

# RUBELLANIN SEROLOJİK TANI YÖNTEMLERİ

A. Tefrik CENGİZ, G. İştar DOLAPÇI

Ankara Üniversitesi Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,

## ÖZET

*Bu yazıda rubella virus infeksiyonlarının tanısında kullanılan serolojik yöntemler açıklanmış, hemagglütinasyon inhibisyon (HAI), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), kompleman fiksasyon, floresan antikor teknikleri (IFA), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve diğer yöntemlerin rubella tanı değeri üzerinde durularak, rubella spesifik IgG ve IgM'in önemi vurgulanmıştır.*

**Anahtar kelimeler :** Rubella, tanı, seroloji

## SUMMARY

### SERODIAGNOSTIC TECHNIQUES FOR RUBELLA

*In this article, serological techniques used in the recognition of rubella virus infections have been explained and the importance of rubella specific IgM antibodies has been emphasized after discussing the validity of hemagglutination inhibition (HAI), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), complement fixation, fluorescent antibody techniques (IFA), polymerase chain reaction (PCR) and other methods in the diagnosis of rubella.*

**Key words :** Rubella, diagnosis, serology

## GİRİŞ

Kızamıkçık, hafif seyirli, kızamığı andıran, lenfadenopati, döküntü ve ateşle karakterize akut bir infeksiyon hastalığıdır. En önemli özelliği gebeliğin ilk trimestrinde geçirildiğinde fötal infeksiyona ve anomalilere neden olmasıdır. Ölü doğum ve spontan düşükler görülebilmektedir. Bu bakımdan seronegatif kadınlar risk grubunu oluşturmaktadır (1-5).

Kızamıkçık ömür boyu hem humoral, hem de hücresele bağışıklık bırakmakla birlikte, nadir de olsa reinfeksiyonlar izlenebilmektedir. Reinfeksiyonlar asemptomatik seyretmekte ve tanı IgG düzeyinde yükselme izlenmesiyle konmaktadır. Reinfeksiyonda IgM antikorları oluşmamaktadır. Bazen kızamıkçık aşısından sonra, primer infeksiyona benzeyen ve IgM

pozitifliğinin eşlik ettiği reinfeksiyonlar da izlenebilmektedir (6-9). Kızamıkçık kesin tanısı için virüs izolasyonu veya antikor tayini yapılmalıdır. Virüs izolasyonu pahalı ve zaman alıcı olduğundan rutinde serolojik testlerle özgül antikorlar araştırılır. Bu amaçla hemagglütinasyon inhibisyon, nötralizasyon, kompleman fiksasyon, floresan antikor, lateks aglütinasyon, radyoimmünassay ve enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) gibi farklı duyarlılık ve özgüllükte bir çok serolojik test kullanılmaktadır (1,2,4,7,10-14). Aynı zamanda son yıllarda reverse transcription-polymerase chain reaction (polimeraz zincir reaksiyonu, PCR) yöntemi de çeşitli araştırma amaçlı çalışmalarda başarıyla uygulanıma girmiştir (15-17).

Hemaglutinasyon inhibisyon deneyi (HAI): Kızamıkçık virüsünün tek bir antijenik tipi ve komplemanı fikse eden ve hemaglutinasyon-nötralizasyon yapan, protein yapısında antijenleri vardır. Hemaglutinasyon antijeni civciv ve güvercin eritrositlerini aglutine etmektedir. Eter veya tripsinle bu antijenin hemaglutinasyon aktivitesi kaybolmaktadır. Hemaglutininler -4°C ve 22°C'de aktif olup, -20°C'de aylarca stabil kalmakta, 56°C'de birkaç dakikada harap olmaktadır (2,18). Rubella infeksiyonu geçirenlerde bu hemaglutinasyonu inhibe eden spesifik antikorlar oluşur. Bu antikorları ortaya çıkarmak için de hemaglutinasyon inhibisyon deneyi (HAI) yapılır. Bu testle IgG tipi antikorlar taranmaktadır. Serum 2-merkaptotanol ile muamele edildikten sonra yapılan HAI deneyinde titre azalması izlenirse bu, serumun IgM içerdiğini gösterir ve aktif bir infeksiyonun işareti olarak değerlendirilir (19,20). HAI ile pozitif bulunan sonuçların, bir infeksiyon varlığının işareti olabilmesi için, birisi infeksiyonun başında, diğeri bundan 3-4 hafta sonra olmak üzere, iki serum örneğindeki antikor düzeyleri arasında 4 kat titre artışı bulunması gerekmektedir (5,13).

