

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TOXOPLASMOZİS ÖN TANILI HASTALARDA ELISA,
IFAT, SF DENEYLERİNİN UYGULANMASI VE
ÇAPRAZ REAKSİYONLARIN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Uzman Hüseyin KILIÇ

TEZ YÖNETİCİSİ : Prof. Dr. İzzet ŞAHİN

KAYSERİ — 1990

**T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi**

KISALTMALAR

ELISA : Enzimle İşaretli Antikor Yöntemi

IFAT : İndirekt Flöresan Antikor Testi

SFDT : Sabin-Feldman Dye Testi

RF : Romatoid Faktör

ANA : Antinükleer Antikor

Ig : İmmünoglobulin

FITC : Fluorescein İsothiocyanate

KBD : Kompleman birleşme deneyi

IHAT : İndirekt Hemaglutinasyon Testi

FIS : Fosfat Tampon Solusyonu

T.gondii: Toxoplasma gondii

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
MATERYAL VE METOD	19
BULGULAR	29
TARTIŞMA VE SONUÇ	39
ÖZET	49
SUMMARY	51
KAYNAKLAR	53

GİRİŞ

Dünyada ve memleketimizde önemli sağlık problemlerinden biri sayılan Toxoplasmosis bir zoonoz'dur. Etkeni zorunlu hücre içi paraziti olan Toxoplasma gondii'dir. Güncelliği devam eden Toxoplasmosis'de klinik belirtilerin tanı için çok yetersiz olması, laboratuvar tanı yöntemlerinin büyük ölçüde değer kazanmasına neden olmuştur. Hastalık değişik kaynaklardan, değişik tarzlarda ve değişik yollarla bulaşır(36,69,70,71).

İnsanlar, T.gondii'nin trofozoitlerini, kedi dışkılarıyla çevreye yayılan ookistlerini veya enfekte çiğ etlerde bulunan kistozoitlerini alarak enfeksiyona yakalanmaktadırlar. Enfeksiyonun klinik semptomları özgül değildir. Sağlıklı kesin tanıya varmanın en güvenilir şekli etkenin izolasyonu olmakla beraber güçlük arzettiğinden tanıda en çok serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır(71,84,103,119).

Bu alışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na ve Gevher Nesibe Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na, Toxoplasmosis şüphesiyle gónderilen hasta serumlarında ELISA ile anti-toxoplasma IgM ve IgG antikolları araştırılıp, pozitif çıkan olgularda IFAT ve SFTI uygulanarak karşılaştırılması, ayrıca RF ve ANA apraz reaksiyonların varlığının araştırılması amaçlandı.



GENEL BİLGİLER

Toxoplasmosis'in etkeni olan *T.gondii* bulunduğu konağın doku, hücre ve vücut sıvılarında yaşayan zorunlu hücre içi paraziti olan bir protozoon'dur. İlk defa 1908 yılında Ch.Nicolle ve L.Manceaux tarafından Kuzey Afrika'da yaşayan *Ctenodactylus gondii* adı verilen bir kemiriciden izole edilmiştir. Bu iki araştırmacı parazite *Leishmania gondii* adını vermişler, 1909 yılında *Leishmania* olmadığını anlayarak, parazitin yay (Toxon) şeklinde görülmesi nedeniyle *Toxoplasma gondii* olarak isimlendirmişlerdir(13,111). Daha sonraki yıllarda çeşitli memleketlerde değişik türdeki yabani ve evcil hayvanlarda rastlanmıştır. Toxoplasmaları konağa göre adlandırma yolunu uygun bulan araştırmacılar *T. cuniculi*, *T.canis*, *T.columbae*, *T.caviae*, *T.colubri* gibi isimler bulmuşlardır. A.Castellani 1914'de *Toxoplasma pyrogenes*'i dalağı büyük bir çocuğun otopsisinde tarif etmiştir(13). Daha sonraki yıllarda morfolojik incelemeleri ve inokülasyon denemeleri dünyada tek bir *Toxoplasma* türünün bulunduğunu, ancak değişik suslarının virulans yönünden farklı

ve geniş bir canlı grubunu enfekte etme özelliğine sahip olduğunu ortaya koymuştur(2,7,77,79,115).

Ülkemizde Toxoplasmosis konusundaki çalışmalar ilk kez 1950 yılında Akçay ve arkadaşları tarafından, protozoona bir köpekte rastlanmasıyla başlamıştır. İnsanda ilk Toxoplasmosis olgusu Unat ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir(13,110,111).

Daha sonraki yıllarda dünyada ve memleketimizde bu hastalığın aydınlatılması için insan ve hayvanlarda allerjik ve serolojik yöntemlerle epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır(1,4-6,8,10,14-17,23-26,28-35,37-40,43,45,48,51,54-68,80,81,99,101,107,108).

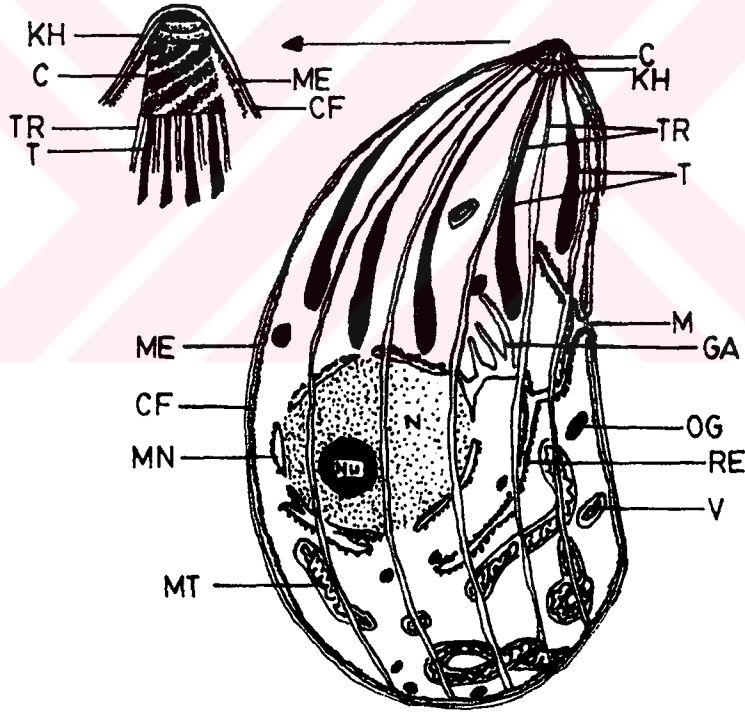
MORFOLOJİ

Toxoplasma gondii, Protozoa taksonomisinde aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır(13,47,119):

- "Şube Apicomplexa Levine,1970"
- "Sınıf Sporozoa Leuckart,1879"
- "Altsınıf Coccidia Leuckart,1879"
- "Takım Eucoccidiida Léger ve Duboscq,1910"
- "Alt Takım Eimeriina Léger,1911"
- "Aile Sarcocystidae Poche,1913"
- "Alt Aile Toxoplasmatinae Biocca,1950"
- "Cins Toxoplasma Nicolle ve Manceaux,1909"
- "Tür Toxoplasma gondii"

Toxoplasmosis etkeni olan *T.gondii*'nin trofozoit şekilleri; May-Grünwald-Giemsa ile boyanarak ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile incelendiğinde 3,5-7 mikron uzunluğunda ve 1,5-4.5 mikron eninde bir ucu yuvarlak diğer ucu sivri, çoğunlukla yarım ay şeklinde ve organizmin 1/3'ü büyüklüğünde olan çekirdeği yuvarlak kalın uca yakın olarak görülmektedir(2,52,69-71).

T.gondii'nin yapısı elektron mikroskopu ile incelendiğinde organeller yönünden oldukça zengin olduğu görülmüştür(49,77,119).



Şekil 1. *Toxoplasma gondii*'nin İnce Yapısı

C:Konoid (conoide), KH:Kutup halkası, TR: Radyal ve pelikül altı tübüler, T:Toksenem M:Mikrofil, GA:Golgi aygıtı, OG:Osmiyofil tanecik, ME:İki tabakalı dış zar, V:Vakuol MT:Mitokondri, MN:Çekirdek zarı, CF:Fibril altı tabaka, ME:İti tabakalı dış zar, NU: Nukleolus, N:Çekirdek

KONAK VE EVRİM

T.gondii'nin kesin konağı kedilerdir. Bu hayvanlarda iki türlü evrim geçirirler:

1. **Şizogonik Evrim:** Kediler, kendi dışkıları ile ookistleri, enfekte arakonakların etleriyle de bradizoit ve trofozoitleri alarak enfekte olurlar. Ookist, bradizoit ve trofozoitleri alan kedinin barsak epitel hücrelerinde şizogonik bir gelişme görülür. Parazit hücre içinde büyür, genç şizont oluşur. Şizont olgunlaşarak içinde 4-30 arasında merozoit meydana gelir. Her şizogoni sonunda oluşan merozoitler barsak epitel hücrelerine girerler ve şizogonik siklusu yeniden başlatırlar(47,77, 119).

2. **Sporogonik Evrim:** Şizogonik evrim sonunda oluşan merozoitlerin bir kısmı eşey ana hücrelerine (mikrogametosit ve makrogametosit) dönüşür. Makrogametosit olgunlaşarak makrogameti, mikrogametosit ise mikrogametleri meydana getirirler. Mikrogametlerin makrogametleri döllemeyle zigot meydana gelir. Zigottan ookistler meydana gelir. Bütün bu olaylar barsak epitel hücreleri içinde cereyan eder. Ookistler dışkıyla dışarı atılırlar(47,77,119).

Isı, nem ve oksijen gibi faktörler yönünden uygun olan çevre koşullarında ookist içinde iki sporoblast meydana gelir. Sporoblastlar içinde de uygun koşullarda 3-4 günde 8 tane sporozoit gelişir ve olgunlaşır. Son konak olan kedi tarafından ağız yoluyla enfeksiyon ve şizogoniyi, ara konaklar tarafından alındığında da enfeksiyonu başlatabilecek olgunluğa erişirler(77,110).

T.gondii'nin ara konakları, 200 kadar kuş türü ve insan da dahil bir çok memelidir. Bu ara konaklarda parazit çekirdeği, sitoplazması ve hücre zarı ikiye bölünerek mitotik bir çoğalma geçirir. Sonuçta parazitin süşuna ve konağın direncine bağılı olarak akut veya kronik bir enfeksiyon gelişebileceğı gibi sessiz bir enfeksiyon şeklinde de kalabilir(77,110,111).

T.gondii'nin değışik evrim şekillerinden, kimyasal maddelere, enzimlere ve çevre şartlarına karşı en dirençsiz olanı trofozoitlerdir. Bunlar fare periton sıvısında, sütte, idrarda, menide, vaginal sekresyonda, göz yaşında birkaç gün canlı kalabilirler. Kuruluğa ve donmaya karşı hassastırlar ve çabucak ölürler(13). % 5-10'luk gliserinli su içine konan trofozoitler -70 °C 'de 7 ay canlı kalabilirler. 55 °C 'de 5 dakikada, 37 °C 'de 4 günde, % 5 fenolde ve % 70'lik alkolde 10 dakikada, idrarda 4 °C 'de 3 saatte ölürler. Doku kistleri daha dirençlidirler ve 4 °C 'de 2 ay canlı kalabilirler, fizyolojik tuzlu suda 24 saatte ölürler. Pepsin 1.3 gram + NaCl 2.5 gram + HCl 3.5 ml + Distile su 500 ml olan bir ortamda trofozoitler birkaç dakikada öldüğü halde doku kistleri 3 saat canlı kalabilir. Ookistler oda sıcaklığına dayanaklıdır ancak, kaynama derecesinde çabucak ölürler. Ookistler sıvı ortamda, buzdolabında bir yıldan fazla canlı kalabilirler(13,110).

Zorunlu hücre içi paraziti olan T.gondii cansız besiyerlerinde üretilememektedir. Paraziti üretmek için laboratuvar hayvanları, tavuk embriyonu ve hücre kültürleri kullanılır(13,103,110,118).

T.gondii insanlara, konjenital olarak plasenta yoluyla, postnatal olarak kedi dışkılarıyla, hayvanlarla temasla, hastalığın akut döneminde enfekte hayvanların vücut sekresyonlarıyla (bunun akıntısı, salya, göz-yaşı, meni, süt, vaginal akıntı), kan transfüzyonuyla, organ transplantasyonu ve bazı eklem bacaklılarla bulaşmaktadır(27,49,61,62,70,119).

Toxoplasmosis'in İmmünolojisi

T.gondii'nin antiijenleri üzerine birçok araştırmalar yapılmasına rağmen, parazitin yalnız hücre içinde üremesi dolayısıyla konak antiijenlerinden ayrılamaması nedeniyle konu tam olarak aydınlatılamamıştır (46). T.gondii'nin 11 kadar antiijeni bulunduğu, bu antiijenlerin protein, glikoprotein ve lipopolisakkarit yapısında olduğu gösterilmiştir(13,46, 82-85). Hücre kültürlerinde üretilen parazitin ekzoantiijenlerinin varlığı da enzimle işaretli artıkor deneyi ile saptanmıştır. Bunların muhtemelen metabolizma ürünleri veya çoğalma sırasında serbest kalan antiijenler olduğu bildirilmektedir(13,46,78).

Toxoplasmosis'de IgG, IgM, IgA ve IgD sınıflarından antikorların oluştuğu bilinmektedir. Bu antikorların ortaya çıkarılması için çeşitli serolojik yöntemler kullanılmaktadır(4,13,65,75).

