

The Evaluation of Intrauterine Toxoplasmosis Risk in Pregnant Women with Positive Toxoplasma Serology

Ümit GÖRKEM^{1,a}, Çağdaş KOCAMAN^{2,b}, Djursun KARASARTOVA^{2,c}, Deniz TAŞKIRAN^{1,d}, Ayşe Semra GÜRESER^{2,e}, Cahit BABÜR^{3,f}, Nezahat KOŞAR^{2,g}, Ayşegül TAYLAN ÖZKAN^{4,h}

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Hitit University, Çorum, TURKEY

²Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Hitit University, Çorum, TURKEY

³National Parasitology Reference Laboratory, General Directorate of Public Health of Turkey, Ministry of Health, Ankara, TURKEY

⁴Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine TOBB-University of Economics and Technology, Ankara, TURKEY

ORCID: ^a0000 0002 0848 9731, ^b0000 0002 8563 498X, ^c0000 0003 2696 381X, ^d0000 0001 7270 4566, ^e0000 0002 6455 5932,

^f0000 0002 6524 3260, ^g0000 0001 9966 9051, ^h0000 0001 8421 3625

ABSTRACT

In this study, the evaluation of congenital toxoplasmosis risk in the Çorum province was aimed. The venous blood and the tissue samples from the maternal side of the placenta, and the blood samples from the umbilical cord were obtained from 76 pregnant women between the ages of 18-45 who had normal vaginal or cesarean delivery at The Hitit University Çorum Erol Olçok Training and Research Hospital. According to ELISA anti- *Toxoplasma gondii* IgM/IgG results, pregnant women were divided into two groups; patient and control. The relevant data regarding pregnant women and their babies were collected from the Hospital Information System. Sera of maternal venous blood and umbilical cord blood samples were re-evaluated with the Sabin-Feldman dye test. Nested-PCR method was used to detect the presence of *T. gondii* DNA in the placenta. Only 4 (16%) of 25 pregnant women with positive anti-*T. gondii* IgM/IgG values had anti-*T. gondii* IgM positivity. Anti-*T. gondii* IgG was positive in 20 (80%) pregnant women, and anti-*T. gondii* IgM and anti-*T. gondii* IgG were positive in 1 (4%) pregnant woman. While the mean age of 25 pregnant women in the patient group was 30.3, it was 28.8 in 51 pregnant women in the control group. Values for the patient and control groups, respectively, were as follows: Average week of gestation: 39.1 vs. 38.8; Multigrade: 80% vs. 73%; Male baby ratio: 60% vs. 44%; Average birth weight: 3211.4 g. vs. 3236.8 g; The Apgar score average was found to be is 7.9 vs. 7.9. No statistically significant difference was found between the results. SFDT (0%) was not detected in any of the maternal venous and umbilical cord sera of 51 samples which were negative for anti-*T. gondii* IgM/IgG. Both the maternal and umbilical cord sera of 13 (52%) of 25 anti-*T. gondii* IgM/IgG positive samples were evaluated as negative by the SFDT. ELISA IgG+IgM sensitivity according to SFDT was 100%; specificity was: 79.7%, negative predictive value was: 100%, and finally, positive predictive value was: 48%. DNA bands of *T. gondii* were not observed in any of the 76 (0%) placenta samples which were examined. More than half of the maternal blood in our study could not be confirmed as positive by SFDT. *T. gondii* DNA was not detected in any of the placentas. Nevertheless, it is not possible to say that the risk of toxoplasma transmission from mother to baby in the Çorum province is low with this study which was conducted with a limited number of samples. There are plans in terms of repeating this study with an increased number of anti-*T. gondii* IgM positive samples from different regions.

Key words: Pregnancy, *Toxoplasma gondii*.

Toksoplazma Serolojisi Pozitif Gebelerde İntrauterin Toksoplazmoz Riskinin Değerlendirilmesi

