

## TOKSOPLAZMOZİSDE OLUŞAN ANTİKORLARIN SAPTANMASINDA İHA ve ELISA YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI \*

Dr. Bülent BAYSAL \*\*, Dr. İnci TUNCER \*\*\*, Dr. A. Zeki ŞENGİL \*\*\*\*

### ÖZET

*Bu çalışmada, toksoplazmozis şüpheli kişilerden alınan 200 serum örneğine İndirekt Hemagglütinasyon ve ELISA Ig G ve Ig M testleri uygulanmıştır. İndirekt Hemagglütinasyon ile 104 adet serum (%52) 1/64 ve üzerindeki titrelerde pozitif sonuç alınmıştır. ELISA Ig G testinde 88 (%44) pozitif, Ig M de ise 40 (%20) pozitif değerler elde edilmiştir. ELISA Ig G ile İndirekt Hemagglütinasyon testleri arasında %71 oranında uygunluk saptanmıştır. Bulunan değerlerle literatür verileri karşılaştırılarak her iki testin üstünlükleri, duyarlılıkları ve uygunlukları tartışılmıştır.*

### SUMMARY

#### *Comparison of Measurements Toxoplasma Antibodies With ELISA and Indirect Haemagglutination Methods*

*In this study, 200 serum samples which were taken from suspected patients with toxoplasmosis were applied to Indirect Haemagglutination and ELISA IgG and IgM tests. Positive results were recorded within 104 samples (52%) for Indirect Haemagglutination, 1/64 and more titers. 88 positive volumes (44%) were found in ELISA IgG test, as for IgM test 40 (20%) were found. An agreement of 71% was established between ELISA IgG and Indirect Haemagglutination tests. Consequently comparing the discovered values and data, specificity, sensitivity and agreement both tests were discussed.*

### GİRİŞ

Toksoplazmozis, *Toxoplasma gondii* adı verilen parazitin oluşturduğu infeksiyonun adıdır. Etken konağın MFS (Mononükleer Fagosit Sistem) hücrelerine dalak, karaciğer, beyin ve diğer organların parankim dokularına yerleşerek, intrauterin hayattan başlayarak her yaştaki kişiyi infekte edebilir (1).

Tüm dünyada yaygın olarak görülen bu parazit memeli ve kanatlıların en önemli zoonozudur. Doğada kedigiller anakonakıdır. Kedi dışkısı ile atılan ookistlerin ya da doku kistleri içeren hayvan etlerinin çiğ veya az pişmiş yenmesi ile insanlarda hastalık oluşmaktadır (1, 2). İnsanlarda oluşan bu infeksiyon genellikle belirtisizdir, ancak immün sistemi baskılanmış kişilerde önemli şekilde patoloji oluşabilmektedir.

İnsandan insana bulaşma sadece hamilelikte fötusa geçiş ile olur. Gebelikten önce seropozitif kişiler bağışık oldukları için gebelikleri süresinde akut bir toksoplazmozis geçirmezler ve konjenital toksoplazmozis riski yoktur. Seronegatif olup gebelikleri sırasında akut infeksiyon geçiren kadınların %40'ında infeksiyonu fötusa geçirme riski

\* Çalışma Selçuk Üniv. Araştırma Fonundan Desteklenmiştir.

\*\* S.Ü.T.F. Mikro. ve Klin. Mikro ABD Öğretim Üyesi, Doç. Dr.

\*\*\* S.Ü.T.F. Mikro. ve Klin. Mikro. ABD Öğretim Üyesi, Yard. Doç.

\*\*\*\* S.Ü.T.F. Mikro. ve Klin. Mikro. ABD Uzm. Dr.

vardır. Toksoplazmozisin oldukça yaygın görülmesi nedeniyle tanısında kullanılan yöntemler de her geçen gün gelişmektedir. Bu sayede hastalığın erken dönemde tanımlanabilmesi ve tedavisi mümkün olmaktadır. Hastalığın tanısında en güvenilir yöntem hiç kuşkusuz direkt olarak etkenin gösterilmesidir. Ancak etken parazitin izolasyonu ve tanımlanması oldukça güçtür. Bu nedenle tanıda çoğunlukla konakta oluşan antikorların gösterilmesi esasına dayanan serolojik tetkiklerden yararlanılmaktadır. Kullanılan serolojik yöntemlerin duyarlılıkları ve özgüllükleri birbirlerinden farklıdır. Kullanılan yöntemler; Immuno-Floresan testi, İndirek Floresan Antikor testi, Kompleman Fiksasyon testi, İndirek Hemaglutinasyon (IHA) testi, Direkt Aglutinasyon testi, Nötrolizasyon testi, Toksoplazmin Deri testi, Sabin-Feldman (Dye) testi, Southern-Blot testi ve Radio Immuno Assay, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile Carbon Immuno Assay testleridir (3, 6, 9, 12, 13, 18).

