı daha fazla olan bir testtir (37).

SF testinin total Ab yanıtı ölçmesi nedeniyle İsmunit EIA'de IgG ve IgM değerlerini birlikte ele alarak karşılaştırdığımızda (Çizelge 4.3.c) iki test arasında önemli düzeyde bir ilişki saptanmıştır. İsmunit EIA IgG+ IgM'in pozitiflik oranı % 56.4 bulunurken, bu oran SF testinde % 57.3 bulunmuştur. Bu bulgularımız diğer araştırmacıların çalışmalarıyla da paralellik göstermektedir.

SF testi, birçok firmaya ait farklı ELISA kit'leriyle karşılaştırılmış, bütün çalışmalarda da total yada IgG EIA Ab'larıyla uyumlu sonuçlar vermiştir (9,26,37,59,62).

Yalnızca IgM Ab'ları açısından karşılaştırıldığında bu uyumluluk daha düşük düzeylere inmiştir (26,57,59,62).

Diğer ELISA yöntemi olan Lab system EIA ile SF testinin karşılaştırılmasında da IgG'ler ve SF arasında ileri düzeyde bir uyum bulunmuştur. 76 serum örneğinde iki testte saptanan pozitif olgu miktarı, Lab system IgG EIA'de % 56.6, SF testinde % 60.5'tir (Çizelge 4.4.a).

IgM anti Toxo Ab'ları açısından iki test karşılaştırıldığında, Çizelge 4.4.b'de görüldüğü gibi diğer EIA IgM ile SF testleri karşılaştırmasına göre, Lab systemde daha fazla IgM pozitifliği olması nedeniyle, iki test uyumlu bulunmuştur ( $P < 0.05^x$ ). Lab system IgM EIA'de pozitiflik % 48.7 olarak bulunduğu halde, SF testi ile bu oran % 60.5'tir. SF negatif olan 10 serum örneği Lab system IgM EIA ile pozitif değer vermiştir. Bu oran çalışılan örnek sayısına göre oldukça fazla görülmektedir.

Ismunit IgM EIA ile SF testi karşılaştırılmasında bu durumda olan sadece üç pozitif olguya rastlanmıştır.

Lab system anti Toxo IgG ve IgM Ab'larının her ikisinin birlikte SF testi ile karşılaştırılmasında pozitiflik oranı Lab system EIA'de % 71.1, SF testinde % 60.5 bulunmuştur (Çizelge 4.4.c).

Kontrol grubu olarak alınan sağlıklı hamilelere ait 63 serum örneğinde, her üç yöntemle test edilmiştir (Çizelge 4.5). Kontrol grubunda EIA ve SF testinin pozitif bulguları hasta grubuna göre düşük oranlarda bulunmuştur.

Her üç deneyin birlikte çalışıldığı 12 serum örneğinde EIA testlerinde IgG ve IgM'ler birlikte ele alındığında (Çizelge 4.6) SF testi ile Ismunit EIA arasında pozitiflik oranları birbirine yakın bulunmuştur. Lab system'de bu oran daha yüksektir. Ismunit EIA ile sadece 2 olguda pozitiflik görüldüğü halde, Lab system IgM EIA ile SF testi pozitiflik oranları birbiriyle uyumlu bulunmuştur.

Kontrol grubunda IgM titresi pozitif olanlar da dahil, IgG titresi oldukça yüksek olan 4 olgu ve diğer pozitif olgularda klinisyenlerden

alınan bilgilere göre bebekler sağlıklı doğmuştur. Bu yüksek pozitiflik görülen olguların, kişisel Ab cevabı değişikliğinden ileri gelebileceğini sanıyoruz. Bazılarında IgM Ab'larının bir yıldan daha fazla yüksek titrede kaldığı gözlenmiştir.

Daha önce düşük, ölü doğum, anomalili doğum gibi anamez veren, bir kısmında Toxoplasma Ab'u görüp izlediğimiz bir grup hastadan ve doğumdan sonra bebeklerinden aldığımız örneklerde sonuçlar karşılaştırılmıştır ( Çizelge 4.7).