ÖZ

Bu çalışma ile Çorum ilinde konjenital toksoplazmoz riski hakkında temel bir veri sağlanması amaçlanmıştır. Hitit Üniversitesi Çorum Erol Olçok Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde doğum yapan 18-45 yaş arası 76 gebeden venöz kan örneği ile plasentanın maternal yüzünden doku ve umbilikal korddan kan örnekleri alındı. Gebeler rutin tetkikler sırasında istenilen ELISA anti-*Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) IgM/IgG sonuçlarına göre hasta ve kontrol olarak iki gruba ayrıldı. Hastane Bilgi Sisteminden gebe ve bebeklerle ilgili temel bilgiler toplandı. Anne venöz ve umbilikal kord serumları Sabin-Feldman boya testi (SFDT) ile tekrar değerlendirildi. Plasentada *T. gondii* DNA varlığı nested-PCR yöntemiyle incelendi. Anti-*T. gondii* IgM/IgG değerleri pozitif olan 25 gebenin sadece 4 (%16)ünde anti-*T. gondii* IgM pozitifliği vardı. 20 (%80) gebede anti-*T. gondii* IgG, 1 (%4) gebede ise anti-*T. gondii* IgM ve anti-*T. gondii* IgG birlikte pozitifliği vardı. Hasta grubundaki 25 gebenin yaş ortalaması 30,3, kontrol grubundaki 51 gebenin ise 28,3'dü. Hasta ve kontrol grubu için değerler sırasıyla: Gebelik hafta ortalaması: 39,1'e 38,8; Multigrad: %80'e %73; Erkek bebek oranı: %60'a %44; Doğum ağırlığı ortalaması: 3.211,4 gr'a 3.236,8 gr; Apgar skoru ortalaması 7,9'a 7,9 olarak belirlendi. Sonuçlar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı. Anti-*T. gondii* IgM/IgG negatif olan 51 örneğin anne venöz ve umbilikal kord serumlarının hiçbirinde SFDT ile (%0) pozitiflik saptanmadı. Anti-*T. gondii* IgM/IgG pozitif 25 örneğin 13 (%52)ünün hem anne hem de umbilikal kord serumları SFDT ile negatifti. SFDT'ye göre ELISA IgG+IgM duyarlılığı: %100; özgüllüğü: %79,7, negatif prediktif değeri: %100, pozitif prediktif değeri: %48 bulundu. Plasenta örneklerinde *T. gondii* DNA'sı belirlenemedi. Çalışmamızdaki maternal kanların yarısından fazlası SFDT ile pozitif bulunmadı. Plasentaların hiçbirisinde *T. gondii* DNA'sı saptanmadı. Ancak kısıtlı sayıdaki örnekle yürütülen bu araştırma kapsamında Çorum ilinde anneden bebeğe toksoplazma geçiş riskinin düşük olduğunun söylenmesi mümkün değildir. Çalışmanın farklı bölgelerden toplanan anti-*T. gondii* IgM pozitif örnek sayısı artırılarak tekrarlanması planlanmaktadır.

Anahtar kelimeler: Gebelik, *Toxoplasma gondii*.

GİRİŞ

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) zorunlu bir hücre içi paraziti olup genellikle asemptomatik seyreden enfeksiyonlara neden olmaktadır. Diğer yandan konjenital olarak enfekte olmuş yeni doğanlarda ve immün yetmezliği olanlarda hayatı tehdit eden enfeksiyonlara da yol açabilmektedir (Ergün ve ark, 2013; Fricker-Hidalgo ve ark, 2007; Pomares ve Montoya, 2016; Uludağ ve Madazlı, 1993). Annedeki akut toksoplazmoz tanısı genellikle maternal serumda *T. gondii* immünoglobulin M (IgM), IgG avidite ve IgA tesbitiyle serolojik olarak konulmaktadır (Hotop ve ark, 2012; Prusa ve ark, 2015; Torgerson ve Mastroiacovo, 2013; Wallon ve ark, 2013). Gebelikte görülen akut toksoplazmoz, %10-15 oranında konjenital toksoplazmoza neden olabildiğinden maternal enfeksiyon durumunda mutlaka fetal enfeksiyon da araştırılmalıdır (Ergün ve ark, 2013; Fricker-Hidalgo ve ark, 2007; Hotop ve ark, 2012; Pomares ve Montoya, 2016; Uludağ ve Madazlı, 1993).

Konjenital toksoplazmoz, bir kadın gebelik sırasında ilk kez *T. gondii* enfeksiyonu geçirdiğinde veya daha nadiren de gebe kalmadan kısa bir süre önce enfeksiyonu geçirdiğinde ortaya çıkabilir. Parazitin hemato-plasental bariyeri geçip fetüse ulaşmasıyla meydana gelen konjenital toksoplazmoz, fetüste ölüme, nörolojik veya nöro-bilişsel eksikliklere ve korioretinite sebep olabilir (Prusa ve ark, 2015; Torgerson ve Mastroiacovo, 2013). Bulaşma riski esas olarak gebelik yaşına ve annenin tedavi görüp görmemesine göre değişir (Fricker-Hidalgo ve ark, 2007; Hotop ve ark, 2012; Pomares ve Montoya, 2016; Prusa ve ark, 2015; Wallon ve ark, 2013). Konjenital enfeksiyonun oluşma riski ilk trimesterde %15-17, ikinci trimesterde %25, üçüncü trimesterde %65 olarak bildirilmektedir (Uludağ ve Madazlı, 1993).

T. gondii plasenta ve/veya kordon kanında tespit edilebilir, ama plasental analizin sonuçlarına odaklanan yayınlar nadirdir (Cortina-Borja ve ark, 2010). Konjenital toksoplazmoz teşhisi, genellikle gebe ve fetüsün klinik bulguları ve laboratuvar testleri birlikte değerlendirilerek yapılır (El Bissati ve ark, 2018; Kwofie ve ark, 2016).

Bu çalışmada hastanemizde normal vajinal ya da sezaryenle doğum yapan 18-45 yaş arası 76 kadının venöz kan örnekleri ve yeni doğanların umbilikal kord kan örneğinin alınarak

serolojik olarak altın standart Sabin Feldman Dye test (SFDT) ile değerlendirilmesi ve plasentanın maternal yüzünden alınan doku örneklerinde *T.gondii* DNA'sının nested-PCR ile saptanması planlanmıştır. Bu çalışmayla annede saptanan enfeksiyonların, çocuğa geçiş riskinin değerlendirilmesi, ülkemizde tam olarak durumu bilinmeyen konjenital toksoplazmoz hakkında temel bir veri elde edilmesi amaçlanmıştır. Sonuçların, gebelik sırasında rutin toksoplazmoz incelemesinin gerekliliği üzerine kanıta dayalı bilgiler sağlaması ve daha kapsamlı çalışmalara da temel olması hedeflenmiştir.