Bu yöntemle yapılan bir çalışmada 1772 gebe incelenmiştir. Bu 1772 olguda rubella HAI testi; negatif %2, 1/16 titre %12.5, 1/32 titre %21.7, 1/64 titre %13.7, 1/128 titre %20.8, 1/256 titre %19.3, 1/512 titre %10 sonuçlarını vermiştir. HAI negatif olan 36 hastadan 5'inde (%13) serokonversiyon olmuştur. Bu 5 hastadan 4'ü düşük yapmış ve kordon kanında rubella IgM pozitif olarak bulunmuştur (21).

Başka bir çalışmada da düşük ve ölü doğum yapan 116 anne ile 73 bebeğin serum örnekleri HAI ile incelenmiştir. Annelerin %25'i (29/116) ve bebeklerin %18'i (13/73) pozitif sonuç göstermiştir (22).

Romatoid artritli hastaların sinovyal sıvısında da rubella antijeni saptanmış ve rubella virüsü üretilmiştir (23-26). Ancak rubella virüsü ile romatoid artrit arasında doğrudan bir ilişki bulunmamıştır (27). Schnitzer ve ark. (28) standart rubella HAI testi ile 70 romatoid artritli hastadan 29'unda (%41.4) pozitif, 41'inde (%58.6) negatif sonuç elde etmişlerdir. Bu araştırmacılar 28 sinovyal sıvı incelediklerini, 9 olguda (%32.1) pozitif ve 19 olguda (%67.9) negatif sonuç elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Morgan-Capner ve ark. (29) rubellalı ile teması olan gebelerde önemli bir tanı probleminin varlığını ve kesin tanı koyabilecek virolojik yöntemlere gereksinim olduğunu belirtmişlerdir. Serokonversiyonun veya 2-3 hafta ara ile alınmış iki serum örneğinde 4 katlık bir titre artışının gösterilmesi işlemi, her zaman primer infeksiyonla reinfeksiyonun ayırımında yeterli olamamaktadır. Ancak yenidoğanda, prognoz açısından bu iki infeksiyon arasında büyük fark vardır. Erişkinlerde primer infeksiyon genellikle klinik belirtilerle seyrederken, reinfeksiyon olguları sıklıkla asemptomatik olup, gebelerde önemli problemler oluşturmaktadır. Klinik semptomlarla belirgin gidiş gösteren reinfeksiyonun, gebe kadında, fetusu etkileyecek şekilde görülmesi son derece nadirdir. Gebelerin rubella infeksiyonundaki klinik belirtilerin anlamlılığı ve konjenital infeksiyonun prognozu için, rubella spesifik IgM testlerinin yapılması ve yorumlanması gerekmektedir. Böylece rubella spesifik IgM varlığına veya yokluğuna göre;

a-Şüpheli olgular  
b-Primer infeksiyon  
c-Reinfeksiyon  
d-Rubella dışı olgular sınıflandırımı yapılabilir (30).

Morgan-Capner ve ark. (31) rubella şüpheli olgularla teması olduğu bilinen 2783 gebede, 15 gün ara ile 2 serolojik inceleme yaparak, belirgin klinik semptom verenlerle, seropozitifleşme ya da 4 katı veya daha fazla HAI titre artışı gösterenleri rubella şüpheli olgular şeklinde ayırmışlardır. Rubella spesifik IgG ve IgM ile HAI antikor titresini ölçümleri yapılmıştır. Bu 2783 kadından 53'ünde (%1.9) seropozitifleşme veya en az 4 katlık titre artışı, 31'inde (%1.1) rubella ile uyumlu klinik bulgular belirlenmiş ve bu 84 olgu (%3) rubella şüpheli olarak kabul edilmiştir. Daha sonra primer infeksiyon olarak kabul edilen bu grup içinden 55'inde (%66.5) rubella spesifik IgM anlamlı pozitif bulunmuştur. Rubella spesifik IgM negatif 29 olgudan 16'sı klinik belirti vermeyip, en az 4 katlık bir IgG antikor artışı göstermiş, reinfeksiyon olarak değerlendirilmiştir. Bunlardan geriye kalan 13 olgu ise, serokonversiyon göstermediğinden, rubella dışı olgular olarak kabul edilmiştir.

