

## TOXOPLASMOSİS'DE IgG VE IgM SEVİYELERİNİN ELISA İLE ÖLÇÜMÜ VE BU TESTİN TANI İÇİN ÖNEMİ

Serdar DEĞER<sup>1</sup> Rifat CANTORAY<sup>1</sup> Abdurrahman GÜL<sup>1</sup> Cihangir AKDEMİR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı Van-TÜRKİYE

### Determination of IgG and IgM titers in Toxoplasmosis and the Importance of this Test For Diagnosis

**Summary:** This study has been done to determine percentage of the IgG and IgM titers in sera of healthy women with ELISA and put the importance of ELISA test in diagnosis in Toxoplasmosis.

In evaluation of ELISA test in diagnosis for Toxoplasmosis, it has been found to be sensitive, correlation and time saving.

IgM and IgG levels has been determined in healthy women's sera with ELISA IgG and IgM titers in these sera with ELISA IgG and IgM titers in these sera has been found as 73.3 % and 13.3 %, respectively.

Finally, the determination of IgG for Toxoplasmosis with ELISA has shows to be satisfactory. But IgM titers has to be supported by an another serologic test.

**Key Words :** Toxoplasmosis, IgG , IgM , ELISA

**Özet :** Bu çalışma Toxoplasmosis'in tanısında ELISA testinin önemini ortaya koymak ve ELISA testi ile sağlıklı görünen kadınların kan serumlarında IgG ve IgM antikor titrelerinin % oranlarını saptamak amacıyla yapılmıştır.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda ELISA testinin Toxoplasmosis'in tanısında duyarlı, uyumlu ve zaman açısından ekonomik bir test olduğu tespit edilmiştir. Sağlıklı görünen kadınların kan serumlarında IgG yönünden % 73.3, IgM yönünden ise % 13.3 pozitif titre saptanmıştır.

Sonuç olarak Toxoplasmosis'te akut enfeksiyonları tespit ederken ortaya çıkan pozitif titrelerin özellikle IgM yönünden ikinci serolojik bir test ile doğrulanmasının daha güven verici olacağı kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Toxoplazmozis, IgG, IgM, ELISA

### Giriş

Toxoplasmosis Türkiye'de ve dünyada oldukça yaygın görülen bir protozoer enfeksiyon olup bu hastalığa sebep olan *Toxoplasma gondii* türü insan dahil bütün memeli hayvanlarda ve kuşlarda görülebilir (1,9).

Etkenin insanlara bulaşmasında en önemli kaynak dışkılarında oocyste taşıyan kedilerdir. Ayrıca bulaşık sebzeler ve iyi pişmemiş hayvansal kaynaklı besinlerin ve özellikle çiğ etlerin bulaşmada önemli rolü vardır. *Toxoplasma* kistleri taşıyan hayvanların etleri iyi pişirilmeden yenilirse enfeksiyon bulaşmış olur. Enfeksiyon kongenital olarak anadan yavruya geçebilir. Parazit yavrunun RES hücrelerinde çoğalarak yavru adenopati veya beyinde tahribat yaparak hydrocephali ve microcephali gibi anomalilere, göze girerek coriorenitis sonucu çocukların kör doğmasına veya bu anomaliler sonucunda abortların şekillenmesine sebep olabilir (1,9,12,16).

Gerek insanlarda ve gerekse hayvanlarda çoğunlukla yavru atmadan başka bir semptom göstermeyen enfeksiyon olduğu için bu hastalığın teşhisinde serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır.

Bu testler arasında IHA, Sabin-Feldman, ELISA, IFA, VIDAS sayılabilir (5,6,13,17,18).

Yurdumuzda Toxoplasmosis'le ilgili olarak yapılan serolojik çalışmalarda değişik sonuçlar alınmıştır (2, 3, 7, 8, 10, 11, 14,16).

