

KISA BİLDİRİ:
KAN BAĞIŞÇILARINDA *TOXOPLASMA GONDII* ANTİKORLARININ
SABIN-FELDMAN BOYA TESTİ İLE ARAŞTIRILMASI

SHORT COMMUNICATION:
INVESTIGATION OF *TOXOPLASMA GONDII* ANTIBODIES IN
BLOOD DONORS BY SABIN-FELDMAN DYE TEST

Gül Ruhsar YILMAZ*, **Cahit BABÜR****, **Selçuk KILIÇ****
Ayşegül TAYLAN ÖZKAN**, **Elif BEYAZ*****, **A. Esra KARAKOÇ*****

ÖZET: Bu çalışmada, Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kan Merkezi'ne kabul edilen, kan bağışçısı sorgulama kriterlerine göre herhangi bir sağlık sorunu bulunmayan, yaşları 18-59 yıl arasında değişen 390 erkek ve 24 kadın kan bağışçısının serumu *Toxoplasma gondii* antikorlarının varlığı yönünden Sabin-Feldman Boya testi (SFDT) ile araştırılmıştır. İncelenen 414 serum örneğinin 176'sı (%42.5) pozitif olarak bulunmuştur. SFDT ile pozitif bulunan örneklerin 106'sında (%25.6) 1/16 titrede, 40'ında (%9.7) 1/64 titrede, 28'inde (%6.8) 1/256 titrede, ikisinde (%0.5) ise 1/1024 titrede antikor pozitifliği saptanmıştır. Seropozitiflik oranının kadınlarda %62.5 erkeklerde ise %41.3 olduğu izlenmiş ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.053$). Toksoplazma seropozitifliğinin yaşla beraber arttığı; 40 yaş altındaki bağışçılarda %39 olan pozitiflik oranının 40 yaş ve üzerindeki bağışçılarda %54'e ulaştığı ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.01$). Sonuç olarak, kan transfüzyonu uygulamalarında *T.gondii* antikorlarının rutin olarak araştırılmasına gerek olmamakla birlikte, seronegatif immün süpresif alıcılara kanın şekilli elemanlarının özellikle de granülosit süspansiyonlarının transfüzyonu söz konusu olduğunda, seronegatif kan bağışçılarının tercih edilmesi gereklidir.

Anahtar sözcükler: Kan bağışçısı, *Toxoplasma gondii*, Sabin-Feldman boya testi, seropozitiflik.

ABSTRACT: In this study, a serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in healthy blood donors admitted to Blood Center of Ministry of Health, Ankara Training and Research Hospital was carried out. Sera from 390 male and 24 female

* Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara.

** Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Parazitoloji Laboratuvarı, Ankara.

*** Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara.

(ages between 18-59 years) were evaluated by using Sabin Feldman Dye Test (SFDT). Of 414 donors 176 (42.5%) were found positive for *T.gondii* antibodies. Among the seropositive cases, 106 (25.6%) had 1/16, 40 (9.7%) had 1/64, 28 (6.8%) had 1/256, and two (0.5%) had 1/1024 SFDT titers. The seropositivity rates for females and males were found as 62.5% and 41.3%, respectively, and there was no statistically significant difference ($p=0.053$). A statistically significant increase was detected in the seropositivity rates with age, 39% being under the age of 40 (18-39 years), 54% over the age of 40 ($p<0.01$). In conclusion, although it is not necessary to screen the blood donors routinely for *T.gondii* antibodies, if the transfusion of cellular blood components is planned for immunosuppressive recipients, then those bloods should be tested for *T.gondii* antibodies.

Key words: Blood donor, Toxoplasma gondii, Sabin-Feldman dye test, seropositivity.

GİRİŞ

Toksoplazmozis, tüm dünyada yaygın görülen zoonozlardan biri olup, insanlardaki seroprevalansı, bölgeler göre farklılık göstermek üzere %30-80 arasında değişmektedir¹. Sosyokültürel alışkanlıklar, coğrafi özellikler, iklim ve bulaş yolu, seropozitiflik oranını etkileyen faktörler olarak bildirilmiştir. Seropozitiflik tipik olarak yaşın ilerlemesi ile birlikte artmaktadır².