Rubella benzeri belirtiler gösteren tüm gebelerde, spesifik IgM bakılmalıdır. Rubella spesi-

fik IgM varlığı, vireminin, dolayısıyla fotal riskin bir göstergesi olarak alınabilir. Bu çalışmada olduğu gibi HAI ile serokonversiyon veya 4 katı titre artışı yeni bir infeksiyon işareti olarak alınır, klinik/subklinik infeksiyon oranı 1/0.3 (53 olguda 17 asemptomatik olgu) şeklinde bulunur. Buna karşın yeni infeksiyonun göstergesi olarak rubella spesifik IgM alınır, 1/0.02 (55 primer infeksiyonda 1 asemptomatik olgu) oranı elde edilir ki bu oran, 15 kat daha düşük düzeydedir. Bu çalışma verilerine göre bütün reinfeksiyonlular asemptomatik iken, primer rubellanın subklinik geçmesi oldukça azdır. Bu noktadan hareketle klinik belirtilerin tanı koymada büyük faydası olduğu sonucuna varılmıştır (30, 31).

Rubellanın serodiagnozunda, nötralizasyon, kompleman fiksasyon, floresan antikor, lateks aglütinasyon ve radyoimmünassay yöntemleri de kullanılabilir (2,11,14,18). Bu yöntemlerle tespit edilen antikorların pik yaptığı zamanlar farklı olduğu gibi titreleri ve devam süreleri de farklıdır. Nötralize edici antikorların hastalığın 28. gününde pik yapmasına karşılık, floresan antikorlar 16-17. ve kompleman fiksasyon antikorları 21. günde pik yapar. Bunların titre yükseklik sırası ise hemaglütinasyon inhibisyon, nötralizasyon ve floresan antikor testleri şeklindedir. Kompleman fiksasyon antikorları ise, daha düşük düzeyli ve daha kısa sürelidir (32). Floresan antikor yöntemi kullanım ve okuma kolaylığı yönünden uygun olup, özellikle IgG tipi antikorların tesbiti bakımından güvenilir bulunmuştur. Önceleri immünglobülinlerin kantitatif ölçümleri için tanımlanan floresan antikor testi (IFA), sonraları rubella da dahil çeşitli virüslere karşı oluşan IgG antikorlarının saptanması için geliştirilmiş ve yaygın kullanım alanı bulmuş bir yöntemdir. Rubellaya özgün antikorların kantitatif tesbiti için spesifite ve sensitivite yönünden diğer tetkiklerle oldukça iyi yarışmaktadır (33-37). Testin yapılması ve değerlendirilmesindeki kolaylık ve sadelik, her laboratuvara uygulanabilecek yaygın bir yöntem olmasını sağlamıştır. Rubella spesifik IgM için geliştirilen IFA ise, floresan izotiyosyanat bağlı anti-human IgM kullanan indirek bir yöntem olarak tanımlanmıştır. İndirek solid faz testlerinde rastlanan, yaygın bir problem olan, serumda yüksek düzeyde bulunan spesifik IgG ve romatoid faktörlerin (RF) interferansını gidermek için, serum örneklerinin önceden anti-

human IgG ile işlem görmesi gerekmektedir (38). IFA, ezantemden sonraki 4. günden itibaren, rubellaya özgü IgM varlığını doğru olarak göstermektedir. Bu teste 4. günden önceki serum örneklerinde spesifik IgM belirlenebilme oranı ise %81 olarak bulunmuştur. IFA yönteminin primer rubella infeksiyonunda spesifik IgM tesbiti yönünden uygun duyarlılıkta olduğu ve genelde yorum problemlerine yol açmayacak derecede net sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Ancak düşük titrelerin dikkatle yorumlanması ve mümkünse başka bir testle doğrulanması gerekmektedir. IFA yöntemi ile yalancı pozitiflik oranı %57 bulunmuştur. Bu oran ELISA yöntemindeki %19 oranına göre oldukça yüksektir (39). Floresan antikor testi, antijen aramak amacıyla "direk floresan antikor testi" olarak da uygulanabilir (18).