16 anne ve bunlara ait 16 bebeğin Ismunit EIA ve SF test sonuçları birbiriyle oldukça uyumlu bulunmuştur. Anti Toxo IgM pozitifliğine hiçbir olguda rastlanmamıştır. Anti Toxo IgG EIA ile 11 anne ve 11 bebekte pozitif bulunmuştur. SF ile çalışılan 8 anne ve 7 bebekte pozitiflik gözlenmiştir. IgG pozitifliği saptanan olgulardan tesbit edilebilenlerde, anne ve bebeğin sağlığının normal olduğu bildirilmiştir. Ayrıca SF ile 1:1024 titrede saptanan ve Ismunit EIA absorbans değerleri 1.000 - 2.223 olan anne ve bebeklerin sağlığının normal olduğu öğrenilmiştir.

Anne ve bebeğin serum örnekleri EIA pozitifliği açısından birbiriyle uyumlu bulunurken, değerlerdeki küçük farklılıkların serumların aynı anda test edilemeyeşinden kaynaklandığı kanısındayız. SF testinde anne ve bebekte titreler birbirinin aynı bulunmuştur.

IgG Ab'ları anneden fetus'a plasenta yoluyla geçebildiği için yeni doğanda saptanan IgG Ab'larının anneye ait olduğu kabul edilebilir, ancak yükselme olursa yada enaz 6 ay sabit kalırsa değer taşır. Bu nedenle IgG pozitif olan bebeklerin altı ay süreyle izlenmesinde yarar vardır. Çünkü bebek infekte ise, IgG titresi sabit kalır veya yükselir, eğer IgG ler anneye ait ise iki ve üçüncü aylarda belirlenemeyecek düzeye inmesi beklenir (5,23).

Dört anne ve dört bebeğe ait serum örneklerinde her iki testlede

Toxo Ab'una rastlanmamıştır. Bu hastalardaki düşük, ölü doğum, erken doğum nedenlerini Toxoplasma dışında düşünmek doğru olacaktır.

Tekrarlayan düşük ve ölü doğum olgularında Toxoplasmosis'in yeri tartışmalıdır (5).

Pedersen et al. (1977) çalışmalarında 96 habituel abortuslu, 61 sporadik abortuslu hasta ile, abortus anamnezi olmayan 59 kontrol grubunda pozitif titrasyon değerlerinin insidansı arasında önemli bir fark bulamamışlardır (41).

Bulgularımızda yer almayan ancak gözlediğimiz bir grup hastada TORCH testleri uygulanmış ve bunların bir kısmında Rubella, CMV, HSV pozitiflikleri saptanmıştır. Bu kişilerde düşüklerin nedenlerinin bunlara bağlı olabileceği söylenebilir.

Çalışmamızda; yakın geçmişte düşük, ölü doğum, anomalili doğum anamnezi veren bir grup hastada anti Toxo Ab'larının değişimini incelemek amacıyla, belirli periyotlarda serum örnekleri alınarak incelenmiştir. Takibe aldığımız bu hastalarda en az 2 hafta aralıkla alınan, en az 3 serum örneğinde olmak üzere yapılan EIA deneylerinde absorban değerlerinde önemli bir değişme gözlenmemiştir. EIA absorban değerlerindeki küçük farklılıklar serumların ayrı zamanlarda deneye alınmasıyla ilgili olabilir. Bu hastaların düzenli bir şekilde daha uzun süre kontrol edilememeleri nedeniyle Ab düzeyleri sağlıklı bir şekilde izlenmemiştir.

Gerek literatürlerden, gerekse çalışmalarımızdan çıkardığımız sonuçlara göre ELISA IgG ve IgM yüksek değerlerde bulunan hastalar yakın geçmişte Toxoplasma infeksiyonu geçiren ve düşük, ölü doğum anamnezi olan kişilerdi. Bunlardan bazılarında infeksiyonun başlamasından sonra uzun bir süre geçmiş olmasına rağmen, Ab titrelerindeki pozitifliğin uzun süredir yüksek kaldığı gözlenmiştir. Bu hastalarda yalancı pozitifliği ekarte etmek için, IgM pozitif olanların RF testine bakılmış

ve negatif bulunmuştur.