MATERYAL VE METOD

Vakaların seçimi

Bu prospektif kohort çalışmaya 01.08.2018 ve 01.03.2019 yılları arasında Hitit Üniversitesi Çorum Erol Olçok Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniklerine başvuran 18-45 yaş arasındaki 76 gebe dahil edildi. Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (E-18-2061) tarafından çalışmaya etik kurul onayı alındı. Tüm gönüllü gebelerden çalışma öncesi aydınlatılmış yazılı onamları alındı.

Trofoblast apoptozunu etkileyen ve gebelikte komplikasyon olarak karşımıza çıkan preeklampsi, intrauterin gelişim geriliği, preterm eylem, çoğul gebelik ve diğer intrauterin enfeksiyonlar dışlama kriterleri olarak kabul edildi. Ayrıca çalışmaya sigara içmeyen, gebeliği yardımcı üreme tedavileri ile elde etmeyen ve insülin-bağımlı diabetes mellitusu olmayan gebeler kabul edilmiştir. Covid-19 pandemisi nedeniyle Mart 2019 tarihinden itibaren vaka toplanmasına devam edilemedi. Gebeliğin 6. aydaki anti-*T. gondii* IgM ve/veya IgG pozitiflik durumlarına göre hasta grubu (25 kadın) ve kontrol grubu (51 kadın) doğum yapana kadar izleme alındı.

Gebeler rutin tetkikler sırasında istenilen ELISA anti-*T. gondii* IgM/IgG sonuçlarına göre iki gruba ayrıldı. Hastane Bilgi Sisteminden gebelerin yaş, gebelik sayısı, doğum sayısı ile bebeğin cinsiyeti doğum ağırlığı, apgar skoru bilgileri toplandı.

Sabin Feldman Boya Testi (SFDT)

Hem anne venöz kanı, hem de umbilikal kord kanı 4.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve elde edilen serumlar çalışılncaya kadar -20° C'de saklandı. Çalışmamızda haftada 3 kez fare peritonuna verilerek yapılan pasajlarla idamesi

Tablo 1. *Toxoplasma* PCR için kullanılan primer dizileri

Yöntem	Hedef gen	Primer dizisi	Baz çifti	Ref.
Nested PCR	RE	Re1 F: 5'-TGA CT CGGGCC CAGCTGCGT-3' Re1R: 5'-CTCCTCCCTTCGTCCAAGCCTCC-3' Re2 F: 5'-AGGGACAGAAGTCGAAGGGG-3' Re2 R: 5'-GCAGCCAAGCCGGAAACATC-3'	194	Fallahi et al., 2014 (11)

sağlanan *Toxoplasma gondii* TR01 suşuna ait takizoitlerle gerçekleştirilen SFDT kullanıldı (Yucesan ve ark, 2021). Antijen olarak kullanılan *T. gondii* TR01 suşuna ait takizoitler 50 saat önce intraperitoneal olarak enfekte edilmiş Swiss Albino farelerin peritoneal eksudasından elde edildi. Testte boya olarak alkali metilen mavisi kullanıldı. Serum örnekleri 56°C 30 dakika inaktive edildi ve sonrasında SFDT 1/4, 1/16, 1/64, 1/256, 1/1024 titrelerde çalışıldı. Işık mikroskopunda %50'den daha fazla takizoitin boya almadığı durumlar "pozitif reaksiyon" olarak kabul edildi (Taylan Ozkan ve ark, 2008).

DNA ekstraksiyonu ve Nested Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Genomik DNA, üreticinin protokolüne göre GeneMATRIX Tissue & Bacterial DNA Purification Kit (Gdansk, Poland) kullanılarak 25 mg plasental doku örneğinden ekstrakte edildi. Ekstrakte edilen DNA, hedef bölgesi RE geni olan primer setleri kullanılarak nested PCR'da (nPCR) amplifiye edildi. Kullanılan primer dizisi, reaktifler ve PCR koşulları Tablo 1 ve 2'de gösterilmektedir.