Viral antijenlerle kaplanan mikroskopik lateks partikülleri spesifik antikorların araştırılmasında kullanılmakta ve bu yöntem "lateks aglütinasyon testi" olarak bilinmektedir. Basit ve çabuk sonuç veren bir testtir. Testin avantajı çabuk sonuç alınması yanında ucuz olması ve herhangi bir laboratuvar aletine ihtiyaç göstermemesidir. Oldukça duyarlı ve spesifik bir testtir. Özellikle doğurgan yaştaki kadınların immün durumunu göstermek için hem tarama, hem de teşhis amacıyla kullanıma uygundur (18). Lateks aglütinasyon testinin HAI ile uyumu %99.2, sensitivitesi %99.6, spesifitesi %95.3 olarak bulunmuştur. ELISA ile uyumu ise %94.7 olarak saptanmıştır (40). Hem lateks aglütinasyon testi, hem de ELISA rubella antikorlarının tesbitinde uygun yöntemler olarak tanımlanmıştır. Her iki yöntemin de HAI testine göre belirgin teknik avantajları vardır. Örneğin, serumu önceden herhangi bir işleme tabi tutma gereği yoktur ve sonuç bildirimine kadar geçen süre çok kısadır. Özellikle lateks aglütinasyon yöntemi basit ve hızlıdır. 8 dakikalık bekleme süresi sonunda, sonuç hemen okunabilmektedir (40). Bu testlerin çoğu günümüzde yerini ELISA testine bırakmıştır. ELISA, rubella IgG ve IgM düzeylerinin araştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. ELISA IgG'nin özgüllüğünün %100, duyarlılığının %97.4, HAI testi ile uyumluluğunun %97.8 olduğu tespit edilmiştir (2,12,18,41). Allan ve ark. (42) da benzer sonuçlar bildirmiştir. ELISA, IFA testine göre daha duyarlı, spesifik ve kısa uygulama sürelidir. Aynı amaçlarla kullanılan RIA ile ELISA'nın sensitivitesi arasında önemli bir

farklılık bulunmamaktadır (43,44). IFA ise, ELISA ve RIA yöntemlerine göre daha eskidir. ELISA ve IFA ile, 94 kız öğrencide rubella IgM ve IgG sonuçları karşılaştırılmış, olguların 81'inde (%86.2) IgG, 29'unda (%30.8) ise IgM pozitif bulunmuştur. Bunların 28'inde (%29.8) hem IgG, hem de IgM pozitif sonuç vermiştir. IFA rubella IgG 76 olguda (%80.9) ve IgM 27 olguda (%28.7) pozitif bulunmuş, . ELISA IgG negatif 3 serum IFA ile pozitif sonuç vermiştir (45). ELISA ile başka bir incelemede, kızamıkçık IgG antikorları 1000 serum örneğinden 930'unda pozitif bulunmuştur (26).

Cengiz ve ark. (46) ise, 0-16 yaş diliminden 175 çocuğun serumunda ELISA ile rubella IgG ve IgM antikorları aramışlardır. Bu çalışmada rubella IgG antikorları kızlarda %87, erkeklerde %85 olmak üzere 175 olgunun 150'sinde (%86) seropozitif bulunmuş ve yaşla birlikte pozitifliğin yükseldiği gözlenmiştir. Rubella IgM pozitifliği bir olguda saptanmıştır. Rubella IgG ve IgM negatif 25 olgunun risk grubuna girdiği belirtilmiştir.

Yine Cengiz ve ark.nın (47) başka bir çalışmasında ölü veya anomalili bebek doğumu yapan annelerin ve bebeklerinin kordon serumlarında ELISA ile rubella IgG araştırılmıştır. Çalışmada 76 olgunun anne ve kordon serumu birlikte incelenmiş, rubella IgG 64 anne, 54 kordon serumunda pozitif olarak saptanmıştır. Rubella IgG negatif olup, risk grubu içinde yer alan 12 olguda anensefali, ansefalosel, immatürite-prematürite, kalp atrezisi, yüksek damar anomalileri ile birlikte intrauterin ölüm gözlenmiştir.

Lügen Cengiz ve ark.nın (41) bir çalışmasında 18-40 yaş grubundan, zamanında, sağlıklı bebek doğumu yapan annelerle bebeklerinde ELISA ile rubella IgG antikorları araştırılmıştır. Toplam 182 olgunun 176'sında IgG pozitifliği izlenmiş, 6 olguda negatiflik saptanmıştır. Anneden bebeğe rubella IgG geçiş oranı da 174/176 (%98.86) şeklinde belirlenmiştir.

