

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AFYON BÖLGESİNDEKİ ANNE VE YENİDOĞANLARDA
TOKSOPLAZMA ANTİKOR PROFİLİNİN FARKLI
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

“UZMANLIK TEZİ”

Dr. S.Nilay KIYILDI

AFYONKARAHİSAR 2006

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AFYON BÖLGESİNDEKİ ANNE VE YENİDOĞANLARDA
TOKSOPLAZMA ANTİKOR PROFİLİNİN FARKLI
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

“UZMANLIK TEZİ”

Dr. S.Nilay KIYILDI

Danışman: Doç. Dr. Zafer ÇETİNKAYA

AFYONKARAHİSAR 2006

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Başlığı : Afyon Bölgesindeki Anne ve Yenidoğanlarda Toksoplazma Antikor Profilinin Farklı Yöntemlerle Araştırılması

Tezi Hazırlayan : Dr.S.Nilay KIYILDI

Tez Savunma Tarihi : 06.11.2006

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Zafer ÇETİNKAYA

İşbu çalışma jürimiz tarafından MİKROBİYOLOJİ ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Doç.Dr.Orhan Cem AKTEPE

ÜYE

Doç.Dr.Zafer ÇETİNKAYA

ÜYE

Doç.Dr.Mustafa ALTINDİŞ

ÜYE

Yrd.Doç.Dr.Neşe DEMİRTÜRK

ÜYE

Yrd.Dr.İhsan Hakkı ÇİFTÇİ

ONAY

DEKAN

Prof.Dr.Ahmet ÇEKİRDEKÇİ

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım ve uzmanlık eğitimim sÜresince, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli tez danıŐmanım Doç. Dr. Zafer ÇETİNKAYA hocama yardımları için teşekkür ederim.

Anabilim Dalı BaŐkanımız değerli hocam Doç. Dr. Orhan Cem AKTEPE başta olmak üzere, uzmanlık eğitimim ve tez çalıŐmalarım sÜresince katkı ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Mustafa ALTINDİŞ ve Yrd. Doç. Dr. İhsan Hakkı ÇİFTÇİ'ye teşekkür ederim.

Tezimi alıŐtıđım sÜrece ve eğitimim boyunca birlikte çalıŐtıđım, yardımlarını gördüğüm asistan arkadaşlarıma ve tüm laboratuvar çalıŐanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
KISALTMALAR.....	IV
TABLO LİSTESİ.....	VI
I-GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II-GENEL BİLGİLER.....	2
II.1. TARİHÇE VE SINIFLAMA.....	2
II.2. YAPI, MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ.....	4
II.2.1.Takizoit(Trofozoit).....	5
II.2.2.Bradizoit (Doku kisti).....	6
II.2.3.Ookist.....	6
II.3. EVRİM.....	7
II.3.1.Kesin Konaktaki Evrim.....	7
II.3.2.Ara Konaktaki Evrim.....	8
II.4. BULAŞMA.....	10
II.5. İMMUNOLOJİ.....	11
II.5.1.Doğal Bağışıklık.....	11
II.5.2.Kazanılmış Bağışıklık.....	12
II.6. PATOGENEZ VE PATOLOJİ.....	12
II.7.KLİNİK.....	15
II.7.1. İmmunkompetan Erişkin ve Çocuklardaki İnfeksiyon.....	15
II.7.2. İmmun Yetmezlikli Hastalarda İnfeksiyon.....	16
II.7.3. Konjenital Toxoplasmosis.....	18
II.7.4. Oküler Toxoplasmosis.....	21
II.8. TANI YÖNTEMLERİ.....	21
II.8.1.Direkt Tanı Yöntemleri.....	22
II.8.2.İndirekt Tanı Yöntemleri.....	23
II.9. TEDAVİ.....	35
II.10. EPİDEMİYOLOJİ VE KORUNMA.....	38
III. GEREÇ VE YÖNTEM.....	42

III.1. VIDAS IgG, IgM.....	42
III.1.1.VIDAS IgG, IgM’de Kullanılan Malzemeler.....	42
III.1.2.Testin Yapılışı	44
III.1.3.Sonuçların Değerlendirilmesi.....	45
III.2.VIDAS IgG AVIDİTE.....	45
III.2.1.VIDAS IgG Avidite’de Kullanılan Malzemeler.....	46
III.2.2.Testin Yapılışı.....	47
III.2.3.Sonuçların Değerlendirilmesi.....	47
III.3.IFAT IgG, IgM.....	48
III.3.1.IFAT için gerekli malzeme ve solüsyonların hazırlanması.....	48
III.3.2.Testin Yapılışı.....	49
III.3.3.Sonuçların Değerlendirilmesi.....	51
III.4.IFAT IgG AVIDİTE.....	51
III.4.1.IFAT için gerekli malzeme ve solüsyonların hazırlanması:.....	52
III.4.2.Testin Yapılışı.....	52
III.4.3.Sonuçların Değerlendirmesi.....	53
III.5.IFAT ANA.....	54
III.6.MAP IgG, IgM.....	54
III.6.1.MAP için gerekli malzeme ve solüsyonların hazırlanması.....	54
III.6.2.Testin yapılışı.....	55
III.6.3.Sonuçların Değerlendirmesi.....	56
IV. BULGULAR.....	57
V. TARTIŞMA	63
VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	73
VII.ÖZET.....	75
VIII. SUMMARY	76
IX. KAYNAKLAR.....	77

KISALTMALAR

IFAT	: İndirekt Floresan Antikor Testini
EIA	: Enzyme Immuno Assay
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
VIDAS	: Vitek Immuno Diagnostic Assay System
MAP	: Multilyte Analit Platform
AIDS	: Acquired Immun Deficiency Syndrome
IFN γ	: Interferon γ
NO	: Nitrik oksit
HCl	: Hidrojen klorit
hsp	: Isı şok proteini
PAS	: Periyodik Acid Schiff boyası
NH ₄ HCl	: Amonyum hidrokloritle
DNA	: Deoksiribonukleikasit
SSS	: Santral sinir sistemi
TE	: Toksoplazma ensefaliti
HIV	: Human immunodeficiency virus
EMN	: Enfeksiyöz mononükleoz
CMV	: Sitomegalovirus
HSV	: Herpes simplex virus
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
DT	: Sabin Feldman Dye Testi
DAT	: Direkt Aglütinasyon Testi
KFT	: Kompleman Fiksasyon Testi
LAT	: Lateks Aglütinasyonu Testi
WHO	: Dünya sağlık örgütü
IHAT	: İndirekt Hemaglütinasyon Testi
ANA	: Antinükleer antikorlar
RF	: Romatoid faktör
DS-IgM ELISA	: Double-Sandwich IgM Enzyme linked immunosorbent assay
ISAGA IgM	: Immunosorbent Agglutination Assay IgM

ELIFA	: Enzimle İşaretlenmiş İmmunofiltrasyon Yöntemi
ELFA	: Enzyme Linked Florescein Assay
TXG	: Toxo IgG
TXM	: Toxo IgM
TXGA	: Toxo IgG Avidite
SPR	: Solid faz haznesi
STR	: Strip
MLE	: Master lot giriş
RFV	: Rölatif floresan değeri
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
d	: Dilusyon faktörü
İF	: İntensite farkı
MFU	: Floresan ışımada birimi
TSP	: Toksoplazma Serolojik Profili

TABLO LİSTESİ

Tablo-I	:STR TXG bileşimi.....	43
Tablo-II	:STR TXM bileşimi	43
Tablo-III	:Test STR bileşimi	46
Tablo-IV	:Sulandırım plağı	50
Tablo-V	:IgG sonuçlarının değerlendirilmesi.....	51
Tablo-VI	:IgM sonuçlarının değerlendirilmesi	51
Tablo-VII	:Skorlama şeması.....	54
Tablo-VIII	:Anne ve kordon serumları VIDAS IgM, IgG sonuçlarının karşılaştırılması.....	57
Tablo-IX	:Anne-kordon serumları IFAT IgM, IgG sonuçlarının karşılaştırılması.....	58
Tablo-X	:Anne-kordon serumları MAP IgM, IgG sonuçlarının karşılaştırılması	59
Tablo-XI	:Anne-kordon serumları VIDAS, IFAT ve MAP IgM, IgG sonuçları	59
Tablo-XII	:Anne ve kordon kanında IgM veIgG pozitifliği saptanan olguların VIDAS, IFAT ve MAP yöntemlerine göre karşılaştırılması	61
Tablo-XIII	:VIDAS ve IFAT Avidite ve ANA sonuçları	62

I-GİRİŞ VE AMAÇ

Toxoplasma gondii'nin neden olduğu toksoplazmoz, dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülen paraziter bir zoonozdur (1).

Gebelikteki toksoplazmoz, fetusa geçiş ve infeksiyon oluşturma riski nedeniyle önemlidir. Konjenital yol ile bulaşan infeksiyonlarda, ölü ve düşük doğumun yanı sıra doğacak bebeklerde koriyoretinit, körlük, strabismus, hidrosefali, mikrosefali ve serebral kalsifikasyonlara neden olabilmektedir. Anneden fetusa infeksiyonun geçişinin hemen daima hamilelik sırasında annenin infekte olmasıyla mümkün olacağı, fakat nadiren hamilelikten 6-8 hafta önceki sürede akut infeksiyon alan immün sistemi sağlam bir kadının da infeksiyonu fetusa bulaştırabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle uygun tanı yöntemi kullanılarak, mevcut akut infeksiyonların tanınması ve gerektiğinde fetusun araştırılması önem taşımaktadır (2).

Hastalık etkeni *T.gondii*'nin direkt yada kültürde üretilmesi oldukça zor ve özel laboratuvar koşulları gerektirdiği için tanıda kolay ve uygulaması pratik olan serolojik yöntemler tercih edilmektedir (3). Bu çalışmada bugün için rutin çalışmalarda kullanılan ve birtakım avantajlarından dolayı bazı yerlerin referans bir test olarak kabul ettiği İndirekt Floresan Antikor Testini (IFAT) (4), daha sık olarak son 10 yıldır kullanıma giren duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek modifiye bir Enzyme Immuno Assay (EIA) yöntemi olan Vitek Immuno Diagnostic Assay System (VIDAS) ve yeni bir metot olan Multilyte Analyt Platform (MAP) yöntemini kullanarak bölgemiz anne ve bu annelerin kordon serumlarında toksoplazma seropozitiflik oranını tesbit edip, olayın önemini bölgesel verilerimizle vurgulamak istedik. Ayrıca sadece tek bir serum örneği kullanarak primer yada sekonder infeksiyonu belirlemede anti-toksoplazma IgG, IgM varlığı ile özgül IgG avidite testinin birlikteliğini ve önemini araştırmayı hedefledik.

II-GENEL BİLGİLER

II.1. TARİHÇE VE SINIFLAMA

T.gondii memelilerden kuşlara kadar çok sayıda canlı türünün infeksiyonuna sebep olan zorunlu hücre içi bir protozoondur. Toksoplazmoz; *T.gondii*'nin konjenital ve akkiz bulaşı sonucunda değişik organ ve dokularda nekroz ve granülomların gelişmesine yol açan bir hastalıktır (5).

Dünya popülasyonunun çok büyük bir kısmını infekte eden *T.gondii* yaygın olmayan bir hastalık nedenidir. Konjenital olarak infekte fetusta ve immunitesi zayıf olan belli gruplarda hayatı tehdit eden hastalık, günümüzde Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), organ transplantasyonları ve bağışıklık sistemini baskılayan ilaçların kullanılması ile yeniden gündeme gelmiştir (6,7).

T.gondii ilk kez 1908 yılında, Charles Nicolle ve Louis Herbert Manceaux tarafından yabancı bir kemirgen olan *Ctenodactylus gundii*'de bulunmuş, daha sonra birçok yabancı kemirgende tesbit edilmiştir (8). Etkenin şekli ve izole edildiği yabancı kemiricinin tür adı parazitin *T.gondii* olarak isimlendirilmesine neden olmuştur. Yapılan ilk izolasyondan sonra parazit değişik konaklarda saptanmış ve başlangıçta farklı isimlendirmeler almıştır. Ancak daha sonra bu türlerin aynı tür olduğu görülerek isimlendirmede sadece *T.gondii* adı esas alınmıştır (1).

İnsanda parazitin varlığı 1923 yılında, Prag'lı oftalmolog Josef Janku tarafından hidrosefalisi olan bir bebeğin retinasında parazitik kistlerin görülmesi ile anlaşılmış, daha sonra 1937 yılında, Arne Wolf ve David Cowen granülamatöz ensefalitli bir yenidoğanda paraziti etken olarak rapor etmişlerdir (9).

1939 yılında, konjenital toksoplazmozun hidrosefali, koriyoretinit ve serebral kalsifikasyonu takip eden bir ensefalit tablosundan oluşan klasik triadı tanımlanmıştır. Aynı yıl insan ve hayvandan izole edilen parazitlerin biyolojik ve

immunolojik benzerlikleri de ortaya konmuştur (10).

1940'da, Pinkerton ve Weinmann erişkinlerde bu parazitin ölümcül seyreden bir hastalık oluşturabildiğini belirlemişlerdir (11).

1942 yılında, toksoplazmozun vertikal geçişi gösterilmiş, 1965 yılında ise pişmemiş et yoluyla geçişine dair epidemiyolojik kanıtlar elde edilmiştir (10).

1945'de, Kean ve Grocot adındaki araştırmacılar asemptomatik kişilerde kistleri saptamışlardır (12).

1948'de, Sabin ve Feldman'ın kendi adlarını taşıyan boya yöntemi ile bu parazite karşı insanlarda antikorlar bulunduğunu göstermeleri bu konuda elde edilen önemli bir adım olmuştur (10).

1952'de hidrosefali, koriyoretinit ve ensefalitten oluşan semptomlara, psikomotor bozukluklar da eklenerek klasik konjenital toksoplazmoz tetradı oluşturulmuştur (10).

1953'de, Eyles ve Summers toksoplazmoz tedavisinde sulfodiazin ve pyrimetamine arasındaki sinerjik etkiyi göstermişlerdir (12).

1962 yılında, Wanko ve arkadaşları tarafından *T.gondii*'nin coccidian yapısı tanımlanmıştır (13).

1970 yılına kadar kesin konağın kediler olduğu saptanamamıştır (12).

1976'da, doku kisti ve bradizoitlerin biyolojik ve morfolojik özelliklerinin ortaya konduğu ilk ayrıntılı çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar ile; farelere inoküle edilen takizoitlerden en erken 3 gün sonra kist formasyonu oluşturduğu saptanmıştır (13).

1984 yılında, fırsatçı patojen olarak AIDS'li hastalarda *T.gondii* etken olarak gösterilmiştir (14).

Ülkemizde ise bu parazit ilk kez 1950 yılında Akçay, Pamukçu ve Baran tarafından bir köpekte bulunmuştur. Parazitin insanda varlığı 1953 yılında, Unat ve arkadaşları tarafından histopatolojik gözlemlerle nekropside saptanırken, insanda, köpekte ve koyunda ilk izolasyonu Ekmen ve Altıntaş tarafından 1973 yılında gerçekleştirilmiştir. Ülkemizde bu parazitin yaygın olduğu yapılan serolojik incelemelerle anlaşılmaktadır (5).

Levine'nin yaptığı taksonomik düzenlemede *T.gondii*'nin sınıflamadaki yeri aşağıdaki gibidir (13);

Şube: Apicomplexa

Sınıf: Coccidia

Takım: Eimeriida

Alttakım: Eimeriina

Aile: Sarcocystidae

Cins: Toxoplasma

Tür: *Toxoplasma gondii*

İnsan ve hayvan popülasyonlarından izole edilen parazitler incelenerek yapılan genetik analizler, üç klonal genotip grubu olduğunu göstermiştir. Bunlar Tip I, tip II ve tip III genotipleridir. Tip III hayvanlarda daha yaygın iken, insanlarda daha az olarak tesbit edilmiştir. İnsan toksoplazmozunda daha çok tip I türü saptanmıştır. Tip II türü ise kronik infeksiyonların reaktivasyonu ve AIDS'li hastaların %65'inden izole edilmiştir (15,16).

II.2. YAPI, MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

T.gondii'nin yaşam döngüsünde birbirlerine göre önemli morfolojik farklılıkları olan takizoit, bradizoit, doku kisti ve ookist şekilleri bulunmaktadır (13).

II.2.1.Takizoit (Trofozoit)

Takizoitler, primer yada reaktif infeksiyonlarda görülen, aktif infeksiyonun göstergesidirler. Takizoitler 2-6µm büyüklüğünde yarım ay şeklindedirler. Morfolojik yapısı; ön ucu hafifçe sivri, arka ucu yuvarlaktır. Konak hücreler içinde endodiyogeni (endo=içerde, dyo=iki, genesis=doğum, Yunanca) ile bölünerek hızla çoğaldığından (tachos=hız, Yunanca) endozoit yada takizoit olarak isimlendirilmiştir. Ultrastrüktürel yapısı incelendiğinde pelikülünün plasmalemma ve iç membran kompleksi şeklinde üç ayrı membrandan meydana geldiği görülmektedir. Parazitin ön ucunda konoid adı verilen kesik koni biçiminde bir oluşum bulunmaktadır. Konoidin arkasında parazitin hücreye girmesinde rol oynayan proteinleri salgıladığı öne sürülen rhoptrilerin bulunduğu görülmektedir. Mikronemler, parazitin daha çok ön ucunda yer alan yuvarlak şekilli yapılardır. Son yıllarda elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda parazit stoplazmasında yüksek immunojenik özelliğe sahip yoğun cisimcik olarak adlandırılan oluşumlar saptanmıştır. Ayrıca merkezi yerleşimli olan nukleus, kromatin ve santral lokalizasyonlu nukleolus içerir (13).

Toksoplazma trofozoitleri kedilerin mezenterik lenf bezlerinde ve diğer organlarında saptanabilirken, eritrositler dışında tüm memeli hücrelerini invaze ederek diğer omurgalılarda da saptanabilen tek şekildir. İnfekte bir hücrede parazitin çoğalması genellikle hücrenin ölümü ve rüptürü ile sonuçlanır. Hücre rüptürü için 10-60 trofozoit yeterlidir. Trofozoitler serbestleşerek yeni hücreleri infekte ederler veya kist oluşumuna neden olurlar (17).

Akut fazda takizoitlerin hücreyi doldurmasıyla kiste benzeyen takizoit klonları olabilir. Protozoonu antikora ve ilaçlara karşı koruyan bu yalancı kistler, gizli infeksiyonun reaktivasyonunda özellikle immun yetmezlikleri bulunanlarda kaynak olarak rol oynarlar (17).

Takizoitlerin laboratuvarında canlı olarak saklanması için fare peritonu yada hücre kültürü kullanılmaktadır (6).

II.2.2.Bradizoit (Doku kisti)

Parazitin ikinci şekli olan doku kistleri yuvarlak veya yuvarlağımsı olup, 10-200 µm büyüklüğünde olabilmektedirler. Konak hücreler içinde endodiyogeni (endon=içerde, dyo=iki, genesis=doğum, Yunanca) ile bölünerek yavaş çoğaldığından (brady=yavaş, Yunanca) bradizoit yada sitozoit olarak isimlendirilmiştir. Doku kistleri içlerinde 2-3, bazen de yüzlerce bradizoit bulundurabildiklerinden çok değışken boyutlarda olabilirler. Bu kistlerin şekillerinin kalp ve iskelet kaslarında uzun, diğer dokularda ise yuvarlak olduğu gösterilmiştir. Takizoitler hedef hücreye girdiklerinde bradizoit formuna dönüşürler. Takizoit ve bradizoitler yapısal ve fenotipik olarak farklıdır. Takizoitlerin bradizoitlere dönüşümünde in vivo ve in vitro olarak Interferon γ (IFN γ), nitrik oksit (NO), ısı şok proteini (hsp), pH ve ısı değışimleri gibi faktörler sorumlu olabilir (6,13). Nükleuslarının arka uca daha yakın olması ve glikojen taneciklerinin daha çok bulunması takizoitlerden ayıran yapısal farklılıklarıdır (5). Prepatent periyodun takizoitlerde 19-48 gün, bradizoitlerde ise 3-10 gün olduğu, takizoitlerin peptik sıvıda birkaç dakika içinde öldükleri, bradizoitlerin ise 3-6 saat kadar canlı kalabildikleri saptanmıştır (18). Bunlar Periyodik Acid Schiff boyası (PAS), Wright, Giemsa, Gomori'nin Methenamine Silver ve İmmunoperoksidaz boyları ile çok iyi boyanırlar. Doku kistlerinin hayvanlarda infeksiyonun 8. günü gibi erken bir dönemde oluşabildiğı ve büyük olasılıkla konağın ömrü boyunca canlı kaldığı, her organda yerleşebildikleri ancak genellikle beyin, iskelet ve kalp kasını tercih ettikleri bildirilmektedir. Doku kist duvarı peptik ve triptik etki ile parçalandığında serbest kalan parazitlerin pepsin-Hidrojen klorit (HCl) içinde 2 saat, tripsin içinde 6 saat canlı kalabildikleri, böylece normal sindirim periyodunda midede canlılıklarını yitirmedikleri bildirilmektedir (19).

II.2.3.Ookist

Ovoid, 11-14x9-11 µm çapında, iki katlı bir duvarla çevrilidirler; sadece kedigillerin barsaklarında oluşur ve dışkıları ile atılırlar. Kediler tarafından infekte etlerle doku kistlerinin ağız yoluyla alınmasından 3-5 gün sonra dışkı ile 6-10 gün

süreyle dış ortama atıldıkları ortaya konmuştur. Ookistlerin 22⁰C’de, nemli ve oksijeni bol ortamlarda 1-3 gün içinde sporulasyonlarını tamamlayarak infektif hale geldikleri, her ookistin iki sporokist, her sporokistin ise dört sporozoit içerdiği bulunmuştur. Ookistlerin alkali, asit ve deterjanlardan etkilenmediği, %10 Amonyum hidrokloritle (NH₄HCl) 10 dakikada, 55⁰C’den daha yüksek ısıda 30 dakikada öldükleri belirlenmiştir. Ağız yoluyla alınan ookistlerin barsak submukozasında proliferatif faz oluşturabildikleri, bunun sonucunda ise bazen enterite varan belirtilerin ortaya çıkabildiği bildirilmektedir. Elektron mikroskopik incelemelerde ookist ve ookist çeperinin ince retiküler bir ağ ile çevrelendiği, ookist duvarında mikropil adı verilen çukura benzer bir yapının olduğu gösterilmiştir. Mikropilin ookist duvarında bir açıklık oluşturduğu, sağlam sporokist duvarının 4 tabakadan meydana geldiği ortaya konmuştur. Sporokist iç duvarının 4 yerden kıvrımlar yaparak dıştaki tabakanın arasına girdiği ve buralardan sporozoitlerin salındığı saptanmıştır (20-22).

II.3. EVRİM

T. gondii’yi diğer protozoonlardan ayıran özellik, sahip olduğu üç formun da hem son konağı hem de ara konakları için infektif olmasıdır. Parazitin infektif formlarından birinin ara konak veya son konak tarafından ağız yolu ile alınması sonucu infeksiyon oluşmaktadır. Etkenler ara konakların çekirdeksiz hücreleri hariç tüm organ ve doku hücrelerinde çoğalırlar (19,23,24).

II.3.1.Kesin Konaktaki Evrim

T.gondii’nin esas konağı kedilerdir. Bu hayvanlarda parazitin iki evrimi mevcuttur.

II.3.1.1.Şizogonik Evrim

Kediler hem kendi dışkılarındaki ookistler, hem de infekte arakonakların etlerindeki trofozoit ve bradizoitler yoluyla infekte olurlar. Ookist, bradizoit ve trofozoiti alan kedinin ince barsak epitel hücrelerinde şizogonik bir gelişme görülür. Hücre içine giren parazit büyür, genç şizont oluşturur, şizontlar da

olgunlaşır ve içinde 4-30 arasında değişen merozoit meydana gelir. Oluşan her şizogoni sonunda gelişen merozoitler, yeni barsak epitel hücreleri içine girerek yeni şizogonik siklusu başlatabilir (5,19).