IgM pozitif olan üç hastanın sağlıklı doğum yaptığı Çocuk Kliniğinden öğrenilmiş, ancak bu hastaların bebeklerinden serum örneği elde edilemediğinden bebeklere test uygulanamamıştır.

Konishi et al. (1988) hamilelikleri sırasında anti Toxo IgM titresi pozitif olan kadınların sağlıklı doğum yaptıklarını, bebeğin sağlığında bir anormalliğin görülmediğini, dolayısıyla bu Ab'ların vücutta doğal olarak yükselen Ab'lar olduğunu ileri sürmüşlerdir (28).

Kuman'ın yaptığı bir çalışmada da daha önce ölü doğum yapan ve 2. hamileliğinde 1:2048 SF titresinde pozitiflik görülen bir hasta sağlıklı doğum yapmıştır.

Akut yada konjenital infeksiyonun başlangıcında Ag'lere cevap olarak önce IgM sınıfı Ab'lar görülmeye başlar, dolayısıyla hamilelerde ve yeni doğanın konjenital infeksiyonunun tanısında IgM sınıfı Ab'ları ölçen testler yararlıdır. Eğer IgG Ab'ünü gösteren testlerden biri kullanılıyorsa, bebek ve anne Ab düzeyleri eş zamanlı çalışılmalıdır (23,24,31). Anneden pasif yolla geçebilecek spesifik IgG Ab'ları da olabileceğinden, konjenital Toxoplasmosis'in tanısı yeni doğanda ancak IgM Ab'ları ile mümkündür. Akut dönemde IgM yanıtını en duyarlı ölçen yöntem IgM ELISA'dır (11,20,21,23,24).

Hastalığın başlamasından bir ile altı ay sonra IgM İFA 1:16 titrasyondan düşük çıkarken IgM ELISA'da 256 - 2048 u/ml gibi yüksek değerler bulunabilmiştir. Akut infeksiyonlarda SF titresi başlangıçta negatif bulunurken, bir süre sonra titrasyonlarda artış gözlenmiştir (5,32,33,35,41).

Toxoplasmosis'in tedavisi sadece akut safhada mümkündür, bunun için IgM sınıfı Ab'ları ölçen testler yararlıdır. Eğer akut safhada teşhis konursa, tedavi ile düşük ve ölü doğumları önlemek veya oranını azaltmak mümkündür.

Desmots akut safhada 183 kadından, tedavi görenlerin % 76'sının sağlıklı doğum yaptığını gözlemiştir. Tedavi görmeyenlerde ise bu oran % 44 bulunmuştur. Gebelerde ilk altı ay infeksiyon açısından önemli bir risk oluşturmaktadır (5,11).

Her serolojik testin teknik yönden birçok yetersizliklerinin olduğu ve insan biyolojisinden gelen birçok faktörün bu testleri olumsuz yönde etkileyebileceğini gözardı etmemek gereklidir.

Uyguladığımız 3 testlede düşük, erken doğum, ölü doğum ve anomali- li doğum yapan hastalarda, T. gondii Ab'larının varlığı normal doğum yapan kadınlara göre yüksek oranda bulunmuştur.

Sonuç olarak; çeşitli metodlar arasındaki uyumsuzluğun nedeni, farklı Ag kompozisyonlarından ileri gelmektedir. IgG veya total Immunoglobulin metodlarından elde edilen sonuçlar göstermiştir ki, bunların arasında iyi bir uyum olmasına rağmen enaz iki farklı metod taramalarda kullanılmalıdır.

ELISA IgM, son zamanlarda kazanılmış infeksiyonların tanımlanmasında duyarlı bir testtir, ancak bazan non spesifik reaksiyonlar verebilir. Bu nedenle aktif infeksiyonun tanısında IgM sonuçlarına dikkat etmek gereklidir. Bazı kişilerde kişisel Ab cevabı değişikliği nedeniyle, IgM pozitifliği saptanmayabilir, bazende IgM bir yıldan daha fazla yüksek titrede kalabilir.

