

Gebelikte Toxoplasmosis Tanısında Anti-*Toxoplasma gondii* Ig M, IgG, IgA Antikor ve IgG Avidite Testlerinin Birlikteliği ve Önemi

İ.Hakkı BAHAR¹, Meral KARAMAN¹, Sevin KIRDAR³, Özlem YILMAZ¹,
Murat CELİLOĞLU², Derya MUTLU⁴

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi ¹ Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı , ²Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, ³İnciraltı, İzmir, ⁴Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın, ⁵Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya

ÖZET: Gebelikte primer *Toxoplasma gondii* infeksiyonunun tanısında kullanılan özgül IgG, IgM ve IgA Enzim Immün Assay (EIA) testleri infeksiyonun erken ya da geç dönemde olduğunu belirlemede yetersiz kalabilmekte, bu nedenle primer infeksiyon zamanını belirlemede özgül IgG avidite testi de kullanılabilir. Çalışmamızda; gebelikleri nedeni ile TORCH grubu açısından taranan ve/veya geçirilmiş veya aktif toxoplasmosis infeksiyonu kuşkulu gebelerde, primer infeksiyonu belirlemede anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgA antikor varlığı ile özgül IgG avidite testinin birlikteliği ve önemini araştırmayı amaçladık. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinden Seroloji-İmmunoloji laboratuvarına toksoplasmozis kuşkusu ile gönderilen 52 gebenin serum örnekleri anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgA antikorları EIA (Cobas Core, Roche, Germany ve ETI-TOXOK-A, DiaSorin, Germany) yöntemi ile değerlendirildi. IgG olumluluğunun yanısıra IgM ve/veya IgA olumluluğu olan olgular anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite testine alındı. Anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite testi için EIA (*Toxoplasma* IgG Avidity EIA Well- RADIM, Italia) yöntemi kullanıldı. Anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgA olumsuz olarak saptanan 21 gebeye anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite testi uygulanmadı. IgM olumluluğunun sınırdaki ve yüksek IgG avidite ile uyumlu olduğu görüldü. Sınırdaki ve yüksek avidite oranları birlikte ele alındığında IgM ve IgA olumluluğu için bu oran %32.3; IgM olumlu, IgA olumsuzluğu için bu oran %29 olarak bulundu. Sonuç olarak gebelikteki aktif toxoplasmosis infeksiyonlarının tanısında anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite ve anti-*Toxoplasma gondii* IgM testlerinin birlikte uygulanmasının önemli olduğu ve Anti-*Toxoplasma gondii* IgA'nın varlığının sınırdaki ve yüksek avidite ile ilişkilendirilmede katkısının sınırlı olduğu saptandı.

Anahtar Sözcükler: *Toxoplasma gondii*, anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgA, IgG avidite, EIA, gebeler

The Importance and Validity of anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM, IgA Antibodies and IgG Avidity Tests in the Diagnosis of Toxoplasmosis Infection during Pregnancy

SUMMARY: Detection of specific IgG, IgM and IgA antibodies by enzyme immunoassay (EIA) tests are not always sufficient in the diagnosis of early and late *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. For this reason, the specific IgG avidity test should be used to detect primary toxoplasmosis infection. In this study, an investigation was made of the serological status of pregnant women who were suspected of having primary or late toxoplasmosis as well as the importance and relationship of specific anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM and IgA antibodies and specific IgG avidity in their sera. TORCH panels were also used for these patients. A total of 52 pregnant women who were admitted in the Dokuz Eylül University Gynecology and Obstetrics Clinic were included in this study. The sera were sent to the serology and immunology laboratory for investigation of the anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM and IgA antibodies by the EIA (Cobas Core, Roche, Germany and ETI-TOXOK-A, DiaSorin, Germany) technique. The anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidity test was performed on IgG as well as IgM and/or IgA in positive sera with the EIA (*Toxoplasma* IgG Avidity EIA Well- RADIM, Italia) technique. The anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidity test was not performed on sera from 21 pregnant women negative for anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM and IgA antibodies. Borderline and high IgM levels showed a good correlation with the IgG avidity results. The ratio for the IgM and IgA positivity was 32.3% and both the IgM positivity and IgA negativity were 29%. In conclusion, anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidity and anti-*Toxoplasma gondii* IgM antibody tests should be used together. However, positivity or high avidity of IgA was limited in the diagnosis of active toxoplasmosis infection of pregnant women.

