

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞURGANLIK YAŞINDAKİ KADINLARDA
TOKSOPLAZMA ELISA-IgG, İNDİREKT FLORESAN ANTİKOR,
İNDİREKT HEMOGLÜTİNASYON VE DİREKT AGLÜTİNASYON
DEĞERLERİNİN KIYASLAMASI

BİO. ERSİN GİRİŞKEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: YRD.DOÇ.DR.CUMHUR ÖZKUYUMCU

TEZ
YÜK
LİS
6869d
1988

Samsun

Mart - 1988

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Cumhuri ÖZKUYUMCU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Belma DURUPINAR

Üye : Yrd. Doç. Dr. Şükrü KÜÇÜKÖDÜK

ONAY

Yukarıda imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu
onaylarım. 30/5/1988.

Doç.Dr.Cafer MARANGOZ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Tez çalışmamda her türlü bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam, **Yrd.Doç.Dr.Cumhur ÖZKUYUMCU**'ya, ayrıca çalışmam sırasında göstermiş olduğu yakın ilgi ve yardımları için **Yrd.Doç.Dr.Belma DURUPINAR**'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>S A Y F A</u>
GİRİŞ	1 - 2
GENEL BİLGİLER	3 - 18
MATERYAL VE METOD	19 - 28
BULGULAR	29 - 37
TARTIŞMA	38 - 42
ÖZET	43
YABANCI DİLDE ÖZET (İngilizce)	44
KAYNAKLAR	45 - 50

G İ R İ Ő

Toksoplazmozis zorunlu hücre içi paraziti olan Toksoplazma gondii'nin neden olduğu bir enfestasyondur. İnsan ve hayvanlarda klinik tablo ortaya çıkabilmektedir(Akman, Gülmezoğlu, 1976; Mandel ve Douglas 1985; Yaşarol, 1983). Evcil bir hayvan olan kedilerdeki ara üreme döngüsünün gösterilmesi ile etkenin bilinmeyen bir yönü ortaya çıktığı gibi bulaşma yolları konusunda da bizi daha dikkatli olmaya itmiştir(Frenkel, Dubey ve Miller, 1970; Wallace, 1973).

İmmun sistemi sağlam olan kişilerde belirtisiz ve hafif bir form ile seyreden bu hastalığın, immun sistemi bozuk olanlarda ağır seyretmesi son yıllarda üzerine oldukça düşülmesinin bir başka nedenidir. Hamilelerde konjenital malformasyonlara neden olması hastalığın diğer bir korkulan yanıdır(Remington, 1974; Carter ve Frank, 1986).

Sabin ve Feldman'ın 1948 yılında tanımladıkları boya testi (Sabin-Feldman , 1948). kullanım zorlukları nedeniyle kendisine devamlı alternatifler aratan bir test olmuştur. Daha sonraki yıllarda ELISA, İmmunofloresan, D.S. ELISA gibi testlerin toksoplazmozisin serolojisine girmesiyle birçok test toksoplazmozisin tanısında kullanılmaya başlamıştır.

Toksoplazmozisin tanısında kullanılan yöntemlerin çeşitli olmasına karşılık tanı pratikte serolojik testler ile konur.

Klinik sonuçları açısından önemli olan serolojisi, içerdiği testler bakımından zengin toksoplazmozis konusunda birçok çalışma yapılmış ve serolojisindeki testlerin uyumlulukları tartışılmıştır(Harrison, 1980; Mandel, Douglas, 1985; Yaşarol, 1983). Bizim amacımız Türkiye'de ticari olarak bulunan toksoplazmozisin serolojisinde kullanılan testlerin uyumlulukları yanında aldığı zaman, gerektirdiği özel teçizat açısından tartışılmasıdır.

GENEL BİLGİLER

Toksoplazmozis, *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu dünyada en yaygın görülen enfeksiyonlardan birisidir. *Toxoplasma gondii* ilk kez 1908 yılında Tunus Pasteur Enstitüsü'nde Ch. Nicolle ve L. Manceaux tarafından *Cetanadactylus gondii*'den izole edilmiş ve bu kemiricinin paraziti olarak tanıtılmıştır. Daha sonra diğer hayvanlardan izole edilmiştir(Yaşarol, 1983).

Bir protozoon olan *T. gondii*, zorunlu hücre içi paraziti olup en çok retikulo-endotelyal sistem, beyin, akciğer gibi organların hücrelerinde çoğalmaktadır(Akman ve Gülmezoğlu, 1976; Çetin Ang ve Töreci 1983; Mandel, Douglas ve Bennet, 1985; Yaşarol 1983).

Parazitin üç formu bulunmaktadır:

- 1- Trofozoitler,
- 2- Doku kistleri,
- 3- Ookistler.

Trofozoitler: Muz veya ay şeklinde olup, 4-8 mikron boyunda ve 2-4 mikron enindedir. Bir ucu sivri olan parazitin, çekirdiği künt olan uca daha yakındır. Wright ve Giemsa boya ile boyanır. Parazitin bu formu serolojik testlerde kullanılır(örneğin; Sabin-Feldman boya testi, Floresan Antikor testi, Aglutinasyon testi).

Hareketini sağlayan belirli bir organel olmamasına karşın kayma hareketi ile yer değiştirir. Trofozoit form hastalığın akut safhası sırasında görülür ve çekirdeksiz eritrositler dışında tüm memeli hücrelerine yerleşebilir(Harrison's, 1980).

Hücreye girişi ile ilgili iki mekanizma vardır(Werk, 1986):

- a) Parazit makrofaj gibi bir hücreye fagositoz yolu ile girebilir,
- b) Konak hücre membranı ve parazitin apikal kutbunun teması, aktif invazyon sürecini indükleyebilir. Bu invazyon süreci parazit ve konak hücrelerinin işbirliğini kapsar.

Konak hücresi içine girdikten sonra "endodyogeny" ile çoğalırlar (Yaşarol, 1983; Jacobs, 1974). Bu özel bir bölünme biçimidir. Bir ana Toxoplasma hücresi içinde iki veya daha çok yavru oluşur.

Doku Kistleri: Doku kisti konak hücresi içinde oluşur. Değişik şekilde veya sayıda olabilir. Kistlerin büyüklüğü 10 mikrondan 200 mikrona kadar değişebilir, oval ya da yuvarlak olabilir ve 3000 kadar parazit içerebilir. Parazitin bu formu Periodik Asit-Schiff (PAS) ile iyi boyanır.

Doku kistleri bütün organlarda bulunmakla birlikte en çok beyin, kalp, iskelet kası ve gözde yerleşir ve konağın yaşamı boyunca canlı kalabilirler. Doku kistleri infeksiyonunun kronik fazından sorumludurlar (Harrison's 1980; Remington ve Desmonts, 1983; Yaşarol, 1983).

İyi pişmemiş etlerin yenmesiyle olan bulaşlarda bu kistlerin etkinliği büyüktür(Özcan, 1979; Yaşarol, 1983).

Ookistler: Ookistler *T. gondii*'nin yaşam siklusunu belirleyen formdur. 1970 yılında kedilerde bulunmuştur(Hutchinson, 1970; Wallace, 1973). Ovoid ve 10-12 mikrometre olan ookistler sadece kesin konak olan kendi familyasının barsaklarında oluşur. Kedi, *T. gondii*'nin herhangi bir şeklini sindirim yolu ile alırsa, incebarsak epitelinde cinsel olmayan çoğalma (şizogoni) sonucu merofozoitler, cinsel çoğalma (sporogoni) sonucu ookistler oluşur. Bu ookistler, dışkı ile atıldıklarında hastalık oluşturma yeteneğinden yoksundurlar. Hastalık oluşturabilmeleri için sporlanmaları gerekir. Toprakta, uygun nem, ısı ve oksijen varsa 1-4 günde "sporokist" haline gelmektedirler. Sporlar önce iki adettir, sonra 8 adet olurlar. Sporokistler bir kez oluştuktan sonra hastalık yapma yeteneklerini uzun süre korumaktadırlar.

Ookistler kediden başka hayvanda oluşmadığı için kediler son konak, diğer et ve ot yiyen hayvanlar ise ara konak olmaktadır(Frenkel, Dubey ve Miller, 1970; Merdivenci, 1979).

T.Gondii'nin sebep olduğu parazitoza dünyanın her yerinde sıklıkla rastlanmaktadır. Yabancı kaynaklı yayınlarda bu sıklığın %6'dan %90'a kadar değiştiği görülmektedir. Ülkemizde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda alınan serolojik sonuçlar, prevalansın %11-60 arasında bir oran gösterdiğini ortaya koymaktadır(Altıntaş, 1986; Carter, Frank, 1986; Feldman, 1982).

Klinik Bulgular

Daha kolay bir ayırım yapabilmek için toksoplazmozis 4 ayrı klinik formda incelenebilir.

1- İmmünitesi tam olan kişilerde toksoplazmozis:

Çoğu kez belirtisizdir. En belirgin bulgu lenfadenopatidir. Yerel veya sistemik olabilir. Çoğunlukla kulak arkası, koltuk altı ve kasık lenf

bezleri şişer. Birlikte ateş, gece terlemesi, miyalji, boğaz ağrısı, makülopapüler döküntüler, hepatosplenomegali, halsizlik bulunabilir(Atasü ve Unat, 1985; Harrison's, 1980; Kwantes, 1983).

2- İmmun yetmezliklerde kazanılmış veya aktive olmuş toksoplazmozis:

İmmunosupresif ajan olan hastalar, Hodgkin, hematolojik maligniteler, kollajen-vasküler bozukluklar, organ transplantasyonu yapılanlar, homoseksüeller, ilaç alışkanlığı olanlar ve AIDS'liler toksoplazmozis yönünden risk altındadırlar. Bu kişilerde hastalık fatal sonuçlanabilir. En çok görülen belirtiler MSS ile ilgilidir(Harrison's, 1980; Remington ve Desmonts, 1983; Remington, 1974).

3- Oküler toksoplazmozis:

Toksoplazmozis, Amerika ve Avrupa'da korioretinitlerin önemli bir nedenidir. Olguların yaklaşık %35'inde etkendir(Mandel, Douglas ve Bennet, 1985). Bugün için vakaların çoğunluğunun konjenital enfeksiyon sonucu geliştiği kabul edilmektedir(Harrison's, 1980; Mandel, Douglas ve Bennet, 1985). Karakteristik lezyon fokal nekrotizan retinittir. Panüveitis, korioretinite katılabilir. Konjenital vakaların çoğu bilateral, kazanılmışların çoğu ise tek taraflıdır(O'connar, 1974; Remington ve Desmonts, 1983).

4- Konjenital toksoplazmozis:

Konjenital toksoplazma enfeksiyonu veya toksoplazmozis, annenin gebelikte geçirdiği akut enfeksiyon sonucudur. Gebelikten önce seropozitif olan kişiler bağışık oldukları için, gebelik süresi içinde akut bir enfeksiyon geçirmezler ve konjenital toksoplazmozis riski yoktur. Literatürde seropozitif annelerde konjenital toksoplazmozis olguları bildirilmiştir. Bu durum tartışmalı olup bazı araştırmacılarca kabul edilmemektedir (Stray, Lorentsen, 1977).

Gebelikten önceki 1-2 aylık sürede akut enfeksiyon geçiren bir olguda enfeksiyon ile ilgili spontan düşük bildirilmiştir(Kimbal, Kean ve Fuchs, 1971).