IgM Ab düzeyi değerlendirilirkende, cut off civarındaki değerlerin tekrarlanması gereklidir. Ayrıca IgG Ab düzeyinin ilk örnekten enaz iki hafta sonra yüksekliğinin gözlenmesi gereklidir.

RF ve ANA taşıyan hastaların, immun suprese kişilerin ve konjenital infeksiyonlu yeni doğanların teşhisinde en duyarlı yöntemin DS-ELISA olduğu ileri sürülmektedir (8,10,27,28).

Yeni doğanlarda ve çocukta konjenital Toxoplasmosis'in teşhisinde,

özellikle spesifik IgM'lerin saptanmasının büyük değeri vardır. Böyle vakalar erken teşhis edilerek tedaviye alınmaz ise, dokularda daha sonra önlenmesi mümkün olmayan harabiyet gelişebilir (4).

## 6. SONUÇ

Bu çalışmada; düşük, ölü doğum ve anomalili doğum anamnezi veren riskli 307 hasta ile 63 kontrol grubunda Toksoplazmosis'in seropozitiflik oranı araştırılmış ve serolojik tanıda kullanılan EIA testleri (Ismunit EIA IgG, IgM ve Labsystem EIA IgG, IgM) ve SF testinin karşılaştırılması yapılmıştır.

1. Test sonuçları incelendiğinde, Ismunit EIA uygulanan 288 hastada % 47.9 oranında, Labsystem EIA uygulanan 84 hastada % 69.0, SF uygulanan 139 hastada % 56.8 oranında pozitiflik saptanmıştır.

2. Her üç testin birlikte uygulandığı 47 hastada ise pozitiflik oranları sırasıyla; Ismunit EIA'de % 61.7, Labsystem EIA'de % 76.6, SF testinde ise % 63.8 olarak belirlenmiştir. En yüksek pozitiflik oranı Labsystem EIA ile elde edilmiştir.

3. İki ayrı EIA testi karşılaştırıldığında, anti-Toxo-IgG değerleri her iki EIA'de de birbiriyle uyum göstermiş ve aynı oranda pozitiflik (% 56.4) saptanmıştır.

4. İki ayrı EIA testinin anti-Toxo-IgM sonuçları arasında bir uyum gözlenmemiştir. Ismunit EIA IgM'de % 20 oranında pozitiflik saptanırken, Labsystem EIA'de bu oran % 52.7 olarak belirlenmiştir.

5. Ismunit EIA testinin kontrol Ag'i içermesi nedeniyle özgül olmayan reaksiyonların ekarte edilebilmesi bu deneyi daha güvenilir hale getirmektedir. Diğer taraftan Labsystem ile elde edilen yüksek orandaki IgM pozitifliğinin anamnez, klinik ve diğer testlerle uyum göstermediği de gözlenmiştir.

6. Ismunit EIA ve SF testleri karşılıklı ele alındığında anti-Toxo-IgG'lerde % 51.8 oranında birlikte pozitiflik saptanırken, anti-Toxo-IgM'lerde bu oran % 8.2 gibi çok düşük oranlarda bulunmuştur.

Labsystem EIA ve SF karşılaştırılmasında ise, birlikte pozitiflik anti-Toxo-IgG'lerde % 55.3, anti-Toxo-IgM'de ise % 35.5 olarak bulunmuştur. EIA-IgM-SF karşılaştırılmasındaki bu düşük oranlar SF'nin total Ab ölçen bir deney oluşu ile açıklanmıştır.

7. Kontrol grubundaki 63 hastanın testleri tek tek ele alındığında Ismunit EIA uygulanan 63 hastada % 34.9, Labsystem EIA uygulanan 12 hastada % 58.3, SF testi uygulanan 24 hastada % 41.7 oranında pozitiflik saptanmıştır. Her üç deneyin birlikte uygulandığı 12 hastadaki pozitiflik oranları da bunlara paralellik göstermiş (sırasıyla % 33.3, % 58.3 ve % 41.7) ancak oranlarından da görüldüğü gibi deneyler arasında bir uyum belirlenememiştir.