Toxoplasma enfeksiyonu insanlara çoğunlukla enfekte etlerdeki doku kistlerinin veya ookist içeren kedi dışkısı ile kontamine olmuş yiyecek ve suların ağızdan alınmasıyla ya da maternal yol ile bulaşmaktadır³⁻⁵. Ayrıca, laboratuvar çalışmaları sırasında, tam kan veya lökosit transfüzyonu ya da organ transplantasyonları ile de geçiş bildirilmiştir^{6,7}. Toksoplazmoz, özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda nadir transfüzyon komplikasyonlarından biri olarak rapor edilmiştir^{8,9}.

Bu çalışmada, Ankara yöresinde kan bağışçılarında Sabin-Feldman boya testi ile anti-*Toxoplasma gondii* antikor pozitifliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

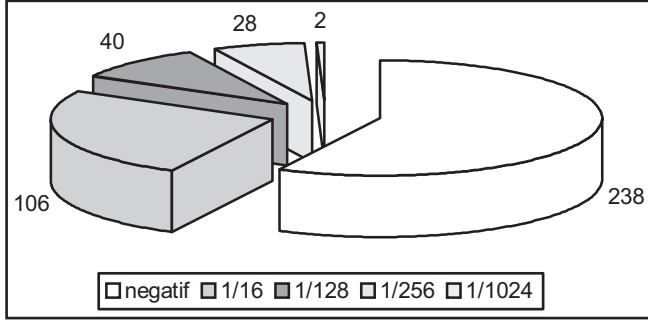
Çalışmaya, Nisan-Mayıs 2005 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kan Merkezi'ne kan bağışında bulunmak üzere başvuran ve kan bağışçısı sorgulama kriterlerine göre herhangi bir sağlık sorunu bulunmayan 414 kişiden alınan kan örnekleri dahil edildi. Kanlar oda ısısında 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve çalışılincaya kadar -20°C'de saklandı.

Sabin-Feldman boya testi (SFDT), Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Parazitoloji Laboratuvarı'nda canlı antijen ve metilen mavisi boyamaları ile daha önceden tarif edildiği şekilde¹⁰ yapıldı ve 1:16 ve üzerindeki titreler pozitif olarak kabul edildi¹⁰.

Cinsiyete ve yaşa göre seropozitiflik oranlarının istatistiksel değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı.

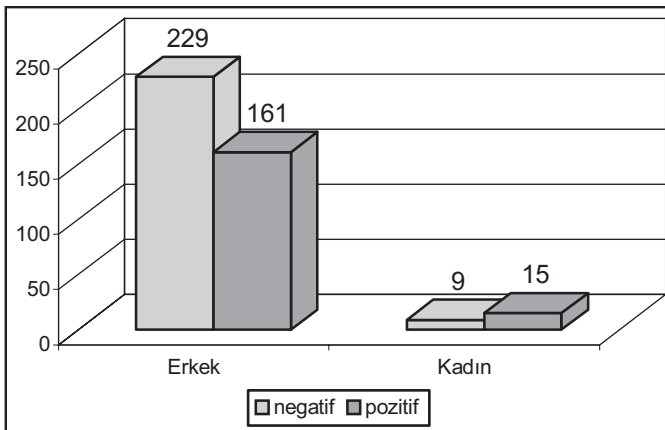
BULGULAR

SFDT ile incelenen 414 serum örneğinin 176'sı (%42.5) pozitif, 238'i (%57.5) ise negatif bulunmuştur. Pozitif bulunan örneklerin 106'sında (%25.6) 1/16, 40'ında (%9.7) 1/64, 28'inde (%6.8) 1/256, ikisinde (%0.5) ise 1/1024 titrelerde antikor pozitifliği mevcuttur (Şekil 1).