Gebelik süre içinde akut enfeksiyon geçiren kadınların %40'ında enfeksiyonun fetusa geçiş oranının gebeliğin zamanı ile ilişkisi vardır. Fransa'da yapılan çalışmalarda, eğer anne enfeksiyonu, ilk trimesterde aldıysa fetusa geçiş riskinin %14-17, ikinci trimesterde %29, üçüncü trimesterde %59-65 civarında olduğu bildirilmiştir(Desmonts ve Couvreur, 1974). Enfeksiyonun fetusa geçişi ne kadar erken safhada olur ise fetusda yaptığı zarar da o kadar fazla olmaktadır. Birinci üç aylık sürede fetusa geçişlerde ölü doğum, erken doğum ve ağır konjenital toksoplazmozis belirtilerinin daha fazla olmasına karşın, üçüncü üç aylık dönemde fetusa geçiş olanlarda subklinik ve belirtisiz konjenital toksoplazmozis olguları daha fazla oranda görülmektedir. Belirtisiz ve subklinik olgularda sekeller daha ileriki yıllarda meydana çıkmaktadır. Bu sekeller arasında korioretinit, intrakraniyal kalsifikasyon, şaşılık, körlük, epilepsi, psikomotor veya mental retardasyon, mikrosefali, ensefalit sayılabilir(Alfred, Stagno ve Reynolds, 1974; Atasü ve Unat, 1985; Carter, 1986; Remington ve Desmonts, 1983).

Tanı

Toxoplazma enfeksiyonunun klinik bulguları çok değişken ve non-spesifik olduğu için ayırıcı tanı çok önemlidir. En çok Hodgkin, diğer lenfoma'lar, tüberküloz, brusella, sarkoidazis, sıtma, lösemi, infeksiyöz mononükleozis, eritroblastozis fötalis, çeşitli arbo virus ve stomegalovirusun oluşturduğu hastalıklar ve diğer malignant hastalıklar ile karışır(Harrison's, 1980; Remington ve Desmonts, 1983).

Özellikle üveitis ve chorioretinitis, tekrarlayan abortus, erken doğum, ölü doğum olgularında, hidrosefali ve mikrosefali gibi olgularda ve lenf adenopatisi olan hastaları toksoplazmozis yönünden incelemek gerekir.

Tanıda kullanılan laboratuvar yöntemleri şunlardır:

I- Toksoplazmanın izolasyonu.

En önemli ve kesin tanı yöntemidir. Akut enfeksiyonu gösterir.

İzolasyon şu yollarla yapılabilir:

a) Hayvan deneyleri: Muayene maddelerinin farelerin peritonu içine veya beyni içine inokulasyonu ile yapılır(Akman ve Gülmezoğlu, 1976;Mandel, Douglas ve Bennet, 1985).

b) Doku kültürleri: Daha az hassastır(Mandel, Douglas ve Bennet, 1985).

c) Direkt mikroskopi: Özellikle lenf bezi ponksiyonundan, ateşli vakalarda kandan yayma ve sürme preparatlar yapıp Giemsa ile boyanarak parazit aranır.

II- Histolojik inceleme .

Biyopsi materyali, Hematoksilen Eozin ile boyanarak incelenir. Trofozoitlerin görülmesi akut enfeksiyonun göstergesidir. Floresan antikor boyamalarının yararı olabilir fakat non-spesifik boyanmalar görülür. Doku kesitlerinde kist şekillerinin görülmesi akut enfeksiyonu düşündürür fakat ispatlamaz. Ayrıca parazitin görülmemesi de hastalığın olmadığını göstermez(Harrison's, 1980; Mandel, Douglas, Bennet, 1985).

III- Antijene özgül lenfosit transformasyonu.

Toksoplazma antijenlerine karşı lenfosit transformasyonu, erişkinlerde daha önceki enfeksiyonu göstermede özgül ve duyarlı bir yöntemdir.

gerektiğinde referans laboratuvarlarına başvurmalıdır(Harrison's, 1980; Mandel, Douglas ve Bennet, 1985).

Testlerden önce IgG daha sonra IgM antikorlarını ölçenler anlatılacaktır.

1) Sabin-Feldman Boya Testi

Bu test ilk defa Sabin ve Feldman tarafından tanımlanmıştır (Remington, Miller ve Brownlee, 1968). Referans bir serolojik testtir. Canlı toksoplazma trofozoitlerinin, komplemana benzer "aktivatör faktör" yardımı ile antikor ile karşılaştıkları zaman metilen mavisi ile boyanmalarına, antikor olmadığı zaman ise boyanmaları esasına dayanır. Boya testinin modifiye edilmiş şekli olan lizis testi Lelong ve Desmonts tarafından tarif edilmiştir. Aradaki fark yöntemin uygulanış ve okunuşundadır(Lelong ve Desmonts, 1951).

Boya testi primer olarak IgG antikorlarını ölçer. Bu antikorlar enfeksiyonun başlamasından 1-2 hafta sonra ortaya çıkıp, 6-8 haftada tepe yapan ve 1-2 yılda düşen antikorlardır. Düşük titrelerde bazen de yüksek titrelerde yıllarca pozitif kalabilir. Sabin-Feldman Boya Testi bugüne kadar en güvenilir ve en duyarlı bir yöntem olarak yerini korumuştur. Fakat sürekli fare pasajlarına gerek duyulması ve aktivatör denen yardımcı faktörün bulunma güçlüğü ve çabuk bozulması gibi etkenler nedeniyle her laboratuvarında uygulanması zor ve pahalı bir yöntemdir. Ayrıca canlı antijenler özel bir risk oluştururlar(Harrison's, 1980; Mandel, Douglas ve Bennet, 1985). Toksoplazmaların pasajlandığı farelerden elde edilen antikorlar nedeniyle yalancı-pozitiflik oluşabilir. Tüm bu sonuçlar alternatif testler için çalışmaların devamına gerek göstermiştir.

2) İndirekt Floresan Antikor Testi (IFA)

IFA testi boya testinden daha emniyetli ve yapılması daha kolay olan bir testtir. Bu testte ölü toksoplazmaların lam preparasyonları hasta serumunun seri dilüsyonları ile inkübe edilir. Antijen ile antikor arasındaki spesifik reaksiyon serum IgG'sine karşı hazırlanmış florescein ile işaretli antiserum ile gösterilebilir. Floresan mikroskobunda incelendiğinde pozitif bir reaksiyon, toksoplazmaların çevresindeki sarı-yeşil parlaklık ile saptanabilir.

Bu test boya testinde olduğu gibi IgG antikorlarını ölçer ve titreleri boya testi titrelerine paraleldir. Yapılan birçok çalışmada her iki test karşılaştırılmış ve %92.5-97.5 oranında uygunluklar saptanmıştır(Fletcher, 1965; Gülmezoğlu, 1968; Sulzer ve Holl, 1967; Walton, Benchoff ve Brooks, 1966).

Canlı organizmalar ile çalışılması, kullanılan antijenin uzun süre saklanabilmesi, testin istenilen zamanda çalışılabilmesi kolay, güvenilir ve ucuz olması, her laboratuvarda uygulanabilmesi, IFA testini Sabin-Feldman boya testine üstün kılmıştır.

IFA testinde, antinükleer antikorlar (ANA) içeren serumlarda bazı yalancı-pozitif reaksiyonlar meydana gelebilir(Arajuo, Barnett, Gentry ve Remington, 1971).

3) İndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHAT)

Bu test ilk defa Jacobs ve Lunde tarafından toksoplazmozis tanısında kullanılmıştır. Boya testi ve IFA testine 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 enfeksiyonunun tanısında kullanılmaz. Ayrıca titrelerin yükselmesinde bir gecikme olmasından dolayı da gebe kadınlarda akut enfeksiyonunun tanısında kullanılmaz. Yalnız enfeksiyonun ilerleyişini tespit etmede değer taşır(Atasü, Unat, 1985; Balfour, Fleck 1982; Harrison's, 1980; Remington ve Desmonts, 1983).

4) Kompleman-Fiksasyon Testi(CF)

Serum antikorlarının toksoplazma eriyik antijenleri ile birleşirken ortamda bulunan komplemanı bağlaması veya kullanması esasına dayanır. Bu test boya testi antikorlarından birkaç hafta sonra ortaya çıkan fakat daha önce düşen antikorları ölçer. Kompleman-fiksasyon testi yıllarca pozitif kalabilir(Harrison's, 1980; Remington ve Desmonts, 1983). Yüksek boya testi titreleri ile birlikte artan CF test titreleri negatif bir testin pozitif dönmeye aktif bir enfeksiyonu gösterir(Harrison's 1980; Mandel, Douglas ve Bennet, 1985).

5) Aglütinasyon Testi (AT)

Ticari olarak piyasada bulunmaktadır. Toksoplazmaların formalin ile öldürülmüş süspansiyonu antijen olarak kullanılır. IgG antikorlarının gösterilmesinde kullanılan bir testtir. Doğal IgM antikorları bu testte sıklıkla non-spesifik aglütinasyona sebep olurlar. Bu problem testte 2-merkaptoetanol ilavesi ile giderilebilir(Desmonts ve Remington, 1980; Harrison's, 1980).

Yapılması kolay, pahalı olmayan ve gebe kadınların taraması için mükemmel bir testtir(Desmonts ve Remington, 1980).

6) Latex Aglütinasyonu (LA)

İnaktive edilmiş toksoplazma antijeni ile kaplı lateks parçacıklarının, serumda spesifik antikorların varlığında aglütinasyon oluşturmaya dayalı bir testtir. Yapılan çalışmalarda bu test ile boya testi ve IHAT arasında uyumluluk gösterilmiştir(Balfour ve Fleck, 1982; Payne, Francis ve Kwantes, 1983). Stabil sıvı antijen birçok örneğin çalışılmasına imkan vermektedir. Yapılması kolay ve okunması basit bir testtir.

7) IgG - ELISA

ELISA tekniği ilk kez Engvall ve Perlmann tarafından biyolojik önemi olan substratların ölçülmesinde kullanılmıştır(Engvall ve Perlmann, 1971). Son yıllarda birçok tekniğin yerini almaya başlamıştır. Voller ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar ile toksoplazmozis tanısında uygulanmaya başlamıştır(Voller ve Bidwell, 1976). IgG sınıfı antikorları gösteren bir tekniktir(Carlier, 1980; Trunen, Leinikki ve Saari, 1983).

Bu teknikte enzim ile işaretlenmiş anti-globulin kullanılarak antikor aranır. Polistiren veya polivinil bir yüzeye antijen kaplanır. 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 veya spektrofotometre ile değerlendirilir.

8) IgM - IFA Testi

Bu test akut konjenital ve kazanılmış enfeksiyon tanısında başarıyla kullanılmaktadır(Alfred, Stagno ve Reynolds, 1974; Remington, 1969; Welch, Masur, Jones ve Remington, 1980). IgM antikorları IgG antikorlarından daha önce ortaya çıkar ve daha hızlı azalırlar. Bu nedenle akut enfek-

siyon tanısında çok önem kazanırlar(Frenkel, 1985). Olguların çoğunda IgM-IFA test antikorları hızla yükselir (1:80-1:1000 düzeylerine) sonra 1:10 ve 1:20 titrelerine düşer. Genellikle birkaç ay içerisinde kaybolurlar. Fakat bazı hastalarda düşük titrelerde bir yıl ve daha fazla kalabilir.