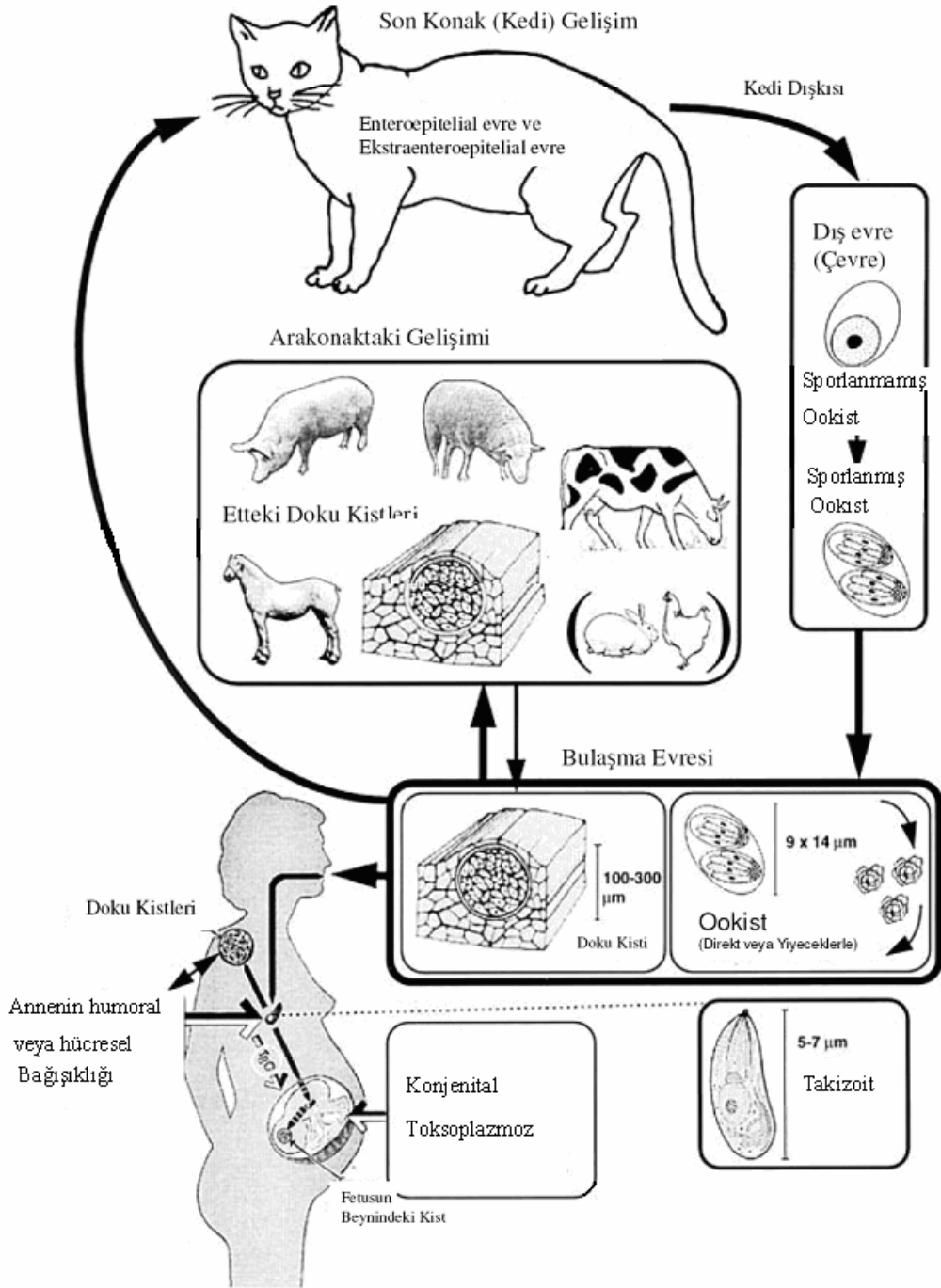
II.3.1.2.Sporogonik Evrim

Şizogonik evrim sonucu oluşan merozoitlerin bir kısmı cinsel hücrelere değişirler. Bunlardan dişi ve kalın zarlı hücreler olan makrogametositler makrogametlere, erkek olan mikrogametositler mikrogametlere dönüşürler. Mikrogametlerin makrogametleri döllemesi sonucu zigot oluşur. Zigottan ise ookist meydana gelir. Barsak epitel hücresi içinde oluşan ookistler barsak boşluğuna atılırlar. Kedilerde infeksiyon yalnızca enterik düzeyde kalır (4).

III.3.2.Ara Konaktaki Evrim

Ookistler, toprak veya iyi yıkanmamış meyve ve sebzeler yoluyla ara konak olan insan ve kuş gibi sıcak kanlı hayvanlar tarafından alınır. Barsakta serbest kalan sporozoitler epitel hücrelerine girer ve burada takizoitlere dönerek kana, lenfatik sisteme aktif hücre invazyonu ile yayılırlar. Takizoitler, tüm nükleuslu hücrelerde, monosit ve makrofajlarda dahi şizogoni çoğalması gösterirler ve yalancı kistleri oluştururlar, hücre perforasyonu ile komşu hücrelere invaze olurlar. Sonunda binlerce bradizoit içeren ve kist duvarı bulunan, hayat boyu gizli infeksiyon odakları olan doku kistleri oluştururlar (25,26).

Ara konaklar, ookistlerden başka, iyi pişmemiş diğer ara konakçı hayvanların etlerindeki kistleri yada çok daha seyrek olarak hastaların kan, idrar, tükürük, süt gibi vücut sıvılarındaki trofozoitleri ağız yolu ile alarak veya organ transplantasyonu ile de infekte olurlar. En önemli ara konakçılar; kuşlar ve rodentlerdir; çünkü infeksiyonu kedilere taşırlar. İnsanlara bulaş, koyun ve domuzlarla da olur. Ookistlerle bulaşta, immun sistemleri yeterince gelişmiş olan yaşlı kediler, yavru kedilere göre daha az tehlikelidirler. Yine immun sistemleri nispeten daha az gelişmiş olması nedeniyle kuzu, dana gibi küçük hayvanların etlerinde daha fazla sayıda kist bulunur (11,26).



T. gondii'nin Yaşam Döngüsü (27).

II.4.BULAŞMA

İnsanlara infeksiyon, doku kisti içeren çiğ veya az pişmiş etlerin yenmesiyle, kedi yada kedi feçesinden ookist alımı ile, ookistle kontamine su yada yiyecekler ile, infeksiyon geçiren anneden transplasental olarak, daha az sıklıkta ise organ transplantasyonu ile bulaşmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla belirlenen risk faktörleri; kedi besleme, çiğ yada iyi pişmemiş domuz, kuzu, koyun ve sığır eti yenmesi, çiğ yada iyi yıkanmamış meyva ve sebze yenmesi, sıkça ev dışında çiğ sebze tüketimi, Avrupa dışına olan seyahatler, kötü el hijyeni, kedi kutusunun temizlenmesi, toprakla temas ve toprak ile ilişkili bir işte çalışma hikayesidir (18).

Oral bulaşta Amerika'da insan infeksiyonları için bildirilen primer neden; doku kisti içeren kuzu yada domuz etinin yenmesidir (13). At, sığır ve su bufalolarında saptanan düşük oran koyun ve domuzlarda oldukça yüksektir. Doku kistinde yıllarca canlılığını koruyan organizma, hayvanın hemen hemen tüm yenilebilir bölümlerinde bulunur (28). *T.gondii*'nin hayvanlar üzerindeki yaygınlığının araştırıldığı bir araştırmada koyun etinden %4, domuz etinden %32 oranında *T.gondii* izole edilmiştir (6). İngiltere'de yapılan bir başka çalışmada ise koyun etinde %33, domuz etinde ise %67 oranında *T.gondii* Deoksiribonükleikasiti (DNA) pozitif olarak bulunmuştur (29).

Etlerin 65 °C'nin üstünde en az 10 dakika pişirilmesi ya da -15 °C'de üç gün dondurulmasının doku kistleri ile bulaşmaların engellenmesinde yeterli olduğu ifade edilmektedir (5). Ayrıca pastörize edilmiş keçi sütünden ve yumurtadan *T.gondii* izole edildiği bildirilmiştir. Bu tür gıdaların pişirilmeden tüketilmesi yolu ile de bulaşın gerçekleşebileceğine dikkat çekilmiştir (4,30).

Akut toksoplazmozda takizoitler çok yaygındırlar. Dışkı, idrar, tükürük, burun salgısı, gözyaşı, vajina salgısı ve sütle dışarı atılabilmektedirler. Takizoitler tükürükte 5 gün, sütte 6 gün, gözyaşında 4 gün, idrarda 7 gün infektif olarak kalmaktadır (4,19). Ayrıca takizoitler ağız mukozasından veya laboratuvarında kaza sonucu mukozalar veya parenteral yollardan vücuda girerek infeksiyon nedeni olabilir (10).

Bir başka bulaşma yolu ise gebelik döneminde geçirilen toksoplazmozun fetusa geçmesi ile şekillenen konjenital bulaşmadır. Gebe bir canlı, *T.gondii* ile infekte olduğunda takizoitler hematojen yolla plasentaya ulaşır. Burada doku kistleri oluştururlar. Daha sonra plasentadaki kistler gebeliğe bağlı fizyolojik ve hormonal etkilerle açılır. Serbest hale geçen bradizoitler plasentayı aşarak embryo veya fetusa ulaşarak infeksiyona neden olur (5).

T.gondii'nin sitratlı kanda 4⁰C'de 50 gün kadar canlı kalabildiği, infeksiyonun tam kan veya lökosit transfüzyonu ile de geçebildiği bildirilmiştir. Ayrıca organ nakillerinde seropozitif bir donörden seronegatif bir alıcıya infeksiyonun bulaşına neden olunabileceği gibi, kronik latent infeksiyonun aktivasyonuna da yol açabileceği bildirilmektedir (17,19,31).

II.5.İMMÜNOLOJİ

Toksoplazmoza karşı doğal ve kazanılmış olmak üzere iki temel bağışıklık söz konusudur. Doğal bağışıklık, bir canlının toksoplazma ile karşılaşmadan ve ona karşı hiçbir aktif bağışıklık geliştirmeden parazitin yerleşmesine karşı belli direnç göstermesidir. Kazanılmış bağışıklıkta ise canlı, parazitin kendisi veya ürünleri ile yaşamının bir döneminde karşılaşmıştır. Bu karşılaşma sonucu da vücudunda parazite karşı aktif savunma mekanizmaları oluşmuştur (4,32,33).

II.5.1.Doğal Bağışıklık

Bu tip bağışıklıkta yaş faktörü önemlidir. Toksoplazma infeksiyonuna karşı fetus çok duyarlıyken ileri yaşlarda duyarlılık azalır. İleri yaşlarda vücuda yerleşebilen etkenler sessiz bir infeksiyon oluşturur veya kendiliğinden iyileşme görülür. Bir diğer önemli nokta ise özgül olmayan hücresel bağışıklık mekanizmasıdır. Çünkü immun sistemi baskılanmış hastalarda toksoplazmanın kolayca yerleştiği ve ölümlere neden olduğu görülmüştür (4,32,33).

II.5.2.Kazanılmış Bağışıklık

T.gondii'nin vücutta yerleşmesine bağlı olarak infekte kişilerde antikor yapımı görülür. Toksoplazmozda bulaşmadan birkaç gün sonra IgM tipinde antikorlar oluşur. İki üç ay içinde en üst seviyeye ulaşır ve daha sonra titresini düşmeye başlar. Bu nedenle yeni başlamış infeksiyonun teşhisinde önemlidir. IgG tipi antikorlar geç oluşur, yavaş bir yükselişten sonra yavaş bir düşüş grafiği çizer. Yaşam boyu düşük bir titrede pozitif kaldığı sanılmaktadır. *T.gondii* ile infekte kişilerde oluşan antikor titresini yüksek olsada tek başına koruyucu değildir. Bu antikorlar pasif bağışıklıkta da etkisizdir. Buna karşın özgül hücresel bağışıklık toksoplazmozda koruyucu bir fonksiyona sahiptir. Hücresel bağışıklık, yüzey reseptörlerine sahip T lenfositler tarafından meydana getirilir. Hücresel bağışıklıkta, fagositozda görevli hücreler de önemli rol oynarlar (24,33,34).

II.6. PATOGENEZ ve PATOLOJİ

İnsanlardaki infeksiyonun patolojisi hakkındaki bildiklerimiz immun yetmezlikli hastaların ve ağır infeksiyonlu bebeklerin otopsileri ile, immun sistemi sağlam kişilerin lenf bezi biyopsi örneklerinden elde edilen sonuçlarla sınırlı kalmaktadır (35).

Genellikle oral yolla bulaşan *T.gondii* infekte deney hayvanlarında enterite neden olur. İnsanlarda infeksiyon dozu düşüktür ve enterik dönem belirtisizdir. Alındıktan 1-2 hafta içinde antikorlar oluşur ve dolaşımdaki ekstrasellüler toksoplazmalar harab edilir. Takizoitler hücreye aktif olarak girerler ve hücre içi organellerle bağlantısı olmayan parazitik vakuol oluşturarak kendilerini korurlar. Hücre içersine giren organizma her 5-12 saatte bir bölünür. Sayıları 16-32'ye ulaşınca hücreyi harab ederek serbestleşen takizoitler komşu hücreleri istila ederler. Lenfatikler ve kan yolu ile diğer dokulara yayılabilir ve bradizoitleri içeren doku kistleri oluşturabilirler (36).

Özellikle beyin, retina, iskelet ve kalp kasında bulunan doku kistlerinin açılması veya monosit ve makrofajlarda canlı trofozoit bulunması, kronik infeksiyonu olan belirtisiz kişilerde rekürren paraziteminin nedenidir.

Toksoplazmaların serbestleşmesi ile ortaya çıkan hücre yıkımı, hem takizoitlerin invazyon ve istilasına hem de konak immün yanıtına eşlik eden hasara bağlıdır. İmmünite ile geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonu geliştiği için serbestleşen bradizoitlere karşı doku nekrozu ve kronik inflamasyon ile karakterize tip IV allerjik reaksiyon gelişir. Bu durum klinik olarak retinada önemlidir; kendi kendine sınırlanabilen fokal ensefalit ve miyozite de neden olabilir (36).

Lenf nodülleri: Toksoplazma lenfadenitindeki histopatolojik değişiklikler ayırt edilebilir ve tanı koydurucudur. Tipik bir bulgu üçlemesi vardır; (i) reaktif bir foliküler hiperplazi, (ii) germinal merkezlerin kenarlarını taşıp bulanıklaştıran düzensiz epitelyum histiosit yığınları, (iii) sinüslerin, monosit hücreli fokal distansiyonu (35), Reed Steinberg dev hücreleri, Langans dev hücreleri, granülomlar, mikroapseler ve nekroz odakları tipik olarak görülmez. Nadiren trofozoitler veya doku kistleri gösterilebilmektedir (37).

Göz: AIDS'lilerde korioretinit segmental panoftalmik ve kist, trofozoit içeren koagülasyon nekroz alanları ile karakterizedir. Aşırı inflamasyon olmadığı halde nekrotik alanlara komşu tromboze retinal damarlar çevresinde çok sayıda organizma görülebilir. Lezyonlar birden çok veya bilateral olabilmektedir (38).

İmmün sistem bozukluğu olan hastalardaki göz infeksiyonu ağır inflamasyon ve nekrozla karakterize ağır korioretinitte yol açar. Tekrarlayan korioretinitin patogenezi ise tartışmalıdır. Bir grup araştırmacı kistlerin yırtılmasının nekroz ve inflamasyona yol açan canlı organizmaları ortaya saldıgını öne sürmekte başka bir grup korioretinitin bilinmeyen nedenlerle oluşan bir hipersensitivite reaksiyonundan meydana geldiğini kabul etmektedir (38).

AIDS'lilerde görülen oküler toksoplazmoz olgularında latent infeksiyonun reaktivasyonu olup immün sistemi sağlam kişilerde konjenital infeksiyona bağlı gelişen korioretinitte aktif lezyonlar eski skarlarla yakın iken AIDS'lilerde eski lezyonla ilgisi olmayan, daha geniş ve multiple lezyonlar görülmektedir. Lezyonların

bu karakteri koriyoretinitin lokal reaktivasyonundan çok hematojen yayılıma sekonder geliştiği kanaati uyandırmaktadır. Retina ve koroiddeki tek veya birden fazla doku nekrozu odakları oküler toksoplazmozun erken bulgularından olup, vitritis, iridosiklitis ve kataraktlar koriyoretinitin komplikasyonlarıdır. Organizmalar önce retinanın iç tabakasının kapillerlerine yerleşirler, endoteliumu tutarlar ve uygun dokulara yayılırlar (35).

Santral sinir sistemi(SSS): *T.gondii* tarafından SSS tutulumunda mikroglial nodüller ve birkaç santimetre çapında nekroz odakları ile karakterizedir (24). Nekrotik alanlar kalsifiye olarak çarpıcı radyoaktif bulgulara yol açabilirler. Sylvius kanalının veya Monroe deliğinin kapanmasıyla hidrocefali oluşabilir (6).

İmmun sistem bozukluğu olan hastalardaki multipl beyin apseleri toksoplazma ensefalitinin (TE) en karakteristik özelliğidir ve özellikle AIDS'li hastalarda görülür. AIDS'li hastalarda gelişen TE'de merkezi damarlar çevresinde belirgin iltihabi infiltrasyonlu hiperemik bölge ve perivasküler alanları çevreleyen lenfositler, plazma hücreleri, makrofajlardan oluşan üç karakteristik bölge görülür. Nekrotik alanların etrafında bol takizoit, dıştaki periferik bölgede ise toksoplazma kistleri seçilmektedir. Ödem vaskülit, hemoraji ve serebral infarkt da gözlenebilir. Aktif infeksiyonda takizoitlerin tanınması patognomoniktir (39,7).

Diğer organlar: Toksoplazmik myokardit SSS bulgularının baskın olduğu olgularda pek bulgu vermez ancak otopside teşhis edilir. Fokal nekroz, ödem, infiltrasyon tipiktir, apselere de rastlanabilir, benzer bulgular AIDS dışı olgularda da görülebilir, kardiyak myozitler pseudokist oluşturacak şekilde takizoitlerle dolmuştur, inflamasyon görülmez (17,19,31).

T.gondii'ye bağlı myozit AIDS'teki en sık nöromüsküler semptomdur. AIDS'li hastaların yaklaşık %4'ünde görülür. İskelet kası biyopsilerinden başarılı izolasyon yapıldığı bildirilmiştir. Mikroskopide değişebilen iltihabi reaksiyonu olan nekrotik kas lifleri görülmüştür. İskelet kası tutuluşu AIDS dışı nedenlerle immün yetmezliği olan kişilerde de gözlenmiştir. Yaygın gastrointestinal sistem tutuluşunun iltihabi yanıtı bağlı olabileceği, hemorajik gastrit ve kolit görülebileceği bildirilmiş,

toksoplazmozda karaciğer, pankreas, tubulus seminiferus, prostat, adrenal bezler, böbrekler ve kemik iliği tutuluşları da gösterilmiştir (17,19,31).

II.7. KLİNİK

II.7.1.İmmunkompetan Erişkin ve Çocuklardaki İnfeksiyon

T.gondii ile primer infeksiyon çocuk ve erişkinlerdeki olguların %10-20'sinde semptomatiktir. En sık görülen klinik tablo asemptomatik servikal lenfadenopatidir. Nadiren 3 cm çapından büyük olup asla süpüre olmayan özelliktedir. Ateş, halsizlik, baş ağrısı, makülopapüler raş, kırıklık, gece terlemeleri, kas ağrıları, nadiren boğaz ağrısı, palpabl ve perkütabl hepatosplenomegali eklenebilir. Bu klinik tablo Enfeksiyöz mononükleoz (EMN) veya Sitomegalovirus (CMV) infeksiyonuna benzeyebilir. Toksoplazmozun %1'e yakın oranda mononükleoz sendrom nedeni olabileceği belirtilmiştir. Retroperitoneal veya mezenterik lenfadenopati karın ağrısına neden olabilir. Nadir olgularda lenfadenopati aylarca persiste edebilir (6,7).

Toksoplazmik korioretinit, akut kazanılmış infeksiyonun (sporadik ve epidemik) intrauterin veya postnatal kazanılmış reaktivasyonu şeklinde oluşabilir. İntrauterin infeksiyonun geç sekeli şeklinde oluşan hastalık, yaşamın ikinci ve üçüncü dekadında daha sık görülür; bilateral hastalık, retinal skarlar ve maküla tutulumu, bu olgularda retinal hastalığın tipik belirtileridir. Aksine akut toksoplazmozdaki korioretinitte olgular yaşamın dördüncü ile altıncı dekadı arasında daha sıktır ve tutulum sıklıkla tek taraflıdır. Göz lezyonları genellikle makülayı tutmaz ve eski skarlar yoktur. Göz toksoplazmozunun genellikle retina hastalığı olduğu bilinmektedir. Toksoplazmalar retinada kistler oluştururlar, bu nedenle antikor seviyesi bu olgularda düşük olur. Göz katmanlarında senelerce bozukluk oluşturmadan yaşarlar. Bilinmeyen bir nedenle parazit antijeni serbest kalınca alerjik lokal ödem ve nekroz oluşturur. Karakteristik lezyon fokal nekrotizan retinittir. Lezyonlar irreversibldir. Yerleşimleri maküler, jugstamaküler veya periferiktir. Göz dibinde retina görünümü tanı koydurucudur. Lezyon konjestif ve çepeçevre ödemlidir. Merkezde daima lokalize, kalıcı olan grimsi bir nekroz oluşur.

Fundusta sarımsı beyaz kümeler belirir. Kümelerdeki tek tek lezyonlar çeşitli yaşlardadır. İyileşme ile lezyonlar solar, atrofiye uğrar ve siyah pigmentler gelişir. Üveal traktusta iltihap sonucu gözün diğer kısımlarında tutulumlar, özellikle posterior üveit ve bazen panüveit şeklinde görünüm korioretinite eşlik eder. Edinsel toksoplazmik korioretinit unilateraldir. Konjenital toksoplazmozda korioretinit bilateraldir. Akut korioretinitte ağrı, fotofobi, aşırı göz yaşarması olur. Makulanın enfeksiyona uğraması ile santral görme kaybı vardır. İnflamasyonun kaybolması ile görme düzelir. Göz dibi incelemesinde konjenital toksoplazmozlarda bilateral maküler enfeksiyon, korioretinal dejenerasyon, çabuk gelişen optik sinir atrofisi, vitreus ve humoraköz sıvılarının berraklığı gözlenir. Spesifik tedaviden sonra hastaların %13-30'unda korioretinitin tekrarı sıktır (6,35).

II.7.2.İmmun Yetmezlikli Hastalarda İnfeksiyon

Toksoplazmoz, immunkompetan bireylerde nisbeten iyi seyretmesine rağmen immün yetmezliklilerde korkutucu ve sıklıkla yaşamı tehdit edicidir. İmmün yetmezlikli hastalardaki toksoplazmozun klinik belirtileri pnömoni, korioretinit ve akut solunum yetmezliği şeklinde çoklu organ tutulumu ve septik şoka benzeyen hemodinamik anomalileri de kapsar. İmmün yetmezlikli hastalarda toksoplazmoz hemen daima daha önce kazanılmış enfeksiyonunun reaktivasyonu sonucu ortaya çıkar. Bu grupta beyin en sık tutulan organdır. TE'nin klinik görünümü, subakut seyirli haftalar içinde gelişen bir süreçten, günler içinde gelişen fokal nörolojik bulgularla birlikte veya nörolojik bulgu olmaksızın görülen akut bir konfüzyon durumu şeklinde olabilir. Klinik tablolar mental durumda değişiklikler, epilepsi nöbetleri, motor zayıflık, kranial sinir bozuklukları, sensoriyel anomaliler, serebellar semptomlar, hareket bozuklukları ve nöropsikiyatrik bulguları kapsar (7).

İmmünespresif hasta grubunu, AIDS'li olanlar, transplantasyon yapılanlar ve malignensisi olanlar olmak üzere 3 büyük grup oluşturur. Latent enfeksiyonun reaktive olması sonucu; AIDS'li hastalarının yaklaşık %30'unda toksoplazmoz gelişebildiği ileri sürülmektedir. AIDS hastalarında toksoplazmozun en sık görülen klinik formunun ensefalit olduğu, kalp, akciğer, mide, adrenal, pankreas gibi hemen

hemen her organı tutan yaygın şekillerinin de görülebildiği saptanmıştır (14). TE'si olan hastaların serumunda spesifik *T.gondii* IgG antikorlarının DT (Sabin Feldman Dye) ile düşük titrelerde saptanabildiği için bu tür olgularda tanı koymanın zor olduğu bildirilmektedir (18).

Seronegatif bir alıcı seropozitif donörden böbrek, karaciğer, kalp ve kemik iliği gibi bir organ alırsa toksoplazmoza yakalanabilir. Transplant hastalarında toksoplazmoz nadiren görülmekte fakat ölümcül bir seyir göstermektedir (40).

Daha önceleri kanserli hastalar kısa süre içinde kaybedildiğinden kanserli hastalarda toksoplazmozun nadiren görüldüğü bildirilmekteydi. Son yıllarda tıptaki gelişmeler kanserli hastaların yaşam sürelerinin uzamasını sağlamıştır. Ancak hastalığın tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar immun sistemi de baskıladığından bu tür hastalar toksoplazma için uygun konaklar haline gelmiş ve kanser ile toksoplazmozun birlikte bulunduğu olgular daha sık bildirilmeye başlanmıştır. Lenfositlerin toksoplazma infeksiyonunun kontrolünde çok önemli rolleri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle toksoplazmozun genellikle lenfoid ve hematolojik maligniteler ile birlikte görüldüğü bildirilmektedir (41).

II.7.3.Konjenital Toksoplazmoz

Gebelikteki toksoplazmozun tanınması yalnızca fetusa geçiş riski nedeniyle önemlidir. Bu risk özellikle annesi ilk infeksiyonu gebelik sırasında alan fetuslarla sınırlıdır. Herhangi sağlıklı bir kadının gebelikten önce toksoplazma infeksiyonunu alması, belirgin bir transplasental geçiş riski taşımaz. Gebeliğin ilk üç ayında immunokompetan kadınlarda fetusa *T.gondii* geçişi nadir olgularda görülür. Human immunodeficiency virus (HIV) infeksiyonu gibi immun yetmezlikli kadınlarda *T.gondii* infeksiyonunun gebelikten önce alınması reaktivasyonun sonucu olarak fetusa geçişine yol açacaktır (7).

Annedeki infeksiyonun semptomatik veya asemptomatik oluşu fetusun infekte olması ile bağlantılı değildir. Fransa'da yapılan bir çalışmada konjenital toksoplazmoz insidansı ve şiddetinin, fetusun hangi trimesterde infeksiyonu aldığı

ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Bunun sonucu spontan abortus, ölü doğum, yenidoğanda ağır defektli doğum görülür. Fetusa geçiş oranı 1.trimestirde %5, ikinci trimestirde %30, üçüncü trimestirde %50'den daha fazladır. Konjenital toksoplazmozlu yenidoğanların yaklaşık %85'i doğumda normaldir. Bu nedenle hiç kimse bu hastalık ihtimalini yalnız klinik muayene ile değerlendiremez. Dolayısıyla tedavi uygulanmazsa infekte çocukların çoğunda konjenital toksoplazmoz kaçınılmaz olarak hastalığa yol açacaktır (35,42).