İmmüoglobulinler

Kan ve doku sıvılarında bulunan, antiijenik uyarılara karşı oluşan antikorlara immüoglobulin (Ig) denir. Serum proteinlerinin gamma globulin kesiminde bulunurlar. Total serum proteinlerinin % 1-2'si kadarını oluştururlar. İmmüoglobulinlerde ağır (H) ve hafif (L) zincirler vardır. H ve L polipeptid zincirleri disülfid bağlarıyla bağlanırlar.

H ve L zincirleri önce birleşerek antikor molekülünün, yarısını sonra iki yarım molekül birleşerek antikoru oluştururlar. Bir Ig molekülünde bir Fc (kristalize olabilen kısım) bölümü ve birbirinin aynı iki Fab (antijen bağlayan kısım) bölümü vardır(41,50).

İmmünoglobulinler IgG, IgM, IgA, IgD ve IgE olarak beş gruba ayrılırlar(41).

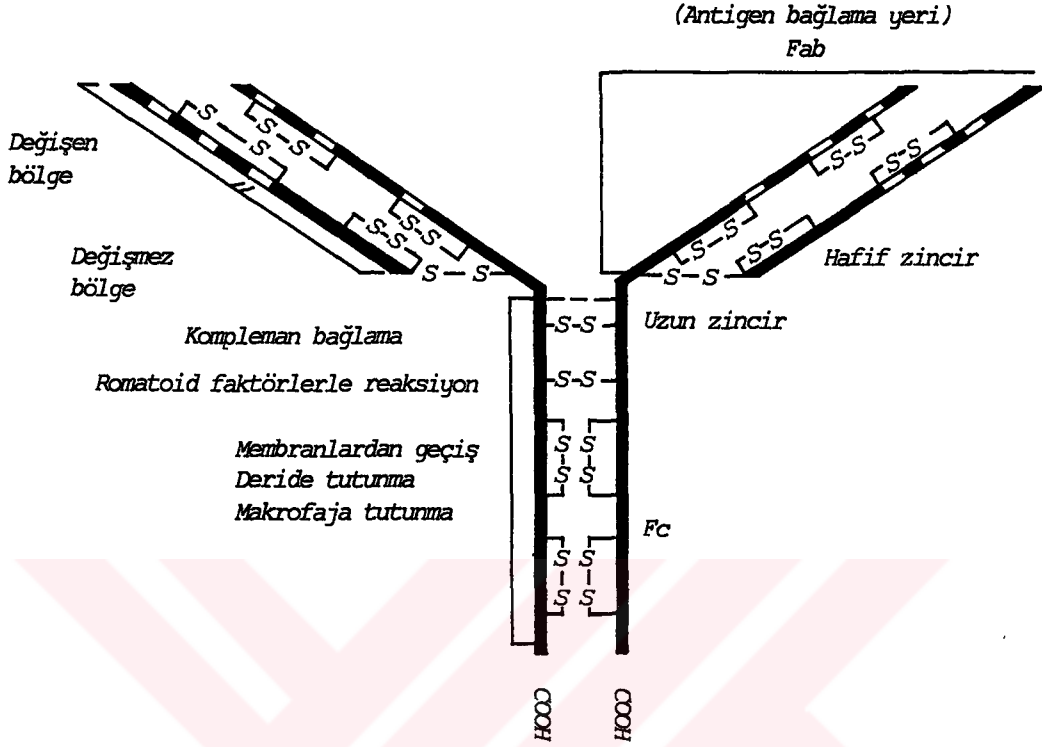
IgG bütün immünoglobulinlerin % 75'ini oluşturur, molekül ağırlığı 150.000'dir. Yetişkin insan serumunda ortalama 1200 mg/100 ml konsantrasyonda bulunur. Plasentadan geçen tek immünoglobulin olup, dört alt sınıfı (IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄)tesbit edilmiştir(41,50,52).

IgM tüm immünoglobulinlerin % 7'sini oluşturur, beş alt birimden oluşur. Molekül ağırlığı 970.000'dir. Yetişkin insan serumunda ortalama 160 mg/100 ml konsantrasyonda bulunur. Antijenik uyarıma karşı ilk sentezlenen immünoglobulin'dir(50).

IgA serum ve sekresyonlarda bulunur, serumdaki tüm Ig'lerin % 1-5'idir. Molekül ağırlığı 150.000'dir. Salgısal IgA gözyaşında, tükürükde, bronş salgılarında, mide barsak sıvılarında ve idrarda bulunur. Molekül ağırlığı 385.000'dir. Yetişkin insanların serumunda IgA ortalama 700 mg/100 ml konsantrasyonda bulunur(41).

IgD molekül ağırlığı 184.000'dür, yetişkin insan serumunda ortalama 3 mg/100 ml konsantrasyonda bulunur.

IgE molekül ağırlığı 190.000'dir. Yetişkin insan serumunda 0.01-0.07 mg/100 ml konsantrasyonda bulunur(50,52).



Şekil 2. IgG (50)

T.gondii antijenlerine karşı oluşan antikörlerin etkisiyle fagosite oldukları ve trofozoitlerinin dokulara çekilerek kist şekillerini oluşturdukları görülmektedir. Elektron mikroskopi ile yapılan çalışmalarda parazitin hücre içine girmesinin mekanik ve sekresyonik olayların sonucunda olduğu, girişin parazitin SÜŞUNA ve VİRULANSINA bağlı olarak meydana geldiği bildirilmiştir(2,6,12). Parazitin hücre içine girdikten sonra hücre stoplazması organelleriyle enzimatik bir alışveriş sonucu çoğaldığı ileri sürülmüştür(13,118).

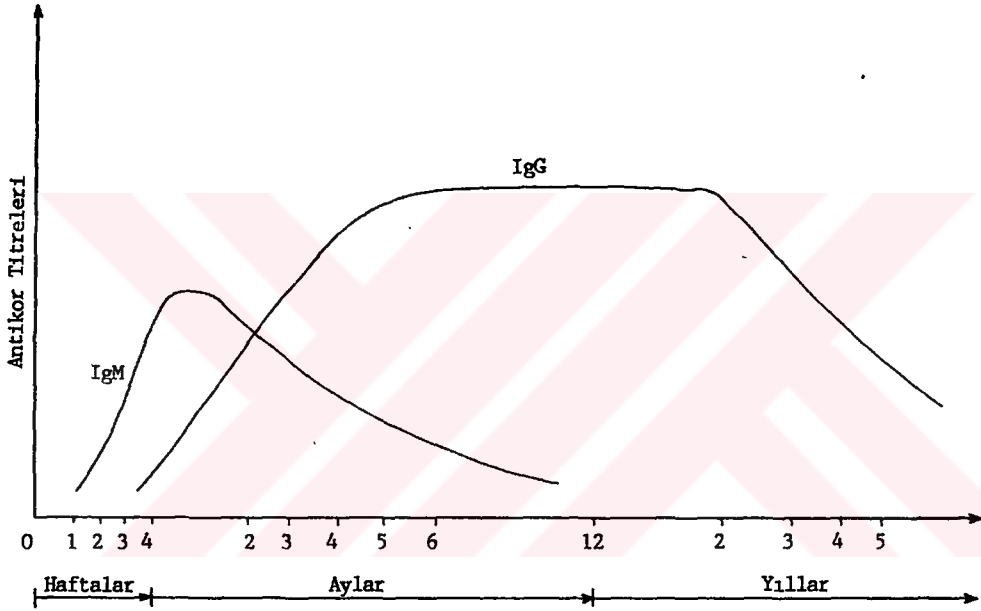
T.gondii'nin antijenik yapısı ve sekresyonları tarafından bilinçlenen T lenfositlerinin fagositoz yapan makrofajlara tutunarak onları aktive ettikleri, aktive olan makrofajların parazitleri yabancı cisim

olarak tanıdıktan sonra stoplazması içine aldığı ve onları öldürerek fagositozu tamamladıkları ifade edilmektedir(13,118). Makrofajların aktive olmadığı ve fagositozun tamamlanamadığı hallerde sentezlenen humoral antikorların etkisiyle parazitler kandan çekilirler, kandan çekilen bu parazitlerin konak organizmasında kas, epitel ve sinir hücrelerine girerek kist şekillerini oluşturdıkları bilinmektedir. Bu kist şekillerinin yerleştikleri organlara göre hangi düzeyde antikor oluşturabilecekleri tartışma konusudur. T.gondii'nin hastalık oluşturması süşun virulansı ve konağın bağışıklık mekanizması ile ilgilidir(2,6,13).

Genellikle parazitin hücre içinde çoğalması ile ortaya çıkan anti-jenlere cevap olarak önce IgM sınıfı antikorlar görülür. İki ile 6 ay arasında bu antikorlar negatifleşir, bazen de 1 yıl kalabilmektedir. Enfeksiyonun ilk haftasında oluşmaya başlayan IgM 4 üncü haftada maksimum düzeye erişir. Enfeksiyonun 3 üncü haftasından itibaren IgG antikorları yükselmeye başlar ve 6 ay ile 2 yılda maksimum düzeye ulaşır, sonra yıllarca vücutta bu antikorlar düşük titrelerde görülmektedir(2,9,13).

Enfeksiyonun meydana gelişinde, organizmanın direnci, etkenin virulansı ve miktarı önemlidir. T.gondii, vücut direncinin kırıldığı hal-lerde ağır hastalık yapan fırsat düşkünlü bir parazittir(2,7). Toxoplasmosis'de postnatal enfeksiyonun en önemlisi giriş kapısı ağız yoludur, parazitin ilk yerleştiği yer barsak epitel hücreleridir. Parazitin çoğalması sonucu bu hücreler parçalanınca serbest kalan trofozoitler komşu hücrelere girer, lenf ve kan yoluyla vücuda yayılır. T.gondii vücutta herhangi bir organa yerleşebilir ve çekirdekli her çeşit hücre için-

de çoğalabilir, monositler ve makrofajlar içinde canlı kalabilirler(2, 13,49).



Şekil 3. Toxoplasmosis'de IgM, IgG Düzeyleri(13).

Gerek postnatal ve gerek konjenital Toxoplazmozda, hücrelerin tahrip edilmesi hastalık tablosunda etkili olmaktadır. Doğumdan önce bulaşan toxoplazmozda gebelik sırasında amninin enfeksiyonu ilk kez alması çok önemlidir. Bu gibi gebelerde bir parazitemi olabileceği parazitlerden bazılarının fötüsün dolaşımına geçebileceği bilinmektedir(2,13,28, 33).

Toxoplasmosis'de; abortus, ölü doğum, erken doğum, hidrosefali, intra serebral kalsifikasyonlar, neonatal sekeller, ensefalit, korioretinit, üveit, lenf adenit, myokardit, myozit, ateş, deri belirtileri ve doğumu takiben çocukların hastalanmaları gibi semptomlar görülür(2, 49,52,70,94,102).

TANI

Toxoplasmosis, birçok enfeksiyon hastalığı ve diğer hastalıklarla karışabilmektedir, bunlar; Kızamıkçık, Sitomegali inklüzyon hastalığı, Herpes simpleks enfeksiyonu, Sifiliz, Tüberküloz, Histoplazmosis, Sarkoidoz, Enfeksiyöz mononükleozis, Hepatit, Pnömoni, Myokardit, Polymyosit, Üveit gibi diğer enfeksiyon hastalıkları ile bazı lenfomalar sayılabilmektedir(2,13,49,119).

I. Direkt Tanı Yöntemi

Toxoplasmosis'in kesin tanısı, kanda, beyin omurilik sıvısında, derideki lezyonda, lenf düğümlerinin ve kemik iliğinin ponksiyonu ile elde edilen numunede, balgamda, idrarda, plasentada ve biyopsi için alınan lenf düğümü ve iskelet kası muayene maddelerinde parazitin görülmesi ile konur(13,71). Ayrıca bu materyallerin deney hayvanlarına inokülasyonu ile de kesin tanıya gidilebilir(25,46,52).

II. İndirekt Tanı Yöntemi

İndirekt yöntemler ise, organizmada Toxoplasmosis'e karşı meydana gelen antikörlerin ve duyarlılığın ortaya çıkarılması esasına dayanan allerjik ve serolojik yöntemlerdir.

Toxoplasmosis'in serodiagnozunda aşağıdaki serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır(2,9,42,84,86,92).

1. Sabin-Feldman Dye Test
2. Kompleman Birleşme Deneyi
3. İndirekt Flöresan Antikor Testi
4. İndirekt Hemaglutinasyon Testi
5. Deri Testi
6. Presipitasyon Testi
7. Direkt Aglutinasyon Testi
8. Flokülasyon Testi
9. Enzimle İşaretli Antikor-Testi

Çalışmamızda Kullanılan Serolojik Testler ve Özellikleri

1. **Sabin-Feldman Boya Testi:** Toxoplasmosis'de antikor tayinini belirten ilk yöntemlerdendir. T.gondii ile enfekte edilmiş farelerin periton sıvılarından elde edilmiş olan parazitler normal insan serumu ile 37 °C 'de 1 saat enkübe edildiğinde organizmler şişmekte ve alkali metilen mavisi ile koyu maviye boyanmaktadır. Dolayısıyla testin negatif olduğu anlaşılmaktadır. Eğer parazitler antikor içeren serumla aynı şartlarda enkübe edilirse boya tutmamakta, testin pozitif olduğu anlaşılmaktadır(9,10,11).

T.gondii enfeksiyonunda 1-3 hafta sonra Sabin-Feldman boya deneyini oluşturan antikorların yükseldiğı, 6-8 haftada en yüksek seviyeye ulaştığı ve uzun süre kanda kaldığı gösterilmiştir(9). Boya testinin

kan transfüzyonundan sonra yalancı pozitiflik gösterebildiği bildirilmektedir(13).