8. Çalışmaya alınan hasta grubundaki pozitiflik oranları, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Yine de kontrol grubunda beklenenin üzerinde bir pozitiflik oranı saptanması, Toxoplasmosis'in toplumda yaygınlığını iyi bir şekilde ortaya koymuştur.

9. Hasta gruptan belirli aralıklarla test edilerek bir süre izlenen hamileler ve bebeklerinde Ismunit EIA ve SF testlerinin oldukça uyumlu sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

10. Bir grup hastada infeksiyonun başlamasından sonra Ab titrelerindeki pozitifliğin uzun süre yüksek kaldığı gözlenmiştir (Bazı olgularda tedavi uygulanmış olmasına rağmen).

11. EIA ile IgM pozitifliği saptanan hastaların RF testlerine de bakılmış ve negatif bulunmuştur.

12. Yakın geçmişte düşük, ölü doğum, anomalili doğum anamnezi veren bazı hastalarda EIA ile yüksek IgM pozitifliği saptanırken, SF ile düşük titrelerde pozitiflik ve hatta bazılarında negatiflik gözlenmiştir. Bu sonuç EIA IgM testinin akut olgularda ve doğal olarak konjenital Toxoplasmosis'te daha güvenilir bir yöntem olduğunu vurgulamaktadır.

13. Hem hasta grubunda, hem de kontrol grubunda anamnez ve klinikle uyumayan IgM pozitiflikleri saptanmıştır. Bizim sonuçlarımız ve kaynaklar bu tip olguların doğal olarak dolaşan total Ab'lara bağlı olabileceğini düşündürmüştür.

14. Sonuç olarak; Toksoplazmosis tanısında en yaygın yöntem serolojik testlerdir ve bunların içinde EIA ilk seçilecek deneylerden biridir. Özellikle özgül IgG ve IgM'nin çok duyarlı bir şekilde belirlenebilmesi nedeniyle, infeksiyonun devresi ve seyri hakkında fikir vermesi, tarama testi olarak uygulanabilirliği EIA'ı üstün kılmaktadır. Ancak EIA'ın iyi seçilmesi, dikkatli çalışılması, şüpheli değerlerin tekrar edilmesi gerekmektedir. Ayrıca Toksoplazmosis'in tanısında uygulanan serolojik testlerde farklı Ag kullanılması ve farklı Ab'ların ölçülmesi daha doğru bir tanı için en az iki deneyin birlikte uygulanma gereğini ortaya koymaktadır.