Intrauterin toksoplazma infeksiyonu geçiren fetusun prognozu hakkındaki bilgiler iki gruba ayrılarak değerlendirilebilir. İlk grup toksoplazma tanısı konan ve doğumda veya doğum sonrası takiplerde intrauterin dönemde tedavi edilmemiş olguların sonuçlarıdır. Diğer grup ise prenatal tanı ile intrauterin infeksiyon tanısı konan ve antenatal tedavileri yapılan olguların sonuçlarından oluşmaktadır. Son onbeş yıl içinde gebeliklerinde toksoplazma serokonversiyonu saptanan ve antepartum tedavi görmeyen gebeliklerin sonuçlarının ortaya konduğu 7 geniş çaplı çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde; 72,675 gebeliğin 218'inde serokonversiyon saptandığı, 218 serokonversiyon olgusunun 25'inde (%11.5) fetusun infekte olduğu, 5'inde intrauterin ölüm veya düşük (%2.3), 8'inde (%3.7) klinik konjenital infeksiyon, 12'sinde (%5.5) ise subklinik infeksiyon ile doğduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Antenatal tedavi gören olguları içeren 5 çalışmanın sonuçları birlikte değerlendirildiğinde; gebeliğinde serokonversiyon saptanan 2514 gebenin 223'ünde (%8.8) fetusun infekte olduğu, bunlardan 73'ünde gebeliğin sonlandırıldığı (%2.9), doğan ve ortalama 4 yıl takip sonrası çocukların 95'inin subklinik(%3.6), 34'ünün (%1.4) klinik bulguları olduğu sonucu ortaya çıkar. Başka bir bakış açısıyla intrauterin infekte olan fetusların %30'unun klinik, %70'inin subklinik olduğudur (43).

Bir anne gebeliğin erken dönemlerinde *T.gondii* ile infekte ise fetus ve yenidoğanda hastalığın daha ağır seyirli olmasına karşın gebeliğin kısa periyotları nedeniyle geçiş daha az sıklıkla görülür. Ateş, hidrosefali, mikrosefali, sarılık, konvülsiyon, genellikle bilateral koryoretinit, serebral kalsifikasyonlar, serebrospinal sıvıda ksantokromi ve mononükleer hücre artışı, klasik bulgulardır.

Psikomotor bozukluklar, gelişme gecikmesi, işitme kaybı, sarılık, raş, hematolojik anomaliler, pnömoni, makülopapüler veya peteşi şeklinde döküntü, myokardit, solunum güçlüğü, nefrotik sendrom, sağırılık, periferik kanda eritroblast artışı, trombositopeni, lenfositoz, monositoz, ağır vakalarda rastlanabilen diğer bulgulardır. Ağır vakalarda ölüm ve sekel oranı yüksektir (35,44).

Subklinik seyreden vakalarda sıklıkla beyin omurilik sıvısında (BOS) lenfositoz ve protein artışı saptanır. Bu bulgular 4 ay ve daha fazla devam eder. Bu asemptomatik vakalarda da aylar veya yıllar sonra gelişen koryoretinit, strabismus, körlük, hidrosefali ve mikrosefali, serebral kalsifikasyonlar, psikomotor veya mental gerilik, epilepsi ve sağırılık sekelleri bildirilmiştir. Yenidoğanda toksoplazmozun klinik tablosu CMV, Herpes simplex virus (HSV), Rubella infeksiyonları, sfilis, listeriosis gibi bakteriyel infeksiyonlar, Rh uyuşmazlığına bağlı eritroblastoz ve SSS'nin dejeneratif hastalıkları ile ilgili ensefalopatiler ile benzerlik gösterir (44).

Fetus ve yenidoğanda konjenital toksoplazmozun tanısı doğum öncesi ve doğum sırasında alınan serumlarda spesifik IgM ve IgA'nın gösterilmesi ile konur. Yenidoğanda toksoplazmoz tanısı stabil veya yükselen DT ve IFAT titresi ve IgM pozitifliği ile konmaktadır. Doku kistlerinin plasenta, fetus ve yenidoğanda saptanması ile de tanıya gidilir ve her zaman konjenital toksoplazmoz tanısını kesinleştirir. Antikor pozitif annelerden doğan bütün yenidoğanlar, maternal IgG nedeniyle antikor pozitifliğine sahip olacaklardır. Bu titreler oldukça yüksek olabilir, fakat aylık titre kontrolü yapıldığında %50 oranında düşmelerin olduğu görülecektir (41).

Plasental bariyerden geçemeyen IgM'lerin belirlenmesi bebekte infeksiyonun daha güvenilir bir göstergesidir. Belirli durumlarda tek serum örneğinde IgM antikorlarının varlığı yakında infeksiyona yakalanmış olmanın göstergesi olarak kullanılamaz. Primer infeksiyondan 12 yıl sonra yüksek düzeyde anti-toksoplazma spesifik IgM antikorları bulunmuştur. Ayrıca plasental bariyerdeki defektler nedeniyle maternal geçiş olabilmektedir (>%1) (41).

Doğumda asemptomatik olan konjenital toksoplazma infeksiyonlu çocukların takiplerinde; Fransa'da yapılan bir çalışmada 4 yaşına kadar 48 çocuğun 9'unda (%18), Amerika Birleşik Devletleri kökenli bir yayında 9 yaşına kadar 13 çocuğun 11'inde (%88), Hollanda'da yapılan bir yayında ise 20 yaşına kadar 11 çocuğun 9'unda (%82) koriyoretinit geliştiği bildirilmektedir. Ayrıca %0-38 arasında değişen oranlarda nörolojik gelişimde gecikme ve %10-30 oranında orta derecede işitme kaybı geliştiği bildirilmektedir. Bu bulgular ışığında bakıldığında konjenital toksoplazma infeksiyonu çocukta uzun vadede %85 oranında sekele neden olan ciddi bir sağlık sorunudur. Ancak asemptomatik olguların takibiyle ilgili yayınlardaki olgu sayılarının azlığı ve gebeliklerinde tedavi olan olgulardan elde edilen sonuçların bu yayınlarda bildirilenlerden farklı olması bu sonuçların dikkatli değerlendirilmesi gerektiğini ve bu konuda uzun süreli prospektif çalışmaların yapılmasının zorunlu olduğunu ortaya koymaktadır (43).

Konjenital toksoplazmoz tanısında serolojik verilerin sağlıklı bir şekilde yorumlanabilmesi için hem anne hem de infant aynı zamanda incelenmelidir. Şayet her iki serum pozitif ise, infant serumu 1-2 hafta içinde yeniden test edilmelidir. Şayet IgM maternal kazanılmışsa IgM yarılanma ömrü yaklaşık 5 gün olduğundan kısa sürede önemli ölçüde titre düşmesi görülecektir. İnfant IgM titresini stabil veya sürekli yükseliyorsa infeksiyon için diagnostiktir. Anne negatif, infant IgG ve IgM pozitif ise aktif infeksiyonu, anne pozitif infantta IgM için haftalık, IgG için aylık yarı yarıya titre düşüşü maternal geçişi veya transfüzyon ile geçişi gösterir (41).

II.7.4.Oküler Toksoplazmoz

Toksoplazma infeksiyonu, koriyoretinitin önemli nedenleri arasında yer almaktadır. Bu tablo ya edinsel göz toksoplazmozunu veya konjenital toksoplazmozdan kaynaklanmaktadır. Toksoplazmalar retinada kistler oluştururlar. Göz katmanlarında senelerce bozukluk oluşturmadan yaşarlar. Toksoplazma koriyoretinitinin çoğunluğu konjenital infeksiyonlardan kaynaklanmaktadır. Hastalar yıllarca asemptomatik olarak kalırlar. Semptomatik

hastalık yaşamın ikinci veya üçüncü on yılında pik yapar, kırk yaşın üstünde ise nadir görülür (41).

Aktif toksoplazma koriyoretinitinde genellikle düşük IgG titreleri vardır, IgM antikorları ise genellikle saptanamaz (41).

Retinal lezyon karakteristik ise ve serolojik titreler pozitif ise, çoğu otoriteler tarafından bunun toksoplazma koriyoretiniti olduğuna kesin gözü ile bakılmaktadır. Retinal lezyon atipik ve serolojik testler pozitif ise, toksoplazma koriyoretiniti tanısı şüphelidir ve sadece ön tanı değerindedir (41).

II.8. TANI YÖNTEMLERİ

Toksoplazmoz, klinik olarak birçok infeksiyon hastalıkları ve diğer hastalıklarla karışabilmektedir. Paraziter hastalıklardan Kalaazar, Sıtma, Karaciğer Amibiazisi, Schistosomiasis, Filaryaz, toksoplazmozun klinik ayırıcı tanısında hatırlanması gereken hastalıklardır. Ayrıca EMN, Eritroblastozis fetalis, Rubella, CMV, HSV, Sfilize bağlı infeksiyonlar, çeşitli Arbovirus infeksiyonları, Hodgkin hastalığı, Riketsiya infeksiyonları, Bruselloz ve Tüberküloz, karaciğer kanseri, lenfadenopatiye neden olan infeksiyonlar, kanser olguları, polimyozit ve sarkoidoz kliniklerde toksoplazma infeksiyonları ile karışabilen başlıca hastalıklar arasında sayılmaktadır (45). Bu nedenle doğru tanı konulabilmesi için infeksiyonun kliniği ışığında değişik laboratuvar yöntemlerinden faydalanılması gerekir.

II.8.1. Direkt Tanı Yöntemleri

II.8.1.1. Toksoplazma İzolasyonu

Toksoplazmozda kesin tanı etkenin görülmesi yoluyla yapılır. Özellikle lenf bezi ponksiyonu, beyin ve myokard biyopsi materyalinde toksoplazmaya özgü görünüm tanı koydurucudur. Parazitler bu preparatlarda genellikle görülür. Alınan materyallerde parazit görülmediği zaman, deney hayvanlarına inokülasyon yöntemi kullanılır. Vücut sıvı örneklerinin fareye inokülasyonu ile fare peritoneal

sıvısı 6-10 gün içinde incelenip toksoplazmalar izole edilebilir. Fareler 6 hafta yaşarlarsa farelerde toksoplazma antikoları aranır. Seropozitif farelerin karaciğer, dalak ve beyninin Wright ve Giemsa boyalı preparatlarında kistlerin görülmesi gerekir. Görülmezse karaciğer, dalak, beyin süspansiyonları farelere inoküle edilir. Hemen inoküle edilmeyecekse 4⁰C'de bir gece saklanabilir. Aynı şekilde saklanan kanda da toksoplazma izole edilebilir. Fare inokülasyonundan daha az hassas bir yöntem de doku kültürlerinden 36 gün içinde toksoplazma izole edilmesidir (19).

II.8.1.2. Polimerase Zincir Reaksiyonu (PCR)

Vücut sıvılarında ve dokularda, *T.gondii* DNA'sının tesbitine dayanan PCR amplifikasyonu konjenital, oküler ve dissemine toksoplazmozun tanısında başarılı şekilde kullanılmaktadır. PCR, fetusta *T.gondii* infeksiyonunu invaziv girişimlere gerek olmadan ve intrauterin safhasında erken tanı imkanı sağlamaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu, beyin dokusu, BOS, bronkoalveolar lavaj ve kandan *T.gondii* DNA'sı tesbit edebilmektedir (46).

Kullanılacak gen bölgesinin seçimi çok dikkatli yapılmalı ve *T.gondii* için spesifik bölgeler içermelidir. Ayrıca PCR uygulanacak her laboratuvar ortamı için özel olarak optimize edilmelidir. Bu şartlar sağlandıktan sonra yapılan PCR'da *T.gondii*'nin, rDNA, SAG-1, B1 ve B30 genleri kullanılmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar göstermiştir ki PCR'ın *T.gondii*'nin tanısında tek başına kullanılması yeterli değildir. Çünkü infeksiyonun akut dönemi dışında etkenlere çok yoğun rastlanmaması ve özellikle doku kistleri çok fazla olsa dahi alınan örneklerde doku kisti içeren bölgelerin örnekleme ihtimalinin düşüklüğü negatif sonuçlar alınmasına neden olmaktadır (19,24,31-32).

PCR'ın *T.gondii* tanısında ilk uygulaması 35 tekrar geni olan B1 geni ile başlamış ve özellikle immun yetmezlik vakalarındaki özel önemi doğrultusunda gelişerek gerek tanı gerekse epidemiyolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılmıştır (47).

II.8.1.3. Histolojik Tanı

Vücut sıvıları, smearları veya doku kesitlerinde takizoitlerin gösterilmesi akut toksoplazmoz için iyi bir yöntem olup, inflamatuvar nekrotik lezyonun çevresinde multipl kistler görülmesi tanı koydurucudur. AIDS'li hastalarda TE'de yapılan biyopsilerde sadece %5 olguda toksoplazmaya özgü histolojik yapı saptanmıştır. Özellikle duyarlı ve spesifik bir test olan peroksidaz-antiperoksidaz tekniği, AIDS'li SSS tutulumu olan hastalarda etkeni göstermek açısından başarılıdır. Bu teknik fikse edilmiş ve fikse edilmeyip parafine gömülmüş doku kesitlerine uygulanabilir. BOS sedimenti, beyin aspirasyonu veya doku biyopsi smearları Wright ve Giemsa boyama yöntemleri ile hızlı teknik olarak boyanabilir (19).

II.8.2. İndirekt Tanı Yöntemleri

İndirekt tanı yöntemleri, parazite karşı canlıda oluşan antikorların tesbit edilmesine yönelik rutin tanı testleridir. *T.gondii* direkt tanı yöntemleri ile tesbiti her zaman mümkün olmamaktadır. Bunun nedeni hastalığın karakteristik formlarına örneklemeler ile ulaşmanın zorluğudur. Ancak her infeksiyonda immün sisteme bağlı olarak hastalığa spesifik antikorlar gelişmektedir. Canlılarda *T.gondii* antikorları uzun süre yüksek seviyelerde kalabilmektedir. İnfeksiyonun oluşmasını takip eden ilk haftadan sonra görülmeye başlayan IgM tipi antikorlar iki üç ay içerisinde en yüksek titrelere ulaşmaktadır. Bu süreden sonra düşmeye başlayan IgM titresi sekizinci aya kadar tesbit edilebilmektedir. IgG türü antikorların ise infeksiyonun birinci ayının sonuna doğru yükselmeye başladığı, altı ve sekiz ay yüksek devam eden titrenin 1-2 ay içinde düşük düzeylere inebileceği bildirilmiştir. Bir yaşam boyu düşük titrelerde tesbit edilebilir. Anti-toksoplazma IgA ise primer infeksiyonlarda genellikle 2-4. haftalar arasında tesbit edilebilir. En yüksek noktaya 2. ve 3. aylar arasında ulaşır ve 7 veya 9. aylar içinde ise yok olurlar (19,24,31,32,48).

Antikor testleri kullanılan antijen kaynağına göre 2'ye ayrılır.

*Bütün olarak organizmaların kullanıldığı testler: Bu testlerde genel olarak membran antijenlerine karşı meydana gelen antikorlar tesbit edilmektedir.

İnfeksiyonun erken dönemleri bu testlerin en reaktif olduğu dönemlerdir. DT, Direkt Aglutinasyon Testi (DAT), Immunosorbent Aglutinasyon testi (ISAGA), IFAT bu gruptandır (49).

*Trofozoit yapısının bozulmasıyla elde edilen stoplazmik antijenlerin kaynak olarak kullanıldığı testler: Bu testlerin pozitifleşmeleri için infeksiyondan sonra belli bir zaman geçmesi gerekmektedir; daha uzun süre pozitif değerlerde kalırlar. Kompleman Fiksasyon Testi (KFT), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Lateks Aglutinasyonu Testi (LAT), İndirekt Hemaglutinasyon Testleri (IHAT) bu tip testlerdendir. Unutulmaması gereken konuların başında klinik hastalığın şiddetinin antikor cevabı ile paralellik göstermediğidir (49).

II.8.2.1 Sabin-Feldman Dye Testi (DT)

Nötralizan bir testtir. Hassas ve spesifik diğer yöntemlere karşı referans testtir. DT infeksiyon başlangıcından 1-2 hafta sonra beliren IgG antikorlarını ölçer. 6-8 haftada pik yapar. 1-2 yıl sonra titreler düşer. Bazı hastalarda uzun yıllar yüksek kalır. Bu titreler hastalığın şiddeti ile ilişkili değildir. Canlı parazit kullanımı nedeniyle testi çalışan açısından risk oluşturması dezavantajdır (19,24,31,50).

Testin prensibi; komplemana bağlı nötralizan antijen-antikor reaksiyonudur. Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) bu testi IgG referans serumlarını IU/ml olarak titre etmekte kullanmaktadır. Tetkik edilen antikor trofozoitlerin proliferasyon fazında oluşan IgG olup, parazitin membranı ile reaksiyona girer (49).

Canlı trofozoitler test edilecek örnek ve kompleman karıştırılır, bir saat süreyle 37 C⁰'de inkübe edildikten sonra ortama canlı boyar madde ve alkali metilen mavisi ilave edilir. Özgün antikor varlığında kompleman klasik yoldan aktive olarak sitolizle parazit membranını tahrip eder ve bütünlüğü bozulan parazit boya alamaz. Faz kontrast mikroskobu ile lizis olan ve olmayan toksoplazmalar boyanmadan da ayırt edilebilmektedir (47).

Özgünlüğü ve duyarlılığı çok yüksek olan DT’de *Hammondia hommondi* enfeksiyonlarında ve kan nakli sonrasında düşük titrelerde yalancı pozitifliğe, immün sistemi baskılanmış kişilerde de yalancı negatifliklere rastlanabilir (47).

II.8.2.2.İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT)

Bu testte ölü toksoplazmaların lam preparatları hasta serumunun seri dilusyonları ile inkübe edilir. Antijen ile antikor arasındaki spesifik reaksiyon serum IgM ve IgG’sine karşı hazırlanmış fluorescein isotiocynate ile işaretli antiserum ile gösterilebilir. Floresan mikroskopunda incelendiğinde pozitif bir reaksiyon, toksoplazmaların çevresindeki sarı-yeşil parlaklık şeklinde saptanabilir (47).

IFAT, DT’den daha kolay, emniyetli ve ekonomiktir. Canlı organizmalar ile çalışılmaması, kullanılan antijenin uzun süre saklanabilmesi, testin istenilen zamanda çalışılabilmesi gibi nedenlerden dolayı DT’den üstün bir testtir. DT’in gösterdiği antikorları gösterdiğinden titreleri ona paralel olmaya eğilimlidir (51).

IFAT’da antinükleer antikorlar (ANA) ve romatoid faktör (RF) içeren serumlarda bazı yalancı pozitif reaksiyonlar, yüksek titrede IgG antikorlarının bulunduğu durumlarda da yalancı negatif IgM sonuçlarına rastlanabilir. Dolayısıyla *T.gondii*’ye spesifik IgM’lerin tanısında sonuçların mutlaka daha hassas testlerle doğrulanması gerekmektedir (51).

IFAT IgG sonucu negatif olan olgular toksoplazmozun ve edinsel immunitenin yokluğunu gösterirken, yüksek pozitif olan olgular, yeni geçirilmiş veya geçirilmekte olan bir toksoplazmoz göstermektedir (47).

Konjenital toksoplazmoz araştırmalarında yenidoğanlarda IFAT IgG sonuçlarının negatif bulunması toksoplazmoz riskinin olmadığına göstergesi olarak kabul edilmektedir. Anneden geçen antikorların 4.5 ay sonra tamamen kaybolduğu bilinmektedir. Teorik olarak bu süre içinde testlerin tekrar edilmesi toksoplazmoz ihtimalini ortadan kaldırmakta veya konjenital toksoplazmoz

tanısını doğrulamaktadır. Böyle bir durumda normal şartlarda plasenta bariyerini aşamayan anti-*T.gondii* IgM antikorlarının araştırılması konjenital toksoplazmoz tanısının erken konmasını sağlayabilmektedir. Bu antikorlar infeksiyondan 3-4 gün sonra görülmeye başlamakta, 3-4 ay içinde gelişimini tamamlamakta ve bu süre içinde varlıklarını gösterilebilmektedir. Yenidoğanlarda spesifik IgM antikorlarının varlığı konjenital toksoplazmozun göstergesi olarak kabul edilmekte, bulunmaması ise kesin toksoplazmoz olmadığı anlamını taşımamaktadır (47).

II.8.2.3. İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHAT)

Bu test ilk defa Jacops ve Lunde tarafından toksoplazmoz tanısında kullanılmıştır. Turk ve Fulton arındırılmış *T.gondii* ile infekte fare peritoneal eksudasından elde edilen *T.gondii*'lerin distile suda eritilmesi ile antijen hazırlayarak koyun alyuvarları ile IHAT uygulamışlardır. Lewis ve Kesser insan alyuvarları kullanarak IHAT uygulamışlar ve yüksek sulandırımelerde olumlu sonuç aldıklarını bildirmişlerdir. Daha sonra birçok araştırmacı akut ve kronik göz toksoplazmoz olgularında da olumlu sonuçlar aldıklarını belirtmişlerdir (47).

DT ve IFAT'a göre farklı antikorları ölçer. Burada ölçülen antikorlar daha geç yükselir, titreler daha yüksek ve daha uzun süre pozitif kalır. Yalancı negatif sonuçlar verebilmesinden dolayı konjenital infeksiyonun tanısında kullanılamaz. Daha çok infeksiyonun ilerleyişini tesbit etmede değer taşır (35).

II.8.2.4. Direkt Aglutinasyon Testi (DAT)

Ticari olarak piyasada bulunmaktadır. Bu yöntemde toksoplazmaların formalin ile öldürülmüş süspansiyonu antijen olarak kullanılır. IgG antikorlarının gösterilmesinde kullanılan bir testtir. Doğal IgM antikorları bu testte sıklıkla nonspesifik aglutinasyona sebep olurlar. Toksoplazma harici IgM varlığında özgünlüğünün düşük olması, duyarlılığının Dye testten daha az olması, çok sayıda toksoplazma trofozoitine gereksinim göstermesi bu testin uygulanabilirliğini azaltmıştır (47,52).

En son olarak geliştirilen yöntemle akut ve kronik infeksiyonların ayırımında kullanılır olmuştur. Bu amaçla aseton ile fikse edilmiş trofozoitlerin aglütinasyonu, formalin ile fikse edilmiş trofozoitlerin aglütinasyonu ile karşılaştırılmış ve akut infeksiyonlarda formalin ile fikse edilmiş/aseton ile fikse edilmiş oranında reaktivitenin kronik infeksiyona göre daha düşük olduğu görülmüştür (53).

II.8.2.5. Lateks Aglütinasyon Testi (LAT)

İnaktive edilmiş toksoplazma antijeni ile kaplı lateks parçacıklarının, serumda spesifik antikorlar ile aglütinasyon oluşturmaya dayalı bir testtir. Lateks partikülleri stoplazmik ve membrana bağlı toksoplazma antijenleri ile duyarlılaştırılmıştır. DT ile karşılaştırıldığında duyarlılığı %96.3, özgüllüğü %97.1 olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda, bu test ile DAT ve ELISA arasında uyumluluk gösterilmiştir (54,55).

Stabil sıvı antijen birçok örneğin çalışılmasına imkan vermektedir. Dolayısıyla tarama amacına uygun bir testtir. Yapılması kolay ve okunması basit bir testtir (43).

II.8.2.6. Kompleman Fiksasyon Testi (KFT)

Serum antikorlarının toksoplazma eriyik antijenleri ile birleşirken ortamda bulunan komplemanı kullanması esasına dayanır. Reaksiyon sonucunun kolay görünür hale konması için özel indikatör sisteminden (%3 koyun alyuvar süspansiyonu) yararlanılmaktadır. KFT yıllarca pozitif kalabilir. Yüksek boya testi titreleri ile birlikte artan test titreleri veya negatif bir testin pozitif dönmeye aktif bir infeksiyonu gösterir (19).

Amaç; optimal antijen sulandırımının varlığında komplemanın iki ünitesi 37⁰C’de bir saat süre ile hassaslaşmış bir immun serumun en yüksek sulandırımını belirlemektir (47).

KFT toksoplazmoz tanısında DT ile saptanan antikordardan birkaç hafta sonra oluşan antikorları ölçer, onlardan daha erken negatif olabilir veya yıllarca olumlu kalabilir, olumlu olması infeksiyonun akut olduğunu veya negatif olması hastalığın olmadığını belirtmemektedir (56).

II.8.2.7. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

ELISA yöntemi esas olarak oluşturulan antijen-antikor kompleksine enzim ile işaretli antiglobulinin ilave edilmesi ve sonra substratın eklenmesi ile eğer antikor varsa renk oluşumunun gözlenmesi esasına dayanmaktadır. Kimyasal bir olay olan renk oluşumu, enzimin aktivitesine bağlıdır. Enzimle etkilenen substratın spektrofotometrik ölçümü yöntemde araştırılması gereken antikor konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (47). Toksoplazma antikorlarını arama amacıyla kullanılan ELISA yöntemleri;

Katı Faz Sandwich ELISA IgG: Bu teknikte enzim ile işaretlenmiş anti-globulin kullanılarak IgG antikorları aranır. Solid faz antijen ile kaplanarak hasta serumu ile muamele edilir. Antijen-antikor birleşmesinden sonra enzim ile işaretlenmiş anti-insan IgG eklenir. Enzime özgül substratın eklenmesinden sonra oluşan renk reaksiyonu gözle ve spektrofotometre ile değerlendirilir (18).