Sabin-Feldman deneyinin duyarlılığı ve parazite spesifikliğı yüksek olduğu kadar birçok yetersizlikleri de bildirilmektedir(13). Test IgG ya da IgM cinsinden antikorları ayırt edemez, enfeksiyonun akut ya da kronik olduğu fikrini veremez, subjektif bir testtir, boyanın ne kadar tutulduğuna göre karar verilmektedir(9,13).

2. İndirekt Flöresan Antikor Tekniğı (IFAT): Bu yöntemde T.gondii'nin trofozoit antijenleri kullanılır. IFAT'ın Toxoplasmosis tanısında kullanılması, Özcel'in bildirdiğine göre Goldman'ın 1956 yılında çalışmasıyla başlamıştır(85).

IFA testinin özgülüğü boya deneyine eşdeğerse de yanlış pozitif verme ihtimalinin özellikle antinükleer antikorların varlığında, romatizmal hastalıklarda ve romatoid faktörün pozitif olduğu hastalarda yüksek olduğu bildirilmektedir(3,13,26). Bu yöntemde antikorlar infeksiyondan sonra 1-2 haftada belirir ve 6-8 haftada titrenin 1:1000'inin üstüne çıktığı, aylarca hatta yıllarca yüksek kaldığı bildirilmektedir (13,42,53).

3. ELISA: Badur'un(19) bildirdiğine göre 1972 yılında Carlsson ve arkadaşları salmonella enfeksiyonlarında antikor titresini göstermek amacıyla ELISA'yı uygulamışlardır.

Altıntaş'a(9) göre Voller ve arkadaşları 1976 yılında Toxoplasmosis'in serolojik tanısında ELISA'yı uygulayarak, diğer serolojik yöntemlerden çok daha hassas olduğunu bildirmişlerdir. Enzimle işaretlen-

miş antiglobulin kullanılarak antikorların arandığı bu teknikte, Toxoplasmosis'e bağlı olarak oluşan antikorların gösterilmesi, hastalığın takibi ve Toxoplasmosis'e bağlı konjenital olguların saptanması yönünden önem taşımakta olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir(9,13,42,89,116).

ELISA ile analizi yapılan numunelerde spesifik IgG fazlalığının yalancı negatifliğe, romatoid faktörün ise yalancı pozitifliğe neden olduğu ve antinükleer antikorların nonspesifik bağlanmalarda rolü olduğu bildirilmektedir(20-22).

ELISA'da kullanılan ve deneyin duyarlılığında rol oynayan en önemli maddeler, katı faz, konjugat, enzim ve substrat'tır. Bu maddelerin özellikleri hakkında çeşitli araştırmalar yapılmıştır. ELISA'da tek bir enzim molekülü çok sayıda substrat molekülü ile reaksiyona girerek tespit edilebilir miktarda renkli parçalanma ürünleri oluşturur. ELISA'nın sonuçları katı faz üzerinde meydana gelen antijen-antikor kompleksine bağlanan konjugatın taşıdığı enzim miktarının belirlenmesi ile tespit edilir ve oluşan substrat ürünlerine göre değerlendirme yapılır (19).

ELISA'da her ne kadar total antikorların tespit edilmesinde başarılı sonuçlar alınmakta ise de, serumda yüksek konsantrasyonda bulunan özgül IgG'ler ve özellikle IgM sınıfı romatoid faktörün hatalı sonuçlara yol açtığı bildirilmektedir(20,113). IgM'lerle birlikte serumda bulunan yüksek konsantrasyondaki IgG'lerin katı fazdaki antijene öncelikle bağlanması ile işaretli antijen IgM'lerin reaksiyona girmemesi sonucu yalancı negatifliğin olduğu bildirilmektedir(21). IgG'lerin

absorblanması bir çözüm olarak önerilmişse de, IgG₃ altı sınıfının bertaraf edilemediği bilinmektedir(19,21).

IgM sınıfı romatoid faktörün de yalancı sonuçlara neden olduğu bildirilmektedir(21). IgM-RF anti-IgG özelliğine sahip olup serumda özgül IgM antikorlarının bulunmadığı sadece IgG'lerin bulunduğu durumlarda katı fazdaki antijen IgG'ler ile birleşmektedir. Eğer serumda IgM-RF varsa bu madde anti-IgG özelliği nedeniyle, IgG aracılığı ile katı faza bağlamakta ve ortama eklenen işaretli anti-IgM konjugatları ile birleşerek yalancı pozitifliğe neden olduğu bildirilmektedir(21,91)

İndirekt yöntemlerde, RF'ün neden olabileceği yanılgıları önlemek için serumdaki spesifik IgG'lerin ya da RF'ün ortamdaki uzaklaştırılması gerekir. Spesifik IgG'lerin protein A veya anti-IgG kullanımı ile absorblanması sonucu yalancı pozitifliğin önlenebileceği bildirilmiştir (20). RF absorbant adı verilen anti-IgG'lerden oluşan reaktifle RF'ün neden olacağı yalancı pozitifliğin ortadan kaldırılabilmesi bildirilmektedir(20). Badur'a göre(22) Bucens ve ark. IgA sınıfı RF'ün de hatalara yol açabileceğini, Naot ve arkadaşları ise (73) RF'ün antinükleer antikorlar ile birlikte rol oynayabileceğini bildirmektedirler.

Katı faz anti-IgM tekniğini kullanan araştırmacılar ise, RF'ün IgG moleküllerinin sadece Fc kısımları ile birleşmesi nedeniyle konjugat olarak işaretli antikor yerine, işaretli F(ab)₂ kullanımının yalancı pozitifliği ortadan kaldıracağını savunmaktadırlar(70,113). Badur'a(22) göre Briantais ELISA çalışmasında katı fazın anti-IgM antikorları yerine bu antikorların Fab₂ kısmı ile kaplanması ve konjugat olarak işa-

retli Fab₂ kullanımının RF ile ilgili sorunları ortadan kaldıracabileceğini bildirmektedir.

Romatoid faktör serumun makroglobulin bölümünde bulunan ve insan IgG'sine karşı oluşmuş IgM, IgG veya IgA tipi otoantikordur. Serolojik sistemde 7S IgG ile reaksiyon vermektedir. Normal değeri serumda < 1:20'dir. Pozitif olduğu durumlar romatizmal hastalıklar ve romatoid artrit, infeksiyöz mononükleoz, akut iltihaplardır(117).

Antinükleer antikordur normal kişilerde bulunmaz özellikle sistemik lupus eritematozus (SLE) da diğer kollagen doku hastalıklarında, ayrıca romatoid artrit, skleroderma, infeksiyöz mononükleoz, hepatit, siröz gibi hastalıklarda pozitifleşebilir(117).

Otoimmün hastalıkların tanısında gösterilebilen antinükleer antikordur çok çeşitli doku ve hücelere karşı oluşmaktadır. Antinükleer antikordur gösterilmesi için en çok kullanılan yöntemlerden biri immünoflüoresans tekniğidir(44). Antinükleer antikordur hücrelerin çekirdek maddelerine karşı oluşmuş antikordur içerir. Antinükleer antikordur, Deoksiribonükleik asit, nükleoprotein ve hücre çekirdiği elementlerine karşı otoantikordur tümü antinükleer antikordur olarak isimlendirilir(117).

MATERYAL VE METOD

A. SERUMLAR

Bu alışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na ve Gevher Nesibe Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nden, ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'nden, Göz Kliniği ve diğer kliniklerden Toxoplasmosis şüphesiyle gönderilen serumlar ile, çoğunlukla İç Hastalıkları Kliniği ve Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Klinikleri'nden romatoid faktör ve antinükleer antikor çalışılması için gönderilen hasta serumları kullanıldı. Alınan hasta kanlarının serumları 1500 devir/dakika (dv/dk) santrifüj edilerek ayrıldı. Teste tabi tutulana kadar -20 'de muhafaza edildi.

B. ANTİJENLER

a. İndirekt flöresan antijeni, Ege Üniversitesi ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakülteleri Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarından temin edildi.

b. Fluorescein isothiocyanate'le (FITC) işaretli antihuman globulin Behringwerke firmasından temin edildi.

C. KİTLER

1. ELISA kitleri, Toxonostika IgM ve Toxonostika IgG Organon Teknika'dan temin edildi.

2. ANA kiti, Fluoraset Antinükleer Antikor, Ortho Diagnostic System'den temin edildi.

3. Romatoid faktör-Latex aglutinasyon kiti, Cromatest Laboratuvarından temin edildi.

YÖNTEM

A. IgG ELISA

I. Testin Hazırlanması

1. Kit kullanıma başlamadan önce +4 °C'den çıkartılarak oda ısısına (20-25 °C'de) bırakılıp 10-15 dakika beklenildi.

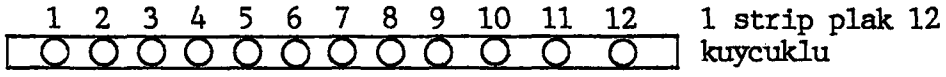
2. Konsantre fosfat tampon solüsyonu Distile su ile 1:25 oranında seyreltilerek hazırlandı.

3. Negatif ve pozitif kontrol serumlarının fosfat tampon solüsyonu ile 1:10'luk dilusyonları yapıldı.

4. Hasta serumlarının da FTS ile 1:101'lik dilüsyonu yapıldı.

5. Bir tablet üre peroksit 10 mililitre (ml) distile su içinde eritildi. Bu solüsyondan 1 ml alındı, 10 ml sübstrat solüsyonuna ilave edildi. Bu solüsyon stok peroksit/sübstrat solüsyonu olarak kullanıldı.

II. Testin Uygulanması



1. Katı yüzeyde absorblandırılmış Toxoplasma antijeni ihtiva eden kuyucuklara, sulandırılmış olan kontrol serumlarından ve hasta serumlarından 100'er mikrolitre (μ l) konuldu. 37 °C'de 1 saat enkübasyona bırakıldı.

2. Enkübasyon bitiminde, otomatik yıkama cihazında her bir kuyucuğa 300 μ l fosfat tampon solüsyonu konuldu ve 30 saniye beklenildi, aspire edildi, daha sonra bu işlem üç kez yapıldı. Yıkama bitiminde strip kurutma kağıdı üzerine ters çevrilerek bırakıldı. Yıkama solüsyonu artıklarının kalmamasına dikkat edildi.

3. Horseradish peroksidaz (HRP)'la işaretli Anti-human IgG konjugatı bulunan 1 ampul içine 1.4 ml FTS konuldu ve süspansiyonu hazırlandı. Bu konjugattan bütün kuyucuklara 100'er μ l konuldu. 37 °C'de 60 dakika enkübasyona bırakıldı. Enkübasyon bitimine 10 dakika kala substrat solüsyonu hazırlandı: Yukarıda önceden hazırlanmış olan peroksit/sübstrat solüsyonundan 0.5 ml alınarak üzerine 5 ml distile su ilave edildi. Bunun üzerine de Tetrametil benzidine (TMB)'den 100 mikrolitre (μ l) ilave edildi.

4. Enkübasyon bitiminde, içine yıkama solüsyonu konan otomatik cihazda 4 kez yıkandı ve kurutma kağıdı üzerinde kurutuldu.

5. Hazırlanmış olan substrat solüsyonundan bütün kuyucuklara 100'er µl konuldu ve 30 dk 20-25 °C 'de enkübe edildi.

6. Enkübasyon tamamlanınca, üzerlerine reaksiyon durdurucu 2 M H₂SO₄ 'den 100'er µl eklendi.

7. 450 nanometre (nm) filtre ile EL 309 Biotek enzim spektrofotometre cihazında absorbansları alındı.

Değerlendirme:

1. Negatif kontrol serum absorbansı (Nabs)

2. Pozitif kontrol serum absorbansı (Pabs)

$$\text{Cut-off değeri} = \frac{\text{Nabs} + \text{Pabs}}{2}$$

Hasta serumu absorbansı \geq Cut-off değeri ise pozitif, hasta serumu absorbansı $<$ Cut-off değeri ise negatif kabul edildi.

B. IgM ELISA

I. Testin Hazırlanması

1. Kit kullanıma başlamadan önce +4 °C'den çıkartılarak oda ısısına (20-25 °C) bırakılıp 10-15 dakika beklenildi.

2. Fosfat tampon solüsyonunun distile su ile 1:25 oranında dilüsyonu yapıldı.

3. Negatif ve pozitif kontrol serumlarının FTS ile 1:10'luk dilüsyonları hazırlandı.

4. Yenidoğan serumlarının FTS ile 1:20'lik, diğer hasta serumlarının 1:101'lik dilüsyonları yapıldı.

5. Peroksit/substrat solüsyonunun hazırlanması: 1 tablet üre peroksit 10 ml distile su içinde eritildi, bu solüsyondan 1 ml alınarak 10 ml substrat solüsyonu içine eklendi. Bu peroksit/substrat suspansiyonu testde stok olarak kullanıldı.

II. Testin Uygulanması

1. Mikroelisa striplerin yüzeylerine emdirilmiş olan anti-human IgM globulin ihtiva eden kuyucuklara, dilüsyonları yapılmış olan kontrol serumları ve hasta serumlarından 100'er µl eklendi. 37 °C 'de 60 dk enkübasyona bırakıldı.

2. Enkübasyon zamanı tamamlanınca otomatik yıkama cihazında her bir kuyucuya takriben 300 µl FTS eklendi ve 30 saniye beklendi. Sonra aspire edildi, bu işlem 4 kez yapıldı. Yıkama bitiminde ise strip kurutma kağıdının üzerine ters yönde bırakıldı. Yıkama artıklarının kalmasına dikkat edildi.