Key words: *Toxoplasma gondii*, anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM and IgA, IgG avidity, EIA, pregnant women

GİRİŞ

Gebelikte *Toxoplasma gondii* ile akut enfeksiyon, fetusda doğumda ya da daha sonraki yaşamında düşük veya ağır bir hasarla belirlenen konjenital bir hastalık ile sonuçlanabilir (4, 5, 7). Enfeksiyonun laboratuvar tanısında *Toxoplasma gondii*'ye karşı oluşan IgG, IgM ve IgA antikorlarını belirleyen serolojik testler yaygın olarak kullanılmaktadır (4, 5). Bununla birlikte IgM tipi antikorlar aylarca hatta yıllarca varlığını sürdürebilmektedir (4, 7). Pozitif IgA testinin yanlış sonuçlara ve gereksiz sağaltıma neden olabileceği kanısı da giderek artmaktadır (1). Özgül IgM, IgG ve IgA Enzim Immün Assay (EIA) testlerinin enfeksiyonun erken ya da geç dönemde olduğunu belirlemede yetersiz kalabilmesi nedeniyle primer enfeksiyon zamanını saptamada özgül IgG avidite testi de kullanılabilir (7, 13).

Gebeliğinin ilk 24 haftasındaki bir gebede, düşük IgG titresi ile negatif IgM test sonucu *Toxoplasma gondii* ile enfeksiyonun döllenmeden önce kazanıldığını gösterir. Tek bir serum örneğinde pozitif IgM test sonucu yeni geçirilmiş bir enfeksiyonu, enfeksiyonun çok önceden geçirildiğini ya da yalancı pozitifliği gösterebilir. Bu sonuçların yanlış yorumlanması istenmeyen düşüklere, girişimlerle ve kronik bir enfeksiyonla sonuçlanabilir (10). Bu nedenle pozitif bir IgM testinin diğer özgül testlerle doğrulanması ya da enfeksiyonun erken ya da geç dönemde olduğunu belirlenmesi için IgG avidite testi yapılması vurgulanmaktadır (3, 8, 14, 15).

IgG avidite testi, özgül IgG'nin multivalan *Toxoplasma* antijenine bağlanma gücünü temel almaktadır. Bu bağlanmanın gücü önceleri düşük olup daha sonraki haftalarda ve aylarda artmaktadır. Üre gibi protein parçalayıcı reaktifler antijen-antikor kompleksini ayırmada kullanılmaktadır. Avidite sonuçları üre ile işlenen ve işlenmeyen örneklerdeki antikor titre eğrilerinin oranlarını kullanarak belirlenmektedir. Yüksek IgG avidite gebeliğin ilk 12 haftasında enfeksiyonun gestasyon döneminde geçirilmediğini en az dört ay önce geçirildiğini göstermektedir. Düşük IgG avidite ise akut enfeksiyon olabileceğini gösterebilir fakat kesin kanıt değildir. Çünkü, bazı bireyler enfeksiyondan sonra uzun süre persistan düşük IgG aviditesine sahiptir. Ayrıca, bir çok hastada sınırda veya yakın sonuçlarda alınabilmektedir (7, 10, 14). Bu nedenle serolojik panel testleri ile avidite testinin birlikte uygun bir şekilde kullanımının önemi Ashburn ve ark. tarafından bildirilmiştir. Avidite testi kesin sonuç vermede tek başına kullanılmamalıdır (14).

Çalışmamızda gebeliklerinin ilk trimesterinde TORCH grubu açısından taranan ve/veya geçirilmiş veya aktif toxoplasmosis enfeksiyonu kuşkulu gebelerde, primer enfeksiyonu belirlemede anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgA antikor varlığı ile özgül IgG avidite testinin birlikteliği ve önemi araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Örnekler: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinden Seroloji - İmmunoloji Laboratuvarına gebeliklerinin ilk trimesterinde TORCH grubu açısından taranan ve/veya geçirilmiş veya aktif toxoplasmosis enfeksiyonu kuşkusu ile gönderilen 52 gebenin ve kontrol grubu olarak 18 sağlıklı gebenin serum örnekleri çalışmaya alındı. Serum örnekleri alikotlanarak çalışılmaya kadar -20°C'de saklandı.

Serolojik Testler: Anti-*Toxoplasma gondii* IgG ve IgM antikorları (Cobas Core, Roche, Germany) ve anti-*Toxoplasma gondii* IgA antikorları (ETI-TOXOK-A reverse, DiaSorin, Italia) EIA yöntemi ile prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Anti-*Toxoplasma gondii* IgA açısından $40 \geq$ AU/ml ivegen faz, $10 \leq$ AU/ml olumsuz, 10-40 AU/ml arası akut veya geç toksoplazma enfeksiyonu olarak değerlendirildi.