IgM-IFA testinde RF ve antinükleer antikorlar yalancı-pozitif reaksiyonlara neden olabilirler. Bazı hallerde yüksek titredeki serumlarda IgG ile kompetitif inhibisyon sonucu yalancı-negatif sonuçlar alınabilmektedir(Hyde, Bornette ve Remington, 1975).

IgG'nin IgM'i maskeleymesini önlemek için birçok yöntem kullanılmaktadır. Ultrasantrifügasyon, sukroz gradiyent santrifügasyon, jel-filtrasyon ve stafilokok protein A gibi. Bunlar zaman alıcı ve laboratuvar cihazı gerektiren işlemlerdir. CM Bio-Gel A iyon-exchange kromatografi kısa sürede ayırmada kullanılabilir(Mc Graw, Dizikes ve Bruckner, 1985; Ordonuz, Newman ve Stone, 1983).

9) DS-IgM-ELISA

(Double-Sandwich, IgM, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

Naot ve Remington tarafından toksoplazmaya karşı IgM antikorlarının gösterilmesi için geliştirilmiş bir tekniktir. Bu test hem IgM-ELISA hemde IgM-IFA testlerinden çok daha duyarlı ve özgül bir testtir(Camargo, 1978; Siegel ve Remington, 1983).

Romatoid Faktör (RF) ve Anti-nükleer antikorlara (ANA) bağlı yalancı-pozitif sonuçlara IgM-IFA'da rastlanırken, DS-IgM-ELISA'da rastlanmaz(Naot, Barnett ve Remington, 1981).

Konvansiyonel IgM-ELISA'da RF içeren serumlarda yalancı-pozitif sonuçlar meydana gelebilir(Camorgo, 1978).

10) IgM-ISA (IgM-Immunsorbent Assay)

Son zamanlarda geliştirilmiş bu teknikte, IgM antikorlarının ortaya çıkarılmasında formalin ile muamele edilmiş trofozoitler veya antijen ile kaplanmış latex partikülleri kullanılır.

Bu test yapılması kolay, bir enzim konjugatına ihtiyaç göstermeyen duyarlı ve özgül bir testtir. Aglütinasyon testinde olduğu gibi çıplak gözle okunur. RF ve ANA'ların varlığı yalancı-pozitif sonuçlara neden olmaz(Desmonts, Noat ve Remington, 1981; Remington, Eimstad ve Arajuo, 1983).

VI- Deri testleri

Deri testleri, toplumda kronik enfeksiyon prevalansını tespit için kullanılır. Akut toksoplazmozisin tanısında değeri yoktur. Hücresel bağışık yanıtı ölçer. Yalancı-pozitif sonuçlar nadirdir. Standardize edilmiş olup epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır. Bu amaçla deri içine 0.1 cc antijen verilir. 48 saat sonraki incelemede endurasyonun 10 mm ve daha büyük olması pozitif olarak kabul edilir(Remington ve Desmonts,1983).

Rougier ve Ambroise-Thomas adlı araştırmacılar, Toxoplasmik immüni-tenin gösterilmesi amacıyla Excretory-Secretory (ES) toxoplasma antijeni ile multipuncture deri testini kullanmışlardır(Rougier ve Ambroise, 1985).

Kazanılmış toksoplazmozisde negatif Sabin-Feldman ve IFA testleri tanıyı ekarte eder. Akut bir enfeksiyon, negatiften pozitif bir titreye

sero-konversiyon veya 3 haftalık ara ile düşük titreden pozitive yükselme ile konur. SFBT ve IFAT'da 1/1000 ve IgM-IFA 1/80 ise akut enfeksiyonu gösterir. Negatif bir IgM testi akut enfeksiyon tanısından uzaklaştırır. Göz toksoplazmozisi için retinal lezyon tipik ve serolojik testler pozitif ise tanı konulabilir. Aqueus Humor'da yüksek antikor titresi, lokal antikor yapımını yansıtır ve erken tanıda önemlidir(Alfred, Stagno ve Reynolds, 1974; Arajuo, Hondman ve Remington, 1980; Ordonez, Newman ve Stone 1983).

Yenidoğanda toksoplazmozis tanısı, aşağıdakilere bağlıdır:

- 1- Sabin-Feldman veya IFA'da yükselen titreler veya devamlılık.
- 2- Plasental sızıntı olmadığı sürece doğumdan sonra IgM antikor titresinde pozitiflik.

IgG antikorlar anneden fetusa plasenta yolu ile geçebildiği için yenidoğanda IgG antikor titreleri, annede geçirilmekte olan veya geçirilmiş bir enfeksiyonu yansıtır.

IgM antikor titresinin araştırılması için, DS-IgM ELISA sahip olduğu büyük duyarlılık ve özgüllük nedeniyle IgM-IFA testine tercih edilir(Naot, Barnett ve Remington, 1981).

Gebelerde akut enfeksiyon tanısı, kazanılmış toksoplazmozisde olduğu gibidir ve IgM testleri önem taşır(Remington ve Desmonts, 1983).

Tedavi

Akut toksoplazmozis ve konjenital toksoplazmozis tedavisinde Pyrimethamine (Daraprim) ve Sulfadiazin kullanılır. Bu iki ilaç beraber verildiğinde sinerjistik etki gösterir. Bu ajanlar parazitin trofozoit formla-

rına etkilidir. Doku kisti formları ise dirençlidir. Gebelerde ilk trimesterde teratojenik olduğu için pyrimethamine önerilmez. Ayrıca folik asit antagonisti olduğundan haemopoiesis'de baskılama yapar.

Spiramycin toksoplazmozisde daha az etkilidir. Plasentaya geçişi yoktur. Teratojenik değildir. Haemopoiesis'e etkisi yoktur. Gebelikte ve immun yetmezlik olgularında kullanılır. Spiramycin tedavisi, pyrimethamine +sulfadiazine tedavisi ile dönüşümlü olarak da kullanılabilir. Akut toksoplazmozis tedavisinde Clindamycin, Tetracycline, Trimethoprim-Sulfamethaxazole tedavilerinden kesin bir sonuç alınamamıştır(Alfred, Stagno ve Reynolds, 1974; Frenkel, 1974; Harrison's, 1980; Kwantes,1983).

Aşı

Aşılama için çalışmalar sürmektedir. Patojen olmayan bir coccidium Hammondia hammondi'nin canlı ookistlerini içeren bir hayvan aşısının keçilerde toksoplazmozis'in konjenital geçişini önlemede etkili olduğu bulunmuştur. Son zamanlarda bulunan persistan olmayan bir Toxoplasma suşunun (ts-4) aşısı için iyi bir aday olduğu belirtilmektedir(Dubay, 1981).

Korunma

Toksoplazmozis'in bulaş kaynakları ve bulaşma yolları bilindikten sonra, korunmada bazı önemli adımlar atılmıştır. Kediler çevrenin kirlenmesinde en önemli bulaş kaynağıdır ve doğayı sürekli kirletirler. Bu nedenle başboş kediler yok edilmeli, ev kedilerinin sürekli parazit kontrolü yapılmalı ve dışkısı %10'luk formol ile işleme tabi tutulup öyle atılmalıdır. Ayrıca çiğ etle değil pişmiş etle beslenmelidirler. Özellikle gebe kadınlar gebelikleri süresince kedilerden uzak durmalıdırlar. Etin çiğ veya

az pişmiş olarak yenmesi toksoplazmozise yakalanma olasılığını arttırır. Bu nedenle 66⁰C'nin üstündeki pişirmelerde toxoplasma'nın kistleri ölürler (Frenkel, 1974). Özellikle gebe kadınlar kedi dışkısı ile bulaşmış maddeler ile temastan kaçınmalıdırlar.

Her gebeye serolojik testlerin uygulanması hem pratik değil hem de zordur. Bu nedenle korumada en etkin ve en ucuz yöntem sağlık eğitimidir(Frenkel, 1981).

MATERYAL VE METOD

Serumlar

Çalışmamızda kullanılan serumlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına(KHD) başvuran, yaşları 15-45 arasında değişen doğurganlık yaşındaki kadınlardan sağlandı. Alınan kan örnekleri serumları ayrıldıktan sonra test uygulanana kadar -20°C 'de derin soğutucuda saklandı. Serumların hemoliz ve kontamine olmamasına dikkat edildi.

Demirbaş Malzemeler:

- 1- Su banyosu (37°C)
- 2- Etüv (37°C)
- 3- Spektrofotometre (Quantum II)
- 4- Buzdolabı
- 5- Derin soğutucu (-20°C)
- 6- Yıkayıcı sistem (ABBOTT)
- 7- Immunofloresan mikroskobu (NİKON)
- 8- Otomatik pipetler (10 μ 'dan 2000 μ 'a kadar)
- 9- Otomatik dağıtıcı sistem (1 ml.'lik)
- 10-Manyetik karıştırıcı
- 11-Çalkalayıcı

Sarf Malzemeler

- 1- ELISA IgG test kiti aşağıdaki gereç ve solusyonları içermektedir (ABBOTT, ticari olarak piyasadan sağlandı).
 - Tokso plazma antijeni ile kaplanmış boncuklar,
 - Düşük pozitif (LP) ve yüksek pozitif (HP) kontrol serumları,
 - Negatif kontrol (NC) serumu,
 - Hasta serumlarını sulandırmak için kullanılan örnek sulandırım tamponu(SDB),
 - Enzim (peroksidaz) işaretli anti-insan IgG (keçi orjinli),
 - Enzim substratı OPD (O-Phenylenediamine 2 HCl) tabletleri,
 - OPD tabletlerini eritmek için %0.02 hidrojen peroksit içeren sitrat-fosfat tamponu,
 - 1 N süfirik asit solüsyonu (Reaksiyon durdurucu),
 - 12 IU/ml Standart Tokso plazma IgG serumu,
 - U tabanlı mikroplakalar,
 - Mikroplakaları kapatmak için özel, plakaya yapışıcı kağıtlar.
- 2- ELISA IgM test kiti aşağıdaki gereç ve solusyonları içermektedir (ABBOTT, ticari olarak piyasadan sağlandı).
 - Anti-insan IgM ile kaplanmış boncuklar,
 - Düşük pozitif (LP) ve yüksek pozitif (HP) kontrol serumları.
 - Negatif kontrol (NC) serumu,
 - Hasta serumlarını sulandırmak için kullanılan örnek sulandırım tamponu(SDB),
 - Enzim (peroksidaz) işaretli anti-insan IgM,
 - Enzim substratı OPD (o-Phenylenediamine 2 HCl) tabletleri,
 - OPD tabletlerini eritmek için %0,02 hidrojen peroksit içeren sitrat-fosfat tamponu,

- 1 N sülfirik asit solüsyonu(reaksiyon durdurucu),
 - U tabanlı mikroplakalar,
 - Mikroplakaları kapatmak için özel, plakaya yapışıcı kağıtlar.
- 3- Toksoplazma indirekt floresan antikor (IFA) test kiti aşağıdaki gereç ve solüsyonları içermektedir(BEHRING, ticari olarak piyasadan sağlandı).
- Toksoplazma gondii ile kaplanmış reaksiyon zonları içeren kullanıma hazır 12'lik lamlar,
 - Konsantre fosfat tamponu(1/20),
 - Evans mavisi,
 - Florosein izotiyosiyonat işaretli anti-insan globulini.
- 4- Toksoplazma direkt aglütinasyon test kiti aşağıdaki gereç ve solüsyonları içermektedir(REDITEST, ticari olarak piyasadan sağlandı).
- Antijen,
 - Boratlı renk tamponu(albumin ilaveli),
 - Pozitif kontrol,
 - Fosfat tamponu(PBS pH 7.2),
 - V tabanlı mikroplakalar.
- 5- Toksoplazma indirekt hemaglütinasyon (IHA) test kiti aşağıdaki gereç ve solüsyonları içermektedir(SCLAVO, ticari olarak piyasadan sağlandı).
- Antijen,
 - Kontrol,
 - Sulandırıcı,
 - Pozitif kontrol,
 - Negatif kontrol,

Testlerin Uygulanması

1- Toksoplazma ELISA IgG testi:

- Bütün serumlar kullanılmadan önce oda ısısına getirildi ve iyice karıştırıldı.