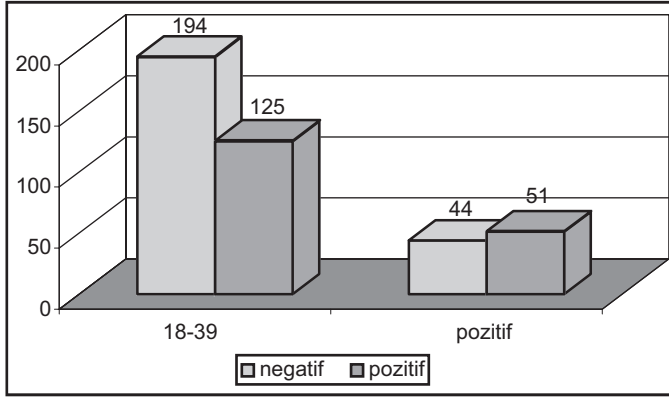


Şekil 1: Kan bağışçılarında *T.gondii* antikor titrelerinin dağılımı.

Cinsiyete göre seropozitiflik incelendiğinde, 390 erkek bağışçının 161'inin (%41.3), 24 kadın bağışçının ise 15'inin (%62.5) pozitif olduğu saptanmıştır (Şekil 2). Seropozitiflik oranı, kadınlarda daha yüksek görünmesine rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.053$). Yaşa göre toksoplazma seropozitifliği incelendiğinde ise, 40 yaş altındaki 319 bağışçının 125'inde (%39), 40 yaş üzerindeki 95 bağışçının ise 51'inde (%54) seropozitiflik saptanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$) (Şekil 3).



Şekil 2: Kan bağışçılarında *T.gondii* seropozitifliğinin cinsiyete göre dağılımı.



Şekil 3: Kan bağışçılarında *T.gondii* seropozitifliğinin yaşa göre dağılımı.

TARTIŞMA

Toxoplasma gondii çekirdeksiz eritrositler dışında tüm memeli hücrelerine yerleşebilen, lökositler tarafından fagosite edilerek lenfatik ve hematojen yolla yayılabilen bir parazittir^{7,11}. Toksoplazmozis genellikle asemptomatik seyreden bir hastalık olmasına karşın, hastalarda paraziteminin bir yıldan daha uzun sürdüğü bilinmektedir^{12,13}. Bu olasılık, hastalığın klasik bulaş yollarının yanı sıra kan ve kan ürünleri ile de geçebilme riski taşıdığını göstermektedir.

Dondurma ve çözme işlemleri *T.gondii* trofozoitlerini parçalamaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda parazitlerin vücut salgılarında 4-7 gün bulaşıcılığını koruduğu saptanmış ve sitratlı kanda +4°C'de 50 güne kadar canlı kalabildiği gösterilmiştir^{7,13-18}. Bu nedenle, tam kan, kanın hücresel komponentleri, lökosit ve organ transfüzyonuyla seropozitif bir donörden seronegatif bir alıcıya parazit aktarılabilceği gibi, parazite karşı gelişen antikolar da pasif olarak alıcıya geçebilmektedir.

Dünyada kan bağışçılarında farklı yöntemlerle yapılan çalışmalarda *T.gondii* için seropozitiflik oranı %3.1 ile %82.5 arasında bulunmuştur¹⁹⁻²¹. SFDT ile yapılan araştırmalarda da seropozitiflik oranı %7.6 ile %45.4 arasında değişmektedir. Jackson ve arkadaşları¹⁹ İskoçya'da kırsal ve kentsel bölgelerden gelen kan bağışçılarında SFDT ile *T.gondii* seropozitifliğini sırasıyla %7.6 ve %7.8 olarak bulmuşlardır. Kenya'da ise 299 kan bağışçısında seropozitiflik oranı %44 olarak saptanmıştır²⁰. Çek Cumhuriyeti'nde yapılan bir çalışmada, 2758 kan bağışçısında *T.gondii* seroprevalansı %45.4 olarak bildirmektedir²¹.