Bir gram agaroz tartılıp üzerine 100 ml tampon eklenen

Tablo 2. *Toxoplasma* nested PCR koşulları ve kullanılan reaktifler

I. PCR bileşenleri	Reaksiyon tüpündeki konsantrasyon	PCR koşulları
10X PCR tamponu (MgCl ² plus)(Buffer)	2,5 µl	94 ° C 5 dk 94 ° C 20 sn 55 ° C 20 sn 72 ° C 20 sn 72 ° C 5 dk (30 siklus)
dNTP	0,5 µl	
Primer forward	0,5 µl	
Re1 F: 5'-TGA CT CGGGCC CAGCTGCGT-3'		
Primer revers	0,5 µl	
Re1R: 5'-CTCCTCCCTTCGTCCAAGCCTCC-3'		
Tag DNA Polimeraz (Hibrigen)	0,5 µl	
Template DNA	5 µl	
Son hacim	25 µl	
İlk siklusun ürünleri moleküler çalışmalarda kullanılan steril deiyonize su ile 1/25 oranında dilue edilerek 2. PCR siklusunda template DNA olarak kullanılmıştır.		
II. PCR bileşenleri	Reaksiyon tüpündeki konsantrasyon	PCR koşulları
10X PCR tamponu (MgCl ₂ plus)(Buffer)	2,5 µl	94 ° C 5 dk 94 ° C 20 sn 55 ° C 20 sn 72 ° C 20 sn 72 ° C 5 dk (30 siklus)
dNTP	0,5 µl	
Primer forward	0,5 µl	
Re2 F: 5'-AGGGACAGAAGTCGAAGGGG-3'		
Primer revers	0,5 µl	
Re2 R: 5'-GCAGCCAAGCCGGAAACATC-3'		
Tag DNA Polimeraz (Hibrigen)	0,5 µl	
Template DNA	5 µl	
Son hacim	25 µl	

beher mikrodalgaya konup agaroz eritildi. Erimiş agaroz mikrodalgadan çıkartılıp üzerine 1,5 µl etidyum bromür ilave edilerek karıştırıldı. Hazırlanan agaroz jel elektroforez tankına döküldü ve yarım saat katılaşımaya bırakıldı. Yeterince katılaştıktan sonra %10'luk etidyum bromür ile boyanmış agaroz jeldeki çukurlara PCR'de çoğaltılan DNA örnekleri 10 µl olarak yüklendi. Jel elektroforez tankı 100 volt 45 dakika olacak şekilde ayarlandı. Elektroforezle ayrıştırılmış olan spesifik boyutlardaki amplifiye edilmiş DNA fragmanları mor ötesi fluoressan ile görselleştirildi.

İstatistiksel analiz

Verilerin değerlendirilmesinde, istatistiksel analizler için IBM SPSS v.22 programı kullanılmıştır. Tüm hastaların klinik parametrelerinin ortalaması ve standart sapması hesaplanmıştır. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorow-Smirnov ve Shapiro Wilks testi ile sınıanmıştır. Gruplar arası farklılıkların tespitinde, normal dağılım gösterenlerde iki grup için Student t-testi grup için Mann Whitney U, ikiden fazla grupta ise Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson ki-kare testi ve Fisher Exact test kullanılmıştır. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeylerinde değerlendirilmiştir.

BULGULAR

İncelenen olguların genel özellikleri ve dağılımları

Anti-*T. gondii* IgM/IgG değerleri pozitif olan 25 gebenin sadece 4 (%16)ünde anti-*T. gondii* IgM pozitifliği vardı. 20 (%80) gebede anti-*T. gondii* IgG, 1 (%4) gebede ise anti-*T. gondii* IgM ve anti-*T. gondii* IgG birlikte pozitif. Çalışmaya katılan gebelerin anti-*T. gondii* ELISA IgM ve/veya IgG pozitif (hasta) grup ile negatif (kontrol) grubun karşılaştırılması Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Anti-*T. gondii* ELISA IgM ve/veya IgG pozitif (hasta) grup ile negatif (kontrol) grubun karşılaştırılması

Karşılaştırılan özellik	Değer	Hasta n=25	Kontrol n=51	p
Yaş		30,3+76,0	28,3+6,6	0,249
Doğum ağırlığı		3211,4+449,6	3236,8+375,0	0,796
Gebelik haftası		39,0+1,0	38,8+1,1	0,258

Karşılaştırılan özellik	Değer	Hasta n=25	Kontrol n=51	p
Gravida	0 1	5 (0,2) 20 (0,8)	14 (0,27) 37 (0,73)	0,481
Parite	0 1	10 (0,4) 15 (0,6)	16 (0,31) 35 (0,69)	0,456
Apgar	6 7	0 (0,0) 3 (0,12) 22 (0,88)	2 (3,9) 3 (5,9) 46 (90,2)	0,455
Cinsiyet	Erkek Kız	15 (0,6) 10 (0,4)	24 (0,47) 27 (0,53)	0,289

ELISA anti-*T. gondii* IgM ve/veya IgG pozitif (hasta grubu) 25 gebenin yaş ortalaması 30,3, anti-*T. gondii* IgM/IgG negatif (kontrol grubu) 51 gebenin yaş ortalaması ise 28,3 olduğu belirlendi. Hasta grubunun (n=25) gebelik hafta ortalaması: 39,1 idi, %80 (n=20)'i multigrad idi, ancak bunların %25 (n=5)'i bebeklerini kaybetmişti. Bebeklerin %60 (n=15)'i erkekti. Tüm bebeklerin doğum ağırlığı ortalaması 3211,4 (4330-2650) gr; Apgar skoru ortalaması 7,9 ve %88'inin skoru 8'di.

Kontrol grubunun (n=51) gebelik hafta ortalaması 38,8 idi, %73 (n=37)'ü multigrad idi ancak bunların %5 (n=2)'i bebeklerini kaybetmişti. Bebeklerin %44 (n=15)'ü erkekti. Tüm bebeklerin doğum ağırlığı ortalaması 3236,8 (3950-2530) gr; Apgar skoru ortalaması 7,9 ve %84'ünün skoru 8'di ve 2 (%4)'sinin de 6'ydı.