Tanyüksek ve arkadaşları (15) Toxoplasmosis'in tanısında serolojik testlerin karşılaştırmasını yaparken spesifitesi ve sensitivitesi yüksek bir testin seçiminin tanı ve tedavi açısından önemli olduğunu bildirmiş ve hiçbir testin tanıda tek başına yeterli olmadığını, özellikle akut enfeksiyonların tanısını koyabilmek için IgM antikorlarını gösterecek testlerin kullanılmasını önermişlerdir.

Çöplü ve arkadaşları (4) Toxoplasmosis tanısında SFD ve EIA'yı karşılaştırmış ve SFD ile pozitif buldukları vakaların %2' sini EIA IgG negatif, SFD ile negatif buldukları vakaların % 6'sını EIA IgG yönünden pozitif bulmuşlardır. Bu veriler sonucunda Toxoplasmosis'te akut enfeksiyon kararı verirken tek bir test sonucu ile yetinilmemesi SFD testi ile sınır değerler elde edildiğinde veya diğer test sonuçları ile uyumsuz olduğunda 15 gün arayla testin tekrarlanarak titre artışının gözlenmesinin yararlı olacağı kanaatine vardıklarını bildirmişlerdir.

Eriş ve arkadaşları (6) Toxoplasmosis'in tanısında IFAT ve ELISA testi duyarlılık, özgüllük, uyumluluk, zaman ve ekonomik açıdan karşılaştırarak her iki testte de

(% 40.3) IgG seropozitif, (%52.4) negatif olduğunu bildirmişlerdir ve bu iki test arasında (% 8.3) gibi küçük bir oranda uyumsuzluk tesbit etmişlerdir. Bu araştırmacılar testlerin hastanın klinik durumu dikkate alınarak üçer hafta ara ile birden fazla titrede değerlendirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Poyraz ve arkadaşları (13) düşük, ölü doğum ve erken doğum olgularında ELISA ile IgG'yi % 75.3, IgM'yi ise %10 sero pozitif bulmuşlardır.

Bu araştırma Toxoplasmosis yönünden ELISA tekniği ile IgG ve IgM antikorlarının kadınlardaki sero-pozitifliğini araştırarak ELISA testinin özgüllüğü, uyumluluğu, zaman ve ekonomik açıdan geçerliliği ile Toxoplasmosis'in tanısındaki önemini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

### Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan materyal; sağlıklı görülen 15 kadından rastgele alınan kan serumlarından elde edilmiştir. Bunun için her şahıstan 10 ml'lik steril tüplere kan alınmış ve tüplerdeki kan örnekleri çizildikten sonra 1500 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Daha sonra "Gull" brand marka IgG/IgM hazır test kitleri ile hazır pozitif ve negatif serumlar kullanılarak usulüne uygun 1/10-1280 titreleri arasında sulandırılarak spektrofotometrede 405 nm'de okunmuştur.

Sonuçlar aşağıda belirtilen limitlere göre değerlendirilmiştir;

$$\text{Relatif ELISA değeri (REV)} = \frac{\text{Hasta absorbanı değeri}}{\text{Referans serum absorbanı}}$$

REV= 0.800-0.900= 0.800-0.900 = negatif (veya yalancı negatif)  
 REV= 0.800-0.900= den< negatif  
 REV= 0.901-0.999= şüpheli (veya yalancı pozitif)  
 REV= 1.000' den > ise pozitif

Ayrıca incelenen kan serumlarında IgG yönünden duyarlılık, özgüllük ve uyumluluk aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

$$\text{IgG duyarlılık} = \frac{\text{Gerçek pozitif ( GP )} \times 100}{\text{GP} + \text{Yalancı negatif ( Y.neg )}} = \%$$

$$\text{IgG özgüllük} = \frac{\text{GP} \times 100}{\text{GP} + \text{Yalancı pozitif ( Y.poz )}} = \%$$

$$\text{IgG uyumluluk} = \frac{\text{GP} + \text{Gerçek negatif ( GNeg )}}{\text{Muayene edilen serum sayısı top.}} = \%$$

### Bulgular

Toxoplasmosis yönünden taranan 15 adet kan serumunda IgG ve IgM yönünden değişik oranlarda seropozitiflik tespit edilmiş bunun yanında IgG ve IgM pozitif ve negatif kontrol serumları 1/10-1280 basamakları arasında sulandırılarak kontrol edilmiştir.