Immuncapture ELISA IgM: Bu yöntemde plağa bağlanan bir anti-antikor ve bilinen bir antijen yardımıyla bu antijene özgül oluşmuş IgM antikorları araştırılmaktadır. Önce plaklara anti-antikorlar bağlanmakta, üzerine şüpheli serumlar konulmaktadır. Bunun üzerine ortaya koymak istediğimiz antikorların oluşumuna neden olan enzim işaretli antijen ilave edilmektedir. Meydana gelen reaksiyonu gösterebilmek amacıyla ortama substrat konmaktadır. IgM pozitifliğinin belirlenmesinin önem taşıdığı olgularda bu sakıncayı ortadan kaldırmak için plaklar IgM'e spesifik poliklonal yada monoklonal antikorlarla kaplanmaktadır. Bu yöntemin IgM saptanmasında Double Sandwich IgM ELISA (DS-IgM ELISA) yönteminden daha spesifik bir yöntem olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (18, 19).

DS-IgM ELISA: Bu teknikte anti-human IgM katı faza bağlandıktan sonra ortama eklenen test serum içindeki IgM antikorları da katı faza tutunmaktadır. Daha sonra eklenen parçalanmış toksoplazma antijeni, anti-toksoplazma IgM'e bağlanmakta ve bu bağlanma, enzim konjugatlı özgün bir antikor ile görünür hale gelmektedir. Bu test hem IgM ELISA hem de IgM IFAT testlerinden çok daha duyarlı ve özgül bir testtir. RF ve ANA'ya bağlı yalancı pozitif sonuçlara IgM IFAT'da sık rastlanırken, DS IgM ELISA'da pek sık rastlanmamaktadır. Ancak pahalı olması nedeniyle tercih edilmemektedir (57).

Konjenital toksoplazmozda doğum öncesi ve doğum sırasında alınmış olan kandan elde edilen serumda çok spesifik ve hassas olan DS-IgM ELISA yöntemi ile IgM seviyesindeki yükseklik toksoplazmoz lehine değerlendirilmektedir. IgG plasenta ile anneden bebeğe pasif olarak geçtiği için çok anlamlı olmamakta ancak 1 yıl sabit kalır yada artarsa anlam kazanmaktadır. IgM antikorları plasentayı geçememektedir, eğer doğum sırasında plasenta yırtılması ile fetusa geçti ise 15 günde bunlar kaybolmaktadır. Onbeş günlük bebekte IgM antikorlarının tesbit edilmesi tanıyı desteklemektedir (58,59).

Gebelerde IgG antikorunun varlığı IgM antikorunun yokluğu annede kronik toksoplazmozdu göstermektedir. Göbek kordonundan alınan kan örneğinde IgM, IgA, IgE, ELISA uygulanarak antikorların araştırılması gerekmekte ve tesbit edildiğinde tanı koydurucu olduğu bildirilmektedir (19).

Toksoplazmoz tanısında serolojik yöntem olarak ELISA'nın tek başına kullanılmaması, DT, Aglütinasyon ve ISAGA gibi yöntemlerden en az 3 tanesinin beraber uygulanması önerilmektedir. 3 hafta sonra yeni alınan örnek bir önceki örnekle beraber alınıp paralel olarak test edildiğinde paralel sonuçlar elde ediliyor ise tanının doğruluk derecesi artmaktadır. Uygulanan yöntemlerden birisi negatif sonuç veriyor ise toksoplazmoz tanısı şüpheli olarak değerlendirilmektedir (19,58,59).

II.8.2.9. Immunosorbent Agglutination Assay IgM (ISAGA IgM)

Bu yöntem başlangıç aşamasında özgün monoklonal antikorların kullanıldığı IgM yakalamaya yönelik bir testtir. Desmont ve arkadaşları ortamda fazla miktarda toksoplazma IgG varlığında görülen yalancı negatifliklerin veya ortamda RF, ANA varlığında konvansiyonel ELISA ve IFAT'da görülen yalancı pozitifliklerin, ayrıca IgA ve IgE ile oluşan çapraz reaksiyonların engellenmesi amacıyla bu testi geliştirmiştir. IgM ELISA'da olduğu gibi enzime bağlı bir konjuge kullanılmaması ve aglütinasyon testlerinin basit uygulanırlığı bu testin avantajı olarak bildirilmektedir (47).

Bu yöntem ile %80 hastada pozitif reaksiyonun infeksiyonun başlangıcından itibaren 1 yıl kadar korunduğu gösterilmiş, immun sistemi sağlam kişilerde bu sürenin 24 aya kadar uzayabileceği bildirilmiştir. Buradan yola çıkarak hamileliği sırasında ISAGA ile pozitif bulunan bir kadının infeksiyonu konsepsiyon öncesi almış olma ihtimali yüksek olduğu için duyarlılığı daha az olan bir IgM testinde yapılması uygun olur (60).

Serumdaki insan IgM antikorlarının solid bir faza kaplanmış anti-insan IgM antikorları tarafından immunolojik olarak yakalanması esasına dayanan ISAGA testinde, serumlar artan konsantrasyonlarda antijen ile test edilir, pozitif reaksiyonlarda toksoplazmalar bulut şeklinde çukurun kenarlarına yapışık bir aglütinasyon gösterir, reaksiyon dışı kalan toksoplazmalar çökerken, negatif olgularda toksoplazmalar çukurun dibine çökerler. Tüm serumlar kullanılmadan önce 56 °C'da 30 dakika inaktive edilmeli ve iyice karıştırılmalıdır (47).

ISAGA IgE ve monoklonal antikorlarla yapılan ELISA IgE testi ile toksoplazmaya spesifik IgE antikorlarının toksoplazmoz tanısındaki yeri araştırıldığında, hamileliği sırasında toksoplazma serolojisi pozitifleşenlerin ISAGA ile %63'ünde, ELISA ile %100'ünde pozitif sonuç alınmasına karşın, IgE ISAGA testinin hamilelikte toksoplazmoz tanısında IgE ELISA testinden daha erken pozitifleştiği ve daha hızlı negatifleştiği için infeksiyonun zamanında

saptanmasında daha yararlı olduğu bildirilmiştir. Toksoplazmaya spesifik IgM antikorlarının saptanmasında kullanılan IgM ISAGA, IgM ELISA testi karşılaştırmalı olarak çalışıldığında ISAGA testi ile saptanan IgM antikorlarının daha uzun süre hastalarda pozitif olarak kaldığı ve IgM pozitifliğinin tek başına akut enfeksiyonu tanımlamada yetersiz olduğu periyodik incelemelerde IgG ve IgM titrelerindeki yükselmenin gösterilmesinin veya IgA ELISA, IgE ELISA testleri ile akut enfeksiyonun doğrulanmasının gerekli olduğu bildirilmektedir (61).

II.8.2.9. Enzimle İşaretlenmiş İmmunofiltrasyon Yöntemi (ELIFA)

Bu yöntemle mikropor membran kullanarak immunopresipitasyon ile antikor özgünlüğü, enzimle işaretli antikorlar kullanılarak immunofiltrasyon ile antikor izotiplerinin belirlenmesi olasıdır. Konjenital olguların %85'inin hayatın ilk günlerinde bile bu yöntemle tesbit edilebileceği iddia edilmektedir. Bu yöntem ayrıca çocuğun BOS'unda veya serumunda IgE'yi saptayabilirken, IgA'yı ise ancak çocuk 5 aylık olduktan sonra, o da olguların %5'inde saptayabilmiş, BOS'ta ise hiçbir zaman saptayamamıştır. ISAGA IgA sonuçları ile tam bir uyum sağlanamamıştır (47).

II.8.2.10. Vitek Immuno Diagnostic Assay System (VIDAS)

Yöntem *T.gondii*'ye karşı oluşan serumdaki anti-toksoplazma antikorlarının kantitatif olarak ölçülebilen farklı EIA metotlarını floresan saptama ile kombine eden Enzyme Linked Floresein Assay (ELFA) tekniğini kullanmaktadır (62).

Daha önceden hazırlanmış Solid faz haznesi (SPR) olarak adlandırılan katı faz antijen, antikor veya reagentleri içeren striplerden oluşur. Substratın hidrolizi ile oluşan floresan şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülüp sonuç kendine ait yazıcısı yardımıyla verilir. Sonuçlar 45 dakika-2 saat arasında alınabilir (62).

Bu sistem IgM tesbitini immuncapture EIA prensibine dayalı, Ig G ve IgG avidite tesbitini ise iki basamaklı sandwich EIA metodunu kullanarak yapan bir floresan saptama yöntemi kullanır (62).

II.8.2.11.Avidite testleri

Avidite, infeksiyonun akut döneminde ortaya çıkan zayıf yönelimli antikörlerin, daha ileri infeksiyon için karakteristik olan yüksek yönelimli antikörlardan ayırılması sağlayan basit bir tekniktir. Bunu antijen-antikor kompleksine etkili ayırıcı bir ajan yardımıyla zayıf bağlanma kuvveti gösteren bağları kopararak yapar (63).

Akut toksoplazmozlu olgularda, IgM yanıtı IgG'den önce ortaya çıkmakta, özgül IgG düzeyi ise kısa bir süre sonra belirlenebilir düzeye erişmektedir. *T.gondii* IgM düzeyinde yıllarca pozitif kalabileceği göz önüne alınırsa, özellikle her iki antikor tipinin de pozitif olduğu olgularda akut primer infeksiyon ayırıcı tanısını yapmak oldukça zorlaşmaktadır. IgG aviditesinin belirlenmesi, tek bir serum örneği ile primer ve sekonder infeksiyonu birbirinden ayırt edebilir. Son yıllarda başta viral infeksiyonlar olmak üzere birçok infeksiyon tanısında yaygın olarak kullanılan IgG avidite testleri, primer bağışıklık sırasında oluşan antikörlerin aviditelerinin düşük, sekonder bağışıklıkta (reenfeksiyon veya reaktivasyon sonucu) rol alan antikörlerin aviditelerini yüksek olması temeline dayanan testlerdir (63). Anti-*T.gondii* IgG antikörleri için düşük avidite değeri primer infeksiyondan sonra yaklaşık 4-5 ay, yüksek avidite değeri ise yaklaşık 6-8 ay sonra saptanmaktadır (64-66).

Bu testin amacı, özgül IgG'nin multivalan toksoplazma antijenine bağlanma gücünü ölçerek yakın zamanda edinilmiş primer toksoplazmoz ile daha önce geçirilmiş infeksiyonun ayırt edilmesini sağlamaktır (64). Bilindiği gibi, bir antikor molekülünün tek bir antijenik epitop ile bağlanma gücüne afinite, multivalan antijenlerde olduğu gibi, birden fazla epitop ile toplam bağlanma gücüne ise avidite denilmektedir. Bir infeksiyonun erken döneminde ortaya çıkan antikörlerin aviditesi düşük olmakta, zamanla bunların olgunlaşması sonucu yüksek aviditeye sahip antikörlerin oranı artmaktadır (67).

II.8.2.12. Antijene Özgün Lenfosit Transformasyonu

Toksoplazma antijenlerine lenfosit transformasyonunun erişkinlerdeki geçirilmiş toksoplazmoz tanısında etkin olduğu, çocukluk döneminde konjenital toksoplazmoz tanısı konulmasında kullanılabileceği bildirilmiştir. Konjenital toksoplazmozlu çocuklarda hayatın ilk yıllarında gelişen hücresel immunitenin diğer konjenital hastalıklarda gelişen immuniteye oranla daha belirgin olduğu görülmüştür. Bu yöntemin konjenital toksoplazmozdaki duyarlılığı %84, özgüllüğü %100 olarak bulunmuş, asemptomatik çocuklarda duyarlılık %82, semptomatikler de ise %88 gibi oldukça yakın olarak gözlemlenmiştir. Bu yöntem toksoplazma izolasyonundan daha üstün, IFAT IgM'den daha duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Çocuk 3 aylık olana kadar konjenital tanısını koyacak yeterli bilgi edinilemediği durumlarda toksoplazma antijenlerine lenfosit transformasyonunun denenmesi önerilmektedir. Toksoplazma antijenlerine lenfosit transformasyonu pozitif bulunan bir çocuk tedavi için uygun bir aday olarak kabul edilmekte, potansiyel infekte çocuğun lenfositleri toksoplazma antijenlerine cevap vermiyorsa serolojik olarak takibe alınması önerilmektedir (47).

II.8.2.13. Toxoplasmin Deri Testi

Artık tanısal bir değeri olmayan bu test toksoplazmozda oluşan hücresel immunitiyi belirlemeye yöneliktir. Ön kol iç yüzüne 0,1ml toxoplasminin verilmesinden 48-72 saat sonra oluşacak 5mm'lik endürasyon pozitif olarak değerlendirilir. Kitle taramalarında başarı ile kullanılmış olan bu yöntemle yanlış pozitiflik çok nadir olarak bildirilmiştir. Derideki gecikmiş aşırı duyarlılık toksoplazmozda aylar yıllar sonra oluştuğu için bu yöntemle kronik latent infeksiyon tanısı konulmasında en uygun yöntem olarak önerilmektedir (47).

II.8.2.14. Multilyte Analyt Platform (MAP)

Konvansiyonel flow sitometri cihazlarına çok benzeyen, ondan farklı olarak hücre yerine farklı renk kodlarına sahip boncukları okuyabilen bir cihaz kullanılarak çalışılan bir yöntemdir. Cihazın bir kırmızı, bir de yeşil olmak üzere iki lazeri vardır. Bu metotda kullanılan boncuklar katı faz görevini üstlenmiş olup

5.6 mikron büyüklüğünde 1 den 100'e kadar farklı renk kodlarına sahip polistren mikropartiküllerdir. İki farklı floresan boya farklı oranlarda karıştırılarak boncuklar 100 farklı renkte, kırmızıdan kırmızı ötesine kadar, boyanmakta, böylece ortaya üzeri kaplanabilecek (antijen, antikor, nukleotid vs.) ve renk kodları sayesinde ayırt edilebilecek 100 farklı boncuk çıkmaktadır. Metotda spesifik antikorlarla kaplanmış bu boncukları içeren süspansiyon üzerine serum yada plazma eklenir. İnkübasyon esnasında aranan antijen şayet varsa bu antikorlar tarafından yakalanıyor, bir süre sonra filtre tabanlı mikropartiküller kullanılarak yıkama yapılıyor ve bağlı olmayan maddeler ortamdan uzaklaştırılıyor, daha sonra oluşan komplekse bağlanmak üzere ortama biotin ile işaretli saptama antikorları ekleniyor, arkasından streptavidin-fikoeritrin ekleniyor ve kuyunun içeriği okuma için cihaza emdiriliyor. Standart plakları otomatik olarak okuyabilen cihaz yardımıyla okuma yapılır. Cihaz farklı renk kodlarına sahip polistren mikropartiküllerin kırmızı lazerin yardımı ile renk kodunu algılar, aynı anda yeşil lazer ile boncuğun üzerinde fikoeritrinden kaynaklanan bir ışığa varsa onun ölçümünü yapar (68).

II.9. TEDAVİ

T.gondii için önerilen ilaçlar genellikle primer olarak takizoitlere etkili olan doku kistlerine karşı etkili olmayan ilaçlardır. Sağlıklı bireylerde etkin bir özgül tedavi gösterilememiştir ve anti-toksoplazma ajanlarının potansiyel toksisitesi nedeniyle nadiren endikedir. Tedavi, hastalık uzadığı zaman veya nadir görülen ağır formlarda düşünülebilir. Klinik olarak aktif hastalığı olanlarda, konjenital toksoplazmoz tanısı alanlarda ve immunsuprese bireylerde tedavi önerilmelidir. Gebelikte infeksiyonu alan kadınlarda ve toksoplazma antikorları pozitif olan yenidoğanlarda tedavi tartışmalıdır. Ancak yenidoğanda IgM antikorları kaybolana kadar profilaktik tedavi önerilmektedir (25).

Primetamin, tedavide kullanılacak en etkili anti-toksoplazma ajanıdır. Doza bağlı oluşturduğu kemik iliği toksisitesini önlemek için folinik asit desteği yapılır. Erişkinlerde 5-10 mg, AIDS'lilerde 50mg/gün folinik asit oral olarak yiyeceklere karıştırılabilir. Folik asit, primetaminin takizoitler üzerine olan

etkinliğini bozduğu için kullanılmamalıdır. Primetamin, gastrointestinal distress, baş ağrısı, döküntü gibi yan etkilere de neden olabilir (6).

T.gondii için kombine tedavi rejimi de uygulanabilir. İkinci ajan olarak sülfodiazin gibi primetamin ile sinerjistik etkili bir ajan yada klindamisin eklenebilir. Sülfadiazin yarı ömrü 10-12 saat kadardır. Başlangıçta 75mg/kg yükleme dozu verilir, bunu izleyerek tedavi 100mg/kg/gün olarak günde 2-3 doza bölünerek sürdürülür. Sülfonamid yan etki olarak kristalüri ve oligüri, duyarlı kişilerde deri döküntüsü yapabilir. Oluşturacağı nefrotoksisiteyi engellemek için hastanın idrar çıkışının iyi olması gerekir (44).

Klindamisin ise belli durumlarda kullanılabilen bir ajandır. Döküntü, bulantı, diyare, myopati gibi yan etkilere sahiptir (6).

Azitromisin, klaritromisin, dapson ve ko-trimoksazol gibi ajanların tedavideki yeri açıklık kazanmamıştır. Bu ajanlar sadece yukarıda bahsedilen tedavi rejimlerine alternatif olarak yada destek amaçlı kullanılabilir (6).

Gebe kadında, primer infeksiyon tedavi edilmez ise konjenital toksoplazmoz riski %4-6 arasındadır, bu nedenle serolojik olarak saptanmış toksoplazmozda hemen tedaviye başlanmalıdır. Gebelikte akut toksoplazma infeksiyonunun tedavisindeki amaç, parazitin fetusa geçmesini önlemek, eğer geçmiş ise infekte fetusta doku hasarını önlemektir. Annede akut toksoplazma infeksiyonu tanısı sonrası tedaviye hemen başlanmalıdır. *T.gondii* akut maternal infeksiyondan 4-8 hafta sonra plasentadan geçer. Fetusta infeksiyonu önlemek için antiparazitik tedaviye bu süre içinde başlamak gerekir. Tedavi gebelik boyunca devam etmelidir. Parazitin transplasental geçiş riskini azaltmak için kullanılacak en emniyetli ajan spiramisindir. Toksoplazmozun farklı klinik antitelerinde kullanılacak ajanlar temelde aynı olmasına rağmen doz ayarlamasına dikkat etmek gerekir. İmmunsuprese olanlarda kullanılan dozlar immun sağlam olanlara göre daha yüksek tutulmalıdır. Önerilen primetamin dozu hamilelikte fetal

infeksiyon tedavisinde anneye 100 mg yükleme dozunu takiben 25-50 mg/gün, TE'de 200 mg yükleme dozunu takiben 50-75mg/gün olarak verilmelidir (6,43,69).

Fetusta prenatal tanı ile infeksiyon tanısı konursa primetamin (0.5-1 mg/kg/gün) ve sulfadiazin (50-100 mg/kg/gün) kombinasyonu verilir sonra 3 hafta spiramisin 3gr/gün uygulanabilir. Fetal infeksiyon kordosentezle doğrulanırsa, antiparazit tedavi konjenital hastalığın şiddetini azaltmak için verilir. İlaç değişimli 3 haftalık tedavi kürleri doğuma kadar devam eder (43).

Kronik abortus öyküsü bulunan ve serolojik titreleri pozitif olan gizli infeksiyonlu gebe bir kadında, yeterli veriler sağlanana kadar profilaktik primetamin uygulaması yapılmalıdır (70).

Tedavi sonuçlarının istatistik analizi, kontrol grubunun olmaması, maternal infeksiyonun ve tedavi başlangıcının farklı zamanlarda olması nedenleri ile yapılamamaktadır. Bazı çalışmaların sonuçlarına göre fetal infeksiyon ve konjenital toksoplazmoz riski %60-100 oranında azaltılabilir (69).

İmmun yetmezlikli hastalarda; kullanılan tedavi rejimi temel olarak diğer klinik tablolarda kullanılanlarla aynıdır; ancak immün yetmezliklilerde genellikle daha yüksektir. Standart rejim primetamin, sülfadiazin ve folinik asit kombinasyonudur. Klindamisin, sülfanamidleri tolere edemeyen yetişkinlerde sülfadiazin yerine kullanılabilir. Önerilen tedavi süresi, tüm belirti ve bulguların kaybolmasından sonra 4-6 haftadır. İmmün yetmezlikli hastalarda diğer ilaçların rolü henüz belirlenmemiştir. Eğer bu ilaçlar kullanılacaksa tercihen primetamin ile kombine edilmelidir. Bugün için toksoplazmoz tedavisinde monoterapinin yeri yoktur (7).

AIDS hastalarında akut fazın tedavisinden (primer veya indüksiyon tedavisi) sonra idame tedavisi (sekonder profilaksi) uygulanmalıdır. İdame rejimi akut fazda uygulananla aynıdır, fakat ilaç dozu yarısı kadardır. Son öneriler idame tedavisinin hastanın yaşamı boyunca sürdürülmesi şeklindedir. AIDS hastalarında

kombine antiretroviral tedavinin kesilmesi sonucu immun rekonstitüsyon görüldüğünde idame tedavinin kesilmesi konusundaki bilgiler henüz yeterli değildir. Bazı non-AIDS immun yetmezlikli hastalar, immunsupresif tedavi, hücrel immunité üzerinde belirgin etki yaptığı sürece idame tedavisine ihtiyaç duyabilir (7).

II.10. EPİDEMİYOLOJİ VE KORUNMA

T.gondii insan dahil hemen hemen tüm memelileri, kuşları infekte edebilmekte ve dünyanın her yerinde sıklıkla görülebilmektedir. *T.gondii* antikorlarına, ülkeler arasında farklılıklar görülmesine karşı dünya nüfusunun 1/3'ünde rastlandığı bildirilmektedir (19).

Toksoplazmozun seroprevalans değerlerindeki farklılık yaşam tarzı, alışkanlıklar ve geleneklere bağlıdır. Dünyada farklı ülkelerdeki insanlarda toksoplazma prevalansının %4-77 arasında değiştiği bildirilmektedir. İnsanlardaki seroprevalansın, Avrupa ülkelerinden Hırvatistan, Polonya, Slovenya, Avustralya, Avusturya, Belçika, Fransa, Almanya ve İsviçre'de %37-58 arasında olduğu bildirilmektedir. Latin Amerika ülkelerinden, Brezilya, Arjantin, Küba, Jamaika, Venezüella ve Batı Afrika ülkelerinden Gine, Kongo ve Togo'da seroprevalans %54-77 düzeylerinde bulunmuştur. Güney Asya ülkelerinden, Çin ve Kore ile İskandinav ülkelerinde ise seroprevalans %4-39 arası düzeylerde tespit edilmiştir (1,6,24, 31,35).

Son yıllarda birçok ülkede, hastalığın prevalansında azalma kaydedilmiştir. Edinilen yeme alışkanlıkları ve çevresel etkenler bu düşüşte etkilidir. Amerika'da 49 eyaletin askerlerinde 1965'de saptanan %14.4'lük oranın 1989'a gelindiğinde %9.5'e düştüğü görülmüştür (10). 1970 yılında Kalifornia'da çocuk doğurma yaşındaki kadınlarda saptanan %24'lük seropozitiflik oranı 2003 yılına gelindiğinde %9'a düşmüştür (71).

Toksoplazma infeksiyonunda ırk ve cinsiyet farkı olmadığı, *T.gondii*'ye karşı oluşan özgül antikorların insidansının yaşla doğru orantılı olarak arttığı ortaya konmuştur. Çeşitli coğrafik yerleşimlerde ve aynı yerleşim yerlerindeki gruplar arasında, infeksiyonun epidemiyolojik farklılıkları bulunmaktadır. Soğuk ülkelerde, yüksek yerlerde, sıcak ve kuru bölgelerde daha az bulunmaktadır. Bu nedenle seroprevalansta kuzeye gidildikçe düşme görülmektedir. Bu oran Doğu Avrupa'da %87, Afrika'da %71, Kuzey Amerika'da %33, Karaipler'de %26 iken Kuzey İsveç'te ve İskoçya'da %12'dir (72).

Bouratbine ve arkadaşları, Kuzey Tunus'da yaptıkları araştırmada toksoplazmozun %67'lik bir oranla kentlerde daha sık olarak görüldüğünü saptamışlar (73). Parazitin yaygınlığında rol oynayan faktörleri araştıran Etheredge ve Frenkel, kentlerde kedilerin sayısının, bakımlarının insanlar tarafından sağlanması veya beslenebilecekleri yiyecek artıklarının bolluğu nedeniyle arttığını tesbit etmişlerdir. Kedi sayısının fazlalığı yanında kedilerin dışkılarını yapabilecekleri boş alanların azlığı ve bu sahaların aynı zamanda çocuklar tarafından oyun amacıyla kullanılması, insanların hayvan sevgisi nedeniyle kedilere yakınlığı kırsal alana göre şehirlerde toksoplazmozun daha sık görülmesinin nedenleri olarak sıralanmıştır (6).