3. Antijen + Konjugat süspansiyonu hazırlanması: Liyofilize Toxoplasma antijeni ihtiva eden bir ampul üzerine 0.7 ml dilue fosfat tampionu eklendi.

Liyofilize Horseradish peroksidaz (HRP)'la işaretli anti-koyun IgM globulini bulunan 1 ampul içine de 0.7 ml dilue FTS kondu. Antijen ve konjugat süspansiyonlarının karışımı sağlanarak homojenize edildi. Bu antijen + konjugat karışımından bütün kuyucuklara 100'er µl eklendi. 37 °C'de 60 dakika enkübasyonu yapıldı.

4. Enkübyasyon tamamlanınca yıkama solüsyonu ile otomatik cihazda dikkatli bir şekilde 4 kez yıkandı.

5. Substrat solüsyonunun hazırlanması: Peroksit/substrat tampon karışımından 0.5 ml alınarak, 5 ml distile su üzerine ilave edildi, bunun üzerine de 100 µl Tetrametilbenzidin (TMB) solüsyonundan eklendi. Hazırlanan substrat solüsyonundan bütün kuyucuklara 100'er µl ilave edildi. 30 dakika 20-25 °C'lik bir ortamda enkübyasyonu sağlandı.

6. Enkübyasyon süresi bitince üzerlerine reaksiyon durdurucu 2 M H₂SO₄'den 100'er µl eklendi.

7. EL 309 Biotek Enzim spektrofotometri cihazında 450 nm filtrede kontrollerin ve test serumlarının absorbanansı alındı.

SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

1. Negatif kontrol serum absorbanansı (Nabs)
2. Pozitif kontrol serum absorbanansı (Pabs)

$$\text{Cut-off değeri} = \frac{\text{Nabs} + \text{Pabs}}{2}$$

Test serumunun absorbanansı \geq Cut-off değeri ise pozitif, test serumunun absorbanansı $<$ Cut-off değeri ise negatif olarak değerlendirildi.

C. İNDİREKT FLÖRESAN ANTİKOR YÖNTEMİNİN (IFAT)

UYGULANMASI

1. Çalışmada kullanılan IFA antijeni, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dallarında enfekte farelerden hazırlandı. Teflonlu özel bölmeli lamlara birer damla Toxoplasma hücre süspansiyonu damlatıldı, havada kurutuldu

ve çalışıncaya kadar -20 °C 'de saklandı.

2. Hasta ve kontrol serumlarının FTS ile $\geq 1:16$ oranında seri sulandırılmaları yapıldı. Bu sulandırılardan antijen bulunan özel bölmeli lamlara damlatılarak 37 °C 'de 30 dk enkübe edildi. FTS içerisinde beşer dakika iki kez yıkanan lamlar kurutuldu. Bu lamların üzerine Flörescein isothiocyanet 'la işaretli anti-human globulin (IgG+IgM+IgA) (1:10-1:20) damlatıldı ve 37 °C 'de 30 dk enkübe edildi. Tekrar yıkanan lamların üzerine % 90 gliserinli FTS damlatılarak lamel ile kapatıldı ve Flöresan mikroskopu ile (Olympus, HBO 200 W, Osram civa buharlı lambalı, karanlık alan kondansörlü, OB₂ excitur ve OG₁ barrier filtreli) incelendi.

Pozitif ve negatif serumlardaki flöresan görünümüne göre parlak sarı yeşil flöresan verenler pozitif, parlak sarı yeşil flöresan vermeyenler ise negatif olarak değerlendirildi.

D. SABİN-FELDMAN BOYA TESTİNİN (SFDT) UYGULANMASI

Çalışmamızda Sabin-Feldman boya testinin modifiye şekli olan lizis testi uygulandı. Bu uygulama Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 'nda yapıldı(11).

Deneyin uygulanmasında 3 gün önceden intraperitoneal olarak enfekte edilmiş farelerin periton sıvıları, steril bir pastör pipeti ile alındı. Testte kullanılan antijenin seçimi için deney yapılarak T. gondii antikoru pozitif serum ve aktivatör serum varlığında uygun olan antijen bulundu.

Testin Uygulanması

1. Hasta serumları 56 °C'de 30 dk inaktivasyonu yapıldı.
2. % 0.85 tuzlu su ile serumların \geq 1:16 sulandırılmaları yapıldı.
3. Sulandırılmış 0.05 ml serumlar üzerine, 0.05 ml Toxoplasma antijen süspansiyonu ilave edildi.
4. Antijen serum karışımı üzerine 0.1 ml aktivatör serum eklendi. 37°C'de 30 dk su banyosunda enkübasyona bırakıldı.
5. Enkübasyon sonunda faz kontrast mikroskopta (10x40 büyütmesi ile) değerlendirildi.

Pozitif serumlardaki Toxoplasmalar cidarları parçalanmış kararmış ve granüllü bir görünüm verdiler.

Negatif serumlarda parazitler parlak cidarları belirgin ve ışık kırıcı bir görünümde idiler.

E. FLÖRESAN ANTİNÜKLEER ANTİKOR (FANA) DENEYİNİN UYGULANMASI**I. Deneyin Hazırlanması**

1. pH 7.4 0.2 ± 0.01 M fosfat tamponlu su hazırlandı.
2. Hasta serumlarının fosfat tamponlu su ile 1:40 oranında sulandırımı yapıldı. Pozitif ve negatif kontrollerinde aynı şekilde sulandırımı yapıldı.
3. Kit oda ısısında, test başlamadan önce 10-15 dakika bekletildi.

II. Deneyin Uygulanması

1. Sulandırımı yapılmış olan kontrol ve test serumlarından 10-40 µl alınarak, tespit edilmiş insan epitel hücreleri içeren 8 bölmeli özel lamlara damlatıldı. Oda ısısında 30 dk enkübe edildi.

2. Enkübasyon bitiminde FTS ile 5 dakika yıkandı ve kurumaya bıraktı.

3. Hazır FITC'la işaretli anti-human IgG reaktifinden birer damla damlatıldı. Oda ısısında 30 dakika enkübe edildi.

4. Yukarıdaki yıkama işlemi tekrarlandı.

5. 3 ml FTS konan bir tüpe Eriochrome black boyasında 1 damla damlatılıp karışımı sağlandı, bundan da lamaların her bir bölümüne 1 damla damlatılıp bir dakika beklendi, FTS ile yıkandı.

6. Lamaların üzerine % 90 Gliserol FTS karışımından birer damla damlatıldı ve lamelle kapatıldı.

7. Flöresan mikroskobu ile (Olympus, HBO 200 W, Osram civa buharlı lambalı, karanlık alan kondansörlü, OB₂ excitur ve OG₁ barrier filtrelili) incelendi.

8. Hücrelerin parlak sarı yeşil flöresan görünümü verenleri pozitif, kırmızı renkte görünümü olanları negatif kabul edildi.

F. ROMATOİD FAKTÖR-LATEX AGLUTİNASYON (RF-LA)

DENEYİNİN UYGULANMASI

1. Kit reaktifleri ve test serumları +4 °C'den çıkartılıp, oda ısısında 10-15 dk tutuldu.

2. Hasta serumları 1:20 oranında FTS ile sulandırıldı.

3. Dilue hasta serumlarından 50 μ l alınarak test lamalarının daire-sine damlatıldı. Pozitif ve negatif kontrol serumlardan da 50'şer μ l alınarak damlatıldı.

4. RF-latex reaktifinden 50'şer μ l bütün serumların üzerine damla-tıldı. Plastik kürdan ile karıştırıldı, aglutinasyonu sağlamak amacıyla dairevi hareketler yapıldı.

5. Üç dakika içinde aglutinasyon olup olmadığını anlamak için, kontrol serumları ile birlikte değerlendirildi.

Bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde Fisher'in Khi kare testi uygulandı(97).

BULGULAR

Toxoplasmosis şüphesiyle laboratuvarımıza gönderilen 1232 hastada ELISA ile antitoxoplasma antikörleri araştırıldı. Bu hastaların 404 (% 32.7)'ünü çocuk, 827 (% 67.1)'sini erişkin grup teşkil etmektedir. 1232 hasta serumunda ELISA ile toplam seropozitiflik % 25.0 oranda bulundu. Çocuklarda seropozitiflik oranı % 19.5 iken erişkinlerde bu oran % 27.6 idi. Çocuk ve erişkin yaş grubunda T.gondii antikörleri istatistiksel olarak değerlendirildi ve erişkinlerde önemli bulundu ($X^2=9.6, P < 0.01$, Tablo I).

ELISA ile seropozitif olguların immünoglobulinlere göre dağılımı Tablo II'de özetlendi. 0-14 yaş grubunun 67 (% 16.5)'sinde IgG, 5 (% 1.2)'inde IgM, 7 (% 1.7)'sinde de hem IgG hem de IgM pozitifliği saptandı. Erişkinler 135 (% 16.3)'inde IgG, 52 (% 6.2)'sinde IgM, 42 (% 5.0)'sinde hem antitoxoplasma IgG hem de antitoxoplasma IgM sınıfından antikörler bulundu.

Çocuk ve erişkin olgularda IgG ve IgM seropozitifliği istatistiksel olarak önemli bulundu ($X^2=17.02, P < 0.01$).

Tablo I. Toxoplasmosis Şüpheli Olgularda Yaş Grubuna Göre Antikor Pozitifliği

YAŞ Grubu	ELISA Seropozitif		ELISA Seronegatif		TOPLAM	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Çocuk(0-14)	79	19.5	325	80.5	404	32.8
Erişkin(15+)	229	27.6	598	72.5	827	67.2
TOPLAM	308	25.0	923	74.9	1232	100.0

$X^2=9.6, P < 0.01$

Tablo II. ELISA ile T.gondii Antikorları Yönünden Seropozitif Bulunan Olguların Immunoglobulinlere Göre Dağılımı

Yaş Grubu	SEROPOZİTİF						SERONEGATİF		TOPLAM	
	IgG		IgM		IgG+IgM		Sayı	%	Sayı	%
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%				
Çocuk(0-14)	67	16.5	5	1.2	7	1.7	325	80.4	404	32.8
Erişkin(15+)	135	16.3	52	6.2	42	5.0	598	72.3	827	67.2
TOPLAM	202	16.3	57	4.6	49	3.9	923	74.9	1232	100.0

$X^2=17.03, P < 0.01$

Olguların ELISA ve SF deneyi sonuçlarına göre dağılımı Tablo III de özetlendi, her iki testin uyumluluk oranlarının % 88.3 olduğu belirlendi. ELISA ile seropozitif 78 olgunun SF düzeyi ile 65 (% 83.3)'inde seropozitiflik gösterirken, ELISA ile seronegatif 59 olgunun 3 (% 4.4)'ü SF deneyi ile seropozitiflik gösterdi. SF deneyi ile seropozitif 68 olgunun, 65 (% 95.5)'inde, seronegatif 69 olgu serumunun ise 13 (% 18.8)ünde ELISA ile seropozitiflik bulundu.

Tablo III. Olguların ELISA ve SF Deneylerinin Sonuçlarına Göre Dağılımı

ELISA	SABİN-FELDMAN DYE TESTİ				TOPLAM	
	POZİTİF		NEGATİF		Sayı	%
	Sayı	%	Sayı	%		
Pozitif	65	95.6	13	18.8	78	56.9
Negatif	3	4.4	56	81.2	59	43.1
TOPLAM	68	100.0	69	100.0	137	100.0

Uyumluluk: % 88.3, Uyumsuzluk: % 11.7

Uyumluluk= $\frac{\text{Doğru Pozitif} + \text{Doğru Negatif}}{\text{Toplam}}$

SF duyarlılığı: % 83.3

ELISA duyarlılığı: % 95.6

Tablo IV. ELISA İle Seropozitif Bulunan 77 Olgunun İndirekt Floresan Antikor Yöntemiyle Analizi

ELISA	IFAT				TOPLAM	
	POZİTİF		NEGATİF		Sayı	%
	Sayı	%	Sayı	%		
IgM ELISA	6	66.6	3	33.4	9	100.0
IgG ELISA	55	93.2	4	6.8	59	100.0
IgM+IgG ELISA	9	100.0	0	0.0	9	100.0
TOPLAM	70	90.9	7	9.1	77	100.0

ELISA ile seropozitif bulunan 77 olgunun, IFAT'ne göre dağılımı Tablo IV'de özetlendi. ELISA ile seropozitif 77 olguda IFAT ile 70 (% 90.9)'inde T.gondii antikorları pozitif bulundu.

ELISA ile pozitif bulunan olgularda IFAT ve SF deneyi ile karşılaştırmalı dağılımı Tablo V'de özetlendi. SF deneyi ile IFA yönteminin uyumluluğu % 85.7, uyumsuzluğu % 14.3 oranında bulundu.

IFAT ile seropozitif 70 serumun 62 (% 88.5)'si SF deneyi ile pozitif bulundu. SF deneyi ile seropozitif 65 serumun 62 (% 95.3)'si IFA yöntemiyle pozitif bulundu.

Tablo V. ELISA ile T.gondii Antikorları Yönünden Pozitif Olgularda IFAT ve SF Deneylerinin Karşılaştırmalı Dağılımı

SF	IFAT				Toplam %	
	Pozitif		Negatif			
	Sayı	%	Sayı	%		
Pozitif	62	88.5	3	42.8	65	84.4
Negatif	8	11.5	4	57.2	12	15.6
TOPLAM	70	100.0	7	100.0	77	100.0

Uyumluluk= % 85.7, Uyumsuzluk= % 14.3

ELISA ile T.gondii antikorları yönünden seropozitif ve seronegatif olgular, romatoid faktör yönünden latex aglutinasyon deneyi ile çalışıldı, bulgular Tablo VI'da özetlendi. ELISA ile seropozitif bulunan 77 olgunun 7 (% 9.0)'sinde romatoid faktör pozitifliği, seronegatif bulunan 30 olgunun da 2 (% 6.6)'sinde RF pozitifliği bulundu. ELISA ile elde edilen seropozitif ve seronegatif olgularla RF ilişkisi istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($X^2=0.61$, $P > 0.05$).