## K A Y N A K L A R D İ Z İ N İ

1. Altıntaş, K.: Hodgkin ve Non-Hodgkin lenfomalı vakalarda Toxoplasmosis insidansı. Mikrobiyoloji Bülteni, 17: 251-256, 1983.
2. Altıntaş, K.: Toxoplasmosis tanımında uygulanan başlıca yöntemlerin kalitatif ve kantitatif değerleri. İhtisas tezi. Ankara, 1973.
3. Altıntaş, K., Düzgün, N., Ata, A., Çerçi, H.: Toxoplasmosis'e karşı aşı uygulamasına temel deneysel araştırmalar. Doğa Bilim Dergisi, 9: 112-124, 1985.
4. Altıntaş, K.: Toxoplasmosis. Türkiye Klinikleri, 6: 87-91, 1986.
5. Atasü, T., Unat, E.: Toxoplasmosis ve gebelik, İstanbul, 1985.
6. Araujo, F.G., Remington, J.S.: Antigenemia in recently acquired acute Toxoplasmosis. J. Infect. Dis. 141: 2, 144-150, 1980.
7. Balfour, A.H., Fleck, D.G., Hughes, H.P., Sharp, D.: Comparative study of three tests (dye test, indirect haemagglutination test, latex agglutination test) for the detection of antibodies to T. gondii in human sera. J. Clin. Pathol. 35: 228-232, 1982.
8. Balsari, A., Poli, G., Molina, V.: ELISA for Toxoplasma antibody detection a comparison with other serodiagnostic test. J. Clin. Pathol. 33: 640-643, 1980.
9. Cantürk, H.: Doğurganlık yaşındaki kadınlarda Toxoplasma seropozitiflik oranının saptanması ve Toxoplasma ELISA-IgG, SF testi, Latex Agglutinasyon testlerinin kıyaslanması. Uzmanlık tesisi, Ankara, 1988.
10. Carlier, Y., Bout, D., Dessaint, J.P., Capran, A., Knapen, F.V., Ruitenbergh, E.J., Bergquist, R., Huldt, G.: Evaluation of the ELISA and other serological tests for the diagnosis of Toxoplasmosis. World Health Organization, 58: 99-105, 1980.
11. Desmonts, G., Noat, Y., Remington, J.S.: IgM-Immunesorbent Agglutination Assay for diagnosis of infectious diseases: Diagnosis of acute congenital and acquired Toxoplasma infections. J. Clin. Microbiol. 14: 5, 486-491, 1981.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

12. Desmouts, G., Remington, J.S.: Direct Agglutination test for diagnosis of Toxoplasma infection: Method for increasing sensitivity and specificity. J. Clin. Microbiol. 11: 5, 562-568, 1980.
13. Dubey, J.P.: Prevention of abortion and neonatal death due to Toxoplasmosis by vaccination of goats with the nonpathogenic *Coccidium Hammondia hammondii*. Am. J. Vet. Res. 42: 2155-2157, 1981.
14. El Fandi, R.: *T. gondii* serolojisinde SF ve ELISA-IgG testlerinin kıyaslanması ve yeni bir yöntem olarak Carbon Immuno Assay (CIA)'in uygulanması. İhtisas tesisi, Ankara, 1986.
15. Enguall, E., Perlmann, P.: ELISA Quantitative assay of IgG. Pergamon press, 8: 874-879, 1971.
16. Fisher, M.A., Luft, B.J.: Toxoplasmosis. Pediatrics Inf. Dis. 6: 1, 81-83, 1987.
17. Fletcher, S.: Indirect fluorescent antibody technique in the serology of *T. gondii*. J. Clin. Pathol. 18: 193-199, 1965.
18. Gülmezoğlu, A.M., Gülmezoğlu, E.: Toxoplasmosis tanısında serolojik testlerin değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni, 20: 4, 295-303, 1986.
19. Handman, E., Remington, J.S.: Serological and immunochemical characterization of monoclonal antibodies to *T. gondii*. Immunology, 40: 579-589, 1980.
20. Herbrink, P., Van Loon, A.M., Rotmans, J.P., Knapen, F., Willemien, C.D.: Interlaboratory evaluation of ELISA, antibody capture ELISA and Immunoblotting for detection of IgM antibodies to *T. gondii*. J. Clin. Microbiol 25: 100-105, 1987.
21. Harrison's: Principles of Internal Medicine. 9<sup>th</sup>. Edition, Tokyo, 879-885, 1980.
22. Hershey, D.W., Mc Gregor, J.A.: Low prevalence of Toxoplasma infection in a rocky mountain prenatal population. Obstetrics Gynecology, 70: 6, 1987.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