Dünyanın çeşitli bölgelerinde çocuk doğurma yaşındaki kadınlarda %4-100 arasında değişen seroprevalans oranları saptanmıştır (5). Çocuk doğurma yaşında seroprevalansın %50'nin üstünde bulunduğu yerler; Batı Avrupa (Fransa, Portekiz, İsviçre, Belçika, Slovenya, İtalya, Avusturya ve Almanya), Afrika (Orta Afrika, Nijerya, Gabon, Kamerun, ve Togo) ve Güney-Orta Amerika (Şili, Guadelop, El Salvador, Guatemala ve Panama) dır. İnfeksiyon prevalansı düşük olan yerden yüksek olan yere olan göçler riski artırmaktadır (74).

Türkiye'de toksoplazmoz yaygınlığını sağlıklı olarak gösterebilecek seroepidemiolojik çalışmalara rastlanamamıştır. Değişik laboratuvarlara toksoplazmoz şüphesiyle gelen yada gebelik öncesi tarama ile

değerlendirilenlerin sonuçları bölgesel verileri yansıtmaktadır. Ülkemizdeki çalışmalarda, toksoplazma seropozitiflik oranları sağlıklı insanlarda %29.2-55.3 olarak bildirilmiştir (18,75).

T.gondii ve oluşturduğu infeksiyon yurdumuzun hemen her bölgesinde, her yaş ve sosyoekonomik grupta, kadın ve erkeklerde yaygındır. Özellikle kadınlarda görülme oranı yaşla beraber artmaktadır. Bunun nedeninin kadınların kedi dışkısı ile bulaşlı etlerle temas etme olasılığının yüksek oluşu bildirilmektedir (6,18,76). Bunun yanında mezbahane çalışanlarında da infeksiyon riskinin yüksek olduğu düşünülmektedir (24,77).

T.gondii'nin prevalans düzeyleri farklı hayvan türleri arasında değişiklik göstermektedir. Örneğin kedilerde %45.6, yabani kemirgen hayvanlarda %20-60, yabani kuşlarda %13.4-66.7 düzeylerinde olduğu bildirilmektedir (33).

Toksoplazmik Ensefalit insidansı direkt olarak toplumdaki toksoplazma antikorlarının prevalansı ve o popülasyondaki HIV ile infekte kişi sayısına bağlıdır. Toksoplazma seroprevalansı HIV ile infekte hastalar arasında Amerika'da %15-40 arasındayken, Batı Avrupa ve Afrika'nın belirli bölgelerinde %96'ya kadar çıkmaktadır. Bu da infekte kedi dışkılarında maruz kalma ve/ya çiğ yada az pişmiş etin tüketim oranına göre farklılık göstermektedir. HIV ile infekte toksoplazma seropozitif kişilerde %47'ye varan oranda TE gelişebileceği, AIDS'lilerdeki TE riskinin genel olarak %25-50 arasında olduğu bildirilmektedir (19,31,78).

Toksoplazmik Ensefalit riski HIV ve *T.gondii*'ye karşı antikor bulunan hastalarda CD4 sayısının düşmesi ile yükselmekte, en yüksek insidans ise CD4 100/mm³ olan hastalarda görülmektedir. HIV pozitif olgularda primer toksoplazmoz insidansı, 28 ay süreli takip sonucu, %25.5 arasında bildirilmiştir. AIDS'li toksoplazma seronegatif hastalara, TE riski yüksek olduğu için

infeksiyondan korunma yolları ve serolojik takibini anlatmak son derece önemlidir (19).

İmmun yetmezliği olan hastalarda ve seronegatif hamile kadınlarda korunma çok önemlidir. Doktor tarafından bu hastalar eğitilmelidir. Kistler veya ookistlerle temas veya bunların yutulması engellenmelidir. İmmunkompetan hastalarda; lenfadenopati varlığında nadiren tedavi gerekir ve genelde kendi kendini sınırlayan hastalık niteliğindedir. Eğer visseral organ tutulumu olan klinik olarak ciddi ve persistan klinik semptomlar sergileyen bir durumda 2-4 hafta tedavi gerekir. Laboratuvar kazası yada kan transfüzyonu ile kazanılmış infeksiyonlar daha ciddidir ve mutlaka bu yol ile infekte olanların tedavi edilmesi gerekir (19). Bu konuda alınabilecek önlemler şöyledir;

-Çiğ veya az pişmiş et ve çiğ et mamüllerinin yenmesi önlenmelidir. 56 C⁰'de 120 dakika pişmiş etlerle, soğutucuda dondurulmuş etlerde kistler bulaştırıcıdır.

-Çiğ et veya sebzelerin ellenmesinden sonra eller iyice yıkanmalıdır.

-Çiğ yumurta yemekten ve çiğ süt içmekten sakınmalıdır. 5 dakika kaynamış yumurtada, 3 dakika sahanda pişirilmiş yumurtada canlı parazit saptanmıştır. Pastörize keçi sütü infekte bulunmuştur.

-Çiğ yenen marul gibi yeşillikler iyice yıkanmalıdır.

-Yemekten önce eller mutlaka yıkanmalıdır.

-Sahipsiz sokak kedileri ortadan kaldırılmalıdır.

-Kedilerle sıkı ilişkiden kaçınılmalıdır.

-Kedi dışkısı ile su ve sebzelerin kirlenmesi önlenmelidir.

-Kedi dışkısı ile kasaplık hayvanların yemlerinin kirlenmesi önlenmelidir.

Kedi çıkartıları 5 dakika kaynamış suda tutulursa ookistler ölür. Kedi çıkartılarını temizlerken, bahçede çalışırken bir defalık kullanılan eldivenler tercih edilmelidir.

-İnfekte insan ve hayvanların her türlü vücut salgı ve çıkartılarının etrafa dağılmaması için her türlü önlem alınmalıdır.

-Bulaşta sinek ve hamamböceği gibi artropodlarında rol oynayabileceği düşünülerek mücadele edilmelidir.

-Organ transplantasyonuna bağlı immun yetersizliği olan hastalarda ve lökositten zengin kan ve kan ürünleri transfüzyonu sonucu toksoplazmoz bulaşı öldürücüdür. Proflaktik tedavi olarak primetamin 25mg/gün 6 hafta kadar kullanılmalıdır. Seropozitif vericiden seronegatif alıcıya kalp transplantasyonundan sonra da aynı koruyucu tedavi uygulanmalıdır.

-Seronegatif hamile kadın gebelik süresince her ay incelenmelidir.

-Tüm hamile kadınlarda en az 10-12.gebelik haftasında serolojik testler uygulanmalı, seronegatif olanlarda serolojik testler 20-22. gebelik haftasında tekrarlanmalı, böylece terapatik abortus yapılmasına veya seropozitif hastaya tedavi uygulamaya karar verilmeli (17,31).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Kasım 2004-Nisan 2005 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Doğum Bölümüne ve Zübeyde Hanım Doğum ve Çocuk Hastanesine başvuran yaşları 17-40 arasında değişen 130 anneden ve bu annelerin kordonlarından alınan kanlar dahil edilmiştir. Annelerden ve bu annelerin kordonlarından alınan 8 mililitre düz kanın serumları 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek ayrılmıştır. Serumlar 3'e bölünerek testlerin yapıldığı güne kadar -20 C⁰'de saklanmıştır. Doğum sırasında 130 anne ve göbek kordonundan alınan kan örneklerinde IFAT, VIDAS ve MAP teknikleri kullanılarak toksoplazma IgM ve IgG antikorları aranmıştır. IFAT IgG, IgM ve VIDAS IgG, IgM antikorları birlikte pozitiflik gösteren serumlarda aynı yöntemin avidite testi çalışılmış, ayrıca çapraz reaksiyonu elimine etmek için IFAT ile IgM antikorları pozitif olan olgularda ANA çalışılarak yalancı pozitif olgular gösterilmiştir.

III.1. VIDAS IgG, IgM

Çalışmaya alınan anne ve kordon serumlarında *T.gondii*'ye spesifik IgG ve IgM antikorlarının varlığını araştırmak amacıyla yararlanılmıştır. IgG araştırmak için VIDAS Toxo IgG II (TXG) (bioMerieux, France) ve IgM araştırmak için VIDAS Toxo IgM (TXM) (bioMerieux, France) ticari kiti kullanılmıştır. Testler üretici firmanın önerisi doğrultusunda çalışılmıştır.

III.1.1. VIDAS IgG, IgM'de Kullanılan Malzemeler

-Pozitif kontrol TXG (kullanıma hazır) 2ml, anti-toksoplazma IgG içeren insan serumu + protein sabitleyici + 1 g/l sodyum azid içerir.

-Pozitif kontrol TXM (kullanıma hazır) 2ml, anti-toksoplazma IgM içeren insan serumu + protein sabitleyici+ 1g/l sodyum azid içerir.

-Negatif kontrol TXG (kullanıma hazır) 3ml, anti-toksoplazma IgG içermeyen insan serumu + protein sabitleyici + 1 g/l sodyum azid içerir.

-Negatif kontrol TXM (kullanıma hazır) 3ml, anti-toksoplazma IgM içermeyen insan serumu + protein sabitleyici + 1 g/l sodyum azid içerir.

-**Standart TXG** 1ml, anti-toksoplazma IgG içeren ve WHO standartlarına göre kalibre edilmiş insan serumu + protein sabitleyici + 1g/l sodyum azid içerir.

-**Standart TXM** 1ml, anti-toksoplazma IgM içeren insan serumu + protein sabitleyici + 1 g/l sodyum azid içerir.

-**SPR TXG (kullanıma hazır)** Toksoplazma membran ve stoplazmik antijeni ile hassas hale getirilmiş pipet ucu görevi de alan bir solid faz haznesidir.

-**SPR TXM (kullanıma hazır)** Alt ucu toksoplazma anti-insan mü zincir antikorları ile kaplı olan pipet ucu görevi de alan bir solid faz haznesidir.

-**STR:Strip TXG, Strip TXM (kullanıma hazır)** Polipropilenden yapılmış olan TXGII ve TXM sribi, etiketli bir folyo ile kaplı 10 hücreden oluşmaktadır. Her STR son hücresi içinde florometrik okumanın yapıldığı bir küvet içerir. Orta bölümdeki 8 hücre, tahlil için gerekli olan çeşitli rejanları içerirler (Tablo I, Tablo II).

Tablo-I. STR TXG bileşimi

Hücreler	Rejanlar
1	Örnek hücresi
2	Örnek dilüent: TRIS tampon (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (600 µl).
3	Ön yıkama solüsyonu: TRIS (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (600 µl).
4 - 5 - 7 - 8	Yıkama solüsyonu: TRIS (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (600 µl).
6	Konjugat: Alkalın fosfataz ile işaretlenmiş monoklonal anti-human IgG antikorları (fare) + 1 g/l sodyum azid (400 µl)
9	Serum dilüenti: TRIS tampon (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (400 µl).
10	Substrat ile birlikte okuma küveti: 4 Metil-umbelliferil fosfat + Dietanolamin (0.62 mol/l) pH 9.2 + 1 g/l sodyum azid (300 µl).

Tablo-II. STR TXM bileşimi

Hücreler	Reajanlar
1	Örnek hücresi
2	Örnek dilüent: TRIS tampon (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (600 µl).
3	Ön yıkama solüsyonu: TRIS (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (600 µl).
4 - 5 - 7 - 8	Yıkama solüsyonu: TRIS (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (600 µl).
6	Konjugat: Alkalın fosfataz ile işaretlenmiş immün kompleks(toksoplazma antijen-fare monoklonal anti-P30 antikor) + 1 g/l sodyum azid +0.02%gentamicin(400 µl)
9	Boş kuyucuk
10	Substrat ile birlikte okuma küveti: 4 Metil-umbelliferil fosfat + Dietanolamin (0.62 mol/l) pH 9.2 + 1 g/l sodyum azid (300 µl).

-**MLE (Master lot giriş) kartı** Fabrika master kalibrasyon eğrisi verilerini içeren her lot numarasına özel çalışma öncesi okutulması gereken karttır.

-**VIDAS cihazı** *T.gondii*'ye karşı oluşan serumdaki anti-toksoplazma antikorlarını kantitatif olarak ölçebilen ELFA teknolojisi kullanan otomatize cihazdır.

-**Kalibre edilmiş disposabl uçlu pipet ve pipet ucu**

-**Vorteks**

III.1.2. Testin Yapılışı

III.1.2.1.MLE ve Kalite Kontrol

-Her yeni reajan lotunu kullanmadan önce cihaza (VIDAS) her kit içinde yer alan master lot kartını kullanarak spesifikasyonlar (ya da fabrika master kalibrasyon eğrisi verileri) girilmiştir. MLE otomatik olarak ya da manuel olarak her lot için bir kez girilmiştir.

-MLE kartı cihaz tarafından otomatik olarak okutulmadığı zaman verileri manuel olarak girmek için "Manuel Entry" menüsünü seçilerek, her barkod altında yer alan harf ve sayıları yazılmıştır. VIDAS, MLE kartı ile karşılaştırılması gereken verilerin çıkışını yaptığında eğer bu veriler aynı değil ise barkod verilerini yeniden girişi yapılmıştır.

-Her VIDAS TXM kiti içinde C1 ve C2 olmak üzere iki kontrol kullanılmıştır.

-Pozitif kontrol C1'in (referans strip) ve negatif kontrol C2'nin rölatif floresan değerinin (RFV) ampul etiketinde belirtilen sınırlar içinde olup olmadığı kontrol edilmiştir.

-Değerlerin beklenen değerlerden sapma göstermesi durumunda sonuçlar geçerli kabul edilmemiştir.

III.1.2.2.Test Prosedürü

-Buzdolabından kitleri alınıp, en az 30 dakika bekleyerek bunun oda ısısına gelmesi sağlanmıştır.

-Test edilecek her örnek ya da kontrol için bir TXM stribi ve bir adet TXM SPR alınmıştır.

-Her hasta için birer adet TXM stribi/TXM SPR'si ve birer adet TXG stribi/TXG SPR'si VIDAS Hazırlık/Yükleme kabına yerleştirilmiştir.

-Bir çalışma listesi oluşturmak üzere klavyeyi kullanarak gerekli tahlil ve hasta verileri girilmiştir.

-Örnekler ve kontrolleri bir vorteks kullanarak karıştırılmıştır.

-Bir stribin her örnek hücresi içine örnek ya da kontrolden pipetle 100 µl konulmuştur.

-VIDAS SPR'ler ve stripleri ekranda belirtilen pozisyonda yerleştirilmiştir.

-VIDAS kullanıcı kılavuzu'nda belirtildiği gibi tahlil süreci başlatılmıştır. Tüm tahlil kademeleri cihaz tarafından otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar yaklaşık 40 dakika içinde elde edilmiştir.

III.1.3.Sonuçların Değerlendirilmesi

-Tahlil tamamlandığında sonuçlar bilgisayar tarafından otomatik olarak analiz edildi. Reajan stribindeki floresan, test edilen her çift örnek için reajan stribindeki okuma küvetinde iki kez ölçülmüştür. İlk okuma, küvet ve substratın temel okumasını, ikinci okuma ise substrat SPR içinde inkübe edildikten sonra yapılmıştır.

-Son okumadan temel okuma çıkarılarak RFV cihaz tarafından hesaplanmıştır. Sonuçlar otomatik olarak cihaza yüklenmiş kalibrasyon eğrisine göre hesap edilerek, RFV değerleri IU/ml birimine çevrilmiştir. Değerlendirme kit proseduründe belirtildiği gibi titre < 4 negatif, $4 \leq \text{titre} < 8$ sınırdadır, titre ≥ 8 pozitif olarak değerlendirilmiştir.

III.2. VIDAS IgG AVİDİTE

Çalışmaya alınan anne ve kordon serumlarında *T.gondii*'ye karşı oluşan IgM ve IgG antikorlarının birlikte pozitifliği halinde akut yada kronik toksoplazmoz ayrımını yapmak amacıyla avidite testinden yararlanılmıştır. Testte VIDAS TXGA (Toxo IgG Avidite) (bioMerieux, France) ticari kiti kullanılmıştır. Test üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.

III.2.1. VIDAS IgG Avidite'de Kullanılan Malzemeler

-Yüksek avidite kontrol TXGA (kullanıma hazır) 2ml, anti-*T.gondii* IgG içeren insan serumu + protein sabitleyici + 1 g/l sodyum azid içerir.

-Düşük avidite kontrol TXGA (kullanıma hazır) 2ml, anti- *T.gondii* IgG içeren insan serumu + protein sabitleyici + 1 g/l sodyum azid içerir.

-Sample diluent TXGA (kullanıma hazır) 13ml, insan serumu + protein sabitleyici + 1 g/l sodyum azid içerir.

-SPR TXGA (kullanıma hazır) SPR alt ucu toksoplazma membranı ve stoplazmik antijeni ile hassas hale getirilmiş, pipet ucu görevi de gören bir solid faz haznesidir.

-STR: Çift reajan sribi (kullanıma hazır) Referans ve test sribinden oluşur. Referans sribi STR TXG bileşimi ile aynıdır (Tablo I). Test STR bileşimi tabloda verilmiştir (Tablo III).

Tablo-III. Test STR bileşimi

Hücreler	Reajanlar
1	Örnek hücresi
2	Örnek dilüent: TRIS tampon (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (600 µl).
3	Ön yıkama solüsyonu: TRIS (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (600 µl).
4 - 5	Yıkama solüsyonu: TRIS (50 mmol/l, pH 7.4) + ayırıcı ajan + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (600 µl).
7 - 8	Yıkama solüsyonu: TRIS (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (600 µl).
6	Konjugat: Alkalın fosfataz ile işaretlenmiş monoklonal anti-human IgG antikorları (fare) + 1 g/l sodyum azid (400 µl)
9	Serum dilüenti: TRIS tampon (50 mmol/l, pH 7.4) + protein ve kimyasal sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid (400 µl).
10	Substrat ile birlikte okuma küveti: 4 Metil-umbelliferil fosfat + Dietanolamin (0.62 mol/l) pH 9.2 + 1 g/l sodyum azid (300 µl).

-**VIDAS cihazı** *T.gondii*'ye karşı oluşan serumdaki anti-toksoplazma antikorlarını kantitatif olarak ölçebilen ELFA teknolojisi kullanan otomatize cihazdır.

-**Kalibre edilmiş disposabl uçlu pipet ve pipet ucu**

-**Vorteks**

III.2.2. Testin Yapılışı

-MLE ve kalite kontrol işlemi VIDAS Toxo IgG, M testinde olduğu gibi yapılmıştır.

-VIDAS Toxo IgGA ile test edilecek bir örnek, daha önce VIDAS Toxo IgGII ile test edildi. Pozitif olanlar ToxoG Avidite çalışmasına alınmıştır. VIDAS Toxo IgGII ile 300 IU/ml'den daha yüksek bulunan örnekler dilüsyon oranı belirlenerek dilüe edilmiştir. Dilüsyon oranı(d) VIDAS Toxo IgG II titresini/15 şeklinde hesaplanmıştır.

-Her örnek d oranında dilüe edilerek ve daha sonra direkt olarak Toxo IgG Avidite ile test edilmiştir.

-Buzdolabından alınan kitler en az 30 dakika bekletilerek oda ısısına gelmesi sağlanmıştır.

-Test edilecek her örnek ya da kontrol için bir çift TXGA stribi ve iki adet TXGA SPR alınmıştır.

-Çift TXGA stribi ve TXGA SPR'leri VIDAS Hazırlık/Yükleme kabına yerleştirilmiştir.

-Bir çalışma listesi oluşturmak üzere klavyeyi kullanarak gerekli tahlil ve hasta verilerini girilmiştir.

-Örnekler ve kontrolleri vorteks kullanarak karıştırılmıştır.

-Çift stribin her örnek hücresi içine daha önce dilüe edilmiş örnek ya da kontrolden pipetle 100 µl konulmuştur.

-SPR'ler ve stripler ekranda belirtilen pozisyonda yerleştirilmiştir.

-VIDAS kullanıcı kılavuzu'nda belirtildiği gibi tahlil süreci başlatılmıştır. Tüm tahlil kademeleri cihaz tarafından otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar yaklaşık 40 dakika içinde elde edilmiştir.

III.2.3.Sonuçların Değerlendirilmesi

-Tahlil tamamlandığında sonuçlar bilgisayar tarafından otomatik olarak analiz edildi. Reajan stribindeki floresan, test edilen her çift örnek için reajan stribindeki okuma kuvvetinde iki kez cihaz tarafından ölçülmüştür. İlk okuma kuvvet ve substratın temel okumasını, ikinci okuma substrat SPR içinde inkübe edildikten sonra yapılmıştır. Temel okumadan son sonuç çıkarılarak RFV değerleri cihaz tarafından hesaplanmıştır.

-RFV limitlerin altında ve dilüsyonun çok yüksek olması durumunda uygun bir dilüsyon kullanılarak test yeniden yapılmıştır.

-RFV limitlerin üzerinde ise örnek dilüsyonu yetersiz kabul edilip, uygun bir dilüsyonla test tekrar edilmiştir.

-Sonuçların yorumu için VIDAS cihazı tarafından Avidite indeks (AI) oranını; Test RFV'si / Referans RFV şeklinde otomatik olarak hesaplamıştır.

-Tahlil değerine bağlı yorum; $AI < 0.200$ ise dūřuk IgG yōnelimi, $0.200 \leq AI < 0.300$ Sınırdaki yōnelim, $AI \geq 0.300$ ise yōksek IgG yōnelimi şeklinde yorumlanmıştır.

-0.300'e eşdeğer ya da daha fazla olan AI 4 aydan daha yakın bir enfeksiyonun dışlanması şeklinde, 0.300'den dūřuk bir AI 4 aydan daha yakın bir enfeksiyon şeklinde yorumlanmıştır.

III.3.IFAT IgG, IgM

Çalışmada kullanılan IFAT yōnteminden anne ve kordon serumlarında *T.gondii*'ye spesifik IgG ve IgM antikorlarını araştırmak amacıyla yararlanılmıştır. Anti-*T.gondii* IIFT IgG-IgM (Euroimmun, Germany) ticari kiti kullanılmıştır. Test üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.

III.3.1.IFAT için Gerekli Malzeme ve Solüsyonların Hazırlanması

-Pozitif kontrol TXG serumu (kullanıma hazır) Anti-toksoplazma IgG içeren insan serumu içerir.

-Pozitif kontrol TXM serumu (kullanıma hazır) Anti-toksoplazma IgM içeren insan serumu içerir.

-Negatif kontrol TXG serumu (kullanıma hazır) Anti-toksoplazma IgG içermeyen insan serumu içerir.

-Negatif kontrol TXM serumu (kullanıma hazır) Anti-toksoplazma IgM içermeyen insan serumu içerir.

-Konjugat TXG (kullanıma hazır) Keçiden elde edilen insan IgG'sine karşı geliştirilmiş florescein ile işaretlenmiş anti-insan IgG antikorunu kullanılmıştır.

-Konjugat TXM (kullanıma hazır) Keçiden elde edilen insan IgM'sine karşı geliştirilmiş florescein ile işaretlenmiş anti-insan globulini kullanılmıştır.

-PBS-Tween Fosfat Tampon Solüsyonu (PBS) ve Tween 20 kullanılarak hazırlanır. PBS içeren poşet, 1 litre distile su içinde çōzündürülerek, pH 7.2'e ayarlanmıştır. 2 ml Tween 20 bu solüsyona eklenerek PBS-Tween solüsyonu hazırlanmıştır.

-**Lam (kullanıma hazır)** Her birinde 5 adet *T.gondii* antijeni ile kaplanmış biochipler bulunan ticari hazır olarak alınan lamlar kullanılmıştır.

-**Lamel** 62mmx23mm boyutlarında lameller kullanılmıştır.

-**Kaplama solüsyonu (kullanıma hazır)** 3.0 ml Gliserol içerir.

-**Serum sulandırma tüpleri**

- **Kalibre edilmiş disposabl uçlu pipet ve pipet ucu**

-**İmmunofloresan mikroskop** Nikon Eclips E200 marka mikroskop kullanılmıştır

III.3.2. Testin Yapılışı

-Serumlar dilusyon tüpleri kullanılarak PBS-Tween ile 1/16,1/64 ve 1/128 oranlarında sulandırıldı. TXM çalışması için 1/16, TXG çalışması için 1/16,1/64 ve 1/128 seri dilusyonları kullanılmıştır.

-Dilusyonları hazırlamak için birinci tüpe 150µl PBS-Tween içine 10 µl dilue edilmemiş hasta serumu konulmuştur.

-İkinci dilusyon tüpüne 150 µl PBS-Tween içine 50 µl 1.dilusyon tüpündeki serumdan konulmuştur. Bu işlem üçüncü ve diğer serumlar için aynı şekilde tekrarlanmıştır (TabloIV).

- Pipet uçları sırayı takip edebilmek amacıyla boş pipet uç kabına sıra ile yerleştirilmiştir.

-Serum sulandırmaları bitirildikten sonra hasta sayısı için gerekli sayıda uygun antijen kaplı lam sayısı hesaplanarak, lamlar daha önceden dibine ıslak kurutma kağıdı konulmuş kapaklı küvet içindeki lam tutucuların üzerine yerleştirilmiştir. Lamaları yerleştirirken antijen kaplı kısımların üst tarafa gelmesine dikkat edilmiştir.

- Slaytlarla uyumlu zemin üzerindeki her bir bölüme pozitif kontrol, negatif kontrol ve dilusyon tüplerinden düşük sulandırmadan başlanarak 25'er µl kabarcık kalmayacak şekilde konulmuştur.

-Lamlara serum sulandırmaları konulduktan sonra kapaklı küvetin kapağı kapatılarak 18°C-25 °C'de 30 dakika bekletilmiştir.

-Oda ısısında bekletilen lamlar birbirine yapışmayacak şekilde PBS dolu şalede en az 5'er dakika yıkanmıştır.

-Lamlar oda ısısında dik olarak kurutma kağıdı üzerine konulup ve kurumaya bırakılmıştır.

