

TOKSOPLAZMOSİS TEŞHİSİNDE SABİN-FELDMAN TESTİ VE ELISA İgM ANTİKORLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Gönül ASLAN*, Sami TAŞCI*, Kürşat ALTINTAŞ**, Gülay ARAL**

* Harran Üniversitesi Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

** Ankara Üniversitesi Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Parazitoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Toksoplazmozis şüphesi olan 65 hastaya ait serum örneklerinde ELISA İgM testi ve Sabin-Feldman testi karşılaştırıldı. Sabin-Feldman testi ile %16.9, ELISA İgM yöntemiyle %1.5 seropozitivite tesbit edildi. Mükerrer düşük hikayesi olan bir hastada ELISA İgM ve Sabin-Feldman testi pozitif bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Toksoplazmozis tanısı, EIA, sabin-feldman, düşük

SUMMARY

COMPARISON OF SABIN-FELDMAN TEST AND ELISA İgM ANTIBODIES DIAGNOSIS OF TOXOPLASMOSIS

In this study ELISA (test) was compared to SFT (Sabin-Feldman test) in 65 patient's serum sample who were at suspicion of toxoplasmosis infection. Seropositivity were determined as %16.9 in sabin-feldman test and %1.5 in ELISA İgM test. In a patient recurrent abortion story was determined which was seropositive both of sabin-feldman and ELISA İgM.

Key Words : Toxoplasmosis diagnosis, EIA, sabin-feldman, abortion

GİRİŞ

Toxoplasma gondii fekal-oral yolla, transplental geçişle, kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu, organ transplantasyonu ile alınmakta veya laboratuvar enfeksiyonu şeklinde bulaşmaktadır (1,2).

Ookist içeren toprağın bulaştığı sebze ve meyvelerin yenmesi veya bunlarla temas eden ellerin yıkanmadan ağıza götürülmesi ile ookistler alınarak gastrointestinal sistem (GİS) epitelinde trofozoitleri oluşturur. GİS

epitelinde çoğalan trofozoitlerin kan yolu ile yayılımı parazitemiyi başlatır. İlk 2-6 ayda yüksek düzeyde anti-toksoplazma spesifik İgM, bunu takibinde İgG antikorları oluşmaktadır (3).

Toksoplazmozis genellikle asemptomatik ve subklinik seyreden bir hastalık olması nedeniyle klinik olarak diğer hastalıklarla ayrımı zor yapılmaktadır. Bu zorluk tedavi endikasyonunun konması ve tedavinin sürdürülmesi konularında özellikle konjenital toksoplazmozis açısından serolojik testlerin ön plana çıkmasına neden olmuştur.

Toksoplazmosisin serolojik tanısında en fazla kullanılan ve sonuçları güvenilir yöntemler; Sabin-Feldman (SF) boyama yöntemi (veya Dye Test, DT), indirekt fluoressan antikor testi (IFAT), enzim işaretli antikorla yapılan, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ve indirekt hemaglutinasyon testi (IHAT)'dir (4-6).

Çalışmamızda Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Bilim Dalın'a başvuran 65 hasta serumunda SFT ve Ken Star EIA Toxoplasma IgM kiti kullanılarak anti-toksoplazma antikorları araştırılmıştır.

MATERYAL METOD

Bu çalışmada Eylül 1996-Aralık 1996 döneminde A.Ü.Tıp Fakültesi Parazitoloji Bilim Dalın'a başvuran hastalardan aseptik şartlarda alınan kanların serumları ayrılarak -20°C de saklandı.

Sabin Feldman Testi (SFT):

Uygulanan lizis testi Sabin-Feldman yönteminin Desmontes tarafından başkalaştırılmış şeklidir (7). Bu uygulamada Metilen-Bleu kullanılmamakta, pozitif sonuç varlığında parazitlerdeki lizis faz-kontrast mikroskopide değerlendirilmektedir.

Testte antijen olarak A.Ü. Tıp Fakültesi Parazitoloji B. D.'nda müteakip pasjlarla devamlılığı sağlanan T.gondii suşu kullanıldı. İntraperitoneal olarak T.gondii zerk edilmiş fareden 3. günde periton sıvıları alındı. toksoplazma pozitif serum ve aktivatör varlığında kullanıma uygun olan antijen tesbit edildi .