IgG olumluluğunun yanı sıra IgM ve/veya IgA olumluluğu olan olgular anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite testine alındı. Anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite testi için EIA (*Toxoplasma* IgG Avidity EIA Well-RADIM, Italia) yöntemi prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Avidite yüzdesi %20'nin altı düşük avidite, %30'un üstü yüksek avidite, %20-30 arası sınır değer olarak değerlendirildi.

Anti-*Toxoplasma gondii* yönünden 18 sağlıklı gebenin serum örnekleri kontrol grubu olarak çalışıldı. Bu 18 gebe, Kadın Doğum Polikliniğine kontrol amacı ile başvurup rutin TORCH grubu çalışılan ve toxoplasma testleri negatif saptanan ilk trimesterlerindeki sağlıklı gebeler arasından rastgele seçildi.

Anti-*Toxoplasma gondii* IgM, IgG ve IgA olumlu olan grupta total IgA ve IgM antikor düzeyleri kantitatif olarak da nefelometrik (Behring, Nephelometer-Terminal) yöntem ile araştırıldı.

İstatistiksel Analiz: Verilerin istatistiksel analizinde güven aralığı 95/99 olarak incelendi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 52 serum örneğinin 14 (%26,9)'ü anti-*Toxoplasma gondii* IgM, IgG ve IgA olumlu; 13 (%25)'ü IgM ve IgG olumlu, IgA olumsuz; biri (%1,9) IgG olumlu, IgM ve IgA olumsuz, biri (%1,9) IgG ve IgA olumlu, IgM olumsuz, ikisi (%3,9) IgG ve IgA olumlu, IgM kuşkulu bulundu. Gebelerin 21 (%40,4)'inin serum örneğinde ise anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgA olumsuz olarak saptandı.

Anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite testi uygulanan 31 gebeden 9 (%29)'ü düşük aviditede, 8 (%25,8)'i sınırda ve 14 (%45,2)'ü yüksek aviditede bulundu. IgM olumluluğunun sınırda ve yüksek IgG avidite ile uyumlu olduğu görüldü. Sınırda ve yüksek avidite oranları birlikte ele alındığında IgM ve IgA olumluluğu için bu oran %32,3; IgM olumlu, IgA olumsuzluğu için bu oran %29 olarak saptandı. Çalışma grubunun *Toxoplasma gondii* antikor profili ve IgG avidite test sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışma grubunun *Toxoplasma gondii* antikor profili ve IgG avidite test sonuçları

<i>Anti-Toxoplasma gondii</i> antikor profili	<i>Anti-Toxoplasma gondii</i> IgG avidite						Toplam n
	Düşük Avidite (%20<)		Sınırdaki Avidite (%20-30)		Yüksek Avidite (>%30)		
	n	%	n	%	n	%	
IgG(+), IgM(+), IgA(+)	4	12.9	2	6.5	8	25.8	14
IgG(+), IgM(+), IgA(-)	4	12.9	5	16.1	4	12.9	13
IgG(+), IgM(-), IgA(-)	1	3.2	-	-	-	-	1
IgG(+), IgA(+), IgM(-)	-	-	-	-	1	3.2	1
IgG(+), IgA(+), IgM(±)	-	-	1	3.2	1	3.2	2
Toplam	9	29.0	8	25.8	14	45.2	31

Anti-Toxoplasma gondii IgG, IgM ve IgA olumsuz olarak saptanan 21 gebenin serum örneğine *anti-Toxoplasma gondii* IgG avidite testi uygulanmadı. Kadın Doğum Kliniği'ne başvuran 18 sağlıklı gebeyi içeren kontrol grubu *anti-Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgA antikorları olumsuz olarak bulundu.

Anti-Toxoplasma gondii IgM, IgG ve IgA olumlu olan grupta total IgA ve IgM antikor düzeyleri de kantitatif olarak nefelometrik (Behring, Nephelometer-Terminal) yöntem ile araştırıldı, normal değerlerde bulundu ve olumsuz olarak değerlendirildi.

TARTIŞMA

Toxoplazmosisli olguların büyük bir kısmı semptom olmaksızın bütün dünyada yaygın olarak görülmektedir. Semptomlu olgularda belirtilerin birçok hastalığı taklit etmesi ve değişik organlara ait tipik bulguların birlikte görülmemesi klinik tanıyı güçleştirmektedir (9, 12). Gebelik öncesi kişi seronegatif ise ilk trimestirda serokonversiyon olup olmadığı belirlenmeli ve belirli aralıklarla izlenmelidir (6).

Bu nedenlerle hastalığın tanısında serolojik yöntemler büyük önem taşımaktadır. Seropozitiflik durumunda antikorların gebelik öncesi kazanılan eski bir enfeksiyon olup olmadığını ya da yeni bir enfeksiyonun sonucunda ortaya çıkıp çıkmadığı belirlenmelidir (1).

