

2002 Yılında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına Toxoplasmosis Araştırılması Amacıyla Başvuran Olguların Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

Senem YAMAN¹, Hatice ERTABAKLAR², Alper KAPDAĞLI¹, Sema ERTUĞ²

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı;
²Parazitoloji Bilim Dalı, Aydın

ÖZET: Bu çalışmada 2002 yılı içerisinde Adnan Menderes Üniversitesi Parazitoloji laboratuvarına başvuran 431 (%89) kadın, 52 (%11) erkek olmak üzere toplam 483 toxoplasmosis şüpheli olgu retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Olguların tamamında Dolaylı ELISA (ELISA) yöntemi ile *Toxoplasma gondii*'ye özgü IgG ve IgM antikorları ve 263'ünde IFA yöntemi ile IgG antikorları araştırılmıştır. ELISA yöntemi ile 483 olgunun 144 (%30)'ünde $\geq 1/256$ sulandırımında, IFA yöntemi ile 263 olgunun 79 (%30)'unda $\geq 1/16$ sulandırımında *Toxoplasma*'ya özgü IgG antikorları saptanmıştır. Olguların 18 (%2.6)'sında ELISA yöntemi ile *Toxoplasma*'ya özgü IgM antikorları $\geq 1/64$ sulandırımında tespit edilmiştir. Bu 18 olgunun birinde yakalama ELISA (Toxonostika IgM) ticari kiti ile *Toxoplasma*'ya özgü IgM antikorları saptanmıştır. Bulgularımızın Aydın ilindeki toxoplasmosis seroprevalansı ile ilgili ilk ön çalışma sonuçları olması nedeniyle önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, ELISA, IFA, Aydın

Retrospective Investigation of Patients with Suspected Toxoplasmosis Presenting at the Parasitology Laboratory of the Adnan Menderes University

SUMMARY: In this study, 483 patients who presented at the Parasitology Laboratory of the Adnan Menderes University of whom 431 (89%) were female and 52 (11%), male, were screened retrospectively for a possible diagnosis of toxoplasmosis. The presence of IgG and IgM anti *Toxoplasma gondii* antibodies were investigated in all of the patients using the indirect ELISA technique and IgG *Toxoplasma gondii* antibodies using the IFA technique in 263 of the patients. Out of 483 specimens, 144 (30%) were anti-*Toxoplasma* IgG positive with the ELISA technique at a titer of $\geq 1/256$ and out of 263 specimens, 79 (30%) were anti-*Toxoplasma* IgG positive with the IFA technique at a titer of $\geq 1/16$. It was found that out of 483 specimens, 18 (2.6%) were anti-*Toxoplasma* IgM ($\geq 1/64$) positive. Out of these 18 patients, one was found to be anti-*Toxoplasma* IgM positive with the Toxonostika IgM capture ELISA commercial method. Our findings are important due to the fact that it is the first screening of toxoplasmosis seroprevalence in Aydın.

Key words: *Toxoplasma gondii*, ELISA, IFA, Aydın

GİRİŞ

Hücre içine yerleşen *Toxoplasma gondii* (*T.gondii*), ilk kez 1908 yılında Nicolle ve Manceaux tarafından yabancı bir kemiriciden izole edilmiştir (2). *T.gondii* insan dahil hemen hemen tüm memelileri, kuşları infekte edebilmekte ve dünyanın her yerinde oluşturduğu enfeksiyonlar sıklıkla görülebilmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda serolojik testlerle *Toxoplasma*'ya özgü antikorların dünya nüfusunun üçte birinde rastlandığı bildirilmektedir (2).

İmmun sistemi sağlıklı kişilerin %90'ında toxoplasmosisin

asemptomatik olarak seyrettiği bilinmektedir. İmmun sistemi baskılanmış kişilerde ise uzun süre kontakta sessiz olarak kalan doku kistlerinin reaktif olması sonucu yaşamı tehdit edebilen enfeksiyonların oluşabildiği ifade edilmektedir (9).

Hamileliğinde *Toxoplasma* ile infekte olanların plasentasından fetusa parazitin geçmesi ile fetus ölümleri, fetusta hidrosefali, korioretinit, ensefalit, intra serebral kalsifikasyonlar gibi çok ciddi sağlık problemlerinin oluşabildiği belirtilmektedir (5, 14, 19).

Toxoplasmosis'in serolojik tanısında duyarlılığı ve özgüllüğü farklı Sabin Feldman dye testi, floresan antikor testi, indirekt hemaglutinasyon testi, kompleman birleşme testi ve ELISA yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır (4, 10, 13, 20, 21).