Çalışmamızda toksoplazmozisin serolojik tanısında kullanılan IHA ve ELISA testlerinin aynı kişilerdeki bulguları karşılaştırılmış ve her iki testin üstünlükleri ve özgüllüklerinin tartışılması amaçlanmıştır.

## MATARYEL ve METOD

Çalışmamızda Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı rutin laboratuvarına başvuran toksoplazmozis şüpheli kişilerin kan serumları kullanıldı. Alınan serumlar test edilinceye kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'deki deep-freezede saklandı.

IHA testi Wellcome firmasından temin edilen ToxHA test kitleri kullanılarak yapıldı. "V" tabanlı mikropleytlerde hasta serumları 1/64 den 1/4096'ya kadar titre edilerek çalışıldı. Sonuçlar, 1/64 titrenin altındakiler negatif, 1/64 ve üzeri titreler pozitif olarak değerlendirildi (1, 2).

ELISA Ig G ve Ig M testi, Istito Immunologico Italiano (Ismunit) firmasından temin edilen kitlerle, Toxoplasma gondi'ye karşı spesifik olarak oluşan Ig G ve Ig M antikorlarının tesbiti için kullanılan mikro ELISA yöntemi ile çalışıldı. Sonuçlar 492 nanometredeki absorbands değerleri üzerinden pozitif veya negatif olarak değerlendirildi.

Hasta serumları yukarıda tanımlanan IHA ve ELISA yöntemleri ile aynı anda paralel olarak çalışıldı.

TABLO I

*Toxoplasmosis şüpheli hastalarda uygulanan test yöntemlerinin sonuçları*

	NEGATİF		POZİTİF	
	(%)	(AD)	(%)	(AD)
IHA*	48.0	(96)	52.0	(104)
ELISA-IgG	56.0	(112)	44.0	(88)
ELISA-IgM	80.0	(160)	20.0	(40)

\*: IHA: İndirek Hemaglutinasyon, 1/64 ve üzeri titreler pozitif kabul edilmiştir.

TABLO 2  
Elisa-Ig G indirek hemaglutinasyon (IHA) sonuçlarının karşılaştırılması

ELISA-IgG	İNDİREKT HEMAGLÜTİNASYON	
	NEGATİF (%) (Ad)	POZİTİF (%) (Ad)
NEGATİF (%)	38.0 (78)	18.0 (36)
POZİTİF (%)	11.0 (22)	33.0 (66)

## BULGULAR

Toksoplazmozis şüpheli 200 hastadan alınan serum örneği *Toxoplasma gondii* serolojisinde kullanılan IHA ve ELISA Ig G ve Ig M testleri uygulanarak değerlendirilmiş ve bulunan değerler karşılaştırılmıştır. Yapılan değerlendirmede 96 (%48) serum IHA ile negatif bulunurken, 104 (%52) serum pozitif olarak saptanmıştır. ELISA Ig G testinde ise 112 (%56) serum örneği negatif, 88 (%44) serum örneği pozitif bulunmuştur. Hasta serumlarının 160 (%80)'ı ELISA Ig M negatif, 40 (%20)'ı pozitif olarak değerlendirilmiştir. Toksoplazmozis şüpheli hastalarda uygulanan test yöntemlerinin sonuçları Tablo: 1'de sunulmuştur. Tablo: 2'de sunulan ELISA Ig G ve IHA sonuçlarının karşılaştırılmasında ise, 78 (%38) serum örneğinde her iki testle de negatif 66 (%33) serum örneğinde ise her iki testte de pozitif bulunmuştur. Buna göre testlerde %71 oranında uygunluk saptanmıştır.

## TARTIŞMA

İnsanlarda toksoplazmozise neden olan protozoonun direk olarak ya da üretilerek gösterilmesi çok özel laboratuvar imkanlarını gerektirdiğinden yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bu nedenle hastalığın tanısında serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır. *Toxoplasma gondii*'ye karşı oluşan antikorların saptanmasında kullanılan test yöntemlerinin hepsi farklı duyarlılık ve özgüllükte olup, çoğunluğu Ig G sınıfı antikorları belirlemektedir (7, 11). Bunlardan İndirekt Floresen Antikor ve ELISA testleri özgül Ig G ve Ig M türü antikorları saptamaktadır. Buna bağlı olarak da hastalığın seyri ve test sonuçlarının değerlendirilmesi kolaylaşmaktadır.