Tüm bu çalışma parametrelerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 3).

Sabin Feldman Boya Testi Sonuçları

Anti-*T. gondii* IgM/IgG negatif olan 51 örneğin anne venöz ve umbilikal kord serumlarının hiçbirisinde SFDT ile (%0) pozitiflik saptanmadı. Anti-*T. gondii* IgM/IgG pozitif 25 örneğin 13 (%52)'ünün hem anne hem de umbilikal kord serumları SFDT ile negatif olarak değerlendirildi.

Altın standart olan ve total antikor saptayan SFDT'ye göre ELISA IgG+IgM duyarlılığı: %100; özgüllüğü: %79,7, negatif prediktif değeri: %100, pozitif prediktif değeri: %48 bulundu.

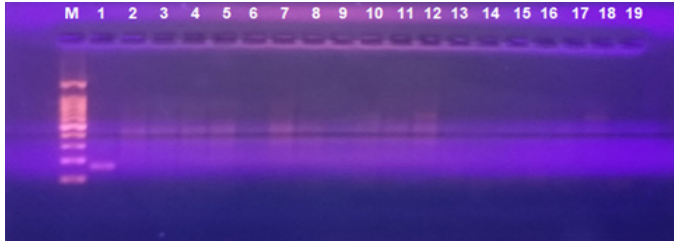
PCR ve Agaroz Jel Elektroforez ile Görüntüleme Sonuçları

İncelenen 76 (%0) plasenta örneğinin hiçbirisinde *T. gondii*'ye ait DNA bandları gözlenmedi (Şekil 1).

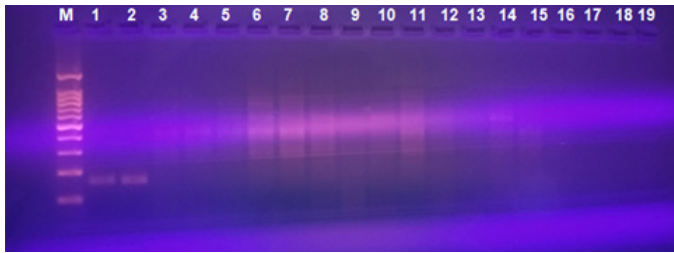
a)



b)



c)



Şekil 1. PCR ampliconlarının agaroz jel elektroforez ile görüntülenmesi a) M: Marker, 1-2: Pozitif Kontrol, 3-19: anti-*T. gondii* IgG/IgM pozitif numuneler; b) 1: Pozitif Kontrol, 2-8: anti-*T.gondii* IgG/IgM pozitif numuneler; 9: boş, 10-18: anti-*T. gondii* IgG/IgM negatif numuneler; 19: Negatif Kontrol; c) 1-2: Pozitif Kontrol, 3-16: anti-*T.gondii* IgG/IgM negatif numuneler; 17: Negatif Kontrol

TARTIŞMA

Toksoplazmoz dünyanın hemen her tarafında olduğu gibi ülkemizde de yaygın bir hastalıktır. *T. gondii* gibi enfektif ajanların gebelere bulaşması sadece annenin sağlığını tehdit etmekle kalmayıp, aynı zamanda fetal anormalliklere de yol açmaktadır (Matin ve ark, 2017). Hastalık gebelerde düşük ve erken doğuma, yenidoğanlarda ise konjenital toksoplazmoza sebep olması nedeniyle önemli bir enfeksiyon hastalığıdır (Yazar ve ark, 2005; Yasa Duru ve ark, 2017). Yenidoğanda zekâ geriliği, mikrosefali, koryoretinit ve hidrosefali gibi ciddi komplikasyonlar gelişebilir (Torgerson ve Mastroiacovo, 2013; Rashno ve ark, 2019).

Dünya genelinde, hamile kadınların yaklaşık %1,1'inin gebelik

sırasında akut olarak *T. gondii* ile enfekte olduğu bilinmektedir. Bu yaygınlık oranı, hamile kadınlarda önemli bir enfeksiyon yükünü temsil etmekte ve çok sayıda yenidoğanın konjenital toksoplazmoz riski altında olduğunu göstermektedir (Uludağ ve Madazlı, 1993; Rostami ve ark, 2019). Çorum'da gerçekleştirilen bir çalışmada, *Toxoplasma* antikorlu saptanan gebelerin ortalama anne yaşının negatif olanlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (Gorkem ve ark, 2018). İstatistiksel olarak bir fark saptanmamakla birlikte çalışmamızda, pozitif olan 25 gebenin yaş ortalaması 30,3 iken, kontrol grubundaki 51 gebenin yaş ortalaması ise 28,3'dür. Diğer parametrelerde anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Teşhis edilmemiş ve tedavi edilmemiş bebekler, enfeksiyon nedeniyle uzun vadeli sekel geliştirme riski altındadır (Rostami ve ark, 2019). Konjenital toksoplazmozun tanısında anneden alınan kan örneklerinin serolojik yöntemlerle değerlendirilmesinin yanı sıra umbilikal kord ve plasenta materyali kullanılarak da tanıya gidilebilmektedir (Kwofie ve ark, 2016; Rashno ve ark, 2019). Ülkemizde de çeşitli bölgelerde yapılan çalışmalarda gebelerde anti-*T. gondii* IgM antikorlarının %4.6 seviyelerine kadar çıktığı görülmektedir (Bakacak ve ark, 2014).