Ülkemizde *T.gondii* seroprevalansına yönelik veriler, genellikle gebelikte TORCH panelindeki taramalara ve daha az oranda da toksoplazmozis ön tanılı olgulardaki serolojik çalışmalara dayanmaktadır. Sağlıklı olarak kabul edilen kan bağışçılarında yapılan az sayıdaki çalışmada, toksoplazmozis prevalansı %29.2 ile %56.4 arasında değişmektedir²²⁻²⁶. Ankara'da Özcan²² kan bağışçılarında

seropozitiflik oranını indirek floresan antikor (IFA) yöntemi ile %29.2 olarak bildirmiştir. Gün ve arkadaşları²³ ise aynı ilde 149 kan bağışçısında SFDT ile %39.5, enzim immün yöntemi (ELISA) ile %44.8'lik pozitiflik oranları elde etmişlerdir.

Ülkemizde kan bağışçılarında toksoplazmozis seroprevalansına yönelik en fazla çalışma Adana ilinde yapılmıştır. Nikkou ve Özcan tarafından IFA yöntemiyle yapılan bir çalışmada %57.3 oranında anti-*T.gondii* IgG pozitifliği saptanmıştır²⁴. Kılıç ve arkadaşları⁶, 510 kan bağışçısında ELISA yöntemiyle toksoplazmozis prevalansını %55.3 olarak bulmuşlardır. Aynı ilde Yiğit ve arkadaşları²⁵ tarafından indirek hemaglutinasyon (IHA) yöntemiyle yapılan bir diğer çalışmada ise, seroprevalans değeri %52.5 olarak bildirilmiştir. Elçi ve arkadaşları²⁶ da, Diyarbakır ilindeki kan bağışçılarında ELISA yöntemi ile %42.1 anti-*T.gondii* IgG seropozitifliği saptamışlardır.

Çalışmamızdaki kan bağışçılarında saptanan %42.5'lik seroprevalans oranı, hem dünyadaki hem de Ankara ve Diyarbakır illerindeki çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. Adana ilindeki seropozitiflik oranlarına göre daha düşük olan bu oranın kullanılan serolojik yöntemlerin farklılığına ve bölgesel gıda hazırlama ve tüketim alışkanlıklarındaki değişikliğe bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Duyarlı ve özgül bir nötralizasyon testi olan SFDT, günümüzde toksoplazmozis serolojik tanısında referans test olarak kabul edilmektedir. SFDT ile *T.gondii*'ye karşı gelişen total antikorlar, özellikle de IgG saptanabilmekte ve böylece hastalığın hem geç hem de erken dönemlerinde tanı konulabilmektedir^{27,28}. Ancak anti-*T.gondii* pozitif kişilerde parazitemi oranı direk olarak ölçülmüş olmadığından transfüzyonla ilişkili enfeksiyon riski tam olarak bilinmemektedir. Akut toksoplazmozis polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile doğrulandığı bir çalışmada, PCR pozitifliği olan 27 hastanın 14'ünde (%52) anti-*T.gondii* IgM antikorları saptanırken, IgM pozitifliği olan 18 örneğin 14'ünde (%78) de PCR ile parazit DNA'sı tespit edilmiştir²⁹. Galvan Ramirez ve arkadaşlarına¹⁵ göre; IgM ve yüksek düzeyde IgG pozitifliği, akut enfeksiyon riskini ve parazitin kan yoluyla bulaştırılabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda sadece SFDT ile *T.gondii*'ye karşı gelişen antikorların pozitifliğine bakılmış ve yüksek titrede pozitiflik oranının %1.1 olduğu bulunmuştur. Bu oran transfüzyonla toksoplazmozis bulaşma riskinin düşük olacağını göstermekteyse de, parazit varlığının göstergesi olarak IgM ve/veya moleküler yöntemlerle nükleik asit saptanmasına yönelik araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Literatürde, cinsiyete göre kadınlarda yüksek seroprevalans rapor eden çalışmalar olduğu gibi, erkeklerde bu oranın daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur^{6,7,22,24-26,30}. Çalışmamızda, seropozitiflik oranı kadınlarda daha yüksek bulunmasına rağmen, kadın bağışçı sayısının düşük olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p=0.053$). Ancak, yaklaşık üçte biri seronegatif olan kadınların, hamilelik esnasında toksoplazmozisten korunma konusunda duyarlılaştırılmaları koruyucu hekimlik açısından gerekli görünmektedir.