Araştırmacılar toksoplazma antikorlarının varlığını IHA yöntemi ile yaptıkları çalışmalarında 1/64 titrenin altında %43-47 oranında negatif, 1/64 titrenin üzerinde %54-57 oranında pozitif sonuçlar bulmuşlardır (1, 2). Balsari ve ark. (9) ise yine IHA yöntemi ile 86 serum örneğinin 24'ünü negatif, 29'unu şüpheli ve 33'ünü pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar anti-toksoplazma antikorlarının gösterilmesinde ELISA testini değerlendirmişler özellikle akut infeksiyonlarda Ig M antikorlarının varlığının tesbit edilmesindeki üstünlüğünü vurgulamışlardır (13, 14). Woodward (13)'ün yaptığı ELISA ve IHA testlerinin karşılaştırmalı çalışmasında 1760 serum örneğinde %4.8 her iki testte de pozitif sonuç alınırken, %2 ELISA pozitif IHA negatif, %2 ELISA negatif IHA pozitif değerler göstermiştir. Camargo ve ark. (15) çalışmaları serum örneklerinde ELISA Ig G ile IHA arasında %89 uygunluk saptamışlardır. Çeşitli araştırmacılar ELISA testini

diğerleri ile karşılaştırdıklarında bunun bir referans testi olarak görülebileceğini, IHA ve diğer hassas testlerle çok iyi bir uygunluk gösterdiğini savunmuşlardır (9, 16). Payne ve ark. (17) hastalığın ileri dönemlerinde IHA titresinin yüksek olduğunu bunun yanında ELISA ile anti-toksoplazma Ig M'in akut dönemden başlayarak 9 ay süre sonunda bile tesbit edilebileceğini vurgulamışlar ve bu testin daha duyarlı, özgül ve uygulanabilir olduğunu bildirmişlerdir. Balfour ve ark. (12)'nin ileri sürdüğü gibi IHA testi küçük laboratuvarlar için pek çok avantaja sahiptir. Ancak yalancı pozitif ve negatif seviyesinin düşürülmesi gerekmektedir. Ayrıca hastalığın erken döneminde teşhis duyarlılığının az olması da dikkate alınmalıdır.

Çalışmamızda IHA ile test edilen 200 serum örneğinden 96 (%48)'sında 1/64 titrenin altında negatif, 104'ünde (%52) 1/64 titrenin üzerinde, pozitif sonuç alınmıştır. ELISA testinde 112 (%56) serum Ig G negatif, 88 (%44) serum pozitif bulunmuştur. Ig M pozitifliği ise 40 (%20) serum örneğinde saptanmıştır. 200 serum örneğinin %33'ü her iki testte de pozitif, %38'i negatif bulunmuştur. Böylece ELISA Ig G ile IHA testleri arasındaki uygunluk %71 olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak bulgularımız literatür verileri ile kıyaslandığında ELISA yöntemi infeksiyonun her döneminde antikor varlığını göstermekte ve özgül Ig M'in saptanması ile intrauterin ve akut infeksiyonların gösterilmesi sağlanmaktadır. Ayrıca daha özgül ve daha duyarlı olması nedeniyle toksoplazmozisin serolojik tanısında tercih edilmelidir.