Tablo 2'den elde edilen IgG antikorlarının dağılımına göre ELISA testinin duyarlılık, özgüllük ve uyumluluğu hesaplandı.

Buna göre :

$$\text{IgG Duyarlılık} = \frac{\text{GP} \times 100}{\text{GP} + \text{YNeg}} = \frac{11 \times 100}{11 + 1} = \frac{1100}{12} = \% 91.6$$

$$\text{IgG Özgüllük} = \frac{\text{GP} \times 100}{\text{GP} + \text{YPoz}} = \frac{11 \times 100}{11 + 1} = \frac{1100}{12} = \% 91.6$$

$$\text{Uyumluluk} = \frac{\text{GP} + \text{GNeg}}{\text{Muayene edilen serum sayısı toplam}} = \frac{11 + 3}{15} = \frac{14}{15} = \% 93.3$$

Bu sonuçlara göre IgG duyarlılık % 91.6 ve uyumluluk % 93.3 olarak tespit edildi. Ayrıca muayene edilen 15 kan serumunda IgG antikorları yönünden 11 serum sero pozitif (%73.3), 1 serumda yalancı negatif, 3 serum şüpheli, IgM yönünden 2 serum seropozitif (% 13.3), 2 serum şüpheli, 11 serum ise negatif olarak tespit edildi.

Tablo 1: Negatif ve Pozitif ( IgG ve IgM ) kontrol serumlarının 1/10-1280 sulandırma basamakları arasında bulunan test sonuçları.

Serumlar	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280
Negatif	0.030	0.017	0.015	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
IgG pozitif	1.143	1.164	1.255	1.450	1.400	1.400	1.380	1.300
IgM pozitif	1.155	1.179	1.170	1.250	1.300	1.310	1.300	1.290



Tablo 2: Toxoplazma antikorları yönünden taranan 15 adet kan serumunun IgG ve IgM yönünden 1/10-1280 sulandırma basamağına göre test sonuçları ( IgG/IgM ).