İlk olarak 1948 yılında Sabin ve Feldman tarafından geliştirilen SFDT, insanlarda anti-*T. gondii* antikorlarının tespiti için altın standart olarak kabul edilmektedir (Liu ve ark, 2015; Rashno ve ark, 2019). SFDT ile hem erken hem de geç dönemde tanı konulabilmekte, 1/16 ve üzeri titreler pozitif kabul edilmektedir (Babür ve ark, 2002a; Rashno ve ark, 2019). Çalışmamızda anne venöz kanı ve umbilikal korddan elde edilen serumların tamamındaki sonuçlar SFDT ile korelasyon göstermiş yani her ikisi de pozitif ya da negatif olarak belirlenmiştir. Ancak anti-*Toxoplasma*-ELISA IgG ve/veya IgM ile referans test olan SFDT sonuçları karşılaştırıldığında ELISA'nın duyarlılığı: %100; özgüllüğü: %79,7, negatif prediktif değeri: %100, pozitif prediktif değeri: %48 bulunmuştur. Bu durum pozitif olarak saptanan bazı gebelerin esasen negatif olduğuna işaret etmekte olup akut enfeksiyon göstergesi sayılan IgM pozitifliğinin SFDT ile teyit edilmediği belirlenmiştir. Anti-*Toxoplasma*-ELISA IgM pozitifliği olan 4 hastadan sadece 1'i SFDT ile de pozitif bulunmuştur. Benzer şekilde Anti-*Toxoplasma*-ELISA IgG pozitifliği 22 gebenin de 10'u SFDT ile

negatif olarak belirlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda da ELISA ile pozitif bulunan olguların tamamının SFDT ile teyit edilmediği görülmüştür. 1720 kişinin tarandığı bir çalışmada anti-*Toxoplasma* -ELISA IgM ve/veya IgG ile 625 örnek pozitif saptanırken bunların sadece 613'ü SFDT ile de olumlu olarak saptanmıştır. Bu çalışmadaki verilere göre, Toxo-ELISA duyarlılığı daha düşük (%96.6), özgüllüğü ise biraz daha yüksek (%97.0) olarak tespit edilmiştir (Babür ve ark, 2002b).

Diğer enfeksiyonların aksine, bazı olgularda *T. gondii*-spesifik IgM antikoların uzun süreyle (kronik enfeksiyon döneminde bile) saptanabilmesi nedeniyle, IgM pozitifliği akut toxoplasmosis tanısı için tek başına yeterli bir kriter değildir. Olguların ilk serum örneklerinde yüksek düzeylerde IgG antikor varlığı nedeniyle, titreleredeki artışı göstermek her zaman mümkün olamamaktadır. Bu nedenle primer enfeksiyonu, reaktivasyon/reinfeksiyondan ayırt etmek amacıyla geliştirilen, antijen-antikor bağlanma gücünün zamanla artmasına dayanan IgG avidite testleri kullanılmaya başlanmıştır. Genel olarak aviditenin yüksekliği enfeksiyonun 4 aydan daha eski olduğuna, düşüklüğü ise enfeksiyonun akut olduğuna işaret etmektedir (Kılıç ve ark, 2005).

Ülkemizde de genellikle gebelerin izleminde ELISA başta olmak üzere serolojik yöntemler kullanılmakta ve IgM pozitifliği saptanan olgular hemen akut vaka olarak değerlendirilmektedir. Ancak çalışmamızda da görüldüğü üzere, referans test ile yeniden çalışılan serumların sadece birinde IgM pozitifliği saptanmıştır. Bu nedenle pozitiflik saptanan olgularda, iki hafta sonra analizler tekrar edilmelidir. Şüphe devam ediyorsa hemen abort yoluna gidilmemeli, referans yöntemle ve/veya avidite testiyle alınan sonuçlar klinik bulgularla birlikte değerlendirilmelidir. Alternatif olarak amniyosentez sıvısından alınan örnekler, moleküler yöntemler ile tanıya destek olabilir. Ulusal Mikrobiyoloji Standartlarına göre de *Toxoplasma* IgG ve/veya IgM pozitifliği saptanması halinde, testlerin 2-3 hafta ara ile tekrarlanması, avidite, SFDT ve moleküler yöntemlerden yararlanılması önerilmektedir (Kılıç ve ark, 2005).