-Kuruyan lamlar kapaklı küvet içindeki sehpanın üzerine antijen üste gelecek şekilde dizilmiştir.

-Her hasta için ortalama 20 µl konjugat kabarcık kalmayacak şekilde konulmuştur.

-Lamlara konjugat konulduktan sonra kapaklı küvetin kapağı kapatılarak 18°C-25 °C’de 30 dakika bekletilmiştir.

-Oda ısısında bekletilen lamlar birbirine yapışmayacak şekilde PBS dolu şalede en az 5’er dakika tekrar yıkanmıştır.

-Lamların üzerine kurumadan kaplama solusyonu birer damla damlatılıp lamel kapatılmıştır.

- Lamlar immunofloresan mikroskopta incelenmiştir.

Tablo-IV. Sulandırım plağı

1:16	150µl PBS-Tween +10 µl dilue edilmemiş serum
1:64	150 µl PBS-Tween+50 µl 1:16 dilue serum
1:256	150 µl PBS-Tween +50 µl 1:64 dilue serum
1:1024	150µl PBS-Tween+50 µl 1:256 dilue serum
1:4096	150µl PBS-Tween+50 µl 1:1024 dilue serum

III.3.3.Sonuçların Değerlendirilmesi

Reaksiyon alanındaki toksoplazma trofozoitlerinin tamamı floresan veriyorsa pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi. Hasta serumunda *T.gondii*'ye karşı IgG antikorları varsa görülen floresan intensitesinin IgG pozitif kontrol ile, *T.gondii*'ye karşı IgM antikorları varsa görülen floresan intensitesinin IgM pozitif kontrol aynı olmasına göre karar verilmiştir (Tablo VI, Tablo VII).

Tablo-V. IgG sonuçlarının değerlendirilmesi

IgG reaktivitesi	Yorum
1:16 titrede floresan yok	Negatif. Hasta serumunda <i>T.gondii</i> 'ye karşı IgG antikoruna yoktur.
1:16-<1:64 titrede floresan var	Border line/pozitif. Kontrol çalışılması önerilir.
1:64-1:256 titrede floresan var	Pozitif.Latent enfeksiyonu gösterir.
2 hafta içinde iki kat yada daha fazla titre artışı	Yeni enfeksiyonu gösterir
1:1024 ve > floresan var	Pozitif. IgM reaktivitesi ile birlikte ise aktif enfeksiyonu gösterir

Tablo VI. IgM sonuçlarının değerlendirilmesi

IgM reaktivitesi	Yorum
1:16 titrede floresan yok	Negatif. Hasta serumunda <i>T.gondii</i> 'ye karşı IgM antikoruna yoktur.
1:16 titrede floresan var	Pozitif. Primer enfeksiyonu gösterir. Nadiren kronik enfeksiyonu gösterir.

III.4.IFAT IgG AVİDİTE

Çalışmaya alınan anne ve kordon serumlarında *T.gondii*'ye karşı IgM ve IgG antikorlarının birlikte pozitifliği saptanan olgularda akut yada kronik toksoplazmoz ayırımı yapmak amacıyla avidite testinden yararlanılmıştır. Anti-*T.gondii* IIFT (IgG, avidity determination) (Euroimmun, Germany) ticari kiti kullanılmıştır. Test üretici firmanın önerisi doğrultusunda çalışılmıştır.

III.4.1.IFAT IgG Avidite için Gerekli Malzeme ve Solüsyonların Hazırlanması

-Pozitif kontrol serumu 1(kullanıma hazır) Anti-toksoplazma antikorları içeren insan serumu (floresan intensitesi=3) içerir.

-Pozitif kontrol serumu 2(kullanıma hazır) Anti-toksoplazma antikorları içeren insan serumu (floresan intensitesi=1) içerir.

-**Negatif kontrol serumu (kullanıma hazır)** Anti-toksoplazma antikorları içermeyen insan serumu içerir.

-**Konjuge (kullanıma hazır)** Keçiden elde edilen insan IgM'sine karşı geliştirilmiş florescein ile işaretlenmiş anti-insan globulini kullanılmıştır.

-**PBS Tween** IIFT IgG-IgM kiti ile aynı prosedür ile hazırlandı.

-**Kaplama solüsyonu (kullanıma hazır)** 3.0 ml Gliserol içerir.

-**Lam (kullanıma hazır)** Her birinde 5 adet *T.gondii* antijeni ile kaplanmış biochipler bulunan ticari hazır olarak alınan lamalar kullanılmıştır.

-**Lamel** 62mmx23mm boyutlarında lameller kullanılmıştır

-**Üre solüsyonu**

-**Serum sulandırma tüpleri**

- **Kalibre edilmiş disposabl uçlu pipet ve pipet ucu**

-**İmmunofloresan mikroskop** Nikon Eclips E200 marka mikroskop kullanılmıştır.

III.4.2. Testin Yapılışı

-Serumlar dilüsyon tüpleri kullanılarak 150µl PBS-Tween içine 10 µl dilüe edilmemiş serum konularak 1/16 oranında sulandırılmıştır.

-Serum sulandırmaları bitirildikten sonra hasta sayısı için gerekli sayıda uygun antijen kaplı lam sayısı hesaplanarak, lamalar daha önceden dibine ıslak kurutma kağıdı konulmuş kapaklı küvet içindeki lam tutucuların üzerine yerleştirilmiştir. Lamaları yerleştirirken antijen kaplı kısımların üst tarafa gelmesine dikkat edilmiştir.

-Her hasta için bir slaytta iki alan kullanılmıştır. Her hasta için lamlardaki antijen kaplı her iki alana da dilüsyon tüplerinden 25'er µl kabarcık kalmayacak şekilde ve konuluş sırasına uygun olarak konulmuştur .

- Lamalara serum sulandırmaları konulduktan sonra kapaklı küvetin kapağı kapatılarak 18°C-25 °C'de 30 dakika bekletilmiştir.

-Oda ısısında bekletilen lamalar birbirine yapışmayacak şekilde PBS dolu şalede en az 5'er dakika yıkanmıştır.

-Her hasta için serum konulan iki alandan birine 20 µl üre solüsyonu, diğerine 20 µ PBS-Tween eklenmiştir.

-Lamlara serum sulandırılmaları konulduktan sonra kapaklı küvetin kapağı kapatılarak 18°C-25 °C’de 30 dakika bekletilmiştir.

-Oda ısısında bekletilen lamalar birbirine yapışmayacak şekilde PBS dolu şalede en az 5’er dakika yıkanmıştır.

-Her hasta için ortalama 20 µl konjugat kabarcık kalmayacak şekilde konulmuştur.

-Lamlara kojugat konulduktan sonra kapaklı küvetin kapağı kapatılarak 18°C-25 °C’de 30 dakika bekletilmiştir.

-Oda ısısında bekletilen lamalar birbirine yapışmayacak şekilde PBS dolu şalede en az 5’er dakika yıkanmıştır.

-Lamların üzerine kurumadan kaplama solusyonu birer damla damlatılır ve lamel kapatılmıştır.

-Lamlar immunfloresan mikroskopta incelenmiştir.

III.4.3.Sonuçların Değerlendirmesi

Değerlendirme, her hasta için üreli ve üresiz örnek arasındaki floresan intensite farkına göre yapılmıştır. İntensite farkını (İF) ortaya koymada tablo VII’deki skora şeması kullanılmıştır.

Eğer üresiz alanda skor 0 yada 1 ise avidite değerlendirilmesi yapılamamıştır. Floresan İF ikiden daha düşükse yüksek avidite olarak değerlendirilmiştir. Floresan İF iki yada daha fazla ise düşük avidite olarak değerlendirilmiştir.

Tablo VII. Skora şeması

0	Floresan vermiyor
1	Çok zayıf floresan
2	Zayıf floresan
3	Orta şiddette floresan
4	Kuvvetli floresan
5	Çok kuvvetli floresan

III.5.IFAT ANA

IFAT yöntemi ile değerlendirme yapılamayan 6 serumda yalancı pozitiflik açısından ANA çalışması yapılmıştır. ANA Mosaic HEP-20-10/Liver Monkey (Euroimmun, Germany) ticari kiti kullanılmıştır. Test üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.

Hasta serumları 1/100 oranında dilue edilmiştir. Hep-2 ve sonuçların desteklenmesi için primat karaciğer hücreleri bulunan lamalar kullanılmıştır. Daha önce yapılan IFAT IgG, IgM çalışmasına benzer olarak PBS-Tween 20 karışımı, konjugat solüsyonu, lamel, kaplama solüsyonu ve immunfloresan mikroskop kullanılmış ve test prosedürü de benzer olarak uygulanmıştır. Değerlendirme X40'lık objektifte floresan vermelerine göre yapılmıştır.

III.6.MAP IgG, IgM

Çalışmaya alınan anne ve kordon serumlarında *T.gondii*'ye spesifik IgG ve IgM antikörlerinin varlığını araştırmak amacıyla MAP (Luminex, USA) teknolojisinden yararlanılmıştır. Yapılan çalışmada Athena Multi-Lyte TORCH Test System ticari kiti kullanılmıştır. Test üretici firmanın önerisi doğrultusunda çalışılmıştır.

III.6.1.MAP için Gerekli Malzeme ve Solüsyonların Hazırlanması

-Pozitif kontrol TXG serumu (kullanıma hazır) 0.2ml anti-toksoplazma IgG içeren insan serumu içerir.

-Pozitif kontrol TXM serumu (kullanıma hazır) 0.2ml anti-toksoplazma IgM içeren insan serumu içerir.

-Negatif kontrol TXG serumu (kullanıma hazır) 0.2ml anti-toksoplazma IgG içeren insan serumu içerir.

-Negatif kontrol TXM serumu (kullanıma hazır) 0.2ml anti-toksoplazma IgM içeren insan serumu içerir.

-Multipleks (çoklu) boncuk süspansiyonu (kullanıma hazır) Yüzeyleri spesifik toksoplazma antijeni kaplanmış kırmızıdan kızıl ötesine kadar boyanmış ve renk kodları olan boncuklardan oluşur.

-Fikoeritrin ile konjuge anti-insan IgM (kullanıma hazır) 15ml keçiden elde edilmiş fikoeritrin ile işaretli anti-insan IgM'si içerir.

-Fikoeritrin ile konjuge anti-insan IgM (kullanıma hazır) 15ml keçiden elde edilmiş fikoeritrin ile işaretli anti-insan IgM'si içerir.

-Sample diluent (kullanıma hazır) 50ml fosfat tampon solüsyonu içerir.

-Polistren okutma pleyti 96 well içerir.

-Dilusyon pleyti 96 well içerir.

-Filtre tabanlı mikropleyti 96 well içerir.

-Luminex cihazı Luminex firması tarafından üretilen anti-toksoplazma antikörlerini semi-kantitatif olarak ölçebilen MAP teknolojisi kullanan otomatize cihazdır.

- Kalibre edilmiş çok atımlı pipet ve pipet ucu

III.6.2. Testin yapılışı

-Serumlar dilusyon pleyti kullanılarak 200 µl içine 10 µl dilue edilmemiş serum konarak 1/21 oranında sulandırılmış ve karıştırılmıştır.

-Filtre tabanlı mikropleytlere çok atımlı pipet kullanılarak 50'şer µl multipleks boncuk süspansiyonu konulmuştur. Bu süspansiyonların içine 10 µl 1/21 oranında dilue edilmiş serumlar konulmuştur.

-20-40 dakika oda ısısında (20-25°C) inkübe edilmiştir.

-Filtre tabanlı pleytler vakum manifoldu üzerine konulup, her defasında 200'er µl yıkama solüsyonu kullanarak 3 defa yıkanmıştır.

-Her hasta için ortalama 150 µl konjuge konuldu. Multipleks boncuk süspansiyonu ve konjugat 15 saniye süreyle karıştırılmıştır.

-20-40 dakika oda ısısında (20-25°C) inkübe edilmiştir.

-Filtre tabanlı pleytler vakum manifoldu üzerine konulup, her defasında 200'er µl yıkama solüsyonu kullanarak 3 defa yıkanmıştır.

-Okutma 150 µl konjugat konulduktan 60 dakika içinde cihaz tarafından yapılmıştır.

III.6.3.Sonuçların Değerlendirmesi

Cihaz farklı renk kodlarına sahip polistren mikropartiküllerin kırmızı lazerin yardımı ile renk kodunu algılar, aynı anda yeşil lazer ile boncuğun üzerinde fikoeritrinden kaynaklanan bir ışığa varsa onun ölçümünü yapar. Farklı renk kodundaki her bir boncuk grubu için 50 şer boncuk okuduktan sonra (bu rakamı 400 e kadar çıkarmak mümkün) okuyudaki işini bitirir ve okuma işlemi için diğer kuyuya geçer. Sistem bize her parametre başına 50 boncuktan elde etmiş olduğu MFU (floresan ışığa birimi) değerlerinin ortalamasını alarak otomatik olarak verir. Işımanın şiddeti ile aranılan antikor miktarı doğru orantılıdır, standartlar yardımı ile alınan bu MFU değerleri pg/ml ye çevirilir ve böylece tek bir kuyu içerisinde tek bir test yaparak farklı analitlere ait veriler kantitatif olarak alınmış olur. Athena Multilyte test sistemi 'Intra-Well Calibration Technology'si adı verilen multipleks boncuk süspansiyonu kullanılarak elde etmiş olduğu multipoint standart eğriyi kullanarak değerlendirme yapar. Bu teknolojiye her örnek kendi içinde herhangi bir kullanıcı müdahalesine gerek kalmadan internal kalibrasyonunu yapar. Standart eğri her örneğin kendi karakteristik özelliklerine göre ayarlanır. Kalibratör değerleri firmanın her kit lotuna özel tesbit edilen değerlerdir.

Değerlendirme cihaz tarafından otomatik olarak kit prosedüründe belirtildiği gibi titre < 100 U/mL ise negatif, 100 < titre < 120 U/mL ise sınırda, titre > 120 U/mL ise pozitif olarak yapılmıştır.

IV. BULGULAR

Bu çalışmada 130 anne ve bu annelere ait 130 göbek kordon serumu VIDAS, IFAT ve MAP yöntemleri kullanılarak IgM, IgG antikorları açısından araştırılmıştır. VIDAS ve IFAT yöntemleri ile çalışılan, IgM ve IgG birlikte pozitif saptanan anne serumları akut yada kronik infeksiyon ayırımı yapmak için her iki yöntemin avidite testi ile çalışmaya alınmıştır.

Çalışılan 130 anne serumunun 44'ünde (%33.8), 130 kordon serumunun 39'unda (%30) toksoplazma antikorları pozitif olarak bulunmuştur.

Yöntemlere göre antikor pozitifliği incelendiğinde; anne ve kordon serumlarında VIDAS yöntemi ile toksoplazma antikorlarının dağılımı Tablo VIII'de gösterilmiştir.

Tablo VIII. Anne ve kordon serumları VIDAS IgM, IgG sonuçlarının karşılaştırılması

	Anne serumu				Kordon serumu			
	IgG		IgM		IgG		IgM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Negatif	84	64.6	126	97	86	66.2	130	100
Pozitif	44	33.8	4	3	42	32.3	0	0
Border line	2	1.5	0	0	2	1.5	0	0
Toplam	130	100	130	100	130	100	130	100

Çalışılan toplam 260 serumdan 126 anne ve 130 kordon serumunda VIDAS ile IgM antikoruna saptanmamış, 4 anne serumunda IgM antikoruna pozitif olduğu halde bu annelerin kordon serumunda IgM antikoruna negatif olarak bulunmuştur.

Yapılan IgG çalışması sonucu; annede 44 (%33.8), kordon serumunda 42 (%32.3) pozitiflik saptanmıştır. Bu sonuçlarla anne ve kordon kanı IgG'si uyumlu olan 41 olgu çifti tesbit edilmiştir. Üç anne kanında IgG pozitif iken bu annelerin

kordon kanında IgG negatif olarak saptanmıştır. Bir serumunda ise anne IgG'si negatif iken kordon IgG pozitifliği bulunmuştur. Ancak kordon kanında saptanan IgG'lerin anneden geçen yada çocuğa ait olan antikorlar olduğunu gösterecek titre takipleri yapılamamıştır.

IFAT yöntemi ile çalışılan 130 anne serumunun 9'unda IgM pozitifliği saptanırken, kordon serumlarının hiçbirinde IgM pozitifliği saptanmamıştır. Anne ve kordon serumlarında IFAT yöntemi ile toksoplazma antikorlarının dağılımı Tablo IX'de gösterilmiştir.

Tablo IX.Anne-kordon serumları IFAT IgM, IgG sonuçlarının karşılaştırılması

	Anne serumu				Kordon serumu			
	IgG		IgM		IgG		IgM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Negatif	85	65.4	121	93.1	89	68.5	130	100
Pozitif	44	33.8	9	6.9	39	30	0	0
Border line	1	0.8	0	0	2	1.5	0	0
Toplam	130	100	130	100	130	100	130	100

Anne ve kordon serumlarında IFAT yöntemi ile IgG çalışması sonucu; annede 44(%33.8), kordon serumunda 39(%30) pozitiflik saptanmıştır. Annelerdeki pozitif olguların titre dağılımı 24 olgu 1/16, 17 olgu 1/64 ve üç olguda 1/256 olarak tesbit edilmiştir. Kordon serumlarında pozitif olguların titre dağılımı ise 21 olgu 1/16, 17 olgu 1/64 ve 1 olguda 1/256 olarak tesbit edilmiştir. Anne ve kordon serum çiftlerinde titreler karşılaştırıldığında anne ve kordon serumlarında 39 olguda aynı titre ve 5 olguda anne serumlarından kordon serum titreleri daha düşük yada negatif olarak saptanmıştır.

Toplam 130 anne serumunun ikisinde(%1.5) IgM, 44'ünde(%33.8) IgG MAP yöntemi ile pozitif bulunmuştur. Bu yöntem ile IgM'si pozitif yada borderline olan annelerin kordon serumlarında IgM pozitifliği saptanmamıştır. Çalışılan 130 kordon serumunun hiçbirinde IgM pozitifliği yok iken, 42'sinin(%32.3) IgG'si pozitif olarak bulunmuştur (Tablo X).

Tablo X.Anne-kordon serumları MAP IgM, IgG sonuçlarının karşılaştırılması

	Anne serumu				Kordon serumu			
	IgG		IgM		IgG		IgM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Negatif	85	65.4	126	96.9	86	66.2	130	100
Pozitif	44	33.8	2	1.5	42	32.3	0	0
Border line	1	0.8	2	1.5	2	1.5	0	0
Toplam	130	100	130	100	130	100	130	100

Çalışmada kullanılan MAP yöntemi ile anne ve kordon kanı IgG'si uyumlu olan 42 olgu çifti tesbit edilmiştir. İki olguda ise anne IgG'si pozitif iken kordon IgG'si negatif olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız yöntemler olan VIDAS, IFAT ve MAP IgM, IgG sonuçları karşılaştırıldığında seropozitiflik değerleri tablo XI'de verilmiştir. Anne serumlarında üç yöntem ile uyumlu olarak 44 olguda IgG pozitifliği bulunmuş ve bir olguda tüm yöntemlerle borderline sonuç elde edilmiştir. VIDAS IgG ile borderline sonuç saptanan bir olguda ise diğer sistemlerle yapılan çalışma sonuçları negatif olarak bulunmuştur.

Tablo XI. Anne-kordon serumları VIDAS, IFAT ve MAP IgM, IgG sonuçları

Yöntem	VIDAS				IFAT				MAP			
	IgG		IgM		IgG		IgM		IgG		IgM	
	n	%	n	%	%	n	%	n	%	n	%	
Anne	44	33.8	4	3.1	44	33.8	9	6.9	44	33.8	2	1.5
Kordon	42	32.3	0	0	39	30	0	0	42	32.3	0	0

IFAT IgM testi ile 9 annede IgM pozitifliği saptanırken, bunların sadece üçü VIDAS IgM ile ve ikisi MAP IgM ile uyumlu olarak pozitif sonuç vermiştir. VIDAS IgM ile pozitiflik saptanan bir anne serumunda ise IFAT IgM ve MAP IgM ile olumsuz sonuç alınmıştır. Kullanılan üç yöntem ile de IgG ve IgM antikoru pozitif olarak saptanan sadece bir olgu mevcut idi. Hem VIDAS IgM ve

hem de IFAT IgM yöntemi ile pozitif olarak saptanan iki olgu MAP IgM yöntemi ile borderline olarak tesbit edilmiştir (Tablo XII).

Kordon serumlarının her üç yöntem ile yapılan çalışılmasında IgM antikor pozitifliğine rastlanmamıştır. IgG antikorları açısından üç yöntem ile de pozitif olan 39 olgunun mevcut olduğu ve VIDAS ve MAP ile IgG'si pozitif olan üç olgunun IFAT yöntemi ile negatif olduğu bulunmuştur (Tablo XII).

Tablo XII. IgM ve IgG pozitifliği saptanan olguların VIDAS, IFAT ve MAP yöntemlerine göre karşılaştırılması

	Anne serum						Kordon serum					
	VIDAS		IFAT		MAP		VIDAS		IFAT		MAP	
	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG
1. olgu	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
2. olgu	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
23. olgu	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
28. olgu	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
30. olgu	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
38. olgu	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
39. olgu	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
49. olgu	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Borderline	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
51. olgu	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Borderline	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
60. olgu	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif

VIDAS ve IFAT yöntemleri ile IgM ve IgG birlikte pozitifliği saptanan toplam on anne serumunda; VIDAS ile pozitiflik saptananlar VIDAS avidite testi ile, IFAT ile pozitiflik saptananlar IFAT avidite testi ile çalışmaya alınmıştır.

Anne serumlarından sadece birinde her iki yöntem ile uyumlu olarak düşük avidite saptanırken, iki anne serumunda da her iki yöntem ile uyumlu olarak yüksek avidite saptanmıştır. IFAT ile altı, VIDAS ile de bir anne serumunda iki tekrara rağmen avidite değerlendirmesi yapılamamıştır. IFAT yöntemi ile değerlendirme yapılamayan altı serumda yalancı pozitiflik açısından ANA pozitifliği aranmış ve beş serumda da ANA pozitifliği saptanmıştır (Tablo XIII).

Tablo XIII.VIDAS ve IFAT Avidite ve ANA sonuçları

No	VIDAS Avidite	IFAT Avidite(A), ANA
1.Anne serumu	VIDAS IgG(+) IgM(-)	IFAT IgG(+) IgM(+) A:Değerlendirilme yapılamadı ANA:Pozitif
2.Anne serumu	VIDAS IgG(+) IgM(-)	IFAT IgG(+) IgM(+) A:Değerlendirilme yapılamadı ANA: Pozitif
23.Anne serumu	VIDAS IgG(+) IgM(+) AI ≥ 0.300 (Yüksek avidite)	IFAT IgG(+) IgM(+) İF<2 (Yüksek avidite)
28.Anne serumu	VIDAS IgG(+) IgM(+) AI:Değerlendirilme yapılamadı	IFAT IgG(+) IgM(-)
30.Anne serumu	VIDAS IgG(+)IgM(-)	IFAT IgG(+) IgM(+) A:Değerlendirme yapılamadı ANA: Pozitif
38.Anne serumu	VIDAS IgG(+)IgM(-)	IFAT IgG(+) IgM(+) A:Değerlendirilme yapılamadı ANA: Negatif
39.Anne serumu	VIDAS IgG(+) IgM(-)	IFAT IgG(+) IgM(+) A:Değerlendirilme yapılamadı ANA: Pozitif
49.Anne serumu	VIDAS IgG(+) IgM(+) AI < 0.200(Düşük avidite)	IFAT IgG(+) IgM(+) İF≥2 (Düşük avidite)
51.Anne serumu	VIDAS IgG(+) IgM(+) AI≥ 0.300(Yüksek avidite)	IFAT IgG(+) IgM(+) İF<2 (Yüksek avidite)
60.Anne serumu	VIDAS IgG(+) IgM(-)	IFAT IgG(+) IgM(+) A:Değerlendirme yapılamadı

V. TARTIŞMA

Zoonotik bir infeksiyon olan toksoplazmoz dünyada oldukça geniş bir coğrafik dağılım göstermektedir. Olguların büyük bir kısmı asemptomatik iken semptomatik vakaların klinik bulgularının birçok hastalık semptomuna benzer olması, klinik tanıyı zorlaştırmaktadır (79). Akut toksoplazmozlu gebelerde yüksek bulaş riski ve konjenital toksoplazmozlu infantlarda meydana gelen ağır sekeller pek çok ülkede toksoplazmoza karşı tarama programlarının geliştirilmesi, test güvenilirliğinin sağlanması ve maliyet uygunluğunun artırılması açısından ciddi önlemler alınmasına neden olmuştur (80). Gebelik öncesi rutin toksoplazma antikorlarının aranması ile negatif bulunan ve gebelik sırasında infekte olan annelerin erken tanı ve tedavisinin yapılması ile oluşacak sekeller önlenmektedir (81). Bu nedenle toksoplazmoz taramalarında yada hastalığı düşündüren klinik tablonun varlığında, uygun zamanda ve güvenilir bir test kullanılması, kesin tanı koymada büyük önem taşımaktadır (82).

İnfeksiyonun laboratuvar tanısında *T.gondii*'ye karşı oluşan IgG, IgM ve IgA antikorlarını belirleyen serolojik testler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca özgül IgG, IgM ve IgA EIA testlerinin infeksiyonun erken yada geç dönemde olduğunu belirlemede yetersiz kalabilmesi nedeniyle primer infeksiyon zamanını saptamada özgül IgG avidite testi de kullanılabilir (83,84).