#### KAYNAKLAR

1. Cristie A.B.: Infectious Diseases: Epidemiology and Clinical Practice. Fourth Ed., Vol. 2, Churchill Livingstone, Edinburg London and New York, 1987.
2. Braude A.I., Davis C.E.: Infectious Diseases and Medical Microbiology. pp. 1521-35, W.B. Saunders Company, 1986.
3. El-Fandi R., Ustaçelebi Ş., Cantürk H., Altıntaş K.: Toxoplasma gondii serolojisinde Sabin-Feldman Dye ve ELISA-Ig G testlerinin kıyaslanması. Mikrobiyol. Bül. 21, 10-15, 1987.
4. Jacobs L., Lunda M.N.: Haemagglutinations in Diagnosis of Toxoplasmosis. J. Parasitol. 43, 38, 1947.
5. Joklik W.K., Willet H.P., Amos D.B.: Zinsser Microbiology. 189. Ed., pp. 1225, Appleton-Century-Crofts/Norwalk Connecticut. U.S.A. 1984.
6. Unat E.K.: Tıp Parazitolojisi (İnsan Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla oluşan Hastalıkları). 2. Baskı, s. 557, Çeltüt Matbaacılık Koll. Şti., İstanbul, 1979.
7. Atasüt., Unat E.K.: Toksoplazmoz ve Gebelik. Başkent Ofset, İstanbul. 1985.
8. Balfour A.H., Fleck D.G., Hughes H.P.A., Sharp D.: Comparative Study of three Tests (Dye test, Indirect Haemagglutination test, Latex Agglutination test) For the Detection of Antibodies to Toxoplasma gondii in Human Sera. J. Clin. Pathol. 35, 228-32, 1982.
9. Balsari A., Poli G., Molina V., Dosis M., Petruzelli E., Boniola A., Rolleri E.: ELISA for Toxoplasma Antibody Detection: A comparison with other Serodiagnostic Tests. J. Clin. Pathol. 33, 640-3, 1980.
10. Chang G.N., Nemzek J.A., Tjostem J.L., Gabrielson D.A.: Simple Haemagglutination Inhibition Test For the Diagnosis of Toxoplasmosis J. Clin. Microbiol. 180-3, 1985.
11. Öbek A.: İç Hastalıkları. 2. Baskı., s. 173, Korkmaz Ofset, Bursa, 1987.
12. Balfaur A.H., Bridges J.B., Harford J.P.: An Evaluation of the ToxIIA Test for the Detection of Antibodies to Toxoplasma gondii in Human Serum. 33, 644-7, 1980.

13. Woodward B.C.: Evaluation of an ELISA specific for Human Immunoglobulin G as a Screening Test for Detecting Anti-Toxoplasma Antibodies. J. Clin. Microbiol. 16, 367-72, 1982.
14. Naot Y., Desmonts G., Remington J.S.: Ig M ELISA Test for the Diagnosis of Congenital Toxoplasma Infection. J. Pediatr. 98, 32-6, 1981.
15. Camargo M.E., Ferreira A.W., Mineo J.R., Takiguti C.K., Nakahara O.S.: Ig G and Ig M ELISA and Defined Toxoplasmosis Serological Patterns. Infect. Immun. 21, 55-8, 1978.
16. Carlier Y., Bout D., Dessaint J.P., Capron A., Knapen F.V., Ruitenbergh E.J., Berquist R., Huldt G.: Evaluation of the ELISA and Other Serological Tests for the Diagnosis of Toxoplasmosis. Bull. WHO. 58, 99-105, 1980.
17. Payne R.A., Francis J.M., Kwantes W.: Comparison of a Latex Agglutination Test With Other Serological Tests for the Measurement of Antibodies to Toxoplasma gondii. J. Clin. Pathol. 37, 1293-7, 1984.
18. Konishi E.: Change of Immunoglobulin G Antibody levels to Toxoplasma gondii During Pregnancy in an Obstetric Population. Am. J. Obstet. Gynecol. 160, 356-7, 1989.

## BULGULAR

Çocukluk çağı toksoplazmozis hastalığı, dünya genelinde ELISA yöntemiyle saptanmaktadır. Bu çalışmada, 100 adet gebelik serumu ve doğum sonrası 10 gün içinde alınan bebek serumları, IHA ve ELISA yöntemleriyle karşılaştırılmıştır. ELISA yöntemi, IHA'ya göre daha duyarlı ve spesifik olduğu görülmüştür. Özellikle düşük titreli antikorları tespit etmede ELISA yöntemi daha başarılıdır. Ayrıca, ELISA yöntemi, daha az miktarda serum gerektirdiği için, özellikle bebek serumlarında daha kolay uygulanabilir. Çalışmamızın sonuçları, ELISA yönteminin, toksoplazmozis hastalığının tanısında, özellikle düşük titreli antikorları tespit etmede, IHA'ya göre daha duyarlı ve spesifik olduğunu göstermektedir. Ayrıca, ELISA yönteminin, daha az miktarda serum gerektirdiği için, özellikle bebek serumlarında daha kolay uygulanabilir. Çalışmamızın sonuçları, ELISA yönteminin, toksoplazmozis hastalığının tanısında, özellikle düşük titreli antikorları tespit etmede, IHA'ya göre daha duyarlı ve spesifik olduğunu göstermektedir.