ELISA ile T.gondii antikorları yönünden seropozitif ve seronegatif olgularda ANA flöresan antinükleer antikor yöntemiyle çalışıldı, bulgular Tablo VII'de özetlendi. ELISA ile seropozitif 77 olgunun 16 (% 20.7)'sında ANA pozitifliği tespit edilirken, seronegatif 30 olgunun da 1 (% 3.3)'inde ANA pozitifliği görüldü. ELISA ile elde edilen seropozitif ve seronegatif olgularla ANA ilişkisi istatis-

tiksel olarak önemli bulundu ($X^2=4.93$, $P < 0.05$).

Tablo VI. ELISA ile T.gondii Antikorları Yönünden Seropozitif ve Seronegatif Olgularda, Romatoid Faktör Dağılımı

ELISA	ROMATOİD FAKTÖR (RF)				Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Pozitif	7	9.0	70	90.9	77	100.0
Negatif	2	6.6	28	93.3	30	100.0
TOPLAM	9	8.4	98	91.5	107	100.0

$X^2=0.61$, $P > 0.05$

Tablo VII. ELISA ile T.gondii Antikorları Yönünden Seropozitif ve Seronegatif Olgularda, FANA Dağılımı

ELISA	FLÖRESAN ANTİNÜKLEER ANTİKOR (FANA)				Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Pozitif	16	20.7	61	79.2	77	100.0
Negatif	1	3.3	29	96.6	30	100.0
TOPLAM	17	15.8	90	84.1	107	100.0

$X^2=4.93$, $P < 0.05$

Sabin-Feldman deneyi ile T.gondii antikorları yönünden seropozitif ve seronegatif olgularda RF dağılımı Tablo VIII'de özetlendi. SF deneyi ile seropozitif 65 olgunun 4 (% 6.15)'ünde, seronegatif 30 olgunun 1 (% 3.3)'inde RF pozitifliği bulundu. SF deneyi ile elde edilen seropozitif ve seronegatif olgularla RF ilişkisi istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($X^2=0.33$, $P > 0.05$).

Tablo VIII. Sabin-Feldman Deneyi İle T.gondii Antikorları Yönünden Seropozitif ve Seronegatif Olgularda, RF Dağılımı

SF Deneyi	ROMATOİD FAKTÖR				Toplam	
	Pozitif Sayı	%	Negatif Sayı	%	Sayı	%
Pozitif	4	6.15	61	93.84	65	100.0
Negatif	1	3.3	29	96.66	30	100.0
TOPLAM	5	5.26	90	94.73	95	100.0

$$X^2=0.33, P > 0.05$$

Sabin-Feldman deneyi ile seronegatif ve seropozitif olgularda ANA dağılımı Tablo IX'da özetlendi. SF deneyi ile seropozitif 65 olgunun 11 (% 16.9)'inde ANA seropozitifliği elde edilirken, seronegatif 30 olgunun hiçbirinde ANA yönünden seropozitiflik elde edilememiştir.

SF deneyi ile elde edilen seropozitif ve seronegatif olgularla ANA ilişkisi istatistiksel olarak önemli bulundu ($X^2=5.72, P < 0.05$).

Tablo IX. SF Deneyi ile T.gondii Antikorları Yönünden Seropozitif ve Seronegatif Olgularda, FANA Dağılımı

SF Deneyi	FANA				Toplam	
	Pozitif Sayı	%	Negatif Sayı	%	Sayı	%
Pozitif	11	16.9	54	83.0	65	100.0
Negatif	-	-	30	100.0	30	100.0
TOPLAM	11	11.5	84	88.4	95	100.0

$$X^2=5.72, P < 0.05$$

IFAT ile T.gondii antikorlar yönünden seropozitif bulunan olgularda RF ve ANA bulgularının dağılımı Tablo X ve XI'de özetlendi. Seropozitif 70 olgunun 7 (% 10.0)'sinde RF pozitifliği tespit edilirken, 12 (% 17.1)'sinde de antinükleer antikor pozitifliği görüldü.

Tablo X. IFAT ile T.gondii Antikorları Yönünden Pozitif Bulunan Olgularda RF Dağılımı

IFAT	ROMATOİD FAKTÖR					
	Pozitif		Negatif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
70	7	10.0	63	90.0	70	100.0

Tablo XI. IFAT ile T.gondii Antikorları Yönünden Pozitif Bulunan Olgularda ANA Dağılımı

IFAT	FANA					
	Pozitif		Negatif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
70	12	17.1	58	82.8	70	100.0

Romatoid faktör yönünden şüpheli, seropozitif ve seronegatif olgularda ELISA ile T.gondii antikor bulgularının dağılımı Tablo XII'de özetlendi. RF'ü pozitif bulunan 30 olgunun 16 (% 53.3)'sında, RF'ü negatif bulunan 30 olgunun da 4 (% 13.3)'ünde T.gondii antikor seropozitifliği elde edildi. İstatistiksel analizde RF'ü pozitif ve RF'ü negatif olguların serumlarında ELISA ile elde edilen antitoxoplasma antikorları önemli bulundu ($X^2=10.8, P<0.01$).

Romatoid faktör yönünden şüpheli seropozitif ve seronegatif olgularda SF deneyi ile T.gondii antikor bulgularının dağılımı Tablo XIII'-de özetlendi. RF'ü pozitif 30 olgunun SF deneyi ile 18 (% 60)'inde, RF'ü negatif olan 30 olgunun 5 (% 16.6)'inde T.gondii antikorları seropozitif bulundu.

İstatistiksel analizde RF'ü pozitif olgular ile RF'ü negatif olguların serumlarında SF deneyi ile elde edilen antitoxoplasma antikorları önemli bulundu ($X^2=11.96, P < 0.01$).

Tablo XII. Romatoid Faktör Yönünden Şüpheli Seropozitif ve Seronegatif Olgularda, ELISA ile T.gondii Antikor Bulgularının Dağılımı

RF	ELISA				Toplam	
	Pozitif Sayı	%	Negatif Sayı	%	Sayı	%
Pozitif	16	53.3	14	46.6	30	100.0
Negatif	4	13.3	26	86.6	30	100.0
TOPLAM	20	33.3	40	66.6	60	100.0

$$X^2=10.8, P < 0.01$$

Tablo XIII. Romatoid Faktör Yönünden Şüpheli Seropozitif ve Seronegatif Olgularda SF Deneyi ile T.gondii Antikor Bulgularının Dağılımı

RF	SF DENEYİ				Toplam	
	Pozitif Sayı	%	Negatif Sayı	%	Sayı	%
Pozitif	18	60.0	12	40.0	30	100.0
Negatif	5	16.6	25	83.3	30	100.0
TOPLAM	23	38.3	37	61.6	60	100.0

$$X^2=11.96, P < 0.01$$

Antinükleer antikorlar yönünden seropozitif ve seronegatif olguların serumlarında ELISA ile T.gondii antikor bulgularının dağılımı Tablo XIV'de özetlendi. ANA'u pozitif bulunan 30 olgunun 11 (% 36.6)'inde, ANA'u negatif bulunan 30 olgunun 3 (% 10.0)'ünde ELISA ile T.gondii antikorları pozitif bulundu. İstatistiksel analizde ANA'u pozitif olgular ile ANA'u negatif olguların serumlarında ELISA ile elde edilen antitoxoplasma antikorları önemli bulundu ($X^2=5.96, P < 0.05$).

Tablo XIV. ANA Yönünden Şüpheli Seropozitif ve Seronegatif Olgularda ELISA ile T.gondii Antikor Bulgularının Dağılımı

ANA	ELISA				Toplam	
	Pozitif Sayı	%	Negatif Sayı	%	Sayı	%
Pozitif	11	36.6	19	63.3	30	100.0
Negatif	3	10.0	27	90.0	30	100.0
TOPLAM	14	23.3	46	76.6	60	100.0

$$X^2=5.96, P < 0.05$$

ANA yönünden seropozitif ve seronegatif olguların serumlarında SF deneyi ile T.gondii antikor bulgularının dağılımı Tablo XV'de özetlendi. ANA'u pozitif 30 olgunun 13 (% 43.3)'ünde, ANA'u negatif 30 olgunun 4 (% 13.3)'ünde SF deneyi ile T.gondii antikorları pozitif bulundu. İstatistiksel analizde ANA'u pozitif olgular ile ANA'u negatif olguların serumlarında SF deneyi ile elde edilen antitoxoplasma antikorları önemli bulundu ($X^2=6.64, P < 0.01$).

Tablo XV. ANA Yöntünden Şüpheli Seropozitif ve Seronegatif Olgularda, Sabin-Feldman Deneyi ile T.gondii Antikor Bulgularının Dağılımı

ANA	SF DENEYİ				Toplam	
	Pozitif Sayı	%	Negatif Sayı	%	Sayı	%
Pozitif	13	43.3	17	56.6	30	100.0
Negatif	4	13.3	26	86.6	30	100.0
TOPLAM	17	28.3	43	71.6	60	100.0

$X^2=6.64$, $P < 0.01$

TARTIŞMA VE SONUÇ

Toxoplasmosis'in klinik ve laboratuvar tanısında halâ problemlerle karşılaşılmakta, daha kesin ve sağlıklı tanı yöntemleri için çalışmalar sürdürülmektedir. Kesin tanıya varabilmek için uygulanacak yöntemlerin seçimi ve bu yöntemlerin güvenilirlik derecesi henüz tam anlamıyla açıklığa kavuşturulmamıştır.

Toxoplasmosis tanısında klinik belirtilerin yetersiz olması, hattâ bazen hiç klinik belirti görülmemesi, laboratuvar tanı yöntemlerinin büyük ölçüde önem kazanmasına neden olmaktadır. Klinisyenlerin laboratuvar tanı sonuçlarına göre karar verebildikleri göz önüne alınırsa bu serolojik tanı yöntemlerinin sonuçlarının doğru olması ve yanılma payının en düşük düzeyde bulunması gerekmektedir. Bu sebeple güvenilir sonuçların alınmasında daha duyarlı ve sadece Toxoplasmosis için özel olan yöntemlerin seçilmesi gerekmektedir.

T.gondii serodiagnozunda güvenilir sonuçların elde edilmesinde hangi yöntemin seçileceği ve hangi kriterlerin dikkate alınacağı konusu halâ tam olarak açıklanamamaktadır. Bununla beraber son yıllarda geliştirilen ELISA enfeksiyon hastalıklarının serodiagnozunda yaygın olarak kullanılmakta ve oldukça güvenilir sonuçlar elde edilmektedir.

ELISA'nın akut ve kronik enfeksiyonların göstergesi olan immunoglobulinlerin ortaya çıkarılmasında uygulanan bir yöntem olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir(4,13,19-21,44,65,74,75,87,90,91,95,96,104-109). Buna rağmen, gerek bu yöntem gerekse diğer serolojik yöntemlerle yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçların alınabileceği bazı araştırmacılar tarafından öne sürülmektedir(20-22,34,42,73).

Brooks ve ark.(24) konjenital Toxoplasmosis'li bebeklerde T.gondii ye karşı oluşan antikörlerin ELISA ile % 20'sinin, IFAT ile de % 75'inin gösterilemediğini bildirmektedirler.

Toxoplasmosis'de infeksiyonun % 90 oranında sessiz seyretmesi hastalığın en çok serolojik tanı yöntemleriyle ortaya çıkarılmasına imkân sağlamaktadır. Bu nedenle hastalığın insidensi konusunda verilen rakamlar serolojik testlerin pozitifliğine dayanmaktadır(2,13).

Tropikal ve subtropikal bölgelerde oldukça yaygın olan Toxoplasmosis'in insanlarda % 4-94, kedilerde % 50-75, köpeklerde % 16-32, domuzlarda % 50-80, koyunlarda % 12-64, sığırlarda % 0-24 arasında değiştiği çeşitli serolojik araştırmalarla gösterilmiştir(27,61).

Çalışmamızda Toxoplasmosis şüphesiyle gönderilen 1232 serumda ELISA ile çalışılarak hastalığın oranı belirlendi. Uygulanan testler arasında karşılaştırma yapmak amacıyla seropozitif olgular IFAT ve SF deneyleri ile değerlendirildi.

Seropozitif olgularda yanlış pozitifliğe yol açtığı bildirilen romatoid faktör ve antinükleer antikorun oranlarını araştırmak amacıyla RF-Latex aglutinasyon ve flöresan antinükleer antikor yöntemleri uygulandı. Ayrıca laboratuvarımıza RF ve ANA şüphesi ile gönderilen olguların, pozitif ve negatif bulunan serumlarında T.gondii antikorları araştırıldı.

Yaptığımız çalışmada ELISA ile T.gondii seropozitifliği çocuklarda % 19.5, erişkinlerde % 27.6 ve toplam seropozitiflik de % 25 oranında elde edildi.

Ülkemizde ve yabancı ülkelerde yapılan çok sayıda araştırma, çalışmamızdan elde edilen bulguları büyük ölçüde desteklemektedir(38,43, 55,59,61,98,112).