İnfeksiyonun özellikle kadınlar arasındaki yaygınlığını araştırmak gebelik esnasında geçirilecek bir infeksiyonun yaratacağı sorunlar açısından önemlidir. Bu nedenle birçok araştırmacı çalışmalarını risk grubunu teşkil eden kadın popülasyonu kullanarak yapmışlardır. Bölgemizde yapılan bu çalışmada da 17-40 yaş aralığındaki gebe kadınlardan alınan kan örnekleri ve gebelik sırasında fetustan alınacak örneklerin invaziv bir girişim gerektirmesi nedeniyle de doğum sırasında göbek kordonundan alınan örnekler dahil edilmiştir. Naessens ve arkadaşları, yenidoğandan alınan venöz kan örnekleri ile göbek kordonundan alınan kan örneklerini IgM ve IgA açısından karşılaştırmışlardır. İki yöntemle de alınan kan örneklerinde sensitivite değerleri birbirine benzer olmasına rağmen, venöz kan

örneğinde spesifite %99, kordon kanında IgM için %96 ve IgA için % 92 olarak saptanmıştır (85). Ancak kordon kanının kullanılması bizim çalışmamızda da olduğu gibi hem istenilen miktarda kan alınması, hem de invaziv bir prosedür gerektirmemesi nedeniyle tercih edilebilmektedir.

Bu çalışmada 3 ayrı serolojik tanı yöntemi (IFAT, VIDAS, MAP) kullanılarak toksoplazma IgG ve IgM antikor taraması 130 anne ve bu annelerin kordon serumunda yapılmıştır. IFAT IgG, IgM ve VIDAS IgG, IgM antikorları birlikte pozitiflik gösteren serumlarda aynı yöntemin avidite testi çalışılmış ayrıca çapraz reaksiyonu elimine etmek için IFAT ile IgM antikorları pozitif olan olgularda ANA çalışılarak yalancı pozitif olgular gösterilmiştir.

Çalışmamızda IFAT testi ile antitoksoplazma antikorları değerlendirilen Afyon ilinin merkezinde oturan gebe kadınlarda anti-toksoplazma IgG %33.8, anti-toksoplazma IgM %6.9 oranlarında bulunmuştur. Bu annelerin kordon kanlarında ise anti-toksoplazma IgG %30, IgM % 0.0 oranlarında bulunmuştur.

Jumaian IFAT yöntemi ile 15-24 yaş aralığındaki gebe kadınlarda seroprevalansı %31.7, 35-45 yaş aralığında ise %90 olarak bulmuştur. Pişmemiş et tüketimi ve toprakla olan teması önemli risk faktörleri olarak bulmuş ve saptanan oranın yaşla artış gösterdiğini ortaya koymuştur (86). Meksika'da tüm yaş gruplarında yapılan bir taramada IFAT yöntemi ile %32 oranında seropozitiflik saptanmıştır (87). Aynı yaş grupları dikkate alındığında; bu sonuçlarla yaptığımız çalışma bulguları uyum göstermektedir.

Buna karşılık Pakistan'da IFAT yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada IgG pozitifliği %17 ve bunun %3'lük oranının 1/320 titreli hastalardan oluştuğu bulunmuştur. Çocuklardan alınan serumlarda %12.3 oranında pozitiflik saptanmıştır (88). Bu oranlar aynı yöntemi kullanarak elde ettiğimiz oranlardan daha düşüktür. Sonuçlarımızla bu sonuçlar arasında ortaya çıkan farklılığın, iklim, coğrafi konum ve beslenme alışkanlıkları arasında olan farklılıklardan kaynaklanabileceği kanısına varılmıştır.

Ayrıca 1993'de Azab ve arkadaşları IHAT, DT ve IFAT yöntemini karşılaştırdıkları 600 kişilik bir çalışmada IFAT ile %58.5 (89), Quablan ve arkadaşları 2002'de yaptıkları bir başka çalışmada aynı yöntemle %47.1 toksoplazma IgG seropozitivitesi bulmuşlardır. Yüksek bulunan bu oranların yaş ve doğum sayısı ile paralel olarak artış gösterdiği ve çalışmaya seçilmiş hastaların dahil edilmesi ile ilgili olduğu düşünülmüştür (90).

Yurdumuzda da değişik araştırmacılar tarafından anne ve bu annelerin kordon kanında IFAT yöntemi kullanılarak yapılan seroprevalans çalışmaları mevcuttur. Erdem ve arkadaşları (91) 1988'de yaptıkları çalışmada anne serumunda %45 seropozitiflik saptarken, göbek kordon serumunda %6.7 oranında IgM pozitifliği bulmuşlardır. Kara'nın Mersin bölgesinde yaptığı bir başka çalışmada ise anne serumlarında IgG ve IgM pozitifliğini sırayla %84.9 ve %15.2, kordon kanlarında ise %65.1 ve %10.4 olarak bulunmuştur. Kara bu yüksek oranı örneklerin kırsal bölgede yaşayan ve sosyoekonomik durumu iyi olmayan bireylerden doğum sırasında alınmış olması ve ayrıca seropozitif hamilelerin %51.4'ünün bir evcil hayvanla yakın temasının olması ile açıklamıştır (92).

Altıntaş ve arkadaşları 1991-1995 yılları arasında *T.gondii* IgG antikor pozitifliğini %55 (93), Özcan ve arkadaşları %48.8 olarak tesbit etmişlerdir (94). 1997'de Kırağı ve arkadaşları aynı yöntemle taradıkları 85 kadın olguda toksoplazma IgG antikorunu %30.6, IgM antikorunu %3.5 olarak bulmuşlardır (36). 2002'de Kayra ve arkadaşları tarafından Manisa'da yapılan 295 kişiyi kapsayan çalışmada toksoplazma IgG %30.84, IgG ve IgM birlikte %2, IgM %0.68 oranında pozitif olarak bulunmuştur (81). Ankara'da farklı zamanlarda yapılan iki ayrı çalışmada ise Kocabeyoğlu ve arkadaşları tarafından %34 toksoplazma IgG, %0.9 IgM pozitifliği (95), Atmaca ve arkadaşları tarafından ise %32.77 oranında seropozitiflik bulunmuştur. Belirlediğimiz enfeksiyon oranları Altıntaş ve Özcan'ın saptadığı oranlara göre düşük olmasına karşı yapılan diğer çalışmalarla uyum içindedir (36).

Kuman ve arkadaşları 122 anne ve 122 bebekten oluşan grupta yaptıkları çalışmada bebeklerde %31.1 oranında, annelerde %36.9 oranında da toksoplazma IgM antikoru saptamışlardır (96). Pozitif IgM yanıtı olan bebeklerin aktif enfeksiyonlu olduğu kabul edilirse, insidansın %31.1 oranında olduğu görülmektedir. Bu sonuç bizim sonucumuzdan oldukça yüksek bir değeri yansıtmaktadır. Ancak bu çalışmada yalnız IgM antikorlarının çalışılmış olması ve bir tek serum örneğine göre elde edilen pozitif IgM yanıtı değerlerinin verilmesi, bu yüksek orandan sorumlu olabilir. Literatürde IgM antikorlarının da maternal kaynaklı olabileceği ve yarılama ömrü 15 gün olan bu antikorların tekrarlanan ikinci örnekte de mevcut olması durumunda pozitif bir yanıt olarak kabul edilebileceği belirtilmektedir (45).

Yapılan çalışmalar ülkemizde iklimsel ve yerel özelliklere bağlı olarak değişen toksoplazmoz prevalansının yüksek olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada da birtakım yurt içi ve yurt dışı çalışma sonuçları ile uyumlu olarak, yöremizde toksoplazmoz şüphesi olmayan olgularda IFAT yöntemi ile %33.8 gibi yüksek bir oranda toksoplazma antikorlarının varlığını ortaya koymuştur.

Akut enfeksiyonların teşhisinde IgM antikorlarının varlığının gösterilmesinin önem taşıdığı kabul edilmektedir. Ancak RF ve ANA varlığında yalancı pozitif sonuçların ortaya çıkabilmesi gibi nedenlere bağlı olarak IFAT testlerinde yalancı pozitiflikler sık olarak görülmektedir. Bu nedenle IgM pozitif saptadığımız 10 olgunun IFAT avidite ile değerlendirme yapılamayan 6'sında ANA çalışılmış ve 5 olgu pozitif olarak saptanmıştır. Bu nedenle annelerdeki IFAT yöntemi ile saptanan IgM pozitifliği %3.1 olarak düzeltilmiştir.

Toksoplazmoz tanısında ülkemizde ELISA yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalara bakıldığında; Balıkçı ve arkadaşları (97) anne serumlarında %33 ve bebek serumlarında %26.4 oranında IgM saptarken, Polat ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 428 gebede %43 toksoplazma IgG ve %0.7 IgM pozitifliği bulmuşlardır (94). Yazar ve arkadaşları 1822 gebenin katıldığı çalışmada %39.3 toksoplazma

IgG ve %2 IgM pozitifliği bulmuşlardır (98). Kocabeyoğlu ve arkadaşları tarafından toksoplazma IgG %34, IgM %0.9, IgM ve IgG birlikte %0.9 bulunmuştur (95). Yılmaz ve arkadaşları, Afyon bölgesinde yaşayan gebe kadınlarda toksoplazma, CMV, Rubella, Hepatit B ve Hepatit C seropozitiflik oranlarını araştırdıkları çalışmada toksoplazma seroprevalansını %30.7 olarak bulmuşlardır (99). Şaşmaz ve arkadaşları İzmir’de düşük öykülü kadınlarda %57.7 toksoplazma IgG, %86 IgM (100), Özçelik ve arkadaşları yine benzer riskli bir grupta %48.6 toksoplazma IgG, %6 IgM oranında pozitiflik saptamışlardır (101). 2001 yılında Nuhoğlu ve arkadaşları, Eskişehir’de çeşitli sağlık kurumlarından elde ettikleri 452 kordon serumunda %32.96 toksoplazma IgG ve %1.11 IgM pozitifliği bulmuşlardır (102). Sonuçlarda ortaya çıkan bu farklılık çalışılan serum sayısına, seçilen gruba, çalışmanın yapıldığı mevsime, bölgelere ve çeşitli çevresel faktörlere bağlı olabilir.

Bu çalışmada modifiye bir ELISA olan VIDAS yöntemi, tekniğin IgM için immuncapture yöntemini, IgG için ise sandwich ELISA yöntemini kullanmasının yanında hem yüksek IgG antikorlarından kaynaklanan yalancı negatiflik, hem de ANA ve RF pozitifliğinden kaynaklanan yalancı pozitifliği ortadan kaldırması nedeniyle seçilmiştir.

Çalışmada kullandığımız VIDAS metodu ile 130 gebe kadında anti-toksoplazma antikor dağılımı IgG %33.8, IgM %3 olarak bulunmuştur. Bu annelerin kordon kanlarında ise IgG %32.3, IgM % 0.0 oranlarında bulunmuştur. Serumunda IgG’si pozitif olan annelerin, kordon serumunda yüksek oranda IgG türü antikorların bulunması, bu antikorların anneden plasenta yolu ile geçmiş olabileceğine işaret ederken, yenidoğanların titre takibi yapılamadığı için bunun infeksiyondan ayrımını yapmamaktadır.

Bu çalışma ile annelerde saptanan oran Kocabeyoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile, göbek kordonunda saptanan oran ise Nuhoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumaktadır. Bizim çalışmamızda kordon kanında IgM

pozitifliği saptanmamasına rağmen Nuhoglu'nun saptadığı %1.1'lik oran gebelik sırasında annede infeksiyon insidansını ortaya koymamakta ise de bebeklerin intrauterin dönemde bu infeksiyöz ajana maruz kaldığını göstermekte ve bu riski ortaya koymaktadır.

Yapılan yurt içi ve yurt dışı çalışmalarda anne ve kordon kanının birlikte çalıŐıldıđı VIDAS toksoplazma IgG çalıŐmalarına yaptığımız literatür taramalarında rastlanmamıştır. Yurt dışı çalışmalarından; Vlaspolder ve arkadaşları 2001 yılında 500 gebeden oluşan çalışma grubunda VIDAS sistemi ile toksoplazma seropozitifliğini %31 olarak bulmuşlardır. BeŐyüz gebenin 11'inde IgM pozitifliği saptanmıştır (103). Peterson ve arkadaşları ise yaptıkları çok merkezli çalışmada VIDAS IgG pozitifliğini %37.8, VIDAS IgM pozitifliğini %15.2 olarak saptamıŐtır (104). Bu alıŐma sonuçları Vlaspolder ve arkadaşlarının elde ettiği veriler ile uyumludur. Ancak Peterson ve arkadaşlarının yaptığı çalışma bizim çalıŐmamıza göre özellikle VIDAS IgM açısından yksekklik göstermektedir. Bu yksekklik özellikle serokonversiyon saptanan gebe olguları seçmeleri ile ilgili olabilir.

Ülkemizde VIDAS ile ilgili ilk çalıŐmalardan olan Tanyüksel ve arkadaşlarının 136 olguluk çalışmasında VIDAS IgG pozitifliğini %72.8, VIDAS IgM pozitifliğini %8.8 olarak saptamışlardır. Bu yüksek seropozitifliği, kullanılan serumların yurt dışında yapılan çalışmalara benzer olarak serumların toksoplazma n tanılı kiŐilerden alınmış olması, yöresel hijyenik Şartlar ve yemek alışkanlıkları ile ilişkili olarak açıklamıŐlardır (105).

Toksoplazma IgM düzeyinin aylarca pozitif kalabileceği göz önüne alınırsa (106), özellikle IgG ve IgM birlikte pozitif olan olgularda akut primer infeksiyon ayırıcı tanısını yapmak için bu olgularda avidite çalışması yapılmıştır. Avidite çalışmasında 4 serumun 2'sinde yüksek avidite, 1'inde dŐuk avidite tesbit edilmiştir. Serumlardan 1'inde ise 2 tekrara rağmen cihaz değerlendirme yapamamıŐtır.

Alvarado ve arkadaşları 2002’de toksoplazma IgG ve IgM antikoru pozitif olan 20 gebede VIDAS sistemini kullanarak yaptıkları avidite çalışmasında %45 yüksek avidite, %40 düşük avidite ve %15 borderline sonuç elde etmişlerdir (107). Aynı sistem kullanılarak 2001’de yapılan 500 gebeyi kapsayan çalışmada pozitif saptanan 11 olgunun 3’ünde düşük avidite saptanmıştır (103).

Montaya ve Liesenfeld yaptıkları bir çalışmada ELISA IgM ile borderline pozitif saptadıkları 8 hastanın 7’si, Toksoplazma Serolojik Profiline (TSP) yer alan testlerden en az biri (DT , DS IgM ELISA, IgA ELISA , IgE ELISA, IgE ISAGA ve differensiyal aglutinasyon testi) borderline pozitif saptadıkları 47 hastanın 30’u VIDAS avidite testi ile yüksek aviditeye sahip olarak bulunmuştur. Bu nedenle TSP ile birlikte bir avidite testinin kullanılması gebelik sırasında takip kanı ihtiyacını ortadan kaldırmakta, invaziv bir yöntem olan amniyosentezle alınan amniyon sıvısında PCR çalışılmasına, gereksiz ileri tetkik yapılarak anne anksiyetesinin artmasına, gereksiz teropatik abortus ve spiramisin kullanılmasına da engel olmaktadır (108).

Hasta takibinde ciddi sorunların yaşandığı ülkemizde, kliniğe başvuran her gebeden alınan tek bir serum örneği ile toksoplazma IgM ve IgG testleri ile birlikte gerekli durumlarda IgG avidite testi yapılması enfeksiyon ile ilgili yeterli bilgi sahibi olmak açısından önemli bir avantajdır.

Biyomedikal araştırmalarda ve tıbbi tanıda artık bugün analitik metodolojiler daha değerli kabul edilmektedir. Çalışmamızda kullandığımız Luminex 200 sistemi yada MAP olarak bilinen, çoklu test (aranılan madde) platfotformu da bunlardan biridir. Sistem, spesifik antijen kaplı ve floresan renk kodlarına sahip boncukların kullanıldığı, aynı anda birden fazla testi konvasiyonel bir flow sitometri benzeri cihaz yardımıyla, az miktardaki numuneden saptayabilmektedir. Yaptığımız literatür taramalarında daha çok sitokin çalışmaları ile gündeme gelen bu teknoloji ile ilgili olarak rastladığımız bir çalışmada ELISA metodu ile yine MAP teknolojisini kullanan Bioplex 2000 sistemi karşılaştırılmıştır. ELISA IgM antikoru pozitif saptanan 50 hamile kadının

sadece 34'ü Bioplex sistemi ile pozitif bulunurken, 16'sı negatif olarak bulunmuştur. Negatif bulunan 16 gebenin VIDAS avidite testi sonucu 15'inin (%94) yüksek aviditeye sahip olduğu saptanmıştır. Bioplex 2000 metodu ile yapılan çalışma ile akut infeksiyonu gösteren ve mutlaka ikinci bir teste ihtiyaç duyan, pozitif IgM sayısının önemli derecede azaldığı gösterilmiştir (109).

Yaptığımız bu çalışmada kullanılan Luminex ile toksoplazma antikorları değerlendirilen gebe kadınların IgG antikorları %33.8, IgM antikorları %1.5 oranlarında bulunmuştur. Bu annelerin kordon kanlarında ise IgG %32.3, toksoplazma IgM % 0.0 oranlarında bulunmuştur.

Bu sistem multipleks kabiliyeti sayesinde aynı anda, aynı ortam şartlarında çok küçük bir numuneden birden fazla farklı analiz yapmamızı sağlar. Aynı çalışmayı farklı bir yöntem kullanarak yapmak için ihtiyacımız olan kit ve numuneden önemli ölçüde tasarruf sağlayan uygun bir yöntem olarak görülmektedir. Çalışmanın basit olması, gebelik öncesi rutin takipleri yapılan Rubella, CMV ve HSV ile birlikte aynı numune ve aynı kitten birlikte çalışılıp sonuç alınması önemli bir avantajdır. Ancak yeni bir metot olması ve bu sistemde yapılan çalışmaların daha çok sitokin çalışmalarından ibaret olmasından dolayı toksoplazma antijen spesifitesi ile ilgili yeterli çalışma henüz yoktur.

Yapılan yurt içi ve yurt dışı çalışmalarla toksoplazma tanısında kullanılan sistemler karşılaştırılmış ve birbirlerine göre var olan avantaj ve dezavantajları ortaya konmuştur (110, 111).

Son zamanlarda Biomerieux firması tarafından Toxo IgG II'ye alternatif olarak Toxo IgG IV kiti üretilmiştir. Antijen olarak kültür ortamında üretilen takizoitlerin kullanıldığı bu yeni kitte antijen standardizasyonunun daha iyi olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Buisson ve arkadaşları, VIDAS Toxo IgG IV, VIDAS toxo IgG II, Toxo IgG Axsym ve IFAT yöntemlerini karşılaştırmışlardır. Sensitivite ve spesifitelerini, VIDAS Toxo IgG IV için %98.67, %99.44; VIDAS Toxo IgG II için %98.13, %99.72; Toxo IgG Axsym

için %100, %98.89; IFAT için ise %93.04, %99.45 olarak bulmuşlardır. İlk 3 sistem istatistiksel olarak eşit sensitivite ve spesifitede bulunmuştur. IFAT yöntemi ise istatistiksel olarak diğer sistemlerle eşit spesifite ancak daha düşük sensitivitede saptanmıştır (112).

Hofgärtner ve arkadaşlarının 4 farklı ticari toksoplazma sistemini (Behring Diagnostics OPUS, Abbot Diagnostics IMX, Sanofi Diagnostics Pasteur Platelia, Biomerieux VIDAS) karşılaştırdıkları çalışmalarında, VIDAS Toxo IgG sensitivitesi %97.3, spesifitesi %99.8; VIDAS Toxo IgM sensitivitesi %70, spesifitesi %99.3 olarak bulunmuştur. Bu dört ticari immunoassay sistemi arasında VIDAS'ın IgM tanısında en spesifik test olduğu bulunmuştur (112). VIDAS sisteminde sensitivite ve spesifiteyi Wilson ve arkadaşları %100 ve %98.6, Pelloux ve arkadaşları %100 ve %97 olarak yaptıkları çalışmalarda bulmuşlardır (113).

Sarwat ve arkadaşlarının toksoplazmaya özgül IgG antikorlarını ELISA, IFAT ve IHAT yöntemleri kullanarak karşılaştırdıkları 150 olguluk çalışmada IHAT ile 36(%24), ELISA ile 70(%46.7), IFAT ile 74(%49.3) pozitif olgu saptanmıştır. Araştırmacılar kolay uygulanabilmesi, spesifitesinin yüksek olması, kısa zamanda sonuç alınması ve çok sayıda örneğin birarada değerlendirilebilmesi gibi avantajları bulunduğunu belirttikleri IFAT'ın toksoplazmoz tanısında kullanılmasının uygun olacağını bildirmişlerdir (114). Ancak IgM IFAT'da RF ve ANA yalancı pozitif reaksiyonlara neden olabilmektedir. Bu çalışmada IFAT ile IgM pozitifliği saptadığımız 9 olgunun 5'inde yalancı pozitiflik rastlanması bu testin tek başına kullanılmasını önemli derecede sınırlayan bir unsur olarak karşımıza çıkmaktadır. Ülkemizde Ertuğ ve arkadaşlarının yaptığı ELISA, IFAT ve IHAT arasındaki uyumun araştırıldığı bir başka çalışmada ise yöntemler arasında oldukça yüksek oranda uyumun bulunduğu ve anlamlı bir farklılığın bulunmadığı istatistiksel olarak ortaya konmuştur. En yüksek oranda uyumun IFAT IgG ile ELISA IgG, en düşük oranda uyumun ise IHAT ile IFAT IgG arasında olduğu dikkat çekmiştir (110).

Peterson ve arkadaşları, manyetik mikropartikül teknolojisini kullanan otomatize bir sistemle (LIAISON) VIDAS arasında avidite testleri açısından yaptıkları karşılaştırma çalışmasında korelasyonu %100 olarak bulmuşlardır (104). Alvarado-Esquivel ve arkadaşları tarafından VIDAS sistemi, *T.gondii* IgG avidite kiti, bir başka EIA yöntemi kullanan sistem (Labsystem) ile karşılaştırılmış testler arasında uyum yüksek olarak bulunmuştur (107).

Ancak VIDAS otomatize olması ve manuel performanstan etkilenmemesi, kısa sürede sonuç vermesi ve sonucu kendi hesaplayabilmesi avantajları olmasına rağmen, maliyet olarak pahalı bir sistemdir. Çalışmamızda kullandığımız IFAT avidite testi değerlendirme açısından zor bir yöntemdir ve mutlaka bir doğrulama testine gereksinim göstermektedir. Bu nedenle doğrulama testlerinde VIDAS kullanımının avantajlı olacağı kanısındayız.

Serolojik yöntemlerin sonuçlarındaki güvenilirliğin istenilen düzeyde olmaması birden fazla tekniğin birarada uygulanmasını gerekli kılmaktadır. Özellikle IgM antikorlarının tanısında tek bir test ile tanıya gitmek doğru değildir. Çünkü testten teste sensitivite ve spesifite oranları değişmektedir. Hastalara yanlış sonuç vermek, yapılacak teropatik abortus yada gereksiz ilaç tedavisi nedeni olabilir. Bu nedenle teknikler seçilirken sensitivite, spesifite ve maliyetlerinin yanısıra kullanılacakları laboratuvar koşullarının da dikkate alınması gerektiği kanısına varılmıştır.

VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar ve önerileri, maddeler halinde aşağıdaki şekilde özetlemek mümkündür.

1. Bölgemiz anne ve bu annelerin kordon kanları taranarak saptanan anne toksoplazma seropozitifliği %33.8, kordon toksoplazma seropozitifliği %30 olarak bulunmuştur. Bu yüksek oran fetal sekel oluşma riskini önlemek amacı ile gebelikten önce ve gebelik sırasında toksoplazmoz serolojisinin belirlenmesinin önemli olduğunu göstermektedir.

2. Çalışmamızda kullandığımız IFAT, VIDAS ve MAP teknolojileri birbirlerine göre birtakım avantaj ve dezavantajlar sergilemektedir. Saptanan IgG seropozitifliği açısından yöntemler arasında önemli bir farklılık bulunmazken, IFAT IgM sonuçlarında yalancı pozitiflikler saptanmıştır.

3. IFAT IgM sonuçları değerlendirilirken ANA ve RF'ye bağlı yalancı pozitiflik göz önüne alınmalı ve bu testlerle birlikte yapılmalıdır.

4. Toksoplazma IgM antikoru pozitif olan gebelerde ve konjenital toksoplazmoz kuşkusu olan yeni doğanlarda, primer ve sekonder toksoplazmoz ayırıcı tanısını yapmak için toksoplazma IgG avidite testi yapılmalıdır.

5. IgM'de pozitiflik ya da borderline sonuç elde edildiğinde serumu 2 hafta sonra yeniden test etmek ya da destekleyici farklı bir test kullanarak tedavinin buna göre başlatılması uygun bir yaklaşım olacaktır.

6. Ticari olarak piyasada mevcut olan kitlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin değişmesi, sonuçların yorumlama güçlüklerine yol açmaktadır. Yeni geliştirilen ve kullanıma giren sistem ve kitlerde, daha spesifik antijenlerin kullanılmasıyla sensitivite ve spesifite artırılacaktır.