Aynı araştırmacıların bir diğer çalışmasında; anomalili bebek doğumu ile sonuçlanan gebeliklerde anne-kordon serum çiftlerinde ELISA ile rubella IgG ve IgM aranmıştır. Toplam 94 olgunun 13'ünde (%13.83) rubella IgM pozitifliği saptanmış ve bu 13 olgunun konjenital rubella sendromu ile ilişkisi araştırılmıştır. Kordon serumunda rubella IgM pozitifliği ise

94 olgunun 3'ünde izlenmiştir. Araştırmada rubella IgG-IgM antikorlarının konjenital rubella sendromundaki tanı değeri gözden geçirilmiş ve patolojik gebeliklerle sağlıklı bebek doğumu ile sonuçlanan gebelikler arasında rubella IgG pozitifliği için  $p < 0.01$  düzeyinde anlamlılık görülmüştür (48). Hastaya maksimum faydayı sağlayabilmek için, fetal infeksiyon gebelik sırasında mümkün olduğu kadar çabuk ve erken tespit edilebilmelidir. Maternal IgM fetal dolaşıma geçmediğinden, fetal rubella spesifik IgM, fetal infeksiyonun göstergesi niteliğindedir (30,49). IgM 19-22. gebelik haftaları gibi nispeten geç geliştiğinden ve her zaman ölçülebilecek düzeye ulaşmadığından, sonuçların çok dikkatli yorumlanması gerekmektedir. Rubella virus spesifik IgM, döküntülerden 6 hafta sonrasına kadar pozitiflik göstermekte ve genellikle anne adayında tanıyı sağlamaktadır (5,11,50).

IgM saptanması için çok detaylı immunasaylar geliştirilmiş olmasına karşın, iki önemli sorunu da gündeme getirmiştir:

1. Rubella IgM'in çok sık tesbiti, terapötik abortusların artışına ve fetus kayıplarına yol açmıştır.
2. Çok düşük IgM düzeyleri mutlaka yeni geçirilmiş bir infeksiyonu göstermeyebileceği gibi, fetal riskin çok az olduğu bir bölümü yansıtan, primer infeksiyonun akut fazından aylar sonrasının da işareti olabilir (31,51).

Gebelik boyunca olan infeksiyonlar üzerinde uzmanlar genel olarak, annedeki infeksiyonun klinik ve laboratuvar bulguları üzerine odaklanmışlar ve çocuğa infeksiyonun olası geçişi ile birlikte, fetal hasar riskini tahmine yönelmişlerdir. Günümüzde fetal örnekleme için kullanılan teknikler ile fetus infeksiyonlarının in utero tanısı mümkün kılınmıştır ve fetal hasarın görülmesi ile bu bilgiler paralellik göstermektedir. Amniyosentez, kordosentez ve koryonik villus örneklemelemlerini içeren örnek alma teknikleri mevcuttur. Laboratuvar testleri;

- a) Uygun laboratuvar sistemlerinde organizmanın izolasyonu,
- b) Organizmanın DNA ya da RNA'sının direkt olarak ya da PCR gibi amplifikasyon teknikleri ile saptanması,
- c) Organizmanın floresans ya da in situ hibridizasyon teknikleri ile aranması,

d)ELISA ya da benzer metodlarla organizmaya karşı oluşan f3tal IgM ya da IgA yapısındaki anti-korların ayrıştırılmasını içerir. In utero enfeksiyon ajanları rubella dışında, sitomegalovirus, parvovirus, T. gondii ya da HIV-1 olabilir (52).

Rubella virusunun zarf glikoproteinlerinden olan E1, rubella enfeksiyonlarında, en b3y3k hedef antijen olmakta ve virus spesifik imm3n cevabın oluşmasında 3nemli rol oynamaktadır (53). Rubella virus RNA'sının saptanması i3in bu E1 b3lgesinden elde edilen primerler kullanılarak geliştirilmiş PCR metodu, yapılan 3alışmalarda, sensitif ve spesifik olarak bulunmuştur. Konjenital rubella enfeksiyonunun prenatal tanısı ve koryonik hastalıkların tanısının araştırılması i3in bu metodun kullanımını uygun g3r3nmektedir (17,53).