Kuman ve ark.(55) Ege bölgesinde 10 yıllık bir süre içinde toplam 18233 kişinin serumunda IFAT ile T.gondii antikorlarını % 24.12 oranda bulunduğunu bildirmektedirler. Gültan(43) SF ve KBD ile 1000 insan serumu üzerinde yaptığı çalışmada T.gondii antikorlarını Marmara ve Ege bölgesinde % 13.9-% 7.4, Akdeniz bölgesinde % 13.7-9.2, Karadeniz bölgesinde % 15.2-8.1, İç Anadolu bölgesinde % 17.8-11, Doğu ve Güney Doğu bölgelerinde % 22.7-12.1 oranında bulmuştur. Chessum (61)

706 serumda IFAT ile T.gondii'ye karşı % 24.6 oranında an-

tikor bulunduğunu bildirmiştir. Kayseri ve yöresinde Fazlı ve ark.(38) 1980-85 yılları arasında Toxoplasmosis şüpheli 4603 hasta serumunda IHAT ile T.gondii antikorlarını % 17.3 oranda bulduklarını, ELISA, IFAT ve SF deneylerinden Toxoplasmosis'in serodiagnozunda daha yararlı sonuçlar alınabileceğini bildirmektedirler. Bu çalışmada ELISA ile T.gondii antikorlarının % 25 oranda bulunması yörede Toxoplasmosis'in yaygın olduğunu göstermektedir. Ustaçelebi ve ark.(112) T.gondii'ye karşı ELISA ile 301 serumda seropozitiflik oranını % 47.8 olarak bulduklarını bildirmişlerdir; bu oran bizim bulduğumuz % 25 orandan fazladır, fakat çalıştıkları serum sayısı azdır. Walton ve ark. (120)1000 serumda IFAT ile T.gondii antikorlarını \geq 1:8 titrelerde % 47.5 oranında bulmuşlardır. Bu araştırmada serum sulandırımının 1:101 gibi yüksek titrede yapılması nedeniyle elde ettiğimiz seropozitiflik oranı daha düşük olarak ortaya çıkmıştır. Kılıçturgay ve ark.(59) Bursa ve yöresinde değişik yaş gruplarında yer alan 788 kişide IFAT ve ELISA ile Toxoplasma antikor dağılımını kadınlarda % 63.1, erkeklerde % 60.1 oranda bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar KBD ile ise olguların % 12.5'unda 1:8, % 4.5'unda da 1:16 titrede pozitiflik elde etmişlerdir. Sarnıç(98) Diyarbakır ve yöresinde erişkin yaş grubunda olan 776 serumda T.gondii antikorlarını SF deneyi ile % 35.7 oranda bulmuştur.

Bu çalışmada 404 çocuk serumunda antikor pozitifliğini % 19.5, 827 erişkin serumunda da % 27.6 oranda elde edildi.

Toxoplasmosis'te yaygınlık iklimsel, coğrafi ve yaş faktörlerine göre değişmektedir(2,13). Yukarıdaki araştırmacıların bulguları ile bizim bulguların farklılığının, bu faktörlerin etkisine bağlı olabilece-

ğini düşünmekteyiz.

T.gondii serodiagnozunda değişik ülkelerde farklı araştırmacıların farklı yöntemlerle yaptıkları serolojik araştırmalarda benzer ve farklı sonuçların elde edildiği bilinmektedir; Ahlfors ve ark.(5) 4351 serumda ELISA ile % 40, Turunen ve ark.(104) aynı yöntemle 32 serumda % 32.4, Nikkhou ve ark.(76) 624 serumda IFAT ile % 47.5, Altıntaş(11) 500 serumda SF deneyi ile % 44.4, IHAT ile % 33, Tönder ve ark.(106) 1819 serumda SF deneyi ile % 31.3, Kuman ve ark.(56,57,60) 7045 serumda IFAT ile % 52.2 -aynı araştırmacı grubu diğer çalışmalarında aynı yöntemle 152 serumda % 42.6- 122 serumda % 31.3, Kaynar ve ark.(58) 273 serumda IHAT ile % 33.3, Fazlı ve ark.(37) 118 serumda IHAT ve IFAT ile ortalama % 22.8, Mutlu ve ark.(72) 74 serumda IHAT ile % 55.5, Balfour ve ark.(18) 1985 serumda IHAT ile % 18.7, Flamm ve ark.(35) 48832 serumda IFAT ile % 47.3, Aspöck(16) 70000 serumda SF ve IFAT ile ortalama % 47, Remington ve ark.(91) 24 yenidoğan serumunda ELISA ile % 50, Saygı ve ark.(49) serumda IHAT ile % 83.7, Ak(7) 150 serumda IFAT ve IHAT ile % 58.6-% 72.6 .

... oranında T.gondii seropozitifliği bildirmektedir.

Willson ve ark.(114) da Toxoplasmosis'in serodiagnozunda farklı ticari kitler kullanarak elde ettikleri sonuçların uyumsuzluk gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bulunan seropozitiflik oranı, yukarıda belirtilen değişik araştırmacıların oranları ile karşılaştırıldığında bazıları ile uyumluluk bazıları ile uyumsuzluk göstermektedir.

Çalışmamızda ELISA ile T.gondii antikorları yönünden pozitif ve negatif çıkan olgularda SF deneyi uygulandı(Tablo III). Her iki testin uyumluluk oranları % 88.3 olarak bulundu. ELISA ile pozitif olgularda, IFAT ve SF deneylerinin uyumluluğu da % 85.7 bulundu(Tablo V). ELISA ile seropozitif bulunan 77 olgunun serumunda IFAT ile 70 (% 90.9)'inde pozitiflik elde edildi(Tablo IV). Çalışmamıza benzer çalışmalar yapılmış olup, Özkuyumcu ve ark.(81) T.gondii antikoru aranan 93 serum örneğinden IFAT ile 40 (% 43)'inde, ELISA ile 39 (% 41.9)'unda pozitiflik ve duyarlılığını da % 97.5 olarak bildirmişlerdir. Elfandi ve ark.(32) ELISA ve SF deneyleri ile 100 serum örneğinde iki testin uyumluluğunu % 96 olarak belirlemişlerdir.

Picher ve ark.(87,88) ELISA ve IFAT ile T.gondii antikorları yönünden 200 serumda yaptıkları araştırmada iki yöntem arasındaki korelasyonu % 97-aynı araştırmacı grubu diğer bir çalışmalarında 1319 serumda SF ve IFAT'ın uyumluluğunu % 95 olarak bulmuşlardır. Tozzi ve ark. (107) 453 serum örneğinde ELISA ve IFAT ile T.gondii antikorları yönünden yaptıkları çalışmada iki testin uyumluluğunu % 92.9 olarak belirlemişlerdir.

Thomas ve ark.(4) 880 serumda ELISA ve IFAT ile T.gondii antikorları yönünden yaptıkları çalışmada iki testin korelasyonunu % 95.6 olarak, Smith ve ark.(93) 349 serumda aynı yöntemlerle çalışmalarında uyumluluğu % 95.3, duyarlılığı % 97.5 olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

ELISA, SF ve IFAT ile T.gondii antikoru yönünden karşılaştırılabilir olarak bulunduğumuz oranlar yukarıda belirtilen araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermiştir.

Enfeksiyon hastalıklarının serodiagnozunda yaygın olarak kullanılan ELISA ve diğer serolojik yöntemlerde, özellikle romatoid faktör ve antinükleer antikoruların mevcudiyetinde yanlış pozitif ve negatif reaksiyonların olabileceği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir(3,4,19-22,34,48,65,73-75,90,95,105).

Biz de çalışmamızda T.gondii antikoru yönünden ELISA, SF ve IFAT ile seropozitif bulunduğumuz olguların serumlarında romatoid faktör ve antinükleer antikor varlığını araştırdık(Tablo VI-XI). ELISA ile seropozitif bulunan 77 olgu serumunun 7 (% 9.0)'sinde RF, % 20.7'sinde de ANA pozitifliği; seronegatif olguların serumlarında ise % 6.6 oranında RF, % 3.3 oranında da ANA pozitifliği bulundu. SF deneyi ile seropozitif 65 olgu serumunun 4 (% 6.1)'ünde RF, % 16.9'unda da ANA pozitifliği elde edildi. Seronegatif olguların serumlarında RF pozitifliği 1 (% 3.3)'inde bulunurken, ANA saptanamadı. IFAT deneyi ile de seropozitif 70 olgu serumunun 7 (% 10.0)'sinde RF, 12 (% 17.1)'sinde de ANA pozitifliği elde edildi.

Çalışmamızda RF ve ANA yönünden elde edilen sonuçlar özellikle yabancı ülkelerde yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlarla uygunluk göstermektedir(48,59,65,105).

Loon ve ark.(65) IFAT ve ELISA ile T.gondii'ye karşı yüksek titrede antikor buldukları 80 serum numunesinin 11 (% 13.7)'inde romatoid faktörü; 4'ünde ANA'u pozitif bulduklarını bildirmektedirler. Tomasi ve ark.(105) Toxoplasmosis şüpheli 104 insan serumunun; 19'unda RF, 13'ünde ANA ve 8'inde de hem RF hem de ANA pozitifliği bulduklarını ifade etmektedirler. Kılıçturgay ve ark.(59) ELISA ile 45 serumun 8'inde IgM; bu 8 serumun 1 tanesinde de romatoid faktör seropozitifliği bildirmektedirler. Hamelin ve ark.(48) ELISA ve IFAT ile T.gondii antikorları yönünden araştırdıkları 970 olgunun 22 (% 2.26)'sinde RF'ü pozitif bulduklarını bildirmektedirler.

Çalışmamızda romatoid faktör ve antinükleer antikor yönünden pozitif ve negatif olgularda elde edilen T.gondii antikor bulguları Tablo XII-XV'de özetlendi. Romatoid faktörü pozitif olgularda T.gondii antikorları ELISA ile % 53.3, SF deneyi ile de % 60 oranında pozitif bulundu. Antinükleer antikor yönünden pozitif olan olguların serumlarında ELISA ile % 36.6, SF deneyi ile de % 43.3 oranında T.gondii antikor pozitifliği elde edildi.

Memleketimizde romatoid faktörü ve ANA'u pozitif olan olgularda, T.gondii antikorları yönünden araştırmalara rastlanılmamakla beraber; yabancı ülkelerde bu konu ile ilgili olarak bazı çalışmalar yapılmıştır.

Thomasi ve ark.(105) romatoid faktör ve antinükleer antikor içeren 40 serumun IFAT ile 20 (% 50)'sinde, ELISA ile 7 (% 17.5)'sinde T.gondii antikor pozitifliği elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Naot ve ark.(73) hem romatoid faktör, hem de ANA'u pozitif olan 6 olgunun 5'inde ELISA ile antitoxoplasma antikörlerini pozitif bulduklarını bildirmektedirler.

Thomas ve ark.(3) romatoid faktörü pozitif 112 olgunun serumunda T.gondii antikörlerini IgG IFAT ile 61 (% 54.4)'inde, IgM IFAT ile de 37 (% 33.1)'sinde seropozitif bulduklarını belirtmişlerdir.

Steven ve ark.(94) myositis ve dermatomyositis'li 58 olgunun 29 (% 50)'unda SF deneyi ile T.gondii seropozitifliği; T.gondii antikörleri yönünden pozitif olan 29 olgunun 8'inde RF-Latex aglutinasyon testi ile romatoid faktör pozitifliği elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Payne ve ark.(86) romatoid faktörü pozitif olan 20 olgunun 10 (% 50)'unda IFAT ile T.gondii antikörlerini bulduklarını, ANA içeren 3 olgunun 2'sinde de T.gondii seropozitifliği elde ettiklerini göstermişlerdir.

Fausto ve ark.(34) sistemik lupus eritematozus ve romatoid arthriti's'li 18 olgunun serumunda SF deneyi ile % 16.6, IgG IFAT ile % 61.1, IgM IFAT ile de % 23.5'inde T.gondii antikörleri yönünden pozitiflik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Romatoid faktörlü ve ANA'lu bulgularda T.gondii antikörleri yönünden araştırılması sonucu elde ettiğimiz bulgular, Naot(73), Thomas(3), Steven(94), Payne(86), Fausto(34) ve ark.nın bulguları ile büyük benzerlik ve uygunluk göstermektedir.

Kayseri ve yöresinde Toxoplasmosis şüphesiyle incelediğimiz 1232 serum örneğinde ELISA ile % 25 oranında T.gondii antikör seropozitifliği elde ederek; ELISA'nın en duyarlı ve güvenilir serolojik yöntem olduğu ve Toxoplasmosis'in yöremizde yaygın olarak bulunduğu sonucuna varıldı. Uygulanan serolojik yöntemlerle ELISA ve SF deneylerinin uyumluluğu % 88.3, SF ve IFA yöntemlerinin uyumluluğu da % 85.7 olarak bulundu. Duyarlılık yönünden ise ELISA % 95.5, IFAT % 90.9 ve SF deneyi % 83.3 olarak belirlendi.

Toxoplasmosis'in serodiagnozunda RF ve ANA'u bağlı çapraz reaksiyonların olabileceği uyguladığımız serolojik yöntemlerle saptandı. Bu nedenle, T.gondii antikör pozitifliği bulunan hastaların, otoantikörler (RF ve ANA) yönünden de araştırılmasının yararlı olabileceği sonucuna varıldı. Ayrıca çalışmamızda RF'ü ve ANA'u pozitif olan hastalarda da yüksek oranda T.gondii antikörlerinin elde edilmesi nedeniyle, ayırıcı tanıda Toxoplasmosis'in araştırılmasının faydalı olabileceği kanısına varıldı.

ÖZET

Toxoplazmosis şüpheli 1232 hasta serumu Toxoplasma antikorları yönünden ELISA ile araştırıldı. Olguların 308(% 25)'i seropozitif, 924 (% 75'ü seronegatif bulundu. Çocuklarda % 19.5, erişkinlerde % 27.6 oranında pozitiflik elde edildi. Pozitif olguların % 16.3'ünde anti-toxoplasma IgG, % 4.6'sında antitoxoplasma IgM ve % 3.9'unda da hem antitoxoplasma IgM hem de antitoxoplasma IgG sınıfından antikor bulundu.