Geliş tarihi/Submission date: 14 Kasım/14 November 2003

Kabul tarihi/Accepted date: 28 Ocak/28 January 2004

Yazışma /Corresponding Author: Senem Yaman

Tel: (+90) (256) 212 00 20 Fax: (+90) (256) 214 83 95

E-mail: -

Çalışmada 2002 yılında çeşitli kliniklerden laboratuvarımıza gönderilen olgu kanlarının serumlarında *Toxoplasma*'ya özgü IgG ve IgM antikorları araştırılarak Aydın ilindeki toxoplasmosis seroprevalansı ile ilgili bilgi edinilmesi planlanmıştır. Ayrıca toxoplasmosisin serolojik tanısında birden fazla tanı yönteminin kullanılması önerildiğinden tanı amacıyla sık olarak kullanılan ELISA IgG ve IFAT IgG testlerinin birbirleri ile uyumlarının karşılaştırılmasının yapılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvar'ına 2002 yılında *Toxoplasma*'ya özgü antikorların araştırılması amacıyla gönderilen olgular çalışma kapsamına alınmıştır.

Toxoplasma'ya özgü antikor araştırılması amacıyla laboratuvara birden fazla kanı gönderilen olguların sadece ilk serolojik testlerinin sonuçları değerlendirmeye alınarak sonuçlardaki tekrarlar engellenmiştir.

Hasta kanları 3000 devir/dak'da 10 dak. santrifüj edilerek serumları ayrılmış ve serumlar çalışılincaya kadar -20°C'de saklanmıştır. ELISA yöntemi ile 483 olgu serumunda *Toxoplasma*'ya özgü IgG ve IgM antikorları, IFA yöntemi ile 263 olgu serumunda *Toxoplasma*'ya özgü IgG antikorları araştırılmıştır. Ayrıca ELISA yöntemi ile *Toxoplasma*'ya özgü IgM antikorları saptanan 18 olguda Toxonostika IgM ticari kiti ile *Toxoplasma*'ya özgü IgM antikorları araştırılmıştır.

Testlerde, çeşitli hazırlık aşamalarından geçirilerek antijen olarak kullanılan *Toxoplasma* trofozoitleri Ege Üniv.Tıp Fak. Parazitoloji Anabilim Dalı'ndaki laboratuvar farelerinden elde edilmiştir (6). ELISA IgG yönteminde $\geq 1/256$, ELISA IgM yönteminde $\geq 1/64$, IFAT testinde ise $\geq 1/16$ serum sulandırım- larındaki değerler pozitif olarak değerlendirmiştir (6, 16).

Toxonostika IgM II kiti ile üretici firmanın önerdiği çalışma prensiplerine uygun olarak çalışılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya toxoplasmosis araştırılması amacıyla laboratuvarımıza gönderilen 431 (%89)'i kadın, 52 (%11)'si erkek olmak üzere toplam 483 olgu serumu alınmıştır. ELISA yöntemi ile *Toxoplasma*'ya özgü IgG antikorları 483 olgunun 144 (%30)'ünde saptanmış olup, cinsiyete göre olguların ELISA yöntemi ile *Toxoplasma*'ya özgü IgG saptanma oranları tablo 1'de verilmiştir.

ELISA yöntemi ile parazite özgü IgG antikorları saptanan 144 olgunun sonuçlarının dağılımı tablo 2'de verilmiştir.

483 olgunun 18 (%2.6)'inde parazite özgü IgM antikorları ELISA yöntemi ile saptanmıştır. Ayrıca bu 18 olgunun serumlarında Toxonostika IgM ELISA kiti (Organon firmasının) ile *Toxoplasma*'ya özgü IgM antikorları araştırılmış ve bir olguda IgM antikorları saptanabilmiştir.

IFAT yöntemi ile parazite özgü IgG antikorları araştırılabilen 263 olgunun 79 (%30)'unda parazite özgü IgG antikorları saptanabilmiştir. IFAT yöntemi uygulanabilen olgu sonuçlarının ELISA yöntemi sonuçları ile karşılaştırılması tablo 3'de belirtilmiştir.