23. Howard, B.J.: Clinical and Pathogenic Microbiology. Washington, Toronto, 771-772, 1987.
24. Hoberich, P.D.: Infectious diseases. Third Edition. New York, 1133-1145, 1986.
25. Ismunit: Istituto immunologica Italiano. Rome, Italy.
26. Joss, A.W.L., Williams, L.J., Williamson, J., Williams, H.: ELISA in routine Toxoplasma diagnosis in Scotland. ARS Medici, Congress Series No.5: 15-21, Belgium, 1984.
27. Knapen, V.F., Panggabean, S.O.: Detection of circulating antigen during acute infections with T. gondii by ELISA. J. Clin. Microbiol, 6: 545-547, 1977.
28. Konishi, E.: A pregnant women with a high level of naturally occurring IgM antibodies to T. gondii. Am. Obstet. Gynecol. 21: 421-425, 1988.
29. Lab system - Solid phase EIA. Helsinki.
30. Lelong, M., Desmonts, G.: L'emploi du microscope a controsté de phase dans la réaction de SF compt. Rend. Soc. de Biol, 145: 1160-1164, 1951.
31. Lennette, E.H., Ballows, A., Hausler, W.J., Shadomy, H.J.: Manual of Clinical Microbiology. Fourth Edition. 622-624, Washington, 1985.
32. Lindenschmidt, E.G.: Demonstration of IgM class antibodies to T. gondii antigenic component p 35000 by ELISA. J. Clin. Microbiol, 24: 6, 1045-1049, 1986.
33. Loon, A.M., Loght, J.T.M., Heessen, W.A., Veen, V.: ELISA that uses labelled antigen for detection of IgM and a antibodies in Toxoplasmosis: Comparison with indirect immunofluorescence and IS-ELISA. J. Clin. Microbiol. 17: 997-1004, 1983.
34. Loon, A.M., Veen, J.V.: ELISA for quantitation of Toxoplasma antibodies in human sera. J. Clin. Pathol. 33: 635-639, 1980.
35. Mandel, G., Douglas, G., Bennet, J.: Infectious Diseases and their Etiologic agents. A Wiley Publications., New York, 1985.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

36. Merdivenci, A.: Medikal Protozooloji. İstanbul, 1981.
37. Noat, Y., Remington, J.S.: An ELISA for detection of IgM antibodies to *T. gondii*: Use for diagnosis of acute acquired Toxoplasmosis. *J. Infect. Dis.* 142: 5, 757-766, 1980.
38. Ordonez, G.A., Newman, J.T., Stone, M.J.: Serological diagnosis of *T. gondii* infections by rapid separation of serum IgM and IgG with CM Bio-Gel A. *J. Clin. Microbiol.* 16: 751-753, 1982.
39. Özcel, M.A., Sermet, İ.: Toxoplasmosis. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 3: 95-121, 1983.
40. Payne, R.A., Isaac, M., Francis, J.M.: ELISA using antibody class capture for the detection of anti *Toxoplasma* IgM. *J. Clin. Pathol.* 35: 892-896, 1982.
41. Pedersen, B.S., Lorentzen, A.M.: Uterine *Toxoplasma* infections and repeated abortions. *Am. J. Obst. Gyn.* 128: 716-721, 1977.
42. Potasman, I., Araujo, F.G., Thulliez, P., Desmots, G., Remington, J.S.: *T. gondii* antigens recognized by sequential samples of serum obtained from congenitally infected infants. *J. Clin. Microbiol.* 25: 1926-1931, 1987.
43. Potasman, I., Araujo, F.G., Desmots, G., Remington, J.S.: Analysis of *T. gondii* antigens recognized by human sera obtained before and after acute infection. *J. Infect. Dis.* 154: 650-657, 1986.
44. Remington, J.S., Araujo, F.G., Desmots, G.: Recognition of different *Toxoplasma* antigens by IgM and IgG antibodies in mothers and their congenitally infected newborns. *J. Infect. Dis.* 152: 1020-1025, 1985.
45. Remington, J.S., Miller, M.J., Brownlee, I.: IgM antibodies in acute Toxoplasmosis I. diagnostic significance in congenital cases and a method for their rapid demonstration. *Pediatrics*, 41: 1082-1091, 1968.
46. Remington, J.S., Desmots, G., Klein, J.O.: Infectious diseases of the fetus and newborn. Philadelphia, W.B. Saunders, 143-263, 1983.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