Toxoplazmosis tanısında serolojik olarak özgül IgM ve IgG antikorlarının saptanması güncelliğini korumasına karşın, özgül IgM antikorlarının enfeksiyonun başlangıç döneminde saptanamaması da söz konusudur. Bununla birlikte teknik ilerlemeler; rezidüel özgül IgM'ler ya da ivergen enfeksiyonu olmayan bireylerde doğal interferans yapan IgM'lerin varlığı nedeniyle IgM belirleyici testlerin yetersiz olabildiğini göstermiştir. Ayrıca konjenital toxoplazmosisli çocuklarda ya da reaktivasyonlu bireylerde IgM antikorları yükselmeyebilir (3). Bu nedenle, tanıda enfeksiyonun başlangıcını belirleyici ek testlere gereksinim duyulmaktadır.

Toxoplasma gondii'ye karşı sıvısal immün yanıtla ilgili çalışmalarda IgM ve IgG ile birlikte yoğun bir IgA yanıtının da ortaya çıktığı gösterilmiştir. IgA antikorlarının serolojik testlerle gösterilmesinin edinsel ve konjenital toxoplazmosis tanısında yararlı olacağı, ayrıca IgA antikorlarının IgM antikorlarını tamamlayıcı bir gösterge olduğu düşünülmektedir (2, 9). Fetus ve yenidoğanda ivergen ve konjenital enfeksiyonun tanısında ise IgA testlerinin IgM antikor testlerine oranla duyarlılığının daha yüksek olması daha fazla avantaj sağlamaktadır. Buna karşın bazı hastalarda primer enfeksiyon sonrasında özgül IgA antikorları aylarca, özgül IgM antikorlarının yıllarca varlığını sürdürebilmesi nedeniyle enfeksiyonun zamanını belirlemede yetersiz kalmaktadır (1).

Enfeksiyonun zamanını belirlemede, *Toxoplasma gondii* IgM ve IgA antikorlarının saptanması, *Toxoplasma gondii* IgG antikorlarının aviditesinin belirlenmesi, ivergen faz özgül IgG avidite ölçümü ve "Dye testi" titre ölçümü gibi yöntemler kullanılır (5, 9). Logar ve arkadaşları (8) yaptıkları çalışmada gebelikte edinsel toxoplazmosisün geliştirilmiş tanısı için özgül IgG aviditesinin belirlenmesinin önemini bildirmişlerdir. *Toxoplasma gondii* IgG indirekt floresan antikor testi (IFA) ile özgül IgM ve IgA olumluluğunun birlikteliğinin yeni geçirilmekte olan enfeksiyon olarak değerlendirilmesi, aynı zamanda özgül IgG avidite ELISA testinin primer enfeksiyonun belirlenmesinde özellikle gebelerde uygulanmasının gerekliliği bildirilmiştir.

Özgül IgG antikorlarının fonksiyonel afinitesi, başlangıçta primer antijenik uyarımdan sonra düşük olup daha sonraki haftalarda ve aylarda antijenle uyarılmış B hücreleri nedeniyle artış göstermektedir (10, 14). Gebelikleri sırasında serokonversiyon gelişen gebe kadınlarda IgG avidite kinetik çalışmaları yüksek aviditeli test sonuçları olan kadınların en az üç veya beş ay süresince *Toxoplasma gondii* ile enfekte olduğunu göstermektedir. Düşük ya da sınırdaki aviditesi olan antikorlar ise bir yıldan daha uzun süre varolabildiği için yeni geçirilmiş bir enfeksiyonun tanısında güvenilir değildir. Avidite testi, yüksek aviditeli antikorları belirlemede yararlı

bir doğrulama testi olmasına karşın, düşük yada sınırda avidite testi sonuçları yanlış yorumlamaya açık olabilmesi nedeniyle tek başına doğrulayıcı test olarak kullanılmaması önerilmektedir (10).

Çalışmamızda anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite testi uygulanan 31 gebeden 9 (%29)'u düşük aviditede, 8 (%25,8)'i sınırda ve 14 (%45,2)'ü yüksek aviditede bulundu. Ülkemizde Tanyüksel ve arkadaşları (16) tarafından yapılan bir çalışmada da 104 serum örneğinin 51'inde (%49) yüksek IgG avidite ve ELISA IgG antikor düzeyi saptanmış olup bizim bulgularımızla uyumlu bulunmuştur. IgM ve IgA'nın birlikte olumlu saptandığı hasta grubu (%32,3) ile IgM olumlu, IgA olumsuz grupta (%29) sınırda ve yüksek IgG avidite, düşük aviditeye oranla daha fazla görüldü. IgA olumlu, IgM olumsuz bir hastada yüksek avidite, IgA ve IgM'nin olumsuz saptandığı bir hastada ise düşük avidite bulundu.