- Her çalışmada iki adet düşük pozitif kontrol, bir adet yüksek pozitif kontrol ve bir adet negatif kontrol kullanıldı.

- Ön sulandırım işlemi temiz ve tek kullanımlık tüplerde yapıldı.

- Her bir örnek (kontrol serumlar ve kantitatif ölçümde standart dahil 1:101 oranında sulandırıldı (20µl serum+2 ml SDB),

a) Birinci inkübasyon:

-Özel reaksiyon plakalarının ilk iki çukuruna 200 µl. sulandırılan düşük pozitif kontrol, üçüncü çukura yüksek pozitif kontrol, dördüncü çukura negatif kontrol, beşinci çukura kantitatif ölçüm için standart serumdan konuldu.

-Altıncı çukurdan itibaren sıra ile 200 µl. çalışılacak serumlardan konuldu.

-Bütün çukurlara özel boncuk dağıtıcısı yardımı ile antijen kaplanmış boncuklardan birer tane konuldu ve üzeri özel kağıdıyla kapatılarak 37°C'da su banyosunda 1 saat inkübe edildi.

-Sürenin bitiminde çukurlar distile su ile 3 kez dikkatli bir şekilde yıkandı.

b) İkinci inkübasyon:

-Yıkama işleminden sonra 200 µl. enzim konjugatı ilave edilerek tekrar su banyosunda 37°C'de 1 saat inkübe edildi.

-Bu sürenin son 10 dakikasında, çalışılan serum sayısına göre OPD tabletleri aşağıdaki şekilde OPD sulandırım sıvısı içinde eritilerek hazırlandı ve karanlık bir yere kaldırıldı.

<u>Test Sayısı</u>	<u>Tablet Sayısı</u>	<u>Sulandırıcı Miktarı(ml)</u>
13	1	5
28	2	10
43	3	15
58	4	20
73	5	25
88	6	30
103	7	35

-Sürenin bitiminde bütün serumlar tekrar distile su ile 3 kez yıkandı.

c) Renk oluşumu:

-Boncuklar derhal özel tüplere aktarıldı ve her tüpe özel hazırlanan OPD solüsyonundan 300 µlt. ilave edildi.

-Tüpler oda ısısında (15-30°C) karanlık bir ortamda 30 dakika bekletildi(10 dakika kala spektrofotometre açıldı).

-Süre bitiminde her tüpe renk reaksiyonunu durdurmak amacı ile 1 ml. 1 N H₂SO₄ konuldu (Kör dahil).

-492.600 nm dalga boyunda özel spektrofotometrede okuma yapıldı.

-Bu okumada pozitif bulunan serumlar IU olarak değerlendirilmek amacıyla iki düşük pozitif, iki yüksek pozitif ve iki standart serumla yeniden çalışıldı. Sonuçlar IU olarak değerlendirildi.

2- Toksoplazma ELISA IgM testi:

-Bütün serumlar kullanılmadan önce oda ısısına getirildi ve iyice karıştırıldı.

-Her çalışmada üç adet düşük pozitif kontrol, bir adet yüksek pozitif kontrol ve bir adet negatif kontrol kullanıldı.

-Ön sulandırım işlemi temiz ve tek kullanımlık tüplerde yapıldı.

-Her bir örnek (kontrol serumlar dahil) 1:101 oranında sulandırıldı(20 µ lt serum+2 ml SDB).

a) Birinci inkübasyon:

-Özel reaksiyon plakalarının ilk üç çukuruna sulandırılan düşük pozitif kontrolden, dördüncü çukura yüksek pozitif kontrol, beşinci çukura negatif kontrol 200 µlt konuldu. Altıncı çukurdan itibaren sırası ile 200 µlt çalışılacak serumlardan konuldu.

-Bütün çukurlara özel boncuk dağıtıcısı ile anti-insan IgM ile kaplanmış boncuklardan dağıtıldı ve üzeri özel kağıdı ile kapatılarak 2 saat 37°C'de su banyosunda inkübe edildi.

-Sürenin bitiminde bütün çukurlar distile suyla üç kez dikkatli bir şekilde yıkandı.

b) İkinci inkübasyon:

-Yıkama işleminden sonra 200 µlt enzim konjugatı bütün çukurlara ilave edildi.

-Üzeri özel kağıtla kapatılarak bir saat 37°C'de su banyosunda inkübe edildi.

-Bu sürenin son 10 dakikasında, çalışılan serum sayısına göre OPD tabletleri yukarıda açıklandığı şekilde OPD sulandırım sıvısı içinde eritilerek hazırlandı ve karanlık bir yere kaldırıldı.

-Sürenin bitiminde bütün çukurlar distile su ile tekrar üç kez yıkandı.

c) Renk oluşumu:

-Boncuklar derhal özel tüplere aktarıldı ve her tüpe hazırlanan OPD solüsyonundan 300 µ lt ilave edildi.

-Tüpler oda ısısında (15-30°C) karanlık bir ortamda 30 dakika

-Süre bitiminde her tüpe renk reaksiyonunu durdurmak amacı ile 1 ml 1 N H₂SO₄ konuldu (kör dahil).

-492.600 nm dalga boyunda özel spektrofotometrede okuma yapıldı(Quantum II ABBOTT).

3- Toksoplazma IFA testi:

-Fosfat tamponuyla her serumun 1:10 ve 1:40'lık sulandırılmaları yapıldı.

-Sulandırılan serumlar ve kontrolden yaklaşık 10-15 µlt lamdaki zonlara üstleri kaplanacak şekilde konuldu ve 30 dakika 37⁰C'da nemli ortamda inkübe edildi.

-Lam fosfat tamponuyla küvette 10 dakika hafifçe çalkalanarak yıkandı, 5 dakikadan sonra tampon yenilendi.

-5 dakika distile su ile yıkandı.

-Sıvı fazlası emici kağıtla lamın kenarlarından alındı ve kurutuldu.

-10 µlt toksoplazma anti-insan globulini ile reaksiyon zonu kaplanıp, 37⁰C'de 30 dakika nemli ortamda inkübe edildi.

-Tamponla yıkama işlemi tekrar edildi.

-Sıvı fazlası emici kağıtla lamın kenarlarından alındı ve kurutuldu.

-Hava kabarcığı bırakmadan preparata gliserin tampon (1 kısım fosfat tamponu + 9 kısım gliserin) solüsyonu uygulanıp üzerine lam kapatıldı.

-Daha sonra floresan mikroskobunda incelendi.

IFA testinde kullanılan fosfat tamponu aşağıdaki şekilde hazırlandı:

NaCl 81.00 gr.

Na₂HPO₄.2h₂O.. 5.70 gr.

KH₂PO₄..... 2.92 gr.

Distile su 10.00 lt

4) Toksoplazma direkt aglütinasyon testi:

-Test edilecek her örnek kadar mikropalakada işaretleme yapıldı.

-Mikropalakada çalışma dilüsyonları hazırlandı. Bunun için de 1. çukurdan 11. çukura kadar 0.05 ml. boratlı renk tamponu dağıtıldı.

-0.05 ml. test edilecek serumdan 1. çukura ilave edildi. 1. çukur karıştırılıp 0.05 ml. alınarak 2. çukura, 2. çukurdan 0.05 ml. alınarak 3. çukura ilave edildi. 11. çukura kadar aynı işlem tekrarlandı. 11. çukurdan 0.05 ml. dışarı atıldı. Aynı işlem pozitif kontrole de uygulandı.

-Antijen solüsyonu homojen hale gelene kadar karıştırıldı(şişenin alt kısmında çöküntü kalmamasına dikkat edilmelidir).

-1 damla (0.05 ml.) antijen solüsyonu 2. çukurdan 11. çukura kadar, hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edilerek dağıtıldı.

-Mikroplaka çalkalayıcıda 2 dakika karıştırıldı(veya plaka hafifçe yanlarına vurularak karıştırılır).

-Plakanın üzerine kapağı kapatılarak 6 saat oda derecesinde inkübe edildi. İnkübasyon periyodu sırasında plakaları karıştırmaktan sakınıldı.

-İnkübasyondan sonra sonuç okundu. Eğer 6 saat sonra sonucu okumak mümkün değilse 24 saat içinde okunabilir. Bu periyot süresince reaksiyon değişmeden kalır.

5) Toksoplazma IHA testi:

-Teste başlamadan önce kit oda ısısına getirilip, süspansiyonların homojen olması sağlandı.

-Hasta serumunun 1/32'lik sulandırımı yapıldı(0.025 ml. hasta serumu + 0.775 ml. sulandırıcı).

Tarama testi:

-Her hasta serumu ve kontroller için 2 çukur kullanıldı. Ayrıca her çalışma grubu için 2 çukur daha ayrıldı. Bu çukurlarda 1-2 hasta serumu, 3-4 pozitif kontrol, 5-6 negatif kontrol, 7 antijen kontrolü, 8 hassas olmayan hücre kontrol çukurlarıdır.

- Bu işlem aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

	1	2	3	4	5	6	7	8
HASTA SERUMU	50*	50	-	-	-	-	-	-
POZİTİF KONTROL	-	-	50	50	-	-	-	-
NEGATİF KONTROL	-	-	-	-	50	50	-	-
SULANDIRICI	-	-	-	-	-	-	50	50
ANTIJEN	-	50	-	50	-	50	50	-
KONTROL	50	-	50	-	50	-	-	50

* Kullanılan miktarlar μ lt. ölçüsündedir.

-Mikroplakanın yanlarına hafif hafif vurarak sıvıların karışması sağlandı. Üzeri kapatılarak oda ısısında 2-3 saat bekletildi(bu esnada kesinlikle oynatılmaz).

-Daha sonra değerlendirme yapıldı. Hasta sonucunu 2.çukurda görülen belirledi.

-1.çukurun yani kontrolün pozitif olduğu durumda bu serum değerlendirilmedi.

Bu testte pozitif bulunan serumlar titrasyon testine alındı.

-Hasta serumu için mikroplakada 8 çukur ayrıldı.

-1.çukur hariç tüm çukurlara 50 μ lt. sulandırıcı konuldu.

-1.çukura 100 µlt. 1/32'lik (tarama testi için hazırlanan) hasta serumundan konuldu.

-50 µlt. 1. çukurdan alınarak 2. çukura konuldu. Bu titrasyona 8.çukura kadar devam edildi, 8.çukurdan 50 µlt. dışarı atıldı.

-Tüm çukurlara 50 µlt. antijen konuldu.

-2-3 saat oda ısısında bekletilip, sonuç okundu.

- 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024, 1/2048 ve 1/4096 titrasyona kadar ulaşılmıştır. Sonuçlar buna göre değerlendirildi.

B U L G U L A R

Çalışmamızda Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin Kadın Hastalıkları ve Doğum (KHD) Anabilim Dalı poliklinik ve servislerinden gönderilen, yaşları 15-45 arasında değişen kadınlardan toplanan 93 serum örneği kullanılmıştır.