Bosma ve ark. (16) nın yaptığı bir 3alışmada; in utero olarak ve infantlarda konjenital rubella tanısı i3in PCR deneyi değerlendirilmiş, PCR deneyi sonu3ları, primer rubella ya da rubella virus reinfeksiyonunu takiben gebeliğin sonlanmasından sonra elde edilen plasental ya da f3tal dokularda retrospektif olarak rubella virus araştırılması amacıyla yapılan vir3s izolasyonu sonu3ları ile karşılaştırılmıştır. 3rneklerin %85 'inde iki y3ntem sonu3ları arasında uyum g3zlenmiştir. Araştırmacılar, PCR'ın konjenital rubella enfeksiyonunun tanısı i3in başarıyla kullanılabileceği yorumunu yapmışlardır.

Tanemura ve ark (15) da fetal rubella enfeksiyonunun prenatal tanısı i3in gebe kadınlarda koryonik vill3s, amniyotik sıvı ya da f3tal kandan viral ribon3kleik asit ekstratlarının araştırılması yoluyla g3venilir bir tanı metodu geliştirmek amacıyla, rubella ř3phesi olan 34 kadından alınan 3rneklerle PCR metodu uygulamışlardır. Sonu3ları bu annelerin serum antik3rleri ve f3tal kandaki rubella virus spesifik IgM antik3r d3zeyleri ile karşılaştırmışlardır. Sonu3ta bu metodun, maternal semptomlar ve serum antik3r seviyelerinin birlikte değerlendirimine kıyasla, koryonik villus ve amniyotik sıvı 3rneklerinden f3tal rubella enfeksiyonunun 3ok daha erken tanısına izin verdiğini saptamışlardır. Sonu3 olarak rutin tetkiklerde g3n3m3zde ELISA en yaygın tercih edilen y3ntemdir. Tek serum 3rneğinde kızamık3ık IgM tayini veya antik3r titresinde 4 kat artış ile kesin tanı konmaktadır. Kızamık3ık ge3irilip, ge3irilmediğini anlamak i3in ise,

tek serum 3rneğinde IgG araştırmak yeterlidir (2).

Serolojik testler; bazı durumlarda, bazı enfeksiyon hastalıklarının tek tanı metodu olabilir. Serolojinin yalnız başına değerlendirilmemesi gerektiği 3nemli bir noktadır. Hastada bulunan klinik semptomlarla serolojik test sonu3ları karşılaştırılmalıdır. İki serum 3rneği arasında, antik3r titresinde artış olması tanıyı desteklemektedir (54).

## KAYNAKLAR

1. Gershon AA: *Rubella Virus In: Principles and practice of infectious diseases 3<sup>rd</sup> ed. Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds) New York, Ghurchill Livingstone 1990. p:1242*
2. Balık İ: *Kızamık3ık. In: İnfeksiyon Hastalıkları Top3u AW, S3yletir G, Doğanay M (eds). İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi 1996. s:732*
3. Krugman S, Katz SL, Gershon AA, Wilfert GM (eds): *Infectious Diseases of Children 9<sup>th</sup> ed. St. Luis, Mosby Year Book 1992. p:381*
4. Ray CG: *Rubella and other viral exanthems. In: Harrison's of Internal Medicine. 13th ed. Mc Graw Hill Comp, Vol 1, 1994. p:827*
5. Cengiz L, Cengiz AT, Kıyan M, Uğurel ř: *Rubella virusu ve enfeksiyonları. T3rk Mikrobiyol Cem Derg 21:83, 1991*
6. Drew WL: *Virology. In: Medical Microbiology. Murray PR, Drew WL, Kobayashi GS, Thomson JH (eds). London, Wolfe Medical Publ. 1990. p:38*
7. Marcy SM, Jordan MC: *Rubella. In: Infectious Diseases. Hoeprich PD, Jordan MC (eds). 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, JB Lippincott comp. 1989. p:886*
8. Fosgren M, Carlsen G, Strongent K: *Case of congenital rubella after maternal reinfection. Scand J Infect Dis. 11:81, 1979*
9. Wilkins J, Leeton JM, Salvatore MA: *Clinical rubella with arthritis resulting reinfection. Ann Int Med. 77:930, 1972*
10. Liessa B, Sever JL: *Rubella. In: Infectious Disease 3<sup>rd</sup> ed. Gorbach SL, Barthelett JG, Blacklow NR (eds). WB Saunders Comp. 1992. p:1093*
11. Hermann KL: *Available rubella serologic tests. Rev Infect Dis. 7 (Suppl 1):108, 1985*
12. K3ksal İ, Usta3elebi ř: *Doğurganlık yaşındaki kadınlarda, kızamık3ık seropozitiflik*