Fetüsteki konjenital toksoplazmozun tanısında amniyon sıvısından PCR yönteminden de yararlanılması tavsiye edilmektedir (Cortina-Borja ve ark, 2010; Hotop ve ark, 2012; Pomares ve Montoya, 2016; Uludağ ve Madazlı, 1993; Wallon ve

ark, 2013). Plasenta dokusundan PCR yönteminin kullanılması üzerine yapılan çalışmalar ise daha kısıtlıdır. Bir çalışmada, 88 plasenta dokusundan ekstrakte edilen genomik DNA'nın SAG3 ve GRA6 gen bölgelerini hedefleyen primerlerle yapılan nested-PCR çalışmasında, *T. gondii* DNA'sı %39.4 pozitif olarak bulunmuştur (Kwofie ve ark, 2016). Bir başka çalışmada TOX gen bölgesini hedefleyen primerlerle yapılan nested-PCR çalışmasında anti-*T. gondii* IgG ve/veya anti-*T. gondii* IgM pozitif 107 gebenin plasenta dokusunun 90 (%84)'ü *T. gondii* DNA'sı yönünden negatif bulunmuştur (Matin ve ark, 2017).

Çalışmamızdaki 76 plasentanın 24'ü anti-*T. gondii* ELISA IgG ve/veya IgM pozitif olmasına karşın hiçbirisinde *T. gondii* DNA'sı saptanamamıştır. Diğer yandan, bu 24 gebenin 12'sinde tekrar çalışılan SFDT değerleri de negatif bulunmuştur. Covid-19 pandemisi nedeniyle IgM pozitif gebeye ait örnek sayısının azlığı çalışmamızın kısıtlılıklarından birisidir. Pilot çalışma olarak nitelenebilecek bu araştırma kapsamında, Çorum ilinde anneden bebeğe toksoplazma geçiş riskinin düşük olduğu söylenebilir. Ancak özellikle anti-*T. gondii* IgM pozitif örnek sayısı artırılarak ve farklı bölgelerden daha çok örnek toplanarak çalışmanın tekrarlanması önerilir.

Çalışmanın sınırlılığı olarak, göreceli küçük çalışma popülasyonu, çalışmanın kısıtlı bütçe ve Covid-19 pandemisi nedeniyle erken sonlandırılması, yenidoğanların doğum sonrası takiplerinin yapılamamasından bahsedilebilir.

Sonuç olarak; *T. gondii* fetal anormalliklere hatta fetal ölümlere sebep olabilen ciddi bir enfeksiyöz ajandır ve tanısının doğru konulması için uygun yöntemlerin kullanılması gereklidir. Gebelerin izleminde bir kez yapılan serolojik yöntem sonuçlarına dayalı olarak değerlendirme yapılmamalı ve bu sonuçlara dayalı olarak hemen abort yoluna gidilmemelidir. Test sonuçları 2-3 hafta arayla tekrar edilmeli; gerekiyorsa referans yöntem, avidite ve/veya moleküler yöntem sonuçları klinik bulgularla birlikte değerlendirilmelidir. 76 plasenta dokusunun hiç birisinde PCR yöntemi ile *T. gondii* DNA'sı saptanamamıştır. Bu sonuçla ilimizde toksoplazmozun konjenital geçişinin düşük olduğu söylenebilirse de, çalışmanın daha çok sayıda örnekle ve özellikle de IgM pozitifliği saptanan gebelerde tekrar edilmesi gerekliliği bildirilmektedir.

YAZARLIK KATKISI

Çalışma Tasarımı: ATÖ, ÜG; Verilerin Toplanması ve Değerlendirilmesi: ÇK, NK, DT, DK, ASG, CB; Makale Taslağının Hazırlanması: ÇK, NK, DK; Son Okuma ve Düzeltmeler: ATÖ, ÜG.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makalenin planlanması, yürütülmesi ve yazılması konusunda çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