Tablo 1. Olgularda cinsiyete göre ELISA yöntemi ile *Toxoplasma*-IgG saptanma oranları

	Negatif	Pozitif
Erkek n=52	37 (%71)	15 (%29)
Kadın n=431	302 (%70)	129 (%30)
Toplam n=483	339 (%70)	144 (%30)

Tablo 2. *Toxoplasma*-IgG antikorları saptanan olguların ELISA sulandırım sonuçları

Olgu sayısı	ELISA sonuçları 1/titre				
	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
144	87 (%60.4)	30 (%20.8)	20 (%13.9)	6 (%4.2)	1 (%0.7)

Tablo 3. IFAT ve ELISA ile saptanan parazite özgü IgG antikor sulandırım oranlarının karşılaştırılması

IFAT sonuçları (sulandırım)	ELISA test sonuçları (sulandırım)					
	Neg	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
Neg n=184	181	3	-	-	-	-
1/16 n=25	-	22	3	-	-	-
1/64 n=33	-	24	6	3	-	-
1/128 n=12	-	1	7	4	-	-
1/256 n=9	-	-	1	4	3	1

TARTIŞMA

Toxoplasmosis seroprevalansının yaş ilerledikçe arttığı bilinmekle beraber coğrafik dağılımının çok değişken özellikler gösterdiği bildirilmektedir. Seroprevalans oranlarının birbirine yakın bölgelerde bile sosyoekonomik koşullara ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak çok büyük farklılıklar gösterebildiği bilinmektedir (18).

Yurdumuzda genellikle toxoplasmosis şüphesi ile laboratuvarlarına başvuran olgularda *Toxoplasma*'ya karşı oluşan IgG antikorlarının dağılımı ile ilgili veriler çeşitli araştırmacılar tarafından yayınlanmıştır (3, 12, 22, 23). Toxoplasmosis ön tanılı hastaların Kayseri'de %36.4'ünde (22) Manisa'da %30.84'ünde (12) Erzurum'da %24'ünde (23), Ankara'da %37'sinde (3) *Toxoplasma*'ya özgü IgG antikorları saptandığı bildirilmektedir. Çalışma sonuçları Aydın bölgesinde

toxoplasmosis seroprevalansını bildiren ilk çalışma olması nedeniyle daha önceki verilerle karşılaştırılmamıştır. Ancak ELISA yöntemi ile *Toxoplasma*'ya özgü IgG antikorlu olgularımızın %30'unda saptanmış ve Türkiye'de yapılmış diğer çalışma sonuçlarına yakın seroprevalans değerlerinin saptandığı belirlenmiştir.

Bazı araştırmacılar tarafından yurdumuzda toxoplasmosis seroprevalansı sahada yapılan çalışma sonuçları değerlendirilerek belirlenmeye çalışılmıştır. Bir çalışmada İzmir çevresinde yaşayanların %23.1'inde (1), diğer bir çalışmada ise Ege Bölgesi'nde %47.62 oranında *Toxoplasma*'ya özgü antikor saptanmıştır (17). Her iki çalışma aynı yörelerde yapılmasına karşılık farklı sonuçların alınmasının nedeninin seçilen grupların özelliklerine bağlı olabileceği kanaatine varılmıştır. Bu nedenle, Aydın ilinde çok aşamalı örnekleme yöntemi kullanılarak yapılacak çalışmalarla güvenilir seroprevalans değerlerinin belirlenmesinin gerektiğini düşünmekteyiz.

Günümüzde toxoplasmosis serolojik tanısında birçok yöntem kullanılmakta olup (1, 3, 6, 7), özellikle ELISA yönteminden yaygın olarak yararlanılmaktadır. ELISA testi uygulamasının kolay oluşu ve çok sayıda örneğin bir arada çalışılmasına olanak vermesi gibi bazı avantajlarından dolayı genellikle tercih edilmektedir (10, 15).

Bir çalışmada toxoplasmosis tanısında ELISA, IFA ve IHA testleri arasındaki uyumu araştırılmış ve %93 oranı ile en yüksek uyumun ELISA ve IFAT testleri arasında olduğu belirtilmiştir (6). Bir diğer çalışmada ise toxoplasmosis tanısında ELISA, IFA ve DA test sonuçları karşılaştırılmış ve testler arasında oldukça yüksek oranda bir uyumun bulunduğu ve en yüksek uyumun %96 oranı ile ELISA ile IFA testleri arasında olduğu görülmüştür (15). Bu çalışmada da iki test ile de çalışılabilen olguların üçünde ELISA ile 1/256 sulandırımında antikor yanıtı alınırken IFAT yöntemi ile antikor saptanamamış ve test sonuçlarının %98.4 oranında uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Akut toxoplasmosis tanısında parazite özgü IgM antikorlarının saptanabilmesi için rutinde sıklıkla kullanılan dolaylı ELISA yöntemleri dışında, yakalama ilkesine dayanan ELISA yöntemleri de kullanılmaktadır. Dolaylı ELISA yöntemlerinin duyarlılığı ve özgüllüğünün yakalama ilkesine dayanan ELISA yöntemlerinden düşük olduğu bildirilmektedir (8, 16). 5 ticari ELISA kiti ile parazite özgü IgM antikorları araştırıldığında Toxonostika IgM kitinin özgüllüğünün %100, duyarlılığının %79 olduğu belirlenmiş ve bu kit özgüllüğü en yüksek kit olarak değerlendirilmiştir (11). Ayrıca kit sonuçlarının karşılaştırılmasına dayanan benzer çalışmalarda da Toxonostika IgM ticari kiti ile güvenilir sonuçlar alındığı belirlenmiştir (8, 16). Çalışmamızda da dolaylı ELISA yöntemi ile antikor yanıtı alınan 18 olgu serumu Toxonostika IgM kiti ile tekrar çalışılmış ve bir olguda parazite özgü IgM antikorlu saptanmıştır.

Toxonostika IgM kiti ile antikor yanıtı saptanamayan 17 olgu hamileliğinin birinci trimestrisinde laboratuvarımıza toxoplasmosis araştırılması amacıyla gönderilen olgulardır. Bu olgular doğuma kadar iki ay aralarla serolojik olarak takip edilmiştir. Birinci trimestride alınan serolojik sonuçlarda 17 olgunun 10'unda IgG antikorları her iki yöntemle de saptanamamıştır. Diğer 7 olguda ise ELISA yöntemi ile 1/256, IFA yönteminde ise 1/16 serum sulandırımının da IgG antikorlu saptanmıştır. Bu 17 olguda IgM antikorlu ELISA yöntemi ile 1/64 serum sulandırımında saptanırken Toxonostika IgM ticari kiti ile antikor yanıtı saptanamamıştır. 17 olgunun serolojik yöntemlerle takiplerinde sonuçlarda değişiklik olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak olgular akut toxoplasmosis olarak değerlendirilmemiş ve ELISA IgM yöntemi ile alınan sonuçlar yalancı pozitif sonuçlar olarak yorumlanmıştır. Bu sonuçlara dayanarak *Toxoplasma*'ya özgü IgM antikorlu araştırıldığında test sonuçlarının tek kitle verilmemesinin ve sonuçlar uyumsuz olduğunda olguların serolojik yöntemlerle takip edilmesinin gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızın Aydın ilindeki toxoplasmosis seroprevalansını saptayacak daha kapsamlı çalışmalar için ışık tutucu ve ön bilgi sağlayıcı olacağını düşünmekteyiz. Ayrıca ilimizde öncelikle gebeler olmak üzere halka bu parazitin insan sağlığına olan etkileri ve korunma yolları hakkında sağlık eğitimi verilmesinin gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Altıntaş N, Yolasiğmaz A, Yazar S, Şakru N, Kitapçıoğlu G, 1998. İzmir ve Çevresindeki Yerleşim Bölgelerinde Yaşayan İnsanlarda *Toxoplasma* Antikorlarının Araştırılması. *T Parazitol Derg*, 22(3): 229-232.
2. Ashburn D, 1992. *History and General Epidemiology Human Toxoplasmosis*. Edit:Ho-Yen DO, Joss AWL, Oxford University Press.New York Chapter 1: 1-22.
3. Babür C, Kılıç S, Özkan AT, Esen B, 2002. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığında 1995-2000 Yılları Arasında Çalışılmış Sabin-Feldman Dye Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi. *T Parazitol Derg*, 26(2): 124-128.
4. Bilgehan H, 1995. Antijen-Antikor İlişkilerine Bağlı İnceleme Yöntemleri (serolojik yöntemler) *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. 2.Baskı. İzmir. Bölüm 10:205-285.
5. Chatterton JW, 1992. *Pregnancy. Human Toxoplasmosis*. Edit:Ho-Yen DO, Joss AWL. Oxford University Press.New York. Chapter 6: 144-183.
6. Ertuğ S, Üner A, Aksoy Ü, Gündüz C, Gürüz AY, 2000.Toxoplasmosis Tanısında ELISA, IFA ve IHA Teknikleri Arasındaki Uyumun Araştırılması. *T Parazitol Derg*, 24(1): 4-8.
7. Güngör Ç, Akarsu GA, Altıntaş K, 2001. Ankara'da Gebe Kadınlarda *Toxoplasma* IgG ve IgM Seropozitifliği. *T Parazitol Derg*, 25(2): 104-106.