- oranının hemaglutinasyon önlenim ve ELİSA IgG yöntemleri ile saptanması ve kıyaslanması. *Mikrobiyol Bült* 22:284, 1988
13. Onul B: *İnfeksiyon Hastalıkları*. Ankara Ü. Tıp Fak. yayını. No:391. 6. basım. Ankara, 1980. p:182
  14. Pruneda RC, Dover JC: A comparison of two passive agglutination procedures with enzyme-linked immunosorbent assay for rubella antibody status. *Am J Clin Pathol* 86:768, 1986
  15. Tanemura M, Suzumori K, Yagami Y, Kato S: Diagnosis of fetal rubella infection with reverse transcription and nested polymerase chain reaction: A study of 34 cases diagnosed in fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 174:578, 1996
  16. Bosma TJ, Corbett KM, Eckstein MB et al: Use of PCR for prenatal and postnatal diagnosis of congenital rubella. *J Clin Microbiol* 33:2881, 1985
  17. Bosma TJ, Corbett KM, O'Shea S et al: PCR for detection of rubella virus RNA in clinical samples. *J Clin Microbiol* 33:1075, 1995
  18. Akan E: *Genel ve Özel Viroloji*. Saray Yayınevi, 3. baskı İzmir, 1994. s:162
  19. Capner PM, Davies E, Pattison JR: Rubella specific IgM detection using sephacryl S300 gel filtration. *J Clin Pathol* 33:1082, 1980
  20. Ronald EJ, Hardiman AE, Grint PCA, Kangro HO: Rubella spesific IgM determination on heat-treated sera. *Lancet* 2 (8463):1071, 1985
  21. Dilmen U, Kaya İS, Çiftçi U, Gökşin E: Gebelik, ölü doğum ve düşüklerde toxoplasmosis ve rubella. *Doğa-Tr J Med Sci* 14:294, 1990
  22. Özbal Y, Dönmez M, Kurtoğlu S, Kılıç H: Genç anne ve bebeklerinde kızamıkçık ve sitomegalovirus antikor bulguları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 17:200, 1987
  23. Chantler JK, Tingle AJ, Petty RE: Persistent rubella virus infection associated with chronic arthritis. *N Eng J Med* 313:1117, 1985
  24. Ford DK, Rosa DM, Reid GD et al: Synovial mononuclear cell responses to rubella antigen in rheumatoid arthritis and an explained persistent knee arthritis. *J Rheumatol* 9:420, 1982
  25. Grahame R, Armstrong R, Simmons NA: Chronic arthritis associated with the presence of intrasynovial rubella virus. *Ann Rheum Dis* 42:2, 1983
  26. Ustaçelebi Ş, Köksal İ, Cantürk H ve ark: Hamilelikte TORCH etkenlerine karşı antikorların saptanması. *Mikrobiyol Bült* 20:1, 1986
  27. Seçmeer G, Kanra G: Romatoid artritli çocuklarda rubella antikor düzeyleri. *Mikrobiyol Bült* 23:230, 1988
  28. Schnitzer TJ, Ansell BM, Howkins GT, Marshall WC: Significance of rubella virus infection in juvenile chronic polyarthritis. *Ann Rheum Dis*. 36:468, 1977
  29. Morgan-Capner P, Hodgson J, Sellwood J, Tippett J: Clinically apparent rubella reinfection. *J Infect Dis* 9:97, 1984
  30. Morgan-Capner P, Rodeck CH, Nicolaidis KH, Cradock-Watson JE: Prenatal detection of rubella spesific IgM in fetal sera. *Prenatal Diagnosis* 5:21, 1985
  31. Morgan-Capner P, Burgess C, Ireland RM, Sharp JC: Clinically apparent rubella reinfection with a detectable rubella spesific IgM response. *Br Med J* 286:1616, 1983
  32. Harstmann DM: Rubella. In: *Viral Infections of Humans 2<sup>nd</sup> ed*. Evans AS (ed). New York, London. Plenum Medical Book Co. 1983. p: 519
  33. Blanchard GC, Garner R: Two immunofluorescent methods compared with a radial diffusion method of measurement of serum immunoglobulins. *Clin Chem* 22:1465, 1978
  34. Castellano JA, Madden DL, Hazzard GT, et al: Evaluation of commercially available diagnostic test kits for rubella. *J Infect Dis* 143:578, 1981
  35. Kleeman KT, Kiefer DJ, Halbert SP: Rubella antibodies detected by several commercial immunoassays in hemagglutination inhibition negative sera. *J Clin Microbiol* 18:1131, 1983
  36. Weissfeld AS, Gehle WD, Sonnenwirth AC: Comparison of several test systems used for determination of rubella immune status. *J Clin Microbiol* 16:32, 1982
  37. Zartavian MV, Friedly G, Petterson EM, Dela Maza LM: Detection of rubella antibodies by hemagglutination inhibition, indirect fluorescent antibody tests and enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 14:640, 1981