FİNANSAL DESTEK

Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna (Hibe No: TIP-19001.18.012) ve TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi'ne mali destekleri için teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Babür C, Kılıç S, Özkan AT, Esen B. Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığında 1995-2000 yılları arasında toxoplasmosis ön tanılı hastalarda Toxo-EIA IgM, IgG ile Sabin-Feldman Dye Test sonuçlarının karşılaştırılması. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2002b; 26 (2), 129-33
- Babür C, Kılıç S, Özkan AT, Esen B. Refik Saydam Merkezi Başkanlığında 1995-2000 yılları arasında çalışılmış Sabin Feldman Dye Test sonuçlarının değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2002a; 26(2):124-8.
- Bakacak M, Bostancı MS, Köstü B, Ercan Ö, Serin S, Avcı F, et al. Gebelerde *Toxoplasma gondii*, rubella ve sitomegalovirüs seroprevalansı. *Dicle Tıp Dergisi* 2014; 41: 326-31.
- Cortina-Borja M, Tan HK, Wallon M, Paul M, Prusa A, Buffolano W, Malm G, Salt A, Freeman K, Petersen E, Gilbert RE; European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis (EMSCOT). Prenatal treatment for serious neurological sequelae of congenital toxoplasmosis: an observational prospective cohort study. *PLoS Med*. 2010; 7(10): e1000351. doi: 10.1371/journal.pmed.1000351.
- El Bissati K, Levigne P, Lykins J, Adlaoui EB, Barkat A, Berraho A, Laboudi M, El Mansouri B, Ibrahim A, Rhajaoui M, Quinn F, Murugesan M, Seghrouchni F, Gómez-Marín JE, Peyron F, McLeod R. Global initiative for congenital toxoplasmosis: an observational and international comparative clinical analysis. *Emerg Microbes Infect*. 2018; 7(1): 165. doi: 10.1038/s41426-018-0164-4.
- Ergün AG, Öztürk T, Çiftçi E, Aynalı A, Önal S, Kaya S. Gebelerde *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin ve IgG-Avidite sonuçlarının değerlendirilmesi. *S.D.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2013; 4 (3): 91-4.
- Fricker-Hidalgo H, Brenier-Pinchart MP, Schaal JP, Equy V, Bost-Bru C, Pelloux H. Value of *Toxoplasma gondii* detection in one hundred thirty-three placentas for the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J*. 2007; 26(9): 845-6. doi: 10.1097/INF.0b013e318123e8d3.
- Gorkem U, Gureser AS, Togrul C, Karasartova D, Gungor T, Ozkan AT, Kocak O. Influence of maternal toxoplasmosis on the second-trimester aneuploidy screening test. *Gynecol Obstet Reprod Med*. 2018; 24(2): 71-5.
- Hotop A, Hlobil H, Gross U. Efficacy of rapid treatment initiation following primary *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. *Clin Infect Dis*. 2012; 54(11): 1545-52. doi:10.1093/cid/cis234
- Kılıç S, Babür C, Taylan Özkan A, Esen B. Gebe izleminde *Toxoplasma-IgG* aviditenin yeri, XIV. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Cilt I, 255, İzmir, 18-25 Eylül 2005.
- Kwofie KD, Ghansah A, Osei JH, Frempong KK, Obed S, Frimpong EH, Boakye DA, Suzuki T, Ohta N, Ayi I. Indication of risk of mother-to-child *Toxoplasma gondii* transmission in the Greater Accra Region of Ghana. *Matern Child Health J*. 2016; 20(12): 2581-2588. doi: 10.1007/s10995-016-2084-z.
- Liu Q, Wang ZD, Huang SY, Zhu XQ. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasit Vectors*. 2015; 8:292. doi: 10.1186/s13071-015-0902-6.
- Matin S, Shahbazi G, Namin ST, Moradpour R, Feizi F, Piri-Dogahe H. Comparison of placenta PCR and maternal serology of aborted women for detection of *Toxoplasma gondii* in Ardabil, Iran. *Korean J Parasitol*. 2017; 55(6): 607-611. doi: 10.3347/kjp.2017.55.6.607.
- Pomares C, Montoya JG. Laboratory diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 2016; 54(10): 2448-2454. doi:10.1128/JCM.00487-16
- Prusa AR, Kasper DC, Pollak A, Gleiss A, Waldhoer T, Hayde M. The Austrian Toxoplasmosis Register, 1992-2008. *Clin Infect Dis*. 2015; 60(2): e4-e10. doi:10.1093/cid/ciu724
- Rashno MM, Fallahi S, Arab-Mazar Z, Dana H. Seromolecular assess of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women and neonatal umbilical cord blood. *EXCLI J*. 2019; 2(18): 1-7.
- Rostami A, Riahi SM, Contopoulos-Ioannidis DG, Gamble HR, Fakhri Y, Shiadeh MN, Foroutan M, Behniafar H, Taghipour A, Maldonado YA, Mokdad AH, Gasser RB. Acute *Toxoplasma* infection in pregnant women worldwide: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019; 13(10): e0007807. doi: 10.1371/journal.pntd.0007807.

T.C. Sağlık Bakanlığı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Cilt III. Toksoplazmozun Mikrobiyolojik Tanısı. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı. Ankara 2014.

Taylan Ozkan A, Celebi B, Babür C, Lucio-Forster A, Bowman DD, Lindsay DS. Investigation of anti-Toxoplasma gondii antibodies in cats of the Ankara region of Turkey using the Sabin-Feldman dye test and an indirect fluorescent antibody test. *J Parasitol.* 2008; 94(4): 817-20. doi: 10.1645/GE-1401.1.

Torgerson PR, Mastroiacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review. *Bull World Health Organ.* 2013; 91(7): 501-8. doi: 10.2471/BLT.12.111732.

Uludağ S, Madazlı R. Gebelik ve toksoplazmoziste klinik yönetim. *Perinatoloji Dergisi* 1993; 1: 165-9.

Wallon M, Peyron F, Cornu C, Vinault S, Abrahamowicz M, Kopp CB, Binquet C. Congenital toxoplasma infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years. *Clin Infect Dis.* 2013; 56(9): 1223-31. doi: 10.1093/cid/cit032.

Yasa Duru S, Kul O, Babür C, Deniz A, Pekcan Z, Pir Yağcı, I. Investigation of the diagnostic value of serology, cytology and polymerase chain reaction in cat toxoplasmosis. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2017; 64: 199-203.

Yazar S, Yaman O, Şahin İ. Toxoplasma gondii seropozitif gebelerde IgG avidite sonuçlarının değerlendirilmesi. *T Parazitol Der* 2005; 29: 221-3.

Yucesan B, Guldemir D, Babur C, Kilic S, Cakmak A. Whole-genome sequencing of a Toxoplasma gondii strain from a Turkish isolate using next-generation sequencing technology. *Acta Trop.* 2021 Jun;218: 105907. doi: 10.1016/j.actatropica.2021.105907.