Hasta serumları klasik yöntemle 1/16'dan 1/4096'ya kadar FTS ile sulandırıldı. 0.05 ml (1 damla) hacimdeki serum sulandırılmaları

üzerine aynı hacimde ön testte seçimi yapılmış antijen (T.gondii ile enfekte fare periton sıvısı) ve iki hacim aktivatör serum ilave edildi. 37°C'de 30 dakika benmaride inkübasyonu yapıldıktan sonra, faz-kontrast mikroskopta değerlendirildi.

Toksoplazmozis yönünden pozitif hastaların serumları ile muammele edilen toksoplazmalar kararmış granüllü, cidarları parçalanmış görünümde iken negatif ve hastaların serumları ile karşılaşan parazitler parlak, cidarları belirgin ve ışık kırıcı görünümde idiler.

ELISA IgM testi:

Prencip olarak purifye T.gondii antijeni ile kaplanmış kuyucuklara dilue edilmiş hasta serumu eklendiğinde (eğer hastada T.gondii IgM spesifik antikorunu mevcutsa) antijene bağlandı. Tüm bağlanmayan materyal yıkanarak uzaklaştırıldı. Enzim konjugatı eklenerek antijen-antikor kompleksine bağlanması sağlandı. Enzim konjugatın fazlası yıkandı, takiben substrat ve kromojen eklendi. Enzim konjugat katalitik reaksiyonu belli bir zamanda durduruldu. Meydana gelen rengin yoğunluğu örnekteki IgM sfesifik antikorunun miktarıyla orantılıydı. Optik dansiteleri (OD) 450 Nm dalga boyunda okundu. Kalibratör, negatif ve pozitif kontrollerle karşılaştırılarak değerlendirildi. Serumların OD değerleri kalibratör OD değerine oranlanarak Toxo M, indexi hesaplandı Bu index 0,80'den küçükse negatif, 0.80-1.000 aradaysa şüpheli, 1.000'den büyükse pozitif olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmamızda SFT (1/16-1/1024 titrelerde) %11.9, ELISA IgM %1.5 ve SFT ile ELISA IgM birlikte % 1.5 seropozitif değerlendirilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. 65 hastanın Sabin Feldman ve Elisa IgM sonuçları.

Testler	Pozitif		Negatif		Toplam Sayı
	Sayı	%	Sayı	%	
Sabin-Feldman 1/16 – 1/64	11	16,9	54	83	65
ELISA IgM	1	1,5	64	98	65

Tablo 2. Çeşitli yaş gruplarında Sabin Feldman ve ELISA IgM sonuçları

Yaş Grupları	Sabin Feldman		IgM	
	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
15-25	15	6	21	-
26-35	27	4	30	1
36-45	12	1	13	-
Toplam	54	11	64	1

Düşük ve ölü doğum hikayeleri olan ve olmayan şahısların serumlarında toksoplazmozis yönünden Elisa IgM antikorları araştırılmış, düşük ve ölü doğum olan 8 kişilik gruptan bir hastada pozitif bulunurken bu şikayetleri taşımayan diğer gruba ait 57 hastanın hiçbirinde pozitiflik saptanmamıştır.

TARTIŞMA

Balfour ve arkadaşları ELISA yöntemiyle spesifik IgM ve SFT karşılaştırmışlar, ELISA yönteminin SF dye testten daha az hassas olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada dye testle karşılaştırılan enzim immunoassay sisteminin hassasiyetinin IgM sonuçlarıyla birlikte, IgG sonuçlarının da hesaba katılmasıyla yükseleceği bildirilmektedir (8).

Doğan ve arkadaşları spesifik toxo-IgG'lerle SFT arasında büyük bir uyum gözlemişler, fakat aynı uyumu anti-toxo IgM ELISA ile SFT arasında tesbit edememişlerdir (9).

Evcı, habituel abortuslu kadınlarda anti-toxo IgM antikorlarını %1.2, kontrol gruplarında %0, anti-toxo IgG ise habituel abortuslularda %41.3, kontrol gruplarında %35-42.1 olarak bildirmiştir.