ELISA ve SF deneyleri % 88.3; SF ve IFA deneyleri ise % 85.7 oranında uyumluluk gösterdi. ELISA, IFAT ve SF deneylerinin duyarlılıkları sırasıyla % 95.5, % 90.9 ve % 83.3 olarak belirlendi.

Toxoplazmosis yönünden ELISA ile seropozitif bulunan olguların serumlarında, RF % 9.0, ANA % 20.7, SF deneyi ile RF % 6.1, ANA % 16.9, IFAT ile RF % 10, ANA % 17.1 oranında pozitif bulundu.

Toxoplazmosis yönünden ELISA ile seronegatif bulunan olguların serumlarında, RF % 6.6, ANA % 3.3, SF deneyi ile RF % 3.3 oranında sero-

pozitif, ANA ise hepsinde seronegatif bulundu.

RF yönünden seropozitif olan hastalarda, T.gondii antikorları ELISA ile % 53.3, SF deneyi ile % 60 oranında pozitif bulundu. RF yönünden seronegatif olan hastalarda, T.gondii antikorları ELISA ile % 13.3, SF deneyi ile % 16.6 oranında pozitif bulundu.

ANA yönünden seropozitif olan hastalarda, T.gondii antikorları, ELISA ile % 36.6, SF deneyi ile % 43.3 oranında pozitif bulundu. ANA yönünden seronegatif olan hastalarda T.gondii antikorları ELISA ile % 10, SF deneyi ile % 13.3 oranında pozitif bulundu.

SUMMARY

1232 patient sera were examined by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) with suspect of Toxoplasmosis. It was found that 308 patients were seropositive and 924 patients seronegative. Positive results were found in 19.5 % of children and 27.6 % of adults. 16.3 % of these positive results were IgG, 4.6 % were IgM and 3.9 % of them were both IgM and IgG types antibodies.

Between ELISA and SF tests; SF and IFAT tests correlation were found 88.3 % and 85.7 % respectively. ELISA, IFAT and SF tests sensitivity were found 95.5 %, 90.9 %, 83.3 % respectively.

In seropositive cases with ELISA in respect of Toxoplasmosis Rheumatoid Factor (RF) 9.0 % and Anti Nuclear Antibody (ANA) 20.7 % were found positive. In seropositive cases with SF test in respect of Toxoplasmosis, RF 6.1 %, ANA 16.9 % were found positive. In seropositive cases with IFA test in respect of Toxoplasmosis, RF 10.0 %, ANA 17.1 % were found positive.

In seronegative cases with ELISA in respect of Toxoplasmosis, 6.6 % RF, 3.3 % ANA were found positive. In seronegative cases with SF in respect of Toxoplasmosis 3.3 % RF but ANA seronegative in all.

In seropositive patients in respect of RF, T.gondii antibodies were found positive 53.3 % with ELISA and 60 % with SF test. In seropositive patients in respect of ANA, T.gondii antibodies were found positive 36.6 % with ELISA 43.3 % with SF test.

In seronegative patients in respect of RF, T.gondii antibodies were found 13.3 % with ELISA and 16.6 % with SF test. In seronegative patients in respect of ANA, T.gondii antibodies were found positive 10.0 % with ELISA and 13.3 % with SF test.

KAYNAKLAR

1. Abdel-Hafez SK, Shbeeb I, Ismail NS, Abdel-Rahman F: Serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* in Habitually aborting women and other Adults from North Jordan. *Folia Parasitologica* 33:7-13,1986.
2. Abraham IB, Davis EC, Fierere J: *Medical Microbiology and Infectious Diseases*. WB Saunders Co, Philadelphia 1981, pp 1816-1832.
3. Ambroise-Thomas P, Francesio I, Simon J, Micouin CI, Pierson Y: Les Facteurs rhumatoïdes Cause de non-spécificité de l'immunofluorescence anti-IgM dans la toxoplasmose. *Ann Biol Clin* 38:315-319,1980.
4. Ambroise-Thomas P, Chunpitazi B: Detection of Specific IgG and IgM anti *toxoplasma* antibodies by the ELISA Toxonostika test in comparison with indirect immunofluorescence and indirect haemagglutination in a study of more than one thousand human sera. *Ars Medici Congress Series No.5, Belgium, 1984, pp 63-70.*
5. Ahlfors K, Börjeson M, Huldt G, Forsberg E: Incidence of Toxoplasmosis in Pregnant Women in the city of Malmö, Sweden. *Scand J Infect Dis* 21:315-321,1989.

6. Ak M, Özbilgin A: Filtre kağıdında kurutulmuş kan örneklerinde *Toxoplasma* antikorlarının araştırılması. *Türkiye Parazitoloj Derg* 13: 9-16,1989.
7. Ak M: *Toxoplasmosis* tanısında eriyik antijen hazırlanması ve immünolojik araştırmalar, *Doktora Tezi,Ege Üniv Tıp Fak,Parazitoloji Bilim Dalı,1983.*
8. Akgün Y, Akşit F, Sarnıç H: Eskişehir'de *Toxoplasmosis* ön tanılı 337 hastada serolojik test sonuçlarının irdelenmesi. *Türkiye Parazitoloj Derg* 8:2,15,1985.
9. Altıntaş K: Parazitolojilerin Serolojik teşhisi. *Türkiye Parazitoloj Derg* 13:2,33-60,1989.
10. Altıntaş K: Hodgkin ve non-Hodgkin Lenfomalı vakalarda *Toxoplasmosis* insidansı. *Mikrobiyol Bült* 17:4,251-256,1983.
11. Altıntaş K: *Toxoplasmosis* tanımında uygulanan başlıca yöntemlerin kalitatif ve kantitatif değerleri. *Mikrobiyol Bült* 8 :5-25,1974.
12. Altıntaş K, Çerçi H: *Toxoplasmosise* karşı aşı uygulaması amacı ile fare ve tavşanlarda deneysel çalışmalar. *Türkiye Parazitoloj Derg* 9: 66-78,1986.
13. Atasü T, Unat EK: Toksoplazmoz ve Gebelik. *İstanbul Başkent Ofset Koll Şt,1985(1-154).*
14. Aspöck H: *Überwachung von Toxoplasmosen während der schwangerschaft.* *Gynak Rdsch* 23:57-65,1983.
15. Aspöck H: *Toxoplasmosen-Diagnostik. Behring Symp Über Diagnostik und Therapie pranataler Infectionen. Aktuelles aus Diagnostik und Therapie,1979,pp 81-90.*
16. Aspöck H: *Toxoplasmosen-überwachung während der schwangerschaft.* *Milupa AG Salzburg 1983,pp 27-36.*

17. Aspöck H, Auer H, Hassl A, Picher O: Advances in immunodiagnosis for Toxoplasmosis-Surveillance During Pregnancy. EMOP IV(The Fourth European Multicolloquium of Parasitology),October 14-19,Abstracts 1984(p 54),İzmir-TURKEY.
18. Balfour AH, Bridges JB, Harford JP: An evaluation of the TOXHA test for detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human serum. *J Clin Pathol* 33:644-647,1980.
19. Badur S: İnfeksiyon hastalıkları tanısında ELISA. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 13: 62-86,1983.
20. Badur S: Virus enfeksiyonlarının tanısında IgM sınıfı antikorlar I. spesifik IgM'lerin saptanmasında kullanılan yöntemler. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 14: 57-65,1984.
21. Badur S: Virus enfeksiyonlarının tanısında IgM sınıfı antikorlar, II.spesifik IgM'lerin belirlenmesinde yanlışlıklara neden olan etkenler. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 15: 17-26,1985.
22. Badur S: Hepatit A virusuna karşı oluşan IgM sınıfı antikorların ELISA ile saptanmasında,Romatoid faktörün neden olduğu yalancı pozitifliğin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 15: 75-79,1985.
23. Balfour AH, Fleck OG, Huges PA, Sharp D: Comperative 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.
24. Brook SGR, Sharm DS, Remington SJ: Detection of *Toxoplasma gondii* Antigen by a Dot Immunobinding Technique. *J Clin Microbiol* 21: 113-116,1985.
25. Burg TL, Grover CM, Pouletty P, Boothroyd JC: Direct and Sensitive Detection of a Pathogenic Protozoan. *T.gondii*,by polymerase chain Reaction. *J Clin Microbiol* 27:1787-1792,1989.

26. Budzko DB, Tyler L, Armstrong D: Fc Receptors on the surface of *T. gondii* Trophozoites: a Confounding Factor in Testing for Anti-Toxoplasma Antibodies by Indirect Immunofluorescence. *J Clin Microbiol* 27:959-961,1989.
27. Budak S: Toxoplasmosis'in epidemiyolojisi "Toxoplasmosis" (Ş.Yaşarol), Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No:3,1983,(23-25).
28. Cengiz AT, Altıntaş K, Cengiz L: Obstetrikte Toxoplazmoz ve Brusellozun önemi. *İnfeksiyon Dergisi* 1:29-41,1987.
29. Derouin F, Sarfati C, Beauvais B, Iliou MC, Dehen L, Lariviera M: Laboratory Diagnosis of Pulmonary Toxoplasmosis in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *J Clin Microbiol* 27:1661-1663,1989.
30. Draper CC, Kendrick RK, Hutchison WH, Biim JC, Garnham PCC: Experimental Toxoplasmosis in chimpanzees. *Br Med J* 2:375-378,1971.
31. Dubey JP, Nancy LM, Frenkel JK: Characterization of the nef fecal form of *T.gondii*. *J Parasitol* 56: 447-456,1970.
32. Elfandii R, Ustaçelebi Ş, Cantürk H, Altıntaş K: *T.gondii* serolojisinde Sabin-Feldman Dye ve ELISA IgG testlerinin kıyaslanması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 21:10-15,1987.
33. Ekmen H, Altıntaş K: Obstetrikte Toxoplasmosis'in Önemi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 5:39-46,1981.
34. Fausto G, Araujo EV, Layne B, Gentry O, Remington JS: False-Positive anti-Toxoplasma Fluorescent antibody tests in patients with anti-nuclear antibodies. *Applied Microbiology* 22:270-275,1971.
35. Flamm H, Aspöck H: Die Toxoplasmose überwachung der schwangerschaft in Österreich Ergebnisse und Probleme. *Padiatri und Grenzgebiete* 20:27-34,1981.

36. Frenkel JK: "Toxoplasmosis" Pathology of Protozoal and Helminthic Disease. Ed Paul A Marcial-Royas, New York, Robert E, Krieger Pub Co, 1975, pp 254-290.
37. Fazlı AŞ, Özbal Y, Kılıç H: Survey of Toxoplasmosis among students of A nursing college. EMOP IV(The Fourth European multicolloquium of Parasitology) October 14-19 Abstracts 1984, p 60, İzmir-Turkey.
38. Fazlı AŞ, Özbal Y, Kılıç H: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Beş Yıllık Toxoplasmosis olguları. Türkiye Parazitoloji Dergisi 9:1-4, 1986.
39. Fazlı AŞ, Kılıç H: Sağlık Koleji öğrencilerinde Toxoplasmosis ve alışkanlıklarla ilgisi. IV.Ulusal Parazitoloji Kongresi, 24-26 Eylül, Tebliğ, 2:13, 1985, Bursa.
40. Fazlı AŞ, Özbal Y, Kılıç H: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarında 1980-1982 yıllarında yapılan Toxoplasma çalışmaları. Türkiye Parazitoloji Dergisi 6:32-34, 1983.
41. Gülmezoğlu E: Bağışıklığın Temelleri. Sevinç Matbaası, Ankara 1983, s 91-106.
42. Gülmezoğlu EM, Gülmezoğlu E: Toxoplasmosis tanısında serolojik testlerin değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni 20:295-303, 1986.
43. Gültan K: Toxoplasmosis'in yurdumuzdaki durumu hakkında serolojik bir araştırma. AÜ Tıp Fak Mec 22:415-425, 1969.
44. Gülmezoğlu E, Ergüven S: Antinükleer antikörlerin teşhisdeki önemi. Mikrobiyoloji Bülteni 19:41-47, 1985.
45. Herrmann KL, Stewart JA: Serological Diagnosis of Perinatal Infections. Am J Med Technol 49:149-154, 1983.
46. Hughes HPA, Balfour AH: An Investigation of the antigenic structure of Toxoplasma gondii. Parasite Immunology 3:235-248, 1981.

47. Hutchison WM, Dunachie JF, Siim C, Work K: Coccidian natural of *T. gondii*. *Br Med J* 1:142-144,1970.
48. Hamelin AP, Ibarbaure SF, Laupy G: Trial conclusions highlighting Toxonostika ELISA in comparison with Immunofluorescence. *Ars Medici Series No.5,Belgium 1984,pp 71-75.*
49. Howard JB, Klass J, Weissfeld AS, Rubin JS, Tilton RC: *Clinical and Pathogenic Microbiology*. CV Mosby Co,St.Louis,Washington 1987 , pp 713-715.
50. İltter Ö: İmmun sistem ve İmmunite. Roche Apa Ofset Basımevi,İstanbul 1986,s 3-32.
51. Jass AWL, Williams KAB, Skinner LJ, Williamson H, Williams H:ELISA in routine *Toxoplasma* diagnosis in scotland. *Ars Medici Congress Series No.5,Belgium 1984,15-21.*
52. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA: *Review of Medical Microbiology*. Lange Med Pub,California 1980,pp 553-554.
53. Kaplan DS, Picciola GL: Application of Quantitative Immunofluorescence to clinical serology: Antibody levels of *T.gondii*. *J Clin Microbiol* 27:2008-2013,1989.
54. Kuman HA, Ak M: ELISA in the Diagnosis of Toxoplasmosis. EMOP IV. (The Fourth European Multicolloquium of Parasitology) October 14-19 Abstracts,1984(56),İzmir-Turkey.
55. Kuman HA, Ak M, Altıntaş N, Üner A: Son 10 yılda Ege Bölgesinde Toxoplasmosis olguları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 11:54-61,1987.
56. Kuman HA, Altıntaş N, Ak M: Ege Bölgesinde Toxoplasmosis rastlanma sıklığı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 11:49-53,1987.
57. Kuman AH, Ak M: Yenidoğanlarda Konjenital Toxoplasmosis rastlanma sıklığı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 11:63-66,1987.