Sonuç olarak gebeliğinin ilk 16 haftasında aktif toxoplasmosis enfeksiyonlarının tanısında anti-*Toxoplasma gondii* IgM, IgG, IgA ve IgE testleri ile doğrulama testi olarak anti-*Toxoplasma gondii* IgG avidite testinin birlikte uygulanması gerektiği kanısına varılmıştır. Bu uygulama ile, antikor testleri ile çok sayıda yapılan izlemiden, amniyotik sıvıdan PCR testi uygulanmasından ve spiramisin ile gereksiz sağaltımdan kaçınılarak maliyetin azaltılabileceği, gebelerde çok sayıda test yapılmasından kaynaklanan sıkıntının yanısıra gereksiz düşüklerin de önlenilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Auer H, Möse AV, Picher O, Walochnik J, Aspöck H**, 2000. Clinical and diagnostic relevance of the *Toxoplasma* IgG avidity test in the serological surveillance of pregnant women in Austria. *Parasitol Res*, 86:965-970.
2. **Bahar İH, Kırdar S, Celiloğlu M, Karaman M, Yılmaz Ö**, 2003. Toxoplasmosis tanısında özgül IgA antikorlarının tanısal değeri. *T Parazitol Derg*, 27(3):165-169.
3. **Foudnier F, Chemia CM, Pinon J**, 1995. Value of specific immunoglobulin A detection by two immunocapture assays in the diagnosis of toxoplasmosis. *Eur J Microbiol Infect Dis*, 14(7):585-590.
4. **Esquivel CA, Sethi S, Janitschke K, Hahn H, Liesenfeld O**, 2002. Comparison of two commercially available avidity tests for *Toxoplasma*-specific IgG antibodies. *Arch Med Res*, 33:520-523.
5. **Jenum PA, Pedersen BS**, 1998. Development of specific immunoglobulins G, M, and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *J Clin Microbiol*, 36(10):2907-2913.
6. **Kaleli B, Kaleli İ, Aktan E, Akşit F**, 1997. Gebelerde toksoplazma IgG ve IgM seropozitifliği. *T Parazitol Derg*, 21(3): 241-243.
7. **Liesenfeld O, Montoya JG, Kinney S, Press C, Remington JS**, 2001. Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: Experience in a US reference laboratory. *J Infect Dis*, 183:1248-1253.
8. **Logar J, Novak-Antolic Z, Zore A**, 1998. Improved diagnosis of toxoplasmosis acquired during pregnancy by determination of specific IgG avidity. IX. International Congress of Parasitology, ICOPA IX, Chiba, Japan, 1259-1262.
9. **Montoya JG, Remington JS**, 2001. *Toxoplasma gondii*. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Fifth edition, Churchill Livingstone, Volume 2, Chapter 268, p.2858-2888.
10. **Montoya JG, Liesenfeld O, Kinney S, Press C, Remington JS**, 2002. Vidas test for avidity of *Toxoplasma*-IgG for confirmatory testing of pregnant women. *J Clin Microbiol*, 40(7):2504-2508.
11. **Montoya JG, Remington JS**, 1995. Studies on the serodiagnosis of toxoplasmic lymphadenitis. *Clin Infect Dis*, 20:781-789.
12. **Poyraz Ö, Özçelik S, Gökoğlu M**, 1993. Toxoplasmosis öntanımlı hastalarda bir yıllık *Toxoplasma gondii* IgG ve IgM bulguları. *T Parazitol Derg*, 17(1):24-27.
13. **Prince HE, Wilson M**, 2001. Simplified assay for measuring *Toxoplasma gondii* immunoglobulin G avidity. *Clin Diagn Lab Immunol*, 8(5):904-908.
14. **Remington JS, Thulliez P, Montoya JG**, 2004. Minireview: Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*, 42(3):941-945.
15. **Sobieszcanska B, Przondo-Mordarska A**, 2001. IgG toxo avidity in serodiagnosis of acute toxoplasmosis. 11th ECCMID, İstanbul, Turkey, 1-4 April, P1419.
16. **Tanyüksel M, Guney C, Araz E, Saracli MA, Doganci L**, 2004. Performance of the immunoglobulin G avidity and enzyme immunoassay IgG/IgM screening tests for differentiation of the clinical spectrum of toxoplasmosis. *J Microbiol*, 42(3):211-215.