Serum no	Ig türü	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	Ortalama	Sonuç
1	IgG	0.904	0.980	0.990	1.143	1.150	1.100	1.050	1.115	1.054	Pozitif
	IgM	0.450	0.500	0.600	0.800	0.750	0.600	0.600	0.500	0.600	Negatif
2	IgG	0.945	0.990	1.450	1.110	1.050	0.980	0.800	0.850	1.021	Pozitif
	IgM	0.875	0.980	1.120	1.050	1.010	0.800	0.650	0.600	0.885	Negatif
3	IgG	1.050	1.015	1.010	1.050	1.060	1.015	1.010	0.980	1.003	Pozitif
	IgM	0.750	0.800	0.850	0.915	0.980	0.900	0.800	0.700	0.836	Negatif
4	IgG	1.143	1.050	1.015	1.010	1.015	0.980	0.960	0.880	1.006	Pozitif
	IgM	0.950	1.015	1.010	0.980	0.900	0.800	0.700	0.680	0.879	Negatif
5	IgG	0.980	0.960	1.015	1.020	1.010	0.900	0.960	0.800	0.955	Şüpheli
	IgM	0.850	0.800	0.900	0.910	0.900	0.850	0.880	0.770	0.857	Negatif
6	IgG	0.950	0.940	0.930	0.900	0.940	0.930	0.930	0.900	0.925	Şüpheli
	IgM	0.750	0.700	0.700	0.700	0.650	0.750	0.700	0.650	0.700	Negatif
7	IgG	0.880	0.910	1.010	1.150	1.143	1.115	0.980	0.860	1.006	Pozitif
	IgM	0.770	0.860	0.950	1.010	1.005	1.008	0.810	0.615	0.878	Negatif
8	IgG	1.145	1.015	1.010	1.060	1.050	1.040	1.030	0.990	1.042	Pozitif
	IgM	1.010	0.980	1.005	0.970	0.950	0.850	0.800	0.790	0.919	Pozitif
9	IgG	0.980	1.210	1.110	1.050	1.010	1.010	1.000	1.000	1.046	Pozitif
	IgM	0.970	0.980	0.960	0.980	0.980	0.960	0.980	0.950	0.970	Şüpheli
10	IgG	0.990	0.980	0.945	0.880	0.880	0.850	0.750	0.600	0.859	Negatif
	IgM	0.850	0.770	0.650	0.650	0.500	0.450	0.380	0.290	0.567	Negatif
11	IgG	1.210	1.180	1.110	1.080	1.050	1.030	1.010	1.010	1.085	Pozitif
	IgM	1.010	0.900	0.990	0.850	0.600	0.580	0.430	0.430	0.723	Negatif
12	IgG	1.145	1.110	1.090	1.095	1.110	1.115	1.090	1.010	1.095	Pozitif
	IgM	1.095	1.050	1.030	1.090	1.080	1.010	1.010	0.980	1.043	Pozitif
13	IgG	1.230	1.200	1.180	1.180	1.180	1.160	1.110	0.990	1.141	Pozitif
	IgM	0.900	0.900	0.950	0.980	0.990	0.950	0.850	0.800	0.915	Şüpheli
14	IgG	0.950	0.900	0.900	0.900	0.950	0.900	0.910	0.910	0.925	Şüpheli
	IgM	0.650	0.700	0.700	0.700	0.750	0.750	0.750	0.700	0.711	Negatif
15	IgG	1.455	1.355	1.380	1.320	1.280	1.210	1.180	1.110	1.286	Pozitif
	IgM	1.143	1.155	1.120	1.070	1.060	1.060	1.010	1.005	0.980	Şüpheli

### Tartışma ve Sonuç

Toxoplazmosis tropikal ve subtropikal bölgelerde % 5-95 nisbetinde görülen yaygın bir protozoer enfeksiyondur (1,9,16).

Toxoplazmosis'in tanısında en güvenilir metot dokulardan etkeni izole etmektedir. Ancak bu oldukça zor bir yöntemdir. Bunun için serolojik testlerle (IFAT, İHA, ELISA, VIDAS, Sabın Feldman vs.) Toxoplazmosis'e özgü kanda şekillenen antikorları araştırmanın tanıyı kolaylaştıracağı belirtilmektedir (4, 5, 11, 15, 18).

Toxoplazmosis'in tanısında kullanılan testlerin özgüllüğü, duyarlılığı ve uyumluluğu elde edilen sonuçların çok iyi değerlendirilmesi gereksiz tedavileri önleyecektir.

Birçok araştırmacı (4, 6, 8, 12, 17) ELISA testinin özgüllük ve duyarlılık açısından diğer testlerle birbirine paralel ve güvenilir sonuçlar verdiğini ortaya çıkarmıştır. Ancak Toxoplazmosis'li hastalara uygulanan hiçbir testin Toxo-IgG yönünden birbirine üstün olmadığı ELISA testinin diğer testlere göre daha özgül olduğu belirtilmiştir.

Toxoplazmosis'li hastalarda ELISA'nın IgG duyarlılığı % 99.1 olarak tespit edilmiştir (6, 13).

Hastalığın tanısında Sabın Feldman boya testinin birçok araştırmacı tarafından önerildiği görülmüştür (1,4,17). Ancak bu testin kullanılmasını rutin olarak sınırlayan faktör gerek pasajların yapılması ve gerekse preparatların değerlendirilmesinde floresan mikroskoba olan gereksinimdir. Ayrıca hastalarda özellikle IgG sınıfı antikorları ölçmesi bir dezavantajdır. Çünkü bu durum klinik safhanın saptanmasında güçlük yaratmakta ve yüksek IgG titrasyonlarının yıllarca sürmesi sonucunda hata payının artmasına sebep olmaktadır.

Toxoplazmosis'in tanısında serolojinin önemi çok büyük olmasına rağmen antijen hazırlama ve teknik donanım yetersizliği gibi kriterler göz önüne alındığında, ELISA metodunda özel hazırlanmış kitlerden yararlanılması bu testin bir avantajı olarak görülebilir. Fakat kitlerin pahalı oluşu da bir dezavantajdır.

Toxoplazmosis'e karşı IgG antikorlarının kanda daha yüksek (% 5-95) IgM antikorlarının ise daha düşük (% 5-55) görüldüğü, özellikle IgM antikorlarının akut enfeksiyonlarda, IgG antikorlarının ise daha çok latent enfeksiyonlarda yükseldiği belirtilmektedir (7, 8, 10, 11, 12,14,16, 18). Bu veriler bizim elde ettiğimiz bulgular ile ( IgG= % 73.3, IgM= % 13.3, Ig Duyarlılık= % 91.6, IgG uyumluluk= % 93.3) uyum içerisindedir.

**Sonuç olarak;**

1- ELISA testi ile klinik belirti göstermeyen kadınların kan serumlarında IgG seropozitifliği % 73.3, IgM % 13.3, IgG duyarlılık= % 91.6, IgG özgüllük=% 91.6 IgG uyumluluk ise % 93.3 olarak tespit edildi.

2-ELISA testinin Toxoplazmosis'in tanısında özellikle IgG tayininde daha duyarlı, uyumlu ve özgül olduğu saptandı.

3-Antijen ve konjugat hazırlama gibi işlemlerin olmaması kullanım ve zaman açısından avantaj fakat kitlerin pahalı oluşu ise bir dezavantaj olduğu tespit edildi.

4-Akut kongenital enfeksiyonların tespitinde ELISA testi ile seropozitif bulunan serumların diğer başka testlerle desteklenmesinin sonuç açısından daha güven verici olacağı kanaatine varıldı.

**Kaynaklar**

- 1.Altıntaş, K (1975): Abort Yapan ve Yapmayan Koyunlara Ait Fötitüslerle Gebe Olmayan Koyunlarda Toxoplasma Enfeksiyonu Yönünden Araştırmalar. A.Ü.Vet.Fak. Protozooloji ve T.Art.Kürstüsi Doktora Tezi, Ankara.
2. Balıkçı,E.,Arıkan,E.,Metem,Ö.,Dağ,M.N(1992): Anne adaylarında Toxoplasma Seropozitifliği. Tür.Parasitol.Derg. 3-4, 16, 32-36.
3. Balıkçı,E.,Arıkan,E.,Metem,Ö.,Dağ,M.N(1992): Yeni doğum yapan anne ve bebeklerinde Toxoplasma seropozitifliği. Tür.Parasitol.Derg. 3-4, 16, 37-42.
- 4.Çöplü,N., Özkaya,E.,Babür,C., Tunaoğlu,M., Güvener,E (1994): Toxoplazmosis tanısında Sabin Feldman Dye Test ile EIA IgM, EIA IgG sonuçlarının kıyaslanması. Tür.Parasitol.Derg. 4, 18, 391-394
- 5.Doğan,N.,Akgün,Y.,Altıntaş,K(1989): Toxoplazmosis'in tanısında 2 farklı EIA ve Sabin Feldman testlerinin karşılaştırılması. 6.Ulusal Parazitol. Kong. Bildiri özetleri 26-29 Eylül, İstanbul.
- 6.Eriş,F.N.,Acar,N.S (1994): Toxoplasma tanısında IFAT ve ELISA karşılaştırması. Türk Parasitol.Derg. 1, 18, 26-32.
- 7.Gül,K.,Dağ, M.N.,Suay,A., Mete, M.,Metem,Ö (1994): D.Ü Tıp Fakültesinin değişik bölümlerine başvuran ve Toxoplasma ön tanısı konmuş hastalarda Toxoplasma antikorlarının dağılımı. Tür.Parasitol.Derg. 4, 18, 395-397.
- 8.Gün,H., Tanyüksel,M.,Altıntaş,K., Baysallar,M., Anter,U (1994): Kan donörlerinde anti-Toxoplasma gondii antikorlarının insidansı. Tür.Parasitol.Derg. 4, 18, 403-408.
- 9.Haziroğlu,R., Altınsoy,M.S., Atasever,A., Akın,H.G. (1989): Kedilerde öldürücü ( Fatal ) Toxoplazmosis. 6.Ulusal Parazitol. Kongresi Bildiri özetleri, 26-29 Eylül, İstanbul.
- 10.Kılıçtırgay,K.,Güral,G.,Gökırmak,F.,Töre,O.,Daregenli, Ö.,Karaca,A.R.(1989)ELISA ve IFAT ile popülasyonda Toxoplasma antikor araştırması. 6.Ulusal Parazitol. Kongresi Bildiri özetleri, 26-29 Eylül, İstanbul
- 11.Nikkhou,H.,Özcan,K(1989). Adana'da sağlıklı kişilerde Dolaylı Floresan Antikor Tekniği (DFAT) ile Toxoplasma gondii IgG ve IgM antikorlarının dağılımı. 6.Ulusal Parazitol. Kongresi Bildiri özetleri, 26-29 Eylül, İstanbul
- 12.Poyraz,Ö., Gökoğlu, M., Özçelik, S.(1992): Düşük, ölüdoğum ve erken doğum olgularında Toxoplasma IgG ve IgM

antikorlarının ELISA yöntemiyle araştırılması. Tür. Parasitol.Derg. 3-4, 16, 43-50.

13.Poyraz,Ö., Gökoğlu,M., Özçelik,S. (1992): Toxoplazmosis tanısında İHA ve ELISA testlerinin karşılaştırılması. Tür.Parasitol.Derg. 3-4, 16, 59-64.

14.Tanyüksel,M.,Gün,H.,Baysallar,M.N.,Erdal,N.(1994): Behcet hastalığı olan hastalarda anti-Toxoplasma antikorlarının araştırılması. Tür.Parasitol.Derg. 4, 18, 398-402.

15.Tanyüksel,M.,Gün,H.,Haznedaroğlu,T.,Babür,C.Baysallar,M.,Başustaoğlu,A.(1994): Toxoplazmosis tanısında serolojik testlerin karşılaştırılması. Tür.Parasitol.Derg. 3, 18, 266-276.

16.Tuncer,E.I.,Baykan,M.,Akyol,G.(1993): Konya ve çevresinde Toksoplazmoz kuşkulu kişilerin serumlarında Toxoplasma gondii'ye karşı oluşturulan antikorların araştırılması. Tür.Parasitol.Derg. 3-4, 17, 11-15.

17.Ural, O.,Cengiz,A.T., Altıntaş,K.,Nazıroğlu,A. (1992): Akut lösemi ve Lenfomalı hastalarda Toxoplasma IgG antikorlarının ELISA ve SFT ile karşılaştırılması. Tür.Parasitol.Derg. 3-4, 16, 51-58.

18.Yalçın, A.N.,Topçu,S., Özçelik,S., Poyraz,Ö. (1993): Hemodiyalize giren kronik böbrek yetmezlikli hastalarda Toxoplasma IgG ve IgM antikorlarının ELISA ile araştırılması. Tür.Parasitol.Derg. 2, 17, 15-19.