Tüm serumlar, toksoplazma IgG ELISA, toksoplazma direkt aglütinasyon, indirekt hemagglütinasyon, toksoplazma immun floresan antikor ve toksoplazma IgM ELISA testlerine alınmışlardır.

Tüm testler, materyal ve metod kısmında da belirttiğimiz gibi usulüne uygun olarak yapılmış, ELISA tetkiklerinde çeşitli kontroller ile hesaplanan "cutt off" değeri sonuç vermede temel alınmış, diğer testlerde dilüsyonlardaki pozitiflik sonuç olarak kullanılmıştır.

Teste alınan serum örneklerinden çeşitli testlere göre ortalama olarak 41(%44'ü)'i, toksoplazma açısından, total antikor düzeyi veya IgG yönünden seropozitif olarak bulunmuşlardır. Çalışılan serumlardan 52(%56)'si bu yönlerden seronegatif olarak bulunmuştur. Hiçbir hastada IgM yönünden pozitiflik saptanmamıştır.

Çalışılan 93 serum örneğinin tüm testlere göre sonuçları tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo 1: ELISA IgG, ELISA IgM, IFA, IHA, direkt aglütinasyon testlerinin sonuçları.

No	IFA	ELISA IgG			IHA	Direkt Aglütinasyon	ELISA IgM		
		OD	Index	IU					
1	1:40 üstü	0.681	1.690	45.62	POS.	1:64	1:128	0.215	NEG.
2	1:40 "	0.705	1.142	30.09	POS.	1:64	1:128	0.259	NEG.
3	1:40 "	0.820	1.570	41.52	POS.	1:64	1:128	0.305	NEG.
4	1:40 "	0.420	1.076	24.56	POS.	1:128	1:64	0.221	NEG.
5	1:40 "	1.282	3.181	188.12	POS.	1:128	1:256	0.148	NEG.
6	1:40 "	1.034	2.566	105.56	POS.	1:128	1:64	0.145	NEG.
7	1:40 "	0.681	1.692	46.05	POS.	1:128	1:128	0.240	NEG.
8	1:40 "	0.250	1.550	45.67	POS.	1:64	1:64	0.210	NEG.
9	1:40 "	0.552	0.950	22.99	POS.	1:64	1:64	0.246	NEG.
10	1:40 "	1.551	2.670	234.24	POS.	1:1024	1:512	0.215	NEG.
11	1:40 "	0.463	0.797	17.23	POS.	1:64	1:64	0.206	NEG.
12	1:40 "	0.688	1.150	29.66	POS.	1:32	1:64	0.160	NEG.
13	1:40 "	1.468	2.527	198.62	POS.	1:1024	1:512	0.189	NEG.
14	1:40 "	0.628	1.081	27.05	POS.	1:64	1:64	0.191	NEG.
15	1:40 "	1.087	1.871	81.12	POS.	1:512	1:512	0.224	NEG.
16	1:40 "	0.539	0.928	22.05	POS.	1:64	1:64	0.155	NEG.
17	1:40 "	0.480	0.826	18.60	POS.	1:64	1:64	0.078	NEG.
18	1:40 "	0.440	0.757	16.60	POS.	1:64	1:64	0.132	NEG.
19	1:40 "	0.950	1.635	58.63	POS.	1:128	1:128	0.171	NEG.
20	1:40 "	0.443	0.829	19.18	POS.	1:64	1:64	0.175	NEG.
21	1:40 "	0.983	1.829	77.48	POS.	1:128	1:128	0.186	NEG.
22	1:40 "	0.608	1.138	30.31	POS.	1:64	NEG.	0.121	NEG.
23	1:40 "	1.224	2.684	212.32	POS.	1:512	1:512	0.141	NEG.
24	1:40 "	0.937	2.055	94.68	POS.	1:256	1:256	0.147	NEG.
25	1:40 "	0.564	1.237	33.56	POS.	1:128	1:256	0.172	NEG.
26	1:40 "	1.218	2.671	205.95	POS.	1:256	1:128	0.144	NEG.
27	1:40 "	0.517	1.134	30.21	POS.	1:64	1:64	0.155	NEG.
28	1:40 "	1.131	2.480	165.53	POS.	1:128	1:256	0.162	NEG.
29	1:40 "	0.249	0.546	12.68	POS.	1:32	1:32	0.152	NEG.
30	1:40 "	0.263	0.557	13.17	POS.	1:64	1:64	0.156	NEG.
31	1:40 "	1.082	2.373	141.78	POS.	1:128	1:256	0.168	NEG.
32	1:40 "	0.459	1.007	26.24	POS.	1:64	1:64	0.193	NEG.
33	1:40 "	1.028	2.254	126.23	POS.	1:512	1:1024	0.269	NEG.
34	1:40 "	0.382	0.688	16.11	POS.	1:32	1:32	0.490	NEG.
35	1:40 "	0.672	1.211	36.86	POS.	1:128	1:64	0.158	NEG.

Tablo I'in devamı.

No	IFA		ELISA IgG OD	Index	IU	IHA	Direkt Aglütinasyon	ELISA IgM	
36	1:40	"	0.392	0.706	46.64	POS.	1:32	1:32	0.214 NEG.
37	1:40	"	0.318	0.573	13.96	POS.	1:32	1:32	0.148 NEG.
38	1:40	"	0.784	1.413	51.96	POS.	1:128	1:128	0.182 NEG.
39	1:40	"	1.035	1.865	120.76	POS.	1:256	1:256	0.231 NEG.
40	1:40	"	0.232	0.418	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.121 NEG.
41	NEG.		0.036	0.065	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.065 NEG.
42	NEG.		0.056	0.101	12.00	NEG.	NEG.	1:32	0.084 NEG.
43	NEG.		0.027	0.049	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.101 NEG.
44	NEG.		0.011	0.020	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.012 NEG.
45	NEG.		0.024	0.043	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.104 NEG.
46	NEG.		0.032	0.058	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.016 NEG.
47	NEG.		0.08	0.068	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.052 NEG.
48	NEG.		0.039	0.070	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.124 NEG.
49	NEG.		0.027	0.067	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.077 NEG.
50	NEG.		0.030	0.074	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.033 NEG.
51	NEG.		0.018	0.045	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.059 NEG.
52	NEG.		0.036	0.089	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.112 NEG.
53	NEG.		0.025	0.062	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.201 NEG.
54	NEG.		0.030	0.056	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.008 NEG.
55	NEG.		0.026	0.049	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.036 NEG.
56	NEG.		0.023	0.043	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.118 NEG.
57	NEG.		0.056	0.105	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.182 NEG.
58	NEG.		0.018	0.034	12.00	NEG.	NEG.	1:16	0.121 NEG.
59	NEG.		0.020	0.037	12.00	NEG.	1:4	NEG.	0.157 NEG.
60	NEG.		0.044	0.082	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.088 NEG.
61	NEG.		0.215	0.370	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.041 NEG.
62	NEG.		0.042	0.071	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.090 NEG.
63	NEG.		0.119	0.208	12.00	NEG.	1:8	NEG.	0.119 NEG.
64	NEG.		0.081	0.139	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.070 NEG.
65	NEG.		0.036	0.079	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.147 NEG.

Tablo I'in devamı.

No	IFA	ELISA IgG			IHA	Direkt Aglütinasyon	ELISA IgM	
		OD	Index	IU				
66.	NEG.	0.042	0.092	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.224 NEG.
67	NEG.	0.038	0.083	12.00	NEG.	NEG.	1:16	0.187 NEG.
68	NEG.	0.036	0.079	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.050 NEG.
69	NEG.	0.028	0.061	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.102 NEG.
70	NEG.	0.034	0.075	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.032 NEG.
71	NEG.	0.030	0.066	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.117 NEG.
72	NEG.	0.033	0.072	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.032 NEG.
73	NEG.	0.025	0.055	12.00	NEG.	1:16	NEG.	0.114 NEG.
74	NEG.	0.019	0.042	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.008 NEG.
75	NEG.	0.029	0.064	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.092 NEG.
76	NEG.	0.027	0.059	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.139 NEG.
77	NEG.	0.035	0.077	12.00	NEG.	NEG.	1:16	0.157 NEG.
78	NEG.	0.008	0.018	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.009 NEG.
79	NEG.	0.032	0.078	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.031 NEG.
80	NEG.	0.120	0.211	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.084 NEG.
81	NEG.	0.684	0.860	18.21	POS.	1:32	NEG.	0.174 NEG.
82	NEG.	0.026	0.047	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.066 NEG.
83	NEG.	0.070	0.151	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.009 NEG.
84	NEG.	0.013	0.024	12.00	NEG.	1:4	NEG.	0.027 NEG.
85	NEG.	0.021	0.039	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.082 NEG.
86	NEG.	0.073	0.154	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.125 NEG.
87	NEG.	0.139	0.280	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.057 NEG.
88	NEG.	0.078	0.149	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.111 NEG.
89	NEG.	0.029	0.072	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.182 NEG.
90	NEG.	0.045	0.084	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.147 NEG.
91	NEG.	0.019	0.035	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.029 NEG.
92	NEG.	0.067	0.127	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.052 NEG.
93	NEG.	0.029	0.053	12.00	NEG.	NEG.	NEG.	0.007 NEG.

Tablo I'de de görüldüğü gibi çalışmaya alınan 93 serum örneğinden, toksoplazma IFA testine göre 40(%43)'i pozitif olarak saptanmıştır. Aynı teste göre negatif hastalar ise 53(%57)'tür.

Toksoplazma IgG ELISA testine göre serumların 40(%43)'i pozitif, 53(%57)'ü negatif olarak saptanmıştır.

Toksoplazma direkt aglütinasyon testinde serumların 42(%45.6)'si pozitif, 51(%54.8)'i negatif olarak saptanmıştır.

Toksoplazma IgM ELISA testine göre hastaların hepsi negatif olarak saptanmıştır.

Bu testlere göre IFA testi temel alındığında ELISA IgG testinin hassasiyeti %97.5, özgüllüğü %98; toksoplazma IHA testinin hassasiyeti %97.5, özgüllüğü %90; direkt aglütinasyon testinin hassasiyeti %95, özgüllüğü %92 olarak saptanmıştır. Bu değerler tablo II ve III'te de özetlenmiştir(Bernard, 1987).

Tablo II: ELISA IgG, IHA ve D.aglütinasyon testlerinin IFA testine göre pozitiflik ve negatiflik sayıları.

	POZİTİF	NEGATİF
ELISA	POZİTİF 39	52
	NEGATİF 1	5
IHA	POZİTİF 39	5
	NEGATİF 1	48
D.agg	POZİTİF 38	4
	NEGATİF 2	49

Tablo III: IFA testine göre, ELISA IgG, IHA ve direkt aglütinasyon testlerinin kıyaslanması.