VII. ÖZET

Konjenital toksoplazmoz gebelik sırasında anneden geçen genellikle belirtisiz ve fetusta şiddetli konjenital defektler oluşturan bir enfeksiyondur. Çalışmamızda bölgemiz anne ve kordon kan örneklerinde farklı yöntemlerle toksoplazma seropozitifliğinin saptanması amaçlanmıştır. Doğum sırasında 130 anne ve göbük kordonundan alınan kan örneklerinde İndirekt Floresan Antikor (IFAT), Vitek Immuno Diagnostic Assay System (VIDAS) ve Multilyte Analyt Platform (MAP) teknikleri kullanılarak toksoplazma IgM ve IgG antikorları aranmıştır. Seropozitiflik oranları IFAT yöntemi ile IgG, IgM sırasıyla; anne kanlarında %33.8, %6.9, kordon kanı serumlarında %30, %0 olarak, VIDAS yöntemi ile anne kanlarında IgG, IgM sırasıyla %33.8, %3, kordon kanı serumlarında %32.3, %0 olarak, MAP yöntemi ile IgG, IgM sırasıyla anne kanlarında %33.8, %1.5, kordon kanlarında ise %32.3, % 0.0 oranlarında bulunmuştur.

VIDAS ile IgG ve IgM'i pozitif olan 4 olgu, IFAT ile IgG ve IgM'i pozitif olan 9 olgu avidite çalışmasına alınmıştır. VIDAS ile iki olguda yüksek avidite, bir olguda da düşük avidite saptanmıştır. Bir olguda değerlendirme yapılamamıştır. IFAT incelemesinde VIDAS ile uyumlu olarak iki olguda yüksek avidite, bir olguda da düşük avidite saptanırken, 6 olguda değerlendirme yapılamamıştır. IFAT yöntemi ile değerlendirme yapılamayan serumlarda yalancı pozitiflik açısından antinükleer antikor (ANA) pozitifliği aranmış ve 5 serumda ANA pozitifliği saptanmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız üç yöntem birbirlerine göre birtakım avantaj ve dezavantajlar sergilemektedir. Ancak saptanan seropozitiflikler açısından önemli bir farklılık bulunamamıştır. Ticari olarak piyasada mevcut olan ve yeni geliştirilen toksoplazma kitlerinin sensitivite ve spesifitelerinin, bu test kitlerinde daha spesifik antijenlerin kullanılmasıyla artırılabilceği düşünülmektedir.

VIII. SUMMARY

Congenital toxoplasmosis is usually an asymptomatic infection when toxoplasmosis is acquired during pregnancy, but there is a risk of severe congenital defects in the fetus. In this study, we aimed to detect toxoplasmosis seropositivity in the blood of mothers and umbilical cords with different methods in our region. Toxoplasma IgG and IgM antibodies were investigated in the blood of 130 mother and 130 umbilical cord blood samples which were taken at birth with the Indirect Florescent Antibody Test (IFAT), Vitek Immuno Diagnostic Assay System (VIDAS) and Multilyte Analyt Platform (MAP) techniques. Seropositivity rates IgG, IgM respectively were found 33.8%, 6.9% in maternal sera, 30%, 0% in cord sera with IFAT, were found 33.8%, 3% in maternal sera, 32.3%, 0% in cord sera with VIDAS, were found 33.8%, 0.8% in maternal sera, 32.3%, 0% in cord sera with MAP technique.

The anti-toxoplasma IgG avidity test was performed on both IgG and IgM positive 4 maternal sera with VIDAS and 9 maternal sera with IFAT. Two maternal sera had high avidity and one sample had low avidity with VIDAS and also one maternal sera was not evaluate with the same system. Although IFAT avidity results correlated with VIDAS, 6 maternal sera could not evaluate with the this system. In order to eliminate false positive reactions, anti-nuclear antibodies (ANA) were investigated in IgM positive sera and 5 sera found positive for ANA.

Methods that we used in our study, have some advantages and disadvantages. However there is not an important difference about seropositivity detection. It is suggested that sensitivity and specificity will be increased with using spesific antigens for the available and newly developed commercial toxoplasma kits.

IX. KAYNAKLAR

1. Asburn D. History and General Epidemiology. Human Toksoplazmoz. Oxford University Pres NewYork 1992; 1:1-22
2. Kaleli B, Kaleli İ, Aktan E, Akalın H, Akşit F. Gebelerde Toxoplasma IgG ve IgM Seropozitifliği. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1997; 21(3) 241-243
3. Handemir E, Koşan E, Kırmızı E, Şenlik B. Hayvanlarla Teması Olan Askerlerde Toksoplazmoz Anket Çalışması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2001; 25(1):18-24
4. Unat EK, Yücel A, Atlas K, Samastı M. *Toxoplasma gondii* ve Parazitliği. Unat'ın Tıp Parazitolojisi. İnsan Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan Hastalıkları. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fak Vakfı Yayınları. İstanbul 1995:601
5. Altıntaş K. Apicomplexia. Tıbbi Parazitoloji. Nobel Tıp Kitapevleri. Kozan Ofset İstanbul 2002:143
6. McCabe R, Remington J. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell, Douglas, Bennetts Principles and Practica of Infectious Diseases (Ed)6th. 2005: 3170-3198
7. Montaya J. *Toxoplasma gondii*. In: Wilson WR, Sande MA. Lange Current Enfeksiyon Hastalıkları, Nobel tıp Kitabevi 2004: 806-814,
8. Black M, Boothroyd J. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. Microbiology and Molecular Biology Reviews 2000; 64(3):607-623
9. F.E.G.Cox. History of Human Parasitology. Clinical Microbiology Reviews 2002;15(4):595-612

10. Tender A, Heckerroth A, Weiss L. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. International Journal of Parasitology 2000; 30:1217-1258
11. Frenkel JK. Toxoplasmosis. In: Hunters Tropical Diseases Strickland TG.(Ed) 7th ed WB saunders Comp. Philadelphia, Toronto, London 1991: 660-669,
12. Merdivenci A. Medikal Parazitoloji. 2. Baskı. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları 1981:197-224
13. Dubey J.P, Lindsay D. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. Clinical Microbiology Reviews 1998; 11(2):267-299
14. Luft BJ, Brooks RG, Conley FK, MacCabe RE, Remington JS. Toxoplasmic Encephalitis in Patients with Acquired Immune Deficiency syndrome. J Am Med Assoc 1984; 252:913-7
15. Sibley D, Boothroyd JC. Virulent strains of *T.gondii* comprise a single clonal lineage. Nature 1992; 359:82-85,
16. Howe DK, Honore S, Derouin F. Determination of Genotypes of *T.gondii* strains isolated from patient with toksoplazmoz. J Clin Microbiol 1997; 35:1411-1414
17. Beamen BH, McCabe RE, Wong S, Remington JS. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases . (Eds) Livigstone New York 1995;2455-2475
18. Ertuğ S. Toksoplazmoz Tanısında ELISA Sonuçlarının Standardizasyonu ve Western Blot ile Doğrulanması. Parazitoloji AD. Uzmanlık tezi. Ege Üniversitesi, İzmir 1999

19. Kuman A, Altıntaş N. Protozoon hastalıkları. Ege Üniversitesi Yayınları Bornova-İzmir 1996:112-144
20. Davis SW, Dubey JB. Mediationimmunity to *Toxoplasma gondii* Oocyst Shedding in Cats. Journal of Parasitology 1995; 81(6):882-886
21. Speer CA, Clark S, Dubey JB. Ultrastructure of the Oocysts, Sporocysts, and Sporozoites of *T. gondii*. Journal of Parasitology 1998; 84(3):505-512
22. Evans R. Life Cycle and Animal Infection. Human toxoplasmosis. Edit:Ho-Yen DO, Joss AWL. Oxford University Pres. New York 1992; 2:26-51
23. Dumanlı N. Veteriner Parazitoloji Ders Notları. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Ders Teksiri No:54, 1.Baskı.2002: 139-149
24. Montaya JG and Liesefeld O. Toksoplazmoz. The Lancet 2004:1965-1976
25. Holliman RE:Toksoplazmoz. In:Manson's Tropical Diseases. Cook G.C. (Ed) 20th ed.WB Saunders Company. Philadelphia. 1996: 1246-1253,
26. Karna G, Yurdakök M. Toksoplazmosis. Katkı Pediatri Derg. 1988; 9(4) 321-330
- 27.Jacquier P. Antibody Test Helps Pregnant Woman and Neonates. <http://rooche.com/pages/facets/2/toksoplazmoz.htm>. 2005
28. Hill D, Dubey JB.*T.gondii* :Transmission, Diagnosis and Prevention. Clin Microbiol Infect 2002; 8:634-640
29. Aspinall TV, Marlee D, Hyde JE. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by PCR-food for thought? Int J Parasitol. 2002;32:1193-1199

30. Ünal C. *Toxoplasma gondii* ve Gıda Güvenliği açısından Önemi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Seminer, Ankara 2003
31. Kuman HA, Altıntaş N, Üstün Ş, Gürüz AY. Toksoplazmoz. İmmünyetmezlikte Önemi Artan Parazit hastalıkları. Türk Parazitoloji Der Yay No:12 İzmir, Bornova 1995:137
32. Aktaş H. Toksoplazmoz Tanısında Hücre Kültürü ve Kültürde Üretilen *Toxoplasma gondii*'lerin antijen olarak kullanımı. Yüksek lisans tezi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana 2003
33. Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. Esnaf Ofset Matbacılık. Sivas 1998
34. Levine ND. Veterinary Protozoology. The Iowa State University Pres, Ames Iowa. 1985: 10-75
35. Töre O. Toksoplazmoz. In:Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Toksoplazmoz. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevi, 2002: 1883-1897
36. Kıracağı D. Doğurganlık Çağı Kadınlarda Antitoksoplazma IgG ve IgM Antikorlarının Araştırılması. Uzmanlık tezi. Trakya Üniversitesi 1997
37. Weiss L, Chen Y, Berry G. Infrequent Detection of *Toxoplasma gondii* genome in toxoplasmic lymphadenitis: A PCR study. Hum Pathol 1992;23:154-158
38. Holland GN, O'Connor GR, Belfort R Jr, et al. Toksoplazmoz. In: Peposa JS, Holland GN, Wilhelmus KR, eds. Ocular Infection and Immunity. St. Louis: Mosby-Year Book; 1996: 1183-1223

39. Strittmatter C, Lang W, Wiestler OD, et al. The changing pattern of human immunodeficiency virus associated cerebral toksoplazmoz: A study of 46 postmortem cases . Acta Neuropathol 1992; 83: 475-481
40. Ho-Yen. Clinical features. Human toksoplazmoz. Edit:Ho-Yen DO, Joss AWL. Oxford University Pres 1992; 3:56-76.
41. Şahin İ, Oğuzkaya M. Değişik Hasta Gruplarında Toksoplazmoz ve Tanı Kriterleri. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 1998; 22(2):159-163
42. Pelloux H. Protozoan Infections in Humans:Congenital Toksoplazmoz. European Journal of Protistology 2003; 39:444-448
43. Atasü T. Fetus ve Yenidoğana Etkili Enfeksiyon Hastalıkları. 2.baskı Nobel Tıp Kitabevi 2000:356-364
44. Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri Cilt 1 Nobel Tıp Kitabevi, 2002:603-604
45. Büyükpatır F. Kayseri Yöresinde Yenidoğanlarda Tokoplazma Antikor Prevalansı ve Konjenital Enfeksiyon Sıklığı. Uzmanlık tezi. Kayseri 1993
46. Gün Ö. Gebelik Toksoplazmozunda IgG Avidite Testi ve PCR'ın Etkinliğinin Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. Dr.Zekai Tahir Burak kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2002
47. Özcel A Altıntaş N. Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği. Yayın no:15 İzmir 1997: 400-401
48. Piergili F. Problems and Limitations of Conventional and Innovative Methods for the Diagnosis of Toksoplazmoz in Humans and Animals. Parasitologica 2004; 46(1-2):177-181

49. Gürüz AY. Akut ve Kronik Toksoplazmoz'da Ayırıcı Tanı Yöntemleri. Doktora tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir 1995
50. Rorman E, Zamir C, Rilkis I, Ben-david H. Congenital Toxoplasmosis Prenatal Aspects of *Toxoplasma gondii* İnfection. Reproductive Toxicology 2005
51. Eriş N. Toksoplazmoz Tanısında ELISA ile IFA Testinin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Ankara 1991
52. Desmonts G, Remington JS. Direct Agglutination test for Diagnosis of Toxoplasmosis of Toxoplasma İnfection. Method for Increasing Sensitivity and Spesifity . J Clin Microbiol 1980; 11:562-568
53. Danneman BR, Vaughan WC, Thulliez P, Remington JS. Differential Agglutination Test for Diagnosis of Recently Acquired İnfection with *T.gondii*. J Clin Microbiol 1990; 28(9):1928-1933
54. Woldemichael T, Fontanet AL, Sahlu T, Gilis H. Evaluation of the Eiken latex Agglutination Test for Anti-toxoplasma İnfection Among Factory Workers, Addis Ababa, Ethiopia. Trans R Soc Trop Med Hyg 1998; 92:401-403
55. Rai SK, Shibata H, Sumi K, Kobota K. Seropidemiological Study of toxoplasmosis in two different geographical areas in Nepal. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1994; 25:479-84
56. Sykora J, Pokorny J, Zastera M. Significance of the Compleman Fixation Reaction in the Diagnosis of the Acute Phase of Lympatic Toxoplasmosis. Cas Lek Cosh 1992; 131(6):178-182
57. Babür C. Koyunlarda *T.gondi*'nin seroinsidansı ve izolasyonu üzerine araştırmalar. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora tezi, Ankara 1996

58. Garcia LS, Bruckner DA. Diagnostic Medical Parasitology. Second Edition . American Society for Microbiology . Washington DC 1993: 392-406
59. Mehlhorn H. Parasitology in Focus. Fact and Trends. Springer-Verlag Berlin, Germany 1988
60. Johnson JD, Holliman RE. Toxoplasmosis. Edit: Gillespie SH, Hawkwy PM. Medical Parasitology. A Practical Approach. Oxford University Pres. Oxford 1995; 3:33-59
61. Wong SY, Hajdu MP, Ramirez R, Thulliez, McLeod R, Remington JS. Role of Specific Immunoglobulin E in Diagnosis of Acute Toxoplasma Infection and Toxoplasmosis. Journal of Clinical Microbiology 1993; 31(11):2952-2959.
62. VIDAS TOXO IgM, IgG is an Automated Qualitative Test for Use on the VIDAS Instruments for the Detection of Anti-toxoplasma IgM in Serum Using the ELFA technique. <http://www.biomerieux.com>
63. Baysal B, Yüksel A, Eserol F. Antenatal Bakım Sisteminde Toksoplazmoz ve Rubella Taraması Gerekli mi? Jinekoloji ve Obstetri Dergisi 1996; 10: 49-53.
64. Alford CA, Stagno S, Reynolds DW. Congenital Toxoplasmosis. Clinic Laboratory and Therapeutic Consideration with Special Referance to Subclinical Disease. Bull NY Acad Med 1974; 50:160-181.
65. Thuilles P, Daffos F, Forestier F. Diagnosis of Toxoplasma Infection in the Pregnant Women and Unborne Child: Current Problems. Scand J Infect Dis Suppl. 1992; 84:18-22.
66. Reynolds DW, Stogno S, Hosty TS. Maternal Cytomegalovirus Excretion and Perinatal Infection. N Eng J Med 1973; 289: 1-5.

67. Kumar NL, Gold E. Primary Cytomegalovirus Infection in Adolescent Pregnancy. *Pediatrics* 1984; 74: 493.
68. TORCH Test System. A Multiplexed, Microparticle-Based Immunoassay for IgM, IgG Antibodies to Toxoplasma, Rubella, Cytomegalovirus and Herpes Simplex Virus Antigens. <http://www.luminexcorp.com/technology./index.html>
69. Enders G. TORCH ve Gebelik. Prenatal tanı ve tedavi. K.(Ed)1.Baskı. Perpektiv Yayın ve Reklam Hizmetleri. İstanbul 1992: 261-273
70. Küçüköyük Ş. Prenatal Enfeksiyonlar. Yenidoğan ve Hastalıkları. Feryal matbaası. İstanbul 1994: 529-539
71. Peterson E, Pollak A, Reiter-Owona I. Recent Trends in Reseach on Congenital Toxoplasmosis. *International Journal for Parasitology* 2001; 31:115-144
72. Akarsu AG, Tekeli FA. Behçet Hastalarında Anti-Toxoplasma IgG ve IgM Antikorlarının Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2002; 26(4):347-349
73. Smith KL, Wilson M, Hightower AW. Prevalance of *Toxoplasma gondii* antibodies in U.S.Military Recruits in 1989:Comparison with Data in 1965. *Clin Infect Dis* 1996; 23:1182-1183
74. Bouratbine A, Siala E, Chahed MK, Aoun K. Seroepidemiologic Profile of Toxoplasmosis in Northern Tunisia. *Parasite* 2001;8(1):61-6
75. Etheredge GD, Fenkel JK. Human Toxoplasma Infection in Kuna and Embera Children the Bayano and San Blas, Eastern Panama, *The American Journal of Tropical Medicine Hygiene* 1995; 53(5):448-457

76. Kara H, Özcan K, Tanrıverdi S, Kotlaş S. Anne kanı, kord kanı ve amnion sıvısında Toxoplasma IgG ve IgM antikorlarının gösterilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1999; 23(2):115-118
77. Nee P, Joine KA. Toxoplasmosis. Current Treatment Options in Infectious Diseases 2000; 2:249-258
78. Webster JP. Rats, Cats, People and Parasites, The impact of latent toxoplasmosis on behaviour. Microbes and Infection 2001; 3:1037-1045
79. Bulut Y, Tekerekoğlu M, Ağel E, Otlu B. Malatya Yöresinde Dört Yıllık Sürede Toxoplasma Antikorlarının Dağılımları. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2000; 24(1):120-121
80. Gürüz Y, İnceboz Ü, İnceboz T. Konjenital Toksoplazmoz Riskini Azaltmak için Ulusal Tarama Yapalım mı? Türkiye Parazitoloji Dergisi 2000; 24(3):217-223
81. Kayra E, Yılmaz Ü, Östan İ, Özbilgin A. Manisa Yöresinde Toksoplazmosis Şüpheli Kişilerde *T.gondii*'ye Karşı Oluşmuş IgG ve IgM Antikorlarının dağılımları. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2002; 26(2):137-139
82. Eren H, Sarı C, Turgay N, Ertuğ S. Aydın İlindeki Sahipli ve Sağlıklı Köpeklerde Toksoplazmaya Özgü IgG Antikorlarının İndirekt Fluoresan Antikor testi (IFAT) ile Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2002; 26(4):352-354
83. Auer H, Möse AV, Picher O, Walochnik J, Aspöck H. Clinical and Diagnostic Relevance of the Toxoplasma IgG Avidity Test in the Serological Surveillance of Pregnant Woman in Austria. Parasitol Res 2000; 86:965-970

84. Bahar H, Karaman M, Kırdar S, Yılmaz Ö. Gebelikte Toksoplazmoz Tanısında Anti-*Toxoplasma gondii* IgM, IgG, IgA Antikor ve IgG Avidite Testlerinin Birlikteliği ve Önemi. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2005; 29(2):76-79
85. Naessens A, Jenum P, Pollak A. Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis in the Neonatal Period:A Multicenter Evaluation. J. Pediat 1999; 135:714-719
86. Jumaian NF. Seroprevalence and Risk Factors for Toxoplasma Infection in Pregnant Women in Jordan. East Mediter Health J 2005; 11(1-2):45-51
87. Velasco-Castrejon O, Salvatierra-Izaba B, Valdespino JL. Seroepidemiology of Toxoplasmosis in Mexico 1992; 34(2):222-9
88. Pal RA, Qayyum M, Yaseen M. Seroprevalence of Antibodies to *Toxoplasma gondii*, with particular reference to obstetric history of patients in Rawalpindi-Islamabad, Pakistan : J Pak Med Assoc 1996; 46(3):56-8
89. Azab ME, el-Shenawy SF, el-Hady HM, Ahmad MM. Comparative study of three tests (indirect haemagglutination, direct agglutination, and indirect immunofluorescence) for detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in pregnant women. J Egypt Soc Parasitol 1993; 23(2):471-6
90. Qublan HS, Jumaian N, Abu-Salem A, Hamadelil FY, Mashagbeh M, Abdel-Ghani F. Toxoplasmosis and Habitual Abortion. J Obstet Gynaecol 2002; 22(3):296-8.
91. Erdem H, Aksaray N, Özcan K, Satar M, Tanyeli A. Anne ve Kordon Kanlarında Immunfloresan Antikor Testi ile Toksoplazmoz İnsidansı. ÇÜ Tıp Fak Dergisi 1988; 13:439-444

92. Kara H, Özcan K, Tanrıverdi S, Kotlaş S. Anne kanı, kord kanı ve amnion sıvısında *Toxoplasma* IgG ve IgM antikorlarının gösterilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1999; 23(2):115-118
93. Altıntaş N, Kuman HA, Akısü C, Aksoy U, Atambay M. Toxoplasmosis in Last Four in Aegean Region, Turkey. Journal of the Egyptian Society of Parasitology 1997; 27(2):439-443
94. Polat E, Aslan M, İsenkul R, Aygün G. Gebe Kadınlarda *Toxoplasma gondii* IgM ve IgG Antikorlarının ELISA Yöntemi ile Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2002; 26(4):350-351
95. Kocabeyoğlu Ö, Yergök YZ, Emekdaş G, Koşan E, Birinci İ. Gebe Kadınlarda *Toxoplasma* IgM ve IgG Antikor Prevalansı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1996; 20(2):149-153
96. Kuman H. Yenidoğanlarda Konjenital Toksoplazmoz Rastlanma Sıklığı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1987; 11(2):63-66
97. Balıkçı E, Erkan E, Mete Ö, Dağ MN. Yenidoğum Yapan Anne ve Bebeklerinde *Toxoplasma* Seropozitifliği. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1992; 16:37-42
98. Yazar S, Altınoluk B, Akman A, Şahin İ. Gebelerde Anti-*Toxoplasma gondii* Antikorlarının Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2000; 24(4):343-345
99. Yılmaz M, Altındış M, Cevrioğlu S, Fenkçi V. Afyon Bölgesinde Yaşayan Gebe Kadınlarda Toksoplazma, Sitomegalovirus, Rubella, Hepatit B, Hepatit C Seropozitiflik Oranları. Kocatepe Tıp Dergisi 2004;5:49-53

100. Şaşmaz E, Bahar H, Okuyan M. Birden Fazla Düşük Yapmış Kadınlarda *Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1990; 14(2):11-16
101. Özçelik S, Poyraz Ö, Güler H, Saygı G. Investigation of *Toxoplasma gondii* IgG and IgM Antibodies in Cases of Spontaneous Abortion, Stillbirth, Abnormal Birth. Acta Parasitologica Turcica 1996; 20(2):159-162
102. Nuhoglu S, Kaya D, Kaya E. Sağlıklı Yenidoğan Bebeklerin Kordon Serumunda EIA Yöntemi ile Toxoplasma Antikorlarının Araştırılması Türkiye Parazitoloji Dergisi 2001; 25(4):329-331
103. Vlasplolder F, Singer P, Smit A. Comparison of Immulite with Vidas for Detection of Infection in a Low Prevalence Population of Pregnant Woman in the Netherlands, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 2001; 8(3):552-555
104. Peterson E, Borobio M, Guy E, Liesenfeld O. European Multicenter Study of the LAISON Automated Diagnostic System for Determination of *Toxoplasma gondii*-specific Immunoglobulin G and IgM and the IgG Avidity Index. Journal of Clinical Microbiology 2005; 43(4):1570-1574
105. Tanyüksel M, Gün H, Erdal N, Haznedaroğlu T. Toksoplazmoz Tanısında Serolojik Testlerin Karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1994; 18(3):266-276
106. Takayashi EK, Rossi CL. Use of Three Immunological Techniques for The Detection of Toxoplasma sp IgA Antibodies in Acute Toxoplasmosis. J Clin Pathol 1994;47:1101-1104

107. Alvarado C, Sethi S, Janitschke K, Hahn H. Comparison of Two Commercially Available Avidity Tests for *Toxoplasma* Specific IgG Antibodies. *Archives of Medical Research* 2002; 33:520-523
108. Montoya J, Liesenfeld O, Kinney S, Pres C, and Remington J. VIDAS Test for Avidity of *Toxoplasma*-Specific Immunoglobulin G for Confirmatory Testing of Pregnant Women. *J Clin Microbiol.* 2002 ; 40(7): 2504–2508.
109. Kaul R, Chen P, Binder S. Detection of Immunoglobulin M Antibodies Specific for *Toxoplasma gondii* with Increased Selectivity for Recently Acquired Infections, *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42(12):5705-5709
110. Ertuğ S, Üner A, Aksoy Ü. Toxoplasmosis tanında ELISA, IFA ve IHA Teknikleri Arasındaki Uyumun Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2000;24(1):4-8
111. Hofgärtner W, Swanzy S, Bacina R. Detection of IgG and IgM Antibodies to *T.gondii*: Evaluation of Four Commercial Immunoassay Systems. *Journal of Clinical Microbiology* 1997;35(12):3313-3315
112. Buisson N, Hidalgo H, Foussadier A, Rolland D. Comparative Analysis of the VIDAS Toxo IgG IV Assay in the Detection of Antibodies to *Toxoplasma gondii*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases.* 2005
113. Mozatto L, Soibelman R. Incidence of Congenital Toxoplasmosis in Southern Brazil:A Prospective Study. *Rev.Ins.Med.trop.S.Paulo* 2003; 45(3):147-151
114. Sarwat MA, Ahmed AB, Zamzami OM. *T.gondii* in Saudi blood donors a serological study using three tests. *J Egypt Soc Parasitol* 1993;23(3):751-757