8. **Gürüz AY, Dayangaç N, Korkmaz M**, 2002. Toxoplasmosis Tanısında "Yakalama" ELISA IgM Yönteminin Geliştirilmesi ve Ticari Kit ile Karşılaştırılması. *T Parazitol Derg*, 26(4): 342-346.
9. **Ho-Yen**, 1992. *Clinical features. Human toxoplasmosis*. Ho Yen DO, Joss AWL, Eds. Oxford University Press Chapter 3:56-76.
10. **Johanson JD, Holliman RE**, 1995. *Toxoplasmosis*. Edit: Gillespie SH, Hawkey PM. Medical Parasitology. A practical approach. Oxford university Press. Oxford. Chaptre 3:33-59.
11. **Joynson DHM, Payne RA, Balfour AH, Prestage ES, Fleck DG**, 1989. Five Commercial Enzyme Linked Immunosorbent Assay Kits for *Toxoplasma* Specific IgM Antibody. *J Clin Pathol*, 42:653-657.
12. **Kayran E, Yılmaz U, Öztan İ, Özbilgin A**, 2002. Manisa Yöresinde Toxoplasmosis Şüpheli Kişilerde *Toxoplasma gondii*'ye Karşı Oluşmuş IgG ve IgM Antikorlarının Dağılımı. *T Parazitol Derg*, 26(2):137-139.
13. **Kemeny DM**, 1991. *A practical quide to ELISA*. Pergamon press. New York. 1st Edi. p.1-97.
14. **Koppe JG, Loewer-Sieger DH, Roever Bonnet H**, 1986. *Results of 20 Year Follow-up Congenital Toxoplasmosis*. *Lancet*, i: 244-256.
15. **Kuman HA, Ertuğ S, Bayram S, Ertabaklar H**, 2000. *Toxoplasma gondii*'ye Karşı Oluşan Antikorların ELISA, IFA ve DA Testleri ile Karşılaştırmalı Değerlendirilmesi. *T Parazitol Derg*, 24(4): 333-336.
16. **Kuman HA, Ertuğ S, Özensoy S, Gürüz AY**, 1999. Akut Toxoplasmosis Tanısında Yararlanılmak Üzere Anti-Toxoplasmosis IgM Antikorlarının Çeşitli Ticari Kitlerle Araştırılması ve Kitlerin Değerlendirilmesi. *T Parazitol Derg*, 23(3): 227-232.
17. **Kuman HA, Ertuğ S, Uysalçı M, Dayangaç N, Türk M, Ertabaklar H, Bayam S, Sönmez G**, 2000. Türkiye'nin Bazı Bölgelerindeki Sıtma Savaş Birimlerinde Çalışanlarda Malaria, Kisthidatik ve *Toxoplasma gondii*'ye Karşı Oluşan Antikorların Araştırılması. *T Parazitol Derg*, 24(3): 249-254.
18. **Lynfield R, Guerina NG**, 1997. Toxoplasmosis. *Ped Rev*. 18(3): 75-83.
19. **Sever JL, Ellenberg JH, Ley AC, Madden DL, Fuccilo DA, Tzan NR, Edmonds DM**, 1988. Toxoplasmosis: Maternal and Pediatric Findings in 23.000 Pregnancies. *Pediatrics*, 82(2): 181-192.
20. **Thorburn H, Williams H**, 1972. A Stable Haemagglutinating Antigen for Detecting *Toxoplasma* Antibodies. *J Clin Pathol*, 25: 762-767
21. **Walton BC, Benchoff BM, Brooks WH**, 1966. Comparision of The Indirect Fluorescent Antibody Test and Methylene Blue Dye Test for Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. *Am J Trop Med Hyg*, 15(2): 149-152.
22. **Yazar S, Karagöz S, Altınoluk B, Kılıç H**, 2000. Toxoplasmosis Öntanılı Hastalarda *Anti-Toxoplasma gondii* Antikorlarının Araştırılması. *T Parazitol Derg*, 24(1): 14-16.
23. **Yiğit N, Aktaş AE, Uslu H, Aydın F, Babacan M**, 2000. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Gelen Toxoplasmosis Şüpheli Hasta Serumlarında *Toxoplasma gondii* Antikorlarının Araştırılması. *T Parazitol Derg*, 24(1): 22-24.