Çalışmamızda SFT ile %16.9, ELISA IgM yöntemiyle %1.5 seropozitivite tesbit ettik (Tablo 1). Düşük ve ölü doğum hikayesi olan 8 hastadan birinde ELISA IgM ile 3'ünde SF ile seropozitivite tesbit edilmiştir. ELISA IgM ve SFT ile pozitif bir hastanın mükerrer düşük hikayesi bulunmaktadır.

Kafkaslı, Double-Sandwich enziyme-linked immnosorbent assay yöntemi ile toxo-IgM ve IgG antikorlarını değerlendirmiştir. Toxo-IgM antikoru pozitif gebeleri SF dye testi ile karşılaştırdığında %26.6 IgG, %1.1 IgM pozitifliği tesbit etmiştir (11).

Sabin-Feldman Dye Test bu güne kadar toksoplazmozis tanısında duyarlı ve güvenilir bir yöntem olarak yerini korumakta ve referans test olarak bildirilmektedir. Test uygulanırken kullanılan canlı trofozoitler laboratuvar enfeksiyonu açısından tehlike oluşturabilse de gerekli önlemlerle tehlike riski azaltılabilmektedir. Test genellikle enfeksiyondan 1-2 hafta sonra pozitif olmaya başlamakta, 6-8 haftada pik yapmakta ve bir reinfeksiyon yoksa 1-2 yıl içinde düşmekte veya uzun bir süre azalarak devam etmekte fakat düşük titrelerde hayat boyu pozitif kalmaktadır.

ELISA bir çok araştıncı tarafından tanıda en duyarlı ve hassas yöntem olarak bildirilmektedir. Enzim ile işaretli antiglobulin kullanılarak antikorların arandığı ELISA yöntemi ile farklı fraksiyondaki spesifik antikorların saptanması olanağı, hastalığın klinik takibi ve konjenital toksoplazmozisli olguların saptanması yönünden değer taşımaktadır. Yöntemin önemli bir avantajı spesifik IgM antikorlarını saptayarak hastalığın klinik evresine açıklık getirmektedir (6,8,12).

KAYNAKLAR

1. McCabe RE, Remington JS: *Toxoplasma gondii in principles and practice of infectious disease. Second Edition* (Eds: Mandell GL, Douglas RG., Bennety J.E.) New York: Wiley Medical Publication, p:1540, 1985
2. Balsari A, Molina V: *ELISA for Toxoplasma antibody detection a comparison with other serodiagnostic test. J Clin Pathol 33:640,1980*
3. Kanra G, Yurdakök M: *Toxoplasmosis. Katkı Ped. Derg. 9:321,1988*
4. Altıntaş K: *Toxoplasmosis tanısında uygulanan başlıca yöntemlerin kalitatif ve kantitatif değerleri. Uzmanlık Tezi ; Ankara, 1973*
5. Gülmezoğlu AH, Gülmezoğlu E: *Toxoplasma tanısında serolojik testlerin değer-*

- lendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 20:295, 1986
6. Altıntaş N: Türkiye'de Toxoplazmosis tanısında kullanılan yöntemler. I. Ulusal Toxoplazma Kongresi Kitabı, s:12, 1996
 7. LeLong M, Desmonts G: L'emploi du microscope a contraste de phase dans la reaction de Sabin-Feldman. *Compt Rend Soc de Biol* 115:1160,1951
 8. Balfour AH, Harford JP: Detection of specific IgG and IgM antibodies to *Toxoplasma gondii* with a commercial available enzyme immunoassay kit system. *J Clin Pathol* 38:679,1985
 9. Doğan N, Akgün Y, Altıntaş K: Comparison of different EIA kits and Sabin Feldman test serologic diagnosis of toxoplasmosis. *J Health Sci* 4:1,1992
 10. Evcı K, Sözen TH: Habituel abortus etiyojisinde *Toxoplasma gondii* İnfeksiyonunun yeri. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 103, 1990
 11. Kafkaslı A, Uryan İ: Kliniğimize başvuran gebelerde toxoplazmos serolojisi. I. Ulusal Toxoplazma Kongresi Kitabı, s:43, 1996
 12. Ashburn D, Evans R. et al: Comparison of relative uses of commercial assays for *Toxoplasma gondii* IgM antibodies. *J Clin Pathol* 45:483,1992