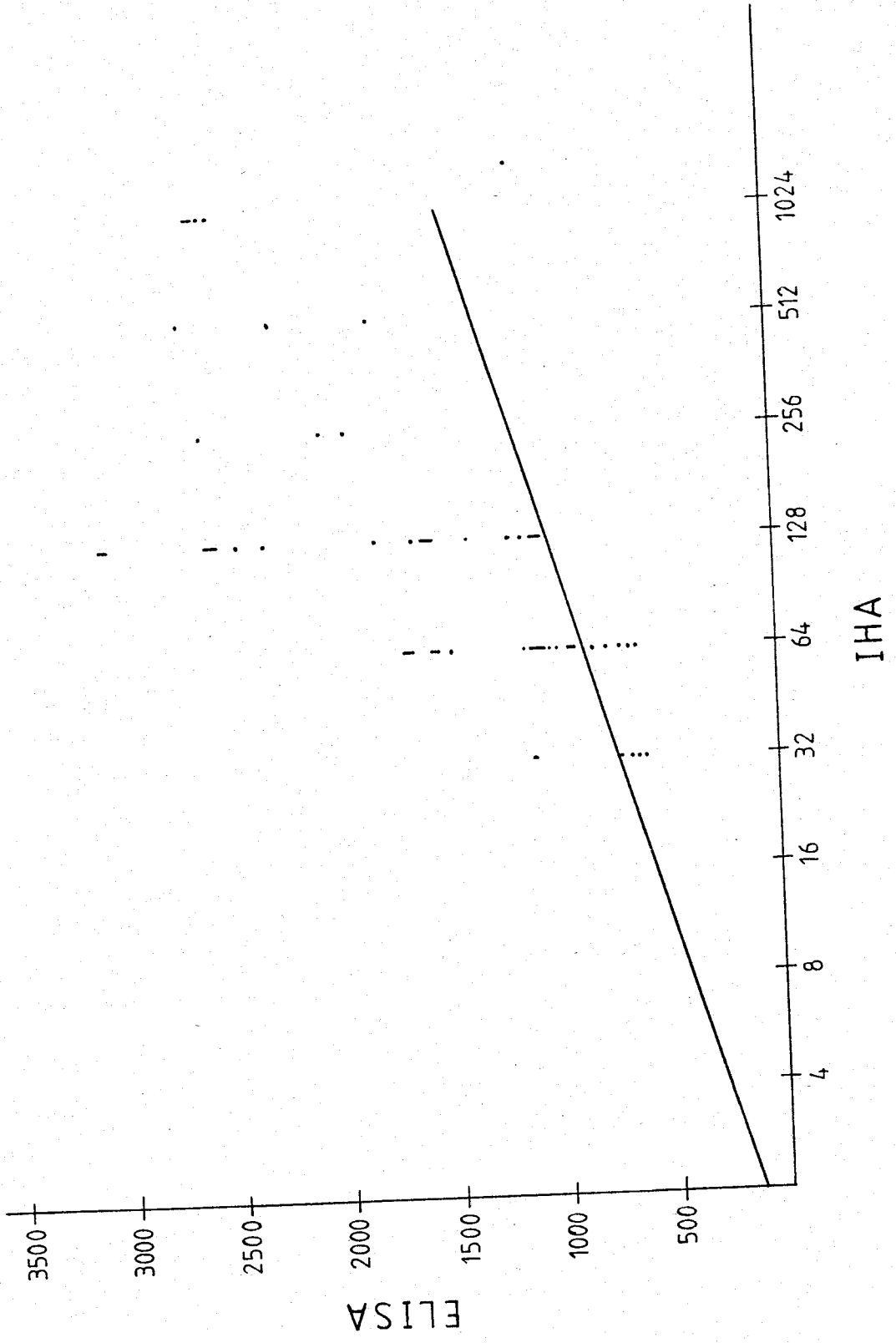
	ELISA IgC (%)	IHA(%)	D.Aglütinasyon (%)
Hassasiyet	97.5	97.5	95
Özgüllük	98	90	92
Tahmini negatiflik	97.5	80	90
Tahmini pozitiflik	98	97	96
Yalancı negatiflik	0.025	0.25	0.05
Yalancı pozitiflik	0.018	0.094	0.075

Ayrıca çalışmamızda kullandığımız ELISA IgG testi ile IHA ve direkt agglütinasyon testlerinin korelasyonları araştırılmıştır. ELISA IgG testi ile IHA testi arasında, toksoplazma serolojisinde önemli bir korelasyonun varlığı görülmüştür ($p < 0.05$, AMSTRAD ps 1512 ile hesaplanmıştır). Yine direkt aglütinasyon testi ile IHA testi arasındaki kuvvetli korelasyonun varlığı gösterilmiştir ($p < 0.05$). Bu korelasyonların varlığı çizilen korelasyon eğrilerinde de gösterilmiştir (grafik I-II).

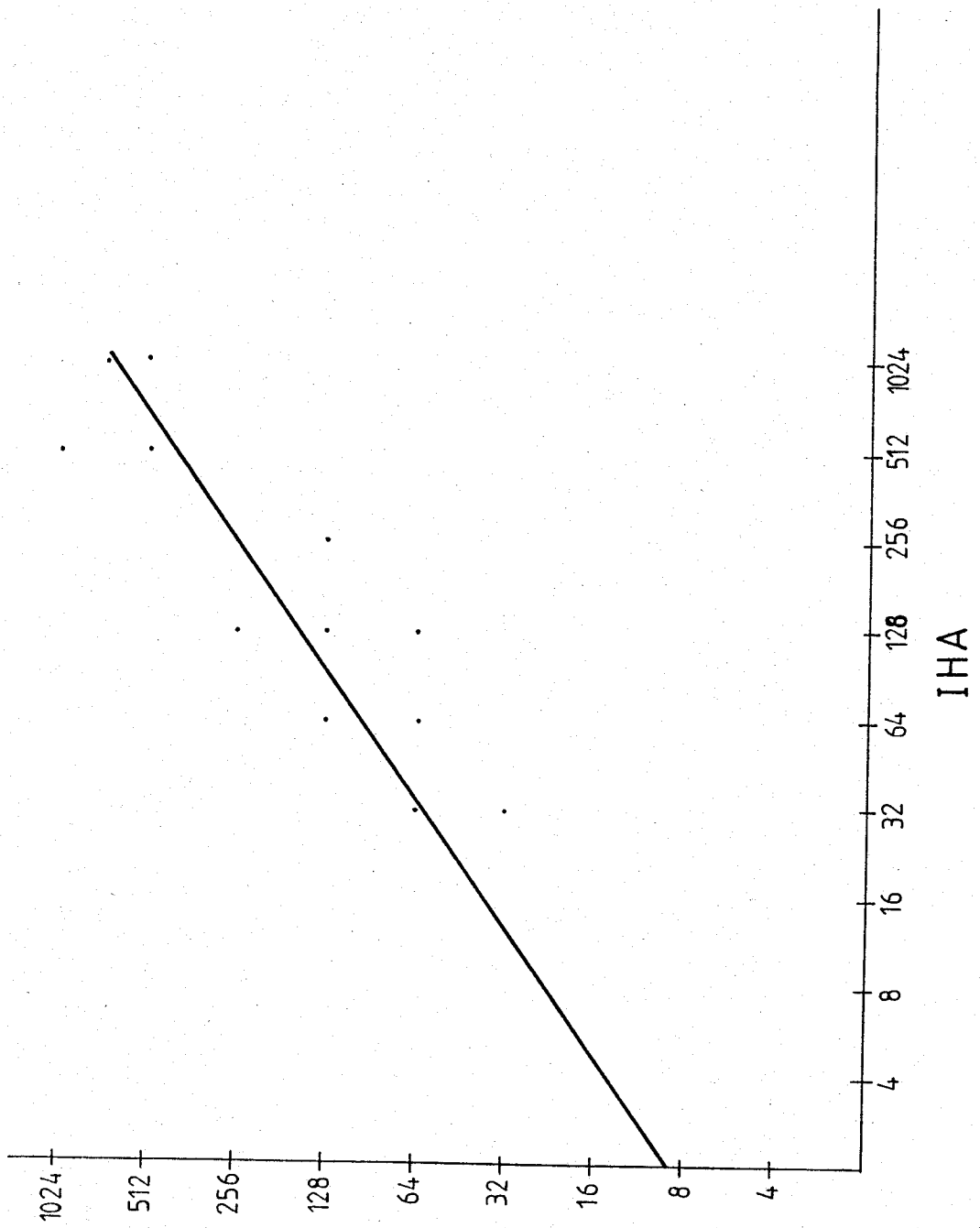
Testlerin hassasiyet ve özgüllükleri yanında birim maliyet ve her test için harcanan zaman açısından da karşılaştırılmıştır. Buna göre birim maliyetler, testlerin yapılması için harcanan zaman ve ön hazırlık tablo IV'te gösterilmiştir.

Ayrıca yöntemlerin gerektirdiği özel laboratuvar aletleri kaydedilmiş ve toksoplazma ELISA IgG, ELISA IgM, toksoplazma IFA çalışmalarının özel teçhizat gerektirdiği görülmüştür.

Grafik I : ELISA-IGG Ve IHA Testlerinin Karşılaştırılması



Grafik II : IHA ve Aglutinasyon testlerinin kıyaslaması.



Tablo IV: ELISA IgG, IFA, IHA, direkt aglütinasyon testlerinin birim maliyet, harcanan zaman ve gerektirdiği ön hazırlık bakımından karşılaştırılması.

	ELISA IgG	IFA	IHA	Direkt Ag.
Birim Maliyet (TL.)	4.000	4.000 _(*)	8.000 _(**)	8.000 _(**)
Harcanan Zaman (Sa.)	3	3	2	7
Ön Hazırlık	Var	Var	Yok	Yok

(*) : Çalışmamızda sadece 1:10 ve 1:40'lık dilüsyonlar yapıldığı için birim maliyetler buna göre hesaplanmıştır.

(**) : Birim maliyetler 1:16'lık dilüsyondan, 1:2048 dilüsyona kadar gidildiği düşünülerek hesaplanmıştır.

T A R T I Ő M A

Bilindiği gibi toksoplazmozis tüm dünyada yaygın olan ve Toksoplazma gondii'nin meydana getirdiği bir enfestasyondur(Yaşarol, 1983). Başlıca bulaşma yolları oral ve konjenital yol olan bu hastalığın, primer enfeksiyonu her ne kadar immun sistemi sağlam kişilerde hafif seyrediyor ise de esas korkulan yönünün immun sistemi çeşitli nedenlerle bozulmuş kimselerdeki ağır klinik tablosudur.

Özellikle toplum sağlığı açısından, hamilelerdeki primer enfeksiyonun neden olduğu dşğn yanında, konjenital malformasyonlara neden olması hastalığa özel önem vermeyi gerektirmektedir(Atasü ve Unat, 1985; Alfrød, Stagno ve Reynolds, 1974). Bilindiđi gibi hamilelik döneminde geğirilen hafif bir klinik tablo dahi ftste ağır hasarlara dahil olabilmektedir (Atasü ve Unat, 1985).

Toplum sağlığı açısından bu derece önemli yer tutan toksoplazmoziste tanı serolojik yöntemlerle konulmaktadır(Özcel, 1983). Doğaldır ki bu derece önemli klinik sonuçlara yol ağan toksoplazmozisde serolojik tanı için birçok yöntem klinik uygulamaya girmiştir(Yaşarol, 1983); Remington ve Desmonts, 1983). Biz bu çalışmamızda bu yöntemlerden çok azı hariç tümünü kullandık. Kullanmadığımız yöntemler; DS-ELISA, Toksoplazma IgM IFA, Sabin-Feldman boya testi, Kompleman fiksasyon testi, IgM ISA testidir.