58. Kaynar V, Koşanoğlu R, Akata F: Edirne ve çevresinde *Toxoplasma gondii* indirekt hemaglutinasyon antikorlarının cinse göre dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 13:17-21,1989.
59. Kılıçturgay K, Göral G, Gökırmak F, Töre O, Darengenli Ö, Gelişken Ö, Helvacı S: Bursa yöresinde *Toxoplasma* antikor araştırması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 13:23-32,1989.
60. Kuman HA, Ak M, Yurdağül C: Ege bölgesinde toxoplasmosis olguları. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2:23-31,1983.
61. Chessum BS: Examination of serum for toxoplasmosis antibody using immunofluorescence. *J Med Lab* 27:49-54,1970.
62. Kuman AH, Yenigün A: Toxoplasmosisli annelerin eşlerinde IFAT ile *Toxoplasmosis* araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 5:19-21, 1981.
63. Kuman AH, Soydan S, Yenigün A: Edinsel *Toxoplasmosis* Lenfadenopatisi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 5:9-17,1981.
64. Koyutürk A, Kuman AH: Körlerde IFAT ile *Toxoplasmosis* araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 5:33-36,1981.
65. Loon VMA, VanDerLogt JTM, Heessen FWA, VanderVeen J: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay That Uses Labeled Antigen for Detection of Immunoglobulin M and A antibodies in *Toxoplasmosis*: Comparison with indirect Immunofluorescence and Double-Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol* 17:997-1004,1983.
66. Lagor J: Congenital *Toxoplasmosis* in Different Parts of Yugoslavia. EMOP IV(The Fourth European multicolloquium of parasitology) October 14-19 Abstracts,1984(60),İzmir-Turkey.
67. LeLand D, Marris L, French V, Martin BK, Schreiner RL: The use of TORCH titers. *Pediatrics* 72:41-43,1983.

68. Loon AMV: Evaluation of an antibody-capture *Toxoplasma* IgM-ELISA. *Ars Medici Congress Series No.5, Belgium 1984, (23-30)*.
69. Merdivenci A: *Medikal Protozooloji. İstanbul Ü C Tıp Fak Yay No:80, 1981 (197-218)*.
70. Merdivenci A: *Klinik Parazitoloji. Beta Basım Yay.Dağıtım AŞ, I. Baskı 1984(64-77)*.
71. Merdivenci A: *Medikal Parazitoloji Pratiği. İst Ü C Tıp Fak Yay No: 2513,1979(227-267)*.
72. Mutlu G, Üner M, Atılğan S: *İnsan serumlarında hemaglutinasyon testi ile Toxoplasma antikorlarının araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 6:36-42,1983*.
73. Naot Y, Barnett VE, Remington SJ: *Method for avoiding False-Positive Results occurring in Immunoglobulin M Enzyme-Linked Immunosorbent Assays Due to Presence of Both Rheumatoid Factor and Antinuclear Antibodies. J Clin Microbiol 14:73-78,1981*.
74. Naot Y, Remington JS: *An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM antibodies to Toxoplasma gondii use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. J Infect Dis 142:757-766,1980*.
75. Naot Y, Desmonts G, Remington JS: *IgM enzyme-linked Immunosorbent assay for diagnosis of congenital Toxoplasma infection. J Pediat 98:32-36,1981*.
76. Nikhou H, Özcan K: *Adana'da sağlıklı kişilerde dolaylı flöresan antikor tekniği ile Toxoplasma gondii IgG ve IgM antikorlarının dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 13:33-38,1989*.
77. Orhan V, Yaşarol Ş: *T.gondii'nin morfolojisi fizyolojisi ve evrimi, "Toxoplasmosis" (Ş.Yaşarol), Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 3,1983(9-20)*.

78. Özcel MA, Ak M: Soluble Antigens in the Diagnosis of Toxoplasmosis EMOP IV(The Fourth European Multicolloquim of Parasitology) October 14-19, Abstracts, 1984(53), İzmir-Turkey.
79. Özcel MA, Karaca İ: Toxoplasmosis in cats the Aegean Region. The First Mediterranean Conference on Parasitology. October 5-10, Summaries 1977(11), İzmir-Turkey.
80. Özcan K, Ay Ş, Akan E, Yiğit S: Ç.Ü.Tıp Fak Hastanelerinde Toxoplasma şüphesi ile başvuranlarda Toxoplasma antikorlarının dağılımı. Mikrobiyoloji Bülteni 22:45-50, 1988.
81. Özkuyumcu C, Durupınar B, Girişken E: Toxoplasma gondii serolojisinde IFA, ELISA IgG, ELISA IgM, IHA ve Direkt Aglutinasyon testlerinin karşılaştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni 22:271-275, 1988.
82. Özcel MA: Parazitolojide immunité ve son 10 yıldaki gelişmeler. Türkiye Parazitoloji Dergisi 13:17-32, 1989.
83. Özcel MA: Toxoplasmosis'de immünite, "Toxoplasmosis" (Ş.Yaşarol), Türkiye Parazitoloji Dern Yay No 3, 1983(69-87).
84. Özcel MA, Sermet İ: Toxoplasmosis'in laboratuvar tanısı, "Toxoplasmosis" (Ş.Yaşarol), Türkiye Parazitoloji Dern Yay No 3, 1983(95-118).
85. Özcel MA: İmmünoflöresans ve Parazitolojide Uygulanması. Ege Ü Tıp Fak Yay No 108, 1978(123-127).
86. Payne AR, Isaac M, Francis JM: Enzyme-Linked immunosorbent assay (ELISA) using antibody class capture for the Detection of antitoxoplasma IgM. J Clin Pathol 35:892-896, 1982.
87. Picher O, Auer H, Aspöck H: ELISA mit Unzerstörten Trophozoiten von Toxoplasma gondii. Mit Österr Ges Tropenmed Parasitol 4:81-84, 1982.
88. Picher O, Aspöck H: Die Diagnostische Bedeutung des indirekten Hamagglutinations tests für die Toxoplasroseüberwachung während der Schwangerschaft. Wien Med Wschr 131:14-22, 1981.

89. Pinon JM, Trichet C, Thoannes H: Enzyme-Linked Immuno-Filtration Assay compared-immunological profiles on cellulose acetate membrane: Value in foetomaternal toxoplasmosis, early diagnosis and immunological of congenital toxoplasmosis. EMOP IV (The Fourth European Multicolloquim of Parasitology) October 14-19, Abstracts, 1984 (57), Izmir-Turkey.
90. Panne V, Meuter FU: Evaluation of Toxonostika ELISA for the Diagnosis of Toxoplasma infections with high lights and the determination of congenital Toxoplasmosis. Ars Medici Congress Series No 5, Belgium 1984(47-55).
91. Remington JS, Fausto GA, Desmonts G: Recognition of Different Toxoplasma antigens by IgM and IgG Antibodies in Mothers and Their Congenitally Infected Newborns. J Infect Dis 152:1020-1024, 1985.
92. Sever L: TORCH test and what they mean. Am J Obstet Gynecol 152: 495-497, 1985.
93. Smith SB Repetti CF: Evaluation of a Rapid Screening Immunoassay for Antibodies to Toxoplasma gondii. J Clin Microbiol 25:2207-2208, 1987.
94. Steven KM, Lawrence JK: Serologic Evidence for Acute Toxoplasmosis in Polymyositis Dermatomyositis. Am J Med 75:313-320, 1983.
95. Shekarchi JC, Sever JL, Lee JJ, Castellano G, Madden DL: Evaluation of various Plastic Microtiter Plates with Measles, Toxoplasma, and gamma globulin Antigens in Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. J Clin Microbiol 19:89-96, 1984.
96. Sluiters JF, Balk AHMM, Essed CE, Mochtar B, Weimar W, Simoons ML, Ijzerman EPF: Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Immunoglobulin G and Four Immunoassays for Immunoglobulin M to Toxoplasma gondii in a series of Heart Transplant Recipients. J Clin Microbiol 27:529-535, 1989.

97. Sümbüloğlu K: Sağlık bilimlerinde araştırma teknikleri ve istatistik. ağlar Matbaası, Ankara 1978.
98. Sarnıç H: Diyarbakır Yöresinde Toxoplasmosis tanısında uygulanan yöntemlerin değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi 6:9-22, 1983.
99. Saygı G, Altıntaş K: Sivas Mezbaha İşçilerinde cilt testi ve serolojik yöntemlerle Toxoplazmoz taranması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 7:13-18, 1984.
100. Saygı G, Altıntaş K, Erden AC, Aydın M: Düşük öykülü olguların serumlarının Sabin-Feldman ve İndirekt hemaglutinasyonlu taranması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 8:25-27, 1984.
101. Saygı G: Sivas hastane olgularında Toxoplazmine duyarlılık. Türkiye Parazitoloji Dergisi 7:19-24, 1984.
102. Sibalic D, Djurkovic OD, Nikolic R: Congenital Toxoplasmosis in Premature Twins. Folia Parasitologica 33:1-6, 1986.
103. Şahin İ, Alkan ŞŞ: T.gondii'den arı antijen hazırlama yöntemleri. Ankara Mikrobiyoloji Bülteni 11:19-27, 1977.
104. Turunen HJ, Lenikki PO, Mattisoari K: Demonstration of Intraocular synthesis of Immunoglobulin G Toxoplasma Antibodies for Specific Diagnosis of Toxoplasmic Chorioretinitis by Enzyme Immunoassay. J Clin Microbiol 17:988-992, 1983.
105. Tomasi JP, Francoise SA, Stadtsbaeder S: Rapid Double-Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Human Immunoglobulin M Anti-Toxoplasma gondii Antibodies. J Clin Microbiol 24:849-850, 1986.
106. Tönder O, Closs O, Digranes A: Comparison of the Indirect Haemagglutination and Dye test for Detection of Antibodies to Toxoplasma gondii. Scand J Infect Dis 6:63-68, 1974.

107. Tozzi C, Persia C, Pentimalli H, Amici C, Salvio R: Anti-Toxoplasma IgG and IgM-A comparison between classical serological methods and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Ars Medici Congress Series No 5, Belgium 1984(31-39)*.
108. Torrents J, Perezverdu J, Rodriguez L: Trial conclusions with highlights on the use of Toxonostika ELISA in daily routine. *Ars Medici Congress Series No 5, Belgium 1984(41-45)*.
109. Thalhammer O: Comparison of Toxonostika ELISA versus dye test. *Ars Medici Congress Series No 5, Belgium 1984, (57-61)*.
110. Unat EK: Tıp Parazitolojisi insanın ökaryonlu parazitleri ve bunlarla oluşan hastalıkları. *İst Ü Cerr Tıp Fak Yay No 2557, 1979(554-568)*.
111. Unat EK: *Toxoplasma gondii*'nin ve Toxoplasmosis'in tarihçesi, "Toxoplasmosis" (Ş.Yaşarol), Türkiye Parazitoloji Dern Yay No 3, 1983(1-8).
112. Usta ÇŞ, Elfandii R, Cantürk H, Sellioğlu B: *Toxoplasma* serolojisinde yeni bir test: Carbon Immunoassay (CIA). *Mikrobiyoloji Bülteni 21:138, 1987*.
113. Wielaard F, Gruijthuijsen H, Duermeyer W, Joss AWL, Skinner L, Williams H, Evert H, Elven V: Diagnosis of Acute Toxoplasmosis by an Enzyme Immunoassay for specific Immunoglobulin M Antibodies. *J Clin Microbiol 17:981-987, 1983*.
114. Wilson M, Ware DA, Walls KW: Evaluation of Commercial Serodiagnostic Kits for Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol 25:2262-2265, 1987*.
115. Williams H: Toxoplasmosis-A historical review. *Ars Medici Congress Series No 5, Belgium 1984(3-8)*.
116. Wielaard F: Two ELISA, for IgG and IgM antibodies in *Toxoplasma* serology some aspects of test development. *Ars Medici Congress Series No 5, Belgium 1984(9-14)*.

117. Vural S, Çetin ET, Tuzlacı U, Tağ T: Klinik Teşhiste Laboratuvar. Nurettin Uycan Cilt ve Basım Sanayi AŞ, İstanbul 1986, (10-11,105).
118. Yano A, Aosai F, Ohta M, Hasekura H, Sugane K, Hayashi S: Antigen presentation by *T.gondii*-infected cells to CD₄ proliferative T cells and CD₈ cytotoxic cells. *J Parasitol* 75:411-416,1989.
119. Yaşarol Ş: Medikal Parazitoloji. Ege Ü Tıp Fak Yay No 93,1983(143-157).
120. Walton BC, Benchoff BM, Brooks WH: Comparison of the Indirect fluorescent antibody test and methylene blue Dye test for Detection of Antibodies to *T.gondii*. *A J Trop Med Hyg* 15:149-152,1966.

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi