

HAMİLELERDE TOXOPLASMA TOTAL, IgM VE IgG ANTİKOR SEROPOZİTİFLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Çiğdem Güngör* • Murat Özsan** • Aydın Karaarslan**

ÖZET

Laboratuvarımıza normal gebelik kontrolü amacıyla başvuran 245 hamile kadında toxoplasma antikorları Sabin Feldman ve ELISA yöntemleriyle araştırılmış ve 102 olguda (%41.6) Sabin Feldman testi ile antikor pozitifliği, 102 olguda (%41.6) ELISA IgG ve 1 olguda (%0.4) ELISA IgM pozitifliği saptanmıştır. Konjenital toxoplasma enfeksiyonuna bağlı olarak meydana gelebilecek mortalite ve morbiditeyi azaltmak için gebelerin toksoplazmosis yönünden serolojik olarak araştırılmasının uygun olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Hamilelik, Toksoplazmosis, Sabin Feldman testi, ELISA.

SUMMARY

Investigation of toxoplasma total, IgM and IgG antibody seropositivity in pregnant women

Toxoplasma antibodies are studied by Sabin Feldman and ELISA methods in pregnant women who attended to our laboratory for routine pregnancy controls and antibody positivity by Sabin Feldman tests has been found in 102 cases (41.6%), ELISA IgG positivity in 102 cases (41.6%) and ELISA IgM positivity in 1 case (0.4%). It is thought that, it will be suitable to study toxoplasmosis serologically for pregnant women, in order to achieve a decrease in mortality and morbidity that may occur due to congenital toxoplasma infection.

Key words: Pregnancy, Toxoplasmosis, Sabin Feldman test, ELISA.

Zorunlu hücre içi protozoonu olan *Toxoplasma gondii* hamilelerde düşük, ölü doğum, çeşitli anomalilerin bulunduğu klinik tablolara yol açabilmektedir (1). Kongenital toksoplazmoz riskinin 1000 canlı doğumda 0.1-10 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Bu oran toksoplazma enfeksiyonunun gebeliğin kaçınıcı trimestirinde alındığına bağlı olarak değişmektedir. Oran ilk trimestirde en düşük, son trimestirde en yüksek olarak bildirilmektedir. Fetusta anomali meydana gelme riski ise bunun tersine toksoplazma ilk trimestirde alındığında yüksek olmakta, gebeliğin sonuna doğru risk oranı azalmaktadır (2).

Bu çalışmada, çeşitli hamilelik aylarındaki kadınlarda toxoplasma IgM ve IgG seropozitifliğinin Sabin Feldman testi ve ELISA yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastalar: Bu çalışmada Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Bilim Dalı laboratuvarına normal gebelik kontrolü amacıyla başvuran 245 olgunun kanları alınarak serumları ayrılmış ve çalışılincaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Hücre Kültürü: Araştırmada kullanılan Vero hücreleri 75 cm² kültür şişelerinde, %10 fetal calf serum içeren Dulbecco's MEM içinde üretilmiştir. Monolayer hale gelen flaklara Balb-c cinsi laboratuvar farelerinde üretilen *Toxoplasma gondii* trofozoidleri 10⁵ olacak şekilde konulmuş ve çoğaltılmıştır (3).

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Parazitoloji Bilim Dalı

** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Antijen Hazırlanması: Hücre kültüründe çoğaltılan toxoplasmalar sonik vibrasyonla parçalandıktan sonra Bradford yöntemi ile protein tayini yapılmıştır (4).

ELISA Yöntemi: Toxoplasma antijeni 10mgr/ml protein olacak şekilde sulandırıldıktan sonra mikrop-lağın her kuyucuğuna 100ml miktarlarda konularak bir gece +4°C'de bekletilmiştir. Ertesi gün antijenle kaplanmış kuyucuklar yıkandıktan sonra %1 bovine serum albumin ve %0.05 Tween 20 içeren 0.1M Tris-HCl (pH:7.4) ile bloklama yapılmıştır. Daha sonra hasta serumları 1/100 oranında sulandırılarak 100ml miktarlarda kuyucuklara konulmuş, 37°C'de 2 saat bekletildikten sonra yıkanarak antitoxoplasma IgM aranması için hazırlanmış mikropalak kuyucuklarına 100 ml antihuman IgM, antitoxoplasma IgG aranması için hazırlanmış mikropalak kuyucuklarına ise 100 ml antihuman IgG konularak 37°C'de 1 saat bekletildikten sonra yıkanmıştır. Bundan sonra bütün kuyucuklara 100 ml OPD substrat konulmuş, oda ısısında karanlıkta 20 dakika bekletildikten sonra her kuyucuğa 50 ml 2M H₂SO₄ eklenmiş ve 495 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda okutulmuştur (5).

Sonuçların değerlendirilmesi daha önceki çalışmalarımıza uygun şekilde yapılmıştır. Daha önceden Sabin-Feldman testi ile yüksek pozitif (1/1024,1/4096) bulunan Ticari ELISA kiti ile IgG pozitifliği saptanmış 4 serum karıştırılarak yüksek pozitif kontrol serum; Sabin-Feldman testiyle düşük pozitiflik veren (1/16) 3 serum karıştırılarak cut-off kontrol serum olarak kullanılmış, bütün test serumların O.D değerleri cut-off değerlerine bölünmüş, 1.1 olanlar pozitif, 0.9 olanlar negatif kabul edilmiştir. Anti-toxoplasma IgM antikorlarının varlığının araştırılmasında da kontrol serum olarak aynı şekilde daha önceden düşük pozitif ve yüksek pozitif bulunan serumlar kullanılmıştır (6).

Sabin Feldman Testi: Hasta serumları 1/16-1/4096 oranında sulandırılarak daha önceki çalışmalarımızda bildirildiği şekilde çalışılmıştır (7).

BULGULAR

Çalışılan 245 olgunun 102'sinde (%41.6) Sabin Feldman testi ile 1/16-1/4096 arasında pozitiflik saptanmıştır. Aynı olgularda ELISA testi ile 102 olguda (%41.6) IgG, 1 olguda (%0.4) IgM seropozitifliği bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar Tablo 1'de sunulmaktadır.

Tablo 1. Hamilelerde Sabin Feldman, ELISA antitoxoplasma IgM ve IgG pozitifliği

Hastalar (n=245)		
Testler	Pozitif (%)	Negatif (%)
Sabin Feldman	102 (%41.6)	143 (%58.4)
ELISA IgG	102 (%41.6)	143 (%58.4)
ELISA IgM	1 (%0.4)	244 (%99.6)

TARTIŞMA

Hamilelikteki toxoplasma infeksiyonunun ciddi konjenital defektlere ve ölüme sebep olabilmesi bu konuya çok fazla ilgi duyulmasına yol açmıştır. Hamilelerin geçirdiği akut toxoplasma infeksiyonunun ancak %25'i semptomatik olduğundan gebelikte kullanılan akut infeksiyonun teşhisi tekrarlanan serolojik testlerle mümkün olmaktadır. Doğum sırasında asemptomatik olan bebeklerin bir kısmında ileri yaşlarda konjenital toksoplazmoza bağlı çeşitli klinik tablolar ortaya çıkabilmektedir. Akut toksoplazmozisli kadınlardan doğan asemptomatik bebeklerin doğumu takiben bir sene içinde tedavi edilmeleri geç konjenital toksoplazmoz tablosunun ortaya çıkmasını önlemektedir. Dolayısıyla, hamilelerin toxoplasma infeksiyonu yönünden izlenmeleri, doğumdan yıllar sonra çıkacak klinik tabloların önlenmesi açısından önemlidir (8,9,10,11).

Daha önce yapılan çalışmalarda Fransa'da doğurganlık çağındaki kadınlarda toxoplasma infeksiyonu prevalansı %84, ABD'de gebe kadınlarda %33.3, İtalya'da %22, Mısır'da sağlıklı hamilelerde %6 olarak bulunmuştur (12,13,14,15).

Ülkemizde çeşitli zamanlarda yapılan çalışmalarda antitoxoplasma antikor prevalansı %12-65 bulunmuştur (6). Hamile kadınlarda yapılan çalışmalarda ise, Dabakoğlu ve ark. (16) %41.5 IgG, %0.2 IgM; Kaleli ve ark. (17) %43.4 IgG, %0.4 IgM; Berktaş ve ark. (18) %63.06 IgG, %9.87 IgM; Balıkçı ve ark. (19) %40 IgG, %8.3 IgM; Şaşmaz ve ark. (20) %45.3 IgG, %1.7 IgM bulmuşlardır.

Çalışmamız sonuçlarının ülkemizde yapılan çalışmaların çoğuyla uyumlu olduğu, IgM yüksek bulunan bir kaç çalışmanın Güneydoğu Anadolu bölgesinde yapıldığı görülmektedir.

Sonuç olarak, hamilelerde serolojik yöntemlerle antitoxoplasma antikor araştırması yapılmasının, IgM pozitifliği saptanan hamilelerin yakın takibi ve tedavisi, ayrıca asemptomatik doğan bebeklerde geç toxoplasma belirtilerinin ortaya çıkmasını engelleyecek tedavinin uygulanması açısından önemli olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. Coccidia, Microsporidia, Pneumocystis. Clinical Parasitology. 9th ed. Philadelphia: Lea and Fabiger, 1984; 149-73.
2. Şahin İ, Oğuzkaya M. Değişik hasta gruplarında toxoplasmosis ve tanı kriterleri. T Parazitol Derg 1988; 22: 159-63.
3. Griffiths B. Scalling up of animal cell cultures. In: Freshney RI, ed. Animal Cell Culture: A Practical Approach. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 1992; 47-93.
4. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Ann Biochem 1976; 72: 248-52.
5. Voller A, Bidwell DE, Barlett A, Perkins M, Oladehin BA. Microplate enzyme immunoassay for toxoplasma antibodies. J Clin Pathol 1976; 29: 150-3.
6. Güngör Ç. Sabin Feldman, ticari ELISA IgG ve IgM ve hazırladığımız antijenle uygulanan ELISA IgM ve IgG yöntemleri ile anne ve kordon serumlarında antitoxoplasma antikorlarının karşılaştırmalı olarak aranması. Doktora Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1995.
7. Altıntaş K. Toxoplasmosis tanısında uygulanan başlıca yöntemlerin kalitatif ve kantitatif değerleri. Mikrobiyol Bült 1974; 8: 1-8.
8. Koppe JG, Loewer-Sieger DH, de Roever-Bonnet H. Results of 20-year follow-up of congenital toxoplasmosis. Lancet 1986; 1: 254-6.
9. Desmonds G. Preventing congenital toxoplasmosis. Lancet 1990; 336: 1017-8.
10. Stray-Pedersen E, Lorentzen-Styr A-M. The prevalance of toxoplasma antibodies among 11736 pregnant women in Norway. Scand J Infect Dis 1979; 11: 159-65.
11. Koskiniemi M, Lappalainen M, Hedman K. Toxoplasmosis needs evaluation. AJDC 1989; 143: 724-8.
12. Jeannel D, Niel G, Costagliola D. Epidemiology of toxoplasmosis among pregnant women in Paris area. Int J Epidemiol 1988; 17: 595-602.
13. Hershey DW, McGregor JA. Prevalance of toxoplasma infection in a rocky mountain prenatal population. Obs Gyneacol 1987; 70: 900-2.
14. Canessa A, Pantorotto F, Miletich F. Antibody prevalance to TORCH agents in pregnant women and relative risk of congenital infections in Italy (Liguria). Biol Res Preg 1987; 8: 84-8.
15. Hammouda NA, Gebaly WM, Sadaka SM. Seroprevalance of toxoplasma and cytomegalovirus in complicated pregnancies. J Egypt Soc Parasitol 1993; 23: 670-85.
16. Dabakoğlu T, Mungan T, Kuşcu E, Gökmen O. Gebe kadınlarda toxoplasma infeksiyonunun prevalansı ve maternal infeksiyon insidansı. 1. Ulusal Toksoplazma Kongresi Özet Kitabı 1995; 46.
17. Kaleli B, Kaleli İ, Aktan E, Akalın H, Akşit F. Gebelerde toxoplasma IgG ve IgM seropozitifliği. T Parazitol Derg 1997; 21: 241-3.
18. Berktaş M, Balcı İ, Yılmaz H, Bozkurt H. Çeşitli obstetrik sorunları bulunan kadın hastalarda Toxoplasma antikorlarının araştırılması. T Parazitol Derg 1997; 21: 360-2.
19. Balıkcı E, Arıkan E, Mete Ö, Dağ MN. Anne adaylarında toksoplazma seropozitifliği. T Parazitol Derg 1992; 16: 32-6.
20. Şaşmaz E, Okuyan M, Dirik E. Anne ve göbek kordon kanlarında toxoplasmosis antikorlarının yaygınlığının araştırılması. T Parazitol Derg 1990; 14: 7-10.