Esas olarak toksoplazma serolojisinde serolojik göstergeler için temel kabul edilen Sabin-Feldman boya testini kullanmayı çok arzu etmemize rağmen teknik nedenler sebebiyle bu testi kullanamadık(Gülmezoğlu ve Gülmezoğlu, 1986). Diğer arzu etmemize rağmen yapamadığımız olay ise toksoplazma IFA testini çeşitli dilüsyonlarda uygulamak idi. Ancak bulgular kısmında da değindiğimiz gibi, iki dilüsyonda dahi 4.000 TL.'ye yaklaşan maliyetin ileri dilüsyonlarda katlanarak gitmesi ve içinde bulunduğumuz finansman güclüğü nedeniyle, IFA testini pozitiflik sınırı kabul edilen 1:40 dilüsyona kadar çalıştık ve Sabin-Feldman boya testini kullanmadığımız için birçok araştırmacı tarafından Sabin-Feldman boya testi ile çok yakın korelasyonu gösterilen IFA testini pozitiflik ve negatiflik açısından temel kabul ettik(Fletcher, 1965; Gülmezoğlu, 1968; Sulzer ve Holl, 1967; Walton, Benchoff ve Brooks, 1966).

Çalışmamıza aldığımız hastaların yaşları 15-45 arasında değişmekte olup, bunun başlıca sebebi toksoplazmozis riskini taşıyan doğurganlık yaşındaki grup olmasıdır. Biz test ettiğimiz serum örneklerinde, her üç yöntemle göre ortalama bir değer aldığımız zaman %43'ünün, toksoplazma açısından pozitif olduğunu saptadık.

Türkiye'de yapılan çalışmalarda bizim bulduğumuz değerlere yakın değerler bulunmuştur. Altıntaş, Sabin-Feldman boya testi ile %44.44 oranında, Ustaçelebi, 1986 yılında ELISA IgG testi ile %47.8 oranında seropozitiflik bulmuşlardır(Altıntaş, 1974; Ustaçelebi, 1986). Yurdumuzda yapılan seroepidemiolojik çalışmalar genellenirse prevalansın %11-60 arasında değiştiği bildirilmiştir(Altıntaş, 1986). Yabancı kaynaklı yayınlarda prevalansın %6'dan %90'a kadar değiştiği görülmektedir(Carter ve Frank, 1986; Feldman, 1982). Ancak bu çalışmalarda farklı serolojik testlerin kullanılma-

sı ve doğurganlık yaş sınırları dışındaki bireylerin de çalışmalara alınması farklı sonuçların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Ayrıca bizim çalışmaya aldığımız hasta sayısının az olması bulduğumuz değeri genellemeye engeldir.

Çalışmamızda kullandığımız yöntemlerden ELISA IgG yönteminin test parametreleri açısından kullandığımız yöntemler arasında en değerli yöntem olduğu bulgular kısmındaki tablo II ve III incelendiği zaman göze çarpmaktadır (IFA testi temel alınmış ve bu tartışmalardan uzak tutulmuştur).

ELISA IgG testinde, IFA testine göre 1 yalancı pozitiflik, 1 yalancı negatiflik gözlemiştir. Ancak bu hastaların sonuçlarına bakıldığı zaman (bulgular Tablo I) değerlerin, ELISA testinde kullanılan ve çeşitli kontrollerin verdiği optik dansite değerlerine göre saptanan "cutt off" değerine çok yakın sınırlarda olduğu görülmektedir.

IHA testinde yalancı pozitiflik veren serumların değerlerine bakıldığında bu değerlerin 1:4 ile 1:32 arasında değiştiği görülmektedir. Yine direkt aglütinasyon testinde saptanan, 4 yalancı pozitifliğin 1:16 ile 1:32'lik dilüsyon sınırları içinde kaldığı görülmektedir.

Yaptığımız bu testler arasındaki korelasyona baktığımız zaman direkt aglütinasyon ve IHA testleri arasında yakın bir korelasyon bulunmuştur. Buna karşılık ELISA IgG ve IHA arasındaki korelasyonun daha uzak olduğu saptandı.

Türkiye'de ve yurtdışında yapılan çeşitli çalışmalar ELISA IgG testinin, IFA ve Sabin-Feldman boya testi ile yakın uyum içinde olduğunu

göstermektedir(Carlier, 1980; Gülmezoğlu, 1986; Voller ve Bidwell, 1976). Burda toksoplazmozis serolojisinde DS-ELISA'dan sonra gelen bu üç önemli testin diğer yönlerini de tartışmak isteriz. Her nekadar Sabin-Feldman boya testi kliniğimiz tarafından uygulanmamış ise de, bu testin yöntemleri gözden geçirildiği zaman özel teçhizat gerektirdiği ve çok seri dilüsyonlarının yapılmasının gerekliliği yanında, laboratuvar riski taşıdığı da görülmektedir. Yine klasik olarak 1:1024 titre üzerindeki kabul edileceğine dair ilgilerin var olmasına karşılık, yapılan çalışmalar kronik olgularda dahi bu dilüsyonlardaki pozitifliğin yıllarca devam edebileceğini göstermiştir(Yaşarol, 1983). Ayrıca Cantürk tarafından yapılan son çalışmada Sabin-Feldman boya testinde titresini son derece yüksek hastalarda IgM antikorlarının negatifliğinin gözlemlendiği bildirilmektedir(Cantürk, 1988).

Bu durumdan da anlaşılacağı gibi Sabin-Feldman boya testinde de diğer testlerde olduğu gibi serokonversiyon varlığının araştırılması önem taşımaktadır. IFA testine baktığımız zaman ise özel teçhizat ve deneyimli personel gerektirmesinin yanında, bu testte de hasta serumlarının en az 1/2048 dilüsyona kadar çalışılmasına gerek duyulmaktadır. Yine total anti-kor bakan bu testte serokonversiyonun varlığı önem taşımaktadır. Diğer taraftan RF ve ANA pozitif olan hastalarda, toksoplazma IFA testinin yalancı pozitif reaksiyon verdiğinin bilinmesi, pozitif olguların bu yönde de araştırılmasını veya test edilecek serumun ön işleme tabi tutulmasını gerektirmektedir.

Testlerin aldığı zaman ve birim maliyet açısından tartışılması bizim açımızdan ayrıca bir önem taşımaktadır. Birçok araştırmacı tarafından birim maliyetlerin düşüklüğü ve kolay uygulanabilirliği yönünden IHA ve direkt aglütinasyon testi ön tarama testi olarak önerilmektedir.

Ancak biz bulgularımızın ışığı altında ve Türkiye'deki seropozitifliği gözönüne alarak ön tarama testlerinin gerekliliği konusunda şüpheye düşmekteyiz. Kabaca bakıldığı zaman dilüsyon gerektirmeyen durumlarda ELISA IgG testi hariç diğer testlerin birim maliyetlerinin katlanarak gittiklerini gözledik. Burada birim maliyetin artması yanında pozitif bulunan serum örneğinin ikinci defa çalışılmasının kaybettirdiği zamanı da gözönünde tutmak gerekir. Ayrıca IHA ve direkt aglütinasyon testi kolay sonuçlanabilen çabuk testle olarak yorumlanmış ise de bir kanın hastadan alınıp çalışma sonlandırılıncaya kadar geçen zamanı test başına hesapladığımız zaman en uzun zamanı direkt aglütinasyon testinin aldığını gözledik. Ayrıca ELISA IgG testinin dilüsyonlara gerek bırakmaması ve optik değerlerin spektrofotometrede okunmasının, bireysel hataları minimuma indirdiği kanısındayız.

Özet olarak, Toksoplazma serolojisinde uygulanan IFA, ELISA IgG, direkt aglütinasyon, IHA testlerini 93 serum örneğine uygulayarak edindiğimiz sonuçlar ELISA IgG testinin diğer testlerle mukayese edildiği zaman birim maliyet, güvenilirlik, aldığı zaman açısından üstün olduğudur.

Çalışmamızda 93 kişilik test grubunda 40(%43)'ünü pozitif bulduk. Bu da aşağı yukarı ön tarama testine alınacak her iki hastadan birinin tekrar dilüsyon testlerine alınması anlamına geldiğinden, ön tarama testlerinin yapılmasının gerekliliğinin aleyhinde düşünmekteyiz. Bize göre ELISA IgG testi ön tarama testlerinde dahi önerilebilecek bir testtir.

Tartışmamızın başında da belirttiğimiz gibi Sabin-Feldman boya testini çalışmaya almamamız, IFA testinde dilüsyonlara gitmememiz bizim bu çalışmadaki eksikliğimizdir. Çalışmamızın bundan sonraki çalışmalara ufak da olsa yardımcı olması en büyük dileğimizdir.

Ö Z E T

Toksoplazmozis'in serolojisinde farklı duyarlılık ve özgüllükte birçok serolojik test bulunmaktadır. Bunlar arasında en fazla kullanılanları, Sabin-Feldman boya testi, Floresan antikor testi, Aglütinasyon testleridir. Son yıllarda ise kullanımı yaygınlaşan ELISA IgG ve IgM testi seropozitifliği ve akut enfeksiyonu saptamada diğer testlerin yerini almaktadır.

Bizim çalışmamızda, doğurganlık yaşındaki kadınlardan sağlanan 93 serum örneğinde, toksoplazma IFA, ELISA IgG, ELISA IgM, Indirekt hemagglütinasyon, direkt aglütinasyon testleri çalışıldı ve bu testlerin duyarlılık, özgüllük, birim maliyet ve testin aldığı zaman karşılaştırıldı. Bu değerlendirmelerde IFA testi temel alındı.

IFA testi ile karşılaştırıldığında ELISA IgG testinin duyarlılığı, %97.5, özgüllüğü %98, IHA testinin duyarlılığı %97.5, özgüllüğü %90, direkt aglütinasyon testinin duyarlılığı %95, özgüllüğü %92 olarak bulunmuştur.

Toksoplazma ELISA IgM testinde pozitiflik saptanmamıştır.

S U M M A R Y

In the serology of toxoplasmosis many specific and sensitive serologic tests are used. Comments of these tests are Sabin-Feldman dye test, Fluorescent-Antibody test and Agglutination test. In the recent years, ELISA IgG and IgM tests are taking the place to determine seropositivity and acute infection.

In our studies, Toxoplasma IFA ELISA IgG, ELISA IgM, Indirect hemagglutination, direct agglutination have been tested in the 93 serum samples obtained from reproductive women and specificity, sensitivity, unit costing and timing of tests are compared in this evaluation IFA test are used.

As compared with IFA test, ELISA IgG specificity %98, sensitivity %97.5, IHA specificity %90, sensitivity %97.5, Direct agglutination specificity %92, sensitivity %95 have been found.

No positive have been found in the toxoplasma ELISA IgM.

K A Y N A K L A R

1. Akman, M., Gülmezoğlu, E.: Tıbbi Mikrobiyoloji. II.Baskı H.Ü. Yay. Ankara, 860-862, 1976.
2. Alfrod, C.A., Stagno, S. and Reynolds, D.W.: Congenital Toxoplasmosis: Clinical, Laboratory and Therapeutic Considerations, With Special Reference to Subclinical Disease Bul. N. Y. Acad. Med. 50:2, 160-181, 1974.
3. Altıntaş, K.: Toxoplasmosis. Türkiye Klinikleri 6:1, 87,91, 1986.
4. Altıntaş, K.: Toxoplasmosis tanımında uygulanan yöntemlerin kalitatif ve kantitatif değerleri. Mikrobiol.Bült. 8:(1), 1, 1974.
5. Arajuo, F.G., Hondman, E., Remington, J.S.: Use of Monoclonal Antibodies to Detect Antigens of *T. gondii* in serum and Other Body Fluids. Infect Immun. 30:1, 12-16, 1980.
6. Arajuo, F.G., Barnett, E.V., Gentry, L.O. and Remington J.S.: False-Positive Anti-Toxoplasma Fluorescent-Antibody Tests in Patients with Antinuclear Antibodies: App Mikrobiol. 22:3, 270-275, 1971.
7. Atasü, T., Unat, E.K.: Toksoplazmoz ve Gebelik, İstanbul, 1985.
8. Balfour, A.H., Fleck, D.G. et al.: Comparative study of three tests (Dye test, IHAT, Latex Agglutination test) for the detection of antibodies to *T.gondii* in human sera. J.Clin. Pathol. 35:228-232, 1982.
9. Bernard E., Statland, North America, M.D., Ph.D., 71:4, 628-630, 1987.
10. Camargo, M.E. et al.: IgG and IgM ELISA and Defined Toxoplasmosis Serological Patterns. Infect Immun. 21:1, 55-58, 1978.