38. Neurman O: Detection of antiviral IgM antibodies and its problems. *Curr Top Microbiol Immunol* 104:101, 1983
39. Echevarria JM, De Ory F, Najera R: Fluoroimmunoassay for detection of rubella specific immunoglobulin M: Comparison with indirect enzyme immuno assay and  $\gamma$ -chain capture. *J Clin Microbiol* 22:428, 1985
40. Steece RS, Talley MS, Skeels MR, Lanier GA: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, hemagglutination inhibition and passive latex agglutination for determination of rubella immune statue. *J Clin Microbiol* 21:140, 1985
41. Cengiz L, Cengiz AT, Kıyan M ve ark: Zamanında sağlıklı doğum yapan annelerde kızamıkçık immünitesinin ELISA yöntemi ile değerlendirilmesi. *Ankara Tıp Mecmuası* 48:111, 1995
42. Allan LT, Byron LB, Huber TW, Brucel M: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, with indirect hemagglutination and hemagglutination inhibition for determination of rubella virus antibody. Evaluation immune status with commercial reagents in a clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 17:106, 1983
43. Beliamy K, Hodgson J, Gardner PS, Capner PM: Public Health Laboratory Service IgM antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay for detecting rubella specific IgM. *J Clin Pathol* 38: 1150, 1985
44. Kurtz JB, Malic A: Rubella specific IgM detected by an antibody capture assay ELISA technique. *J Clin Pathol* 34:1392, 1981
45. Kocabeyoğlu Ö, Gün H, Yılmaz E ve ark: 17-20 yaş grubundaki kız öğrencilerde rubella virus IgG ve IgM antikor düzeylerinin ELISA ve Floresan antikor testleriyle karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bült* 22:36, 1988
46. Cengiz AT, Kıyan M, Dolapçı Gi ve ark: Çeşitli yaşlardan çocukların serumlarında ELISA ile Sitomegalovirus ve Rubella virus IgG-IgM antikorlarının araştırılması. *Mikrobiyol Bült* 30:87, 1996
47. Cengiz AT, Cengiz L, Kıyan M ve ark: Ölü veya anomalili bebek doğumu yapan anne serumu ile kordon serumunda Rubella IgG2nin ELISA ile araştırılması ve Rubella risk grubunun belirlenmesi. *Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2:27, 1991
48. Cengiz L, Cengiz AT, Kıyan M ve ark: Sağlıklı veya anomalili bebek doğumu ile sonuçlanan gebeliklerde, anne-kordon serumlarında Rubella IgG ve IgM'nin ELISA ile araştırılması. *T Klin Jinekoloj Obst* 4: 164, 1994
49. Daffos F, Grangeot-Keros L, Lebon P et al: Prenatal diagnosis of congenital rubella *Lancet* ii:1, 1984
50. Enders G: Serological test combinations for safe detection of rubella infections. *Rev Infect Dis* 7(suppl 1):113, 1985
51. Stallman ND, Allan BC, Sutherland CJ: Prolonged rubella IgM antibody response. *Med J Aust* 2:629, 1974
52. Valente P, Sever JL: Inutero diagnosis of congenital infections by direct fetal sampling. *Isr J Med Sci.* 30:414, 1994
53. Seto NO, Gillam S: Expression and characterisation of a soluble rubella virus E1 envelope protein. *J Med Virol* 44:192, 1994
54. Valente C, Faria MJ, Trindade L et al: Serologic diagnosis of several infectious disease. *Acta Med Port* 6:605, 1993