47. Rougier, D., Thomas, P.A.: Detection of Toxoplasmic immunity by multipuncture skin test with excretory-secretory antigen. *Lancet*, 20: 121-123, 1985.
48. Sabin, A.B., Feldman, H.A.: Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). *Science*, 108: 660-663, 1948.
49. Sarnıç, H.: Diyarbakır yöresinde Toxoplasmosis tanısında uygulanan yöntemlerin değerlendirilmesi. Doçentlik tezi, Diyarbakır, 1981.
50. Sarnıç, H.: Diyarbakır yöresinde hayvanlarda, hayvanlarla ilişkisi olan ve olmayan kişilerde *T. gondii* antikörlerinin araştırılması ve epidemiyolojik değerlendirilmesi. Doktora tezi, Diyarbakır, 1976.
51. Saygı, G., Altıntaş, K.: Düşük öykülü olguların serumlarının SF ve IHA ile taranması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 7: 1-2, 1984.
52. Shanks, G.D., Redfield, R.R., Fisher, G.W.: Toxoplasmosis. *Pediatric. Infec. Dis*, 6: 1, 1987.
53. Şaşmaz, E.: Toxoplasmosis'te kemoterapotik uygulamaları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, Sayı: 1-2, 1986.
54. Smith, S.B., Repetti, C.F.: Evoluation of a rapid screening immunoassay for antibodies to *T. gondii*. *J. Clin. Microbiol.* 25: 11, 1987.
55. Sulzer, A.J., Hall, E.C.: IFA tests for parasitic diseases IV. statistical study of variation in the IFA test for Toxoplasmosis. *Am. J. Epidemiology*, 86: 401-407, 1967.
56. Tomasi, J.P., Schlit, A.F., Stadtsbaeder, S.: Rapid IS-ELISA for detection of human IgM anti *T. gondii* antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 24: 849-850, 1986.
57. Tozzi, C., Persia, H., Pentimalli, C., Amici, R., Salvia, D.: Anti *Toxoplasma* IgG and IgM a comparison between classical serological methods and ELISA. *ARS Medici Congress Series*, 5: 31-39, 1984.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

58. Unat, E.K., Alyanak, N., Şahin, V.: Miliyar tüberküloz ile birlikte bulunan bir kahil Toxoplasmosis vakası hakkında, Kader Basım-  
evi, 1954.
59. Voller, A., Bidwell, D.E., Bartlett, A., Fleck, D.G., Perkins, M.,  
Oladehin, B.: A microplate ELISA for Toxoplasma antibody.  
J. Clin. Pathol, 29: 150-153, 1976.
60. Walls, K.W., Bullock, S.L., English, D.K.: Use of the ELISA and its  
microadaptation for the serodiagnosis of Toxoplasmosis. J.  
Clin. Microbiol. 5: 273-277, 1977.
61. Walton, B.C., Benchoff, B.M., Brooks, W.H.: Comparison of the IFA  
test and SF dye test for detection of antibodies. Am. J.  
Trop. Medicini, 15: 149-152, 1966.
62. Wielard, F., Gruijthuijsen, H., Duermayer, W., Joss, A.W.L., Skin-  
ner, L., Williams, H., Elven, E.H.: Diagnosis of acute Toxo-  
plasmosis by an EIA for spesific IgM antibodies, J. Clin.  
Microbiol. 17: 981-987, 1983.
63. Woodward, B.C.: Evoluation of ELISA spesific for human IgG as a  
screening test for detection anti Toxoplasma antibodies.  
J. Clin. Microbiol. 16: 367-372, 1982.
64. Williams, H.: Toxoplasmosis - A historical review. ARS Medici Cong-  
ress Series, 5: 3-8, 1984.
65. Yaşarol, Ş.: Toxoplasmosis. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 3: 9-22,  
1983.

## Ö Z G E Ç M İ Ş

1961 yılında Konya 'da doğdu. İlkokul, ortaokul, lise öğrenimlerini Konya 'da yaptı. Üniversite öğrenimini de yine Konya 'da, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümünde yaptı. 1983 yılında mezuniyetinden sonra, 1985 yılında Anadolu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Bilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başlayan Nihal DOĞAN 1986 yılında yine aynı Bilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başlamıştır.