11. Cantürk, H.: Doğurganlık yaşındaki kadınlarda toksoplazma seropozitiflik oranının saptanması, toksoplazma ELISA-IgG, Sabin-Feldman boya testi, latex aglütinasyon testlerinin kıyaslaması. Uzmanlık Tezi, 1988.
12. Carlier, V.: Evaluation of ELISA and other serological tests for the diagnosis of toxoplasmosis. Bull. World Health Org. 58:1, 99-105, 1980.
13. Carter, A.D., Frank, J.W.: Congenital toxoplasmosis epidemiologic features and control. CMAJ. Vol. 135:618-623, 1986.
14. Çetin, Enver T., Ang, Ö., Töreci, K.: Tıbbi Parazitoloji. III.Baskı, İst.Üniv. Tıp Fak. Yay., 138-146, 1983.
15. Desmots, G., Couvreur, J.: Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. Bull. N. Y. Acad. Med. 50:2, 146-159, 1974.
16. Desmots, G., and Remington, J.S.: Direct Agglutination Test for Diagnosis of Toxoplasma Infection: Method for Increasing Sensitivity and specificity. J.Clin.Mikrobiol. 11:6, 562-568,1980.
17. Desmots, G., Naot, Y., Remington, J.S.: IgM-Immunsorbent Agglutination Assay for Diagnosis of Infectious Disease: Diagnosis of Acute Congenital and Acquired Toxoplasma Infection. J.Clin.Microbiol. 14:5, 486-491, 1981.
18. Dubey, J.P.: Prevention of Abortion and Neonatal Death. Dua to Toxoplasmosis by vaccination of Goats with Non-pathogenic Cuccidion Hammondia hammondi. Am.J.Vet. Res. 42:2155-2157,1981.
19. Engvall, E., Perlman, P.: Enzyme-Linked Immunsorbent Assay (ELISA). Quantitative Assay of Immunoglobulin G. Immunochem. 8:871-874, 1971.
20. Feldman, H.A.: Epidemiology of toxoplazma Infections. Epid. Reviews. Vol. 4, 204-213, 1982.
21. Fletcher, S.: Indirect Fluorescent Antibody Technique in the Serology of T.gondii. J.Clin.Pathol. 18:193-199, 1965.
22. Frenkel, J.K.: Toxoplasmosis: Pediatric Clinics of North America 32:4, 917-932, 1985.

23. Frenkel, J.K.: Pathology and Pathogenesis of Congenital Toxoplasmosis. Bull. N. Y. Acad. Med. 50:2, 182-191, 1974.
24. Frenkel, J.K.: Congenital toxoplasmosis: Prevention and Palliation? Amer. J. Obst. Gyn. 141:4, 359-361, 1981.
25. Frenkel, J.K., Dubey, J.P. and Miller, N.L.: T.gondii: Fecal Stages Identified as Coccidian Oocysts. Science. 167:893-896, 1970.
26. Gülmezoğlu, A.M., Gülmezoğlu, E.: Toksoplazmozis tanısında serolojik testlerin değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni, 20:4, 295-303, 1986.
27. Gülmezoğlu, E.: Toksoplazmozis Teşhisinde Floresan Antikor Tekniğinin Kullanılması. Mikrobiyoloji Bülteni, Cilt:2, 93-100, 1968.
28. Harrison's: Principles of Internal Medicine 9th Edition, Kossaido Pr. Co, Tokyo, 879-885, 1980.
29. Hutchinson, W.M. et al.: Coccidian-like nature of T.gondii. Brith Med. Jour. 1:142-144, 1970.
30. Hyde, B., Bornette, E.V. and Remington J.S.: Method for Differentiation of Non-Specific from Specific Toxoplasma IgM Fluroscent Antibodies in Patients with Rheumatoid Factor. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 148:1184-1188, 1975.
31. Jacobs, L.: Toxoplazma gondii. Parasitology and Transmission. Bull. N.Y. Acad. Med. 50(2): 128-145, 1974.
32. Kimbal, A.C., Kean, B.H., Fuchs, F.: The role of toxoplasmosis in abortion. Amer. J. Obstet. Gyn. 111:2, 219-226, 1971.
33. Kwantes, W.: Toxoplasmosis. Oxford Testbook of Medicine. Vol.1: 5400-5404, 1983.
34. Lelong, M., Desmonts, G.: L'emploi du microscope a controte de phase dans la reaction de Sabin-Feldman Compt. Rend. Soc. de Biol. 145:1160-1164, 1951.
35. Luft, J.B., Kansas, G., Engleman, G.E. and Remington J.S.: Functional and Quantitative Alterations in T-Lymphocyte Subpopulations in Acute Toxoplasmosis. J. Infect Dis. 150:5, 761-767, 1984.

36. Mandel, G., Douglas, G., Bennet, J.: Infectious Diseases and Their Etiologic Agents. A Wiley Publications., New York, 1985.
37. McGraw, T.P., Dizikes, J. and Bruckner, D.: Acute phase Serodignosis using Quick-Sep Ion-Exchange Chromotography. Amer.J.Clin.Pathol. 83:4, 488-491, 1985.
38. Merdivenci A.: Medikal Protozoloji, II.Baskı, İst.Üniv.Tıp Fak. Yay. İstanbul, 554-596, 1979.
39. Naot, Y., Barnett, E.V. and Remington, J.S.: Method for Avoiding False-Positive Result Occuring in IgM-ELISA Due to presence of Both Rheumatoid factor and Anti-nuclear Antibodies. J.Clin.Microbiol. 14:73-78, 1981.
40. O'Connor, G.R.: Manifestation and management of ocular toxoplasmosis. Bull. N.Y. Acad. Med. 50(2): 192-209, 1974.
41. Ordenez, A.G., Newman, T.J. and Stone, J.M.: Serological Diagnosis of T.gondii infections by Rapid Separation of serum IgM and IgG with CM Bio-Gel. A.J.Clin Microbiol. 16:4, 751-753, 1983.
42. Özcan, K.: Ankara'da sağlıklı kişilerde Toxoplasma antikorlarının Dolaylı Floresan Antikor tekniği ile gösterilmesi, İhtisas Tezi, Ankara, 1979.
43. Özcel, M.A., Sermet, İ.: Toxoplasmosis'in laboratuvar teşhisi. Ş.Yaşarol (Edit.): Toxoplasmosis. Türk Parazitoloji Derneği Yayını. No.3:95, 1983.
44. Payne, R.A., Francis, J.M. and Kwantes, W.: Comprasion of a latex agglutination test with other serological tests for the measurment of antibodies to T.gondii. J.Clin Pathol. 37: 1293-1297, 1984.
45. Remington, J.S., and Desmonts, G.: Toxoplasmosis in Remington, J.S., and Klein, J.O.(eds.) Infectious Diseases of the Fetus and Newborn. Philadelphia, W.B. Saunders, 143-263, 1983.
46. Remington, J.S.: Toxoplasmosis in the Adult Bull. N.Y. Acad. Med. 50(2): 211-227, 1974.

47. Remington, J.S., Miller, M.J. and Brownles, I.: IgM antibodies in acute toxoplasmosis I. Diagnostic significance in congenital cases and a method for their rapid demonstration. Pediatrics 41:1082-1091, 1968.
48. Remington, J.S.: The present status of the IgM-IFA technique in the diagnosis of congenital toxoplasmosis. J.Pediatr. 75: 1116-1124, 1969.
49. Remington, J.S., Eimstad, W.M. and Arajuo, F.G.: Detection of IgM Antibodies with Antigen-Tagged Latex Particles in an Immunosorbent Assay. J.Clin. Microbiol. 17:5, 939-941, 1983.
50. Rougier, D. and Ambroise-Thomas, P.: Detection of Toxoplasmic Immunity by Multipuncture Skin Test With Excretory-Secretory (ES) Antigen. Lancet. July 20, 121-123, 1985.
51. Sabin A.B. and Feldman, H.A.: Dyes as Microchemical Indicators of a New Immunity Phenomenon Affecting a Protozoan Parasite (Toxoplasma). Science. Vol. 108, 660-663, 1948.
52. Siegel, J.P., Remington, J.S.: A Comparison of methods for quantitating antigen-Specific IgM antibody using a reserve ELISA. J.Clin. Microbiol. 18:63, 1983.
53. Sulzer, A.J. and Holl, A.J.: Indirect Fluorescent Antibody Tests for Parasitic Tests: Statistical Study of Variation in the IFA test for Toxoplasmosis. Ame. J. Epid. 86:2, 401-407, 1967.
54. Sümbüloğlu, K., Sümbüloğlu, V.: Biyoistatistik. Ankara, 1987.
55. Stray-Pederson, B., Lorentsen-Styr, A.M.: Uterine Toxoplasma Infections and repeated abortions. Amer. J. Obst. Gyn. 128: 7, 716-721, 1977.
56. Turunen, H.J., Leinikki, P.O. and Saari, K.M.: Demonstration of Intraocular Synthesis of IgG Toxoplasma Antibodies for Specific Diagnosis of Toxoplasmic Chorioretinitis by Enzyme Immunoassay. J.Clin.Microbiol. 17:6, 988-992, 1983.

57. Ustağelebi, Ş. ve ark.: Hamilelikte Torch Etkenlerine karşı Antikorların Saptanması. Mikrobiol. Bült. 30(1), 1, 1986.
58. Voller, A., Bidwell, D.E. et al.: A microplate-immunoassay for toxoplasma antibody. J. Clin. Pathol. 29:150-153, 1976.
59. Wallece, G.D.: The role of the cat in the natural history of T.gondii. Ame. J. Trop. Med. Hyg. 22:3, 313-322, 1973.
60. Walton, B.C., Benchoff, B. M. and Brooks, W.H.: Comprasion of the Indirect fluorescent Antibody Test and Methylene Blue Dye Test for Detection of Antibodies to T.gondii. Ame. J. Trop. Med. Hyg. 15:2, 149-152, 1966.
61. Welch, P.C., Masur, H., Jones, T.C. and Remington, J.S.: Serologic Diagnosis of Acute Lymphadenopathic Toxoplasmosis. J. Infect Dis. 142:2, 256-264, 1980.
62. Werk, R.: How Does T.gondii Enter Host Cells? Rew Infect. Dis: Vol.:7 No: 4, 449-457, 1986.
63. Wilson, C.B., Desmots, G., Couvreur, J. and Remington J.S.: Functional and Quantitative Alterations in T-Lymphocyte Subpopulations in Acute Toxoplasmosis. J. Infect Dis. 150:5, 761-767, 1984.
64. Yaşarol, Şevket.: Toksoplazmozis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, İzmir, 1983.