Çalışmamızda, 40 yaş üzerindeki bağışçılarda 18-39 yaş grubundaki bağışçılara göre saptanan yüksek seroprevalans istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Bu veri, ileri yaşlarda toksoplazmozis seroprevalansının daha yüksek olduğunu belirten yayınlarla uyumludur^{4,5,7}.

Sonuç olarak, kan bağışçılarında *T.gondii*'nin rutin olarak araştırılması gerekli bulunmamaktadır. Ancak, toksoplazmozisin yaygın olduğu bölgelerde, özellikle seronegatif olan immün süpresif alıcılara transfüzyonla geçiş riski olabileceği göz ardı edilmemelidir. Bu hastalara kanın şekilli elemanlarının özellikle de granülosit süspansiyonlarının transfüzyonu söz konusu olduğunda, seronegatif kan bağışçıları tercih edilmelidir. Yüksek düzeyde antikor saptanan kan bağışçılarında parazit geçiş riskini belirlemek için paraziteminin gösterilmesi amacıyla daha ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Svobodova V, Literak I. Prevalence of IgM and IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* in blood donors in the Czech Republic. *Eur J Epidemiol* 1998; 14: 803-5.
2. Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man*. 1998. CRC Press, Boca Raton, Florida.
3. Dubey JP. *Toxoplasmosis*. *J Am Vet Med Assoc* 1994; 205: 1593-8.
4. Beazley DM, Egerman RS. *Toxoplasmosis*. *Semin Perinatol* 1998; 22: 332-8.
5. Jones JL, Kruszon Moran D, Wilson M, et al. *Toxoplasma gondii* infection in the United States. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 357-65.
6. Kılıç NB, Yiğit S, Özcan K. Kan donörlerinde toksoplazma antikorları. *T Parazitol* 1995; 19: 39-47.
7. Montoya JG, Kovacs JA, Remington JS. *Toxoplasma gondii*, pp: 3170-98. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 2005, 6th ed. Churchill Livingstone, UK.
8. Contreras M. Infectious complications of blood transfusion: bacteria and parasites, pp: 45-9. *ABC of Transfusion*, 1992, 2nd ed. BMJ Publishing Group, London.
9. Walker RH (ed). *Infections of Transfusion*, p. 484. In: *American Association of Blood Banks Technical Manual*. 1993, 11th ed. American Association of Blood Banks, USA.
10. Sabin AB, Feldman HA. Dyes as microchemical indicators of new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). *Science* 1948; 108: 660-3.
11. McLeod R, Wisner J, Boyer K. *Toxoplasmosis*, pp: 518-50. In: Krugman S, Katz SL, Gershon AA, Wilfert CM (ed), *Infectious Diseases of Children*. 1992, 9th ed. Mosby-Year Book, St.Louis.
12. Miller MJ, Aronson WJ, Remington JS. Late parasitemia in asymptomatic acquired toxoplasmosis. *Ann Intern Med* 1969; 71: 139-45.
13. McDonald CP, Barbara JA, Conteras M, Brown S. Provision of a panel of *Toxoplasma* negative blood donors. *Wax Sang* 1989; 57: 55-8.
14. Beauvais B, Garin JF, Larivière M, Ganguillat G, Galah H. *Toxoplasmose et transfusion*. *Ann Parasitol* 1976; 51: 625-35.
15. Galvan Ramirez ML, Covarrubias X, Rodriguez R, Troyo R, Alfaro N, Correa D. *Toxoplasma gondii* antibodies in Mexican Blood Donors. *Transfusion* 2005; 45: 281-2.
16. Siegel SE, Lunde MN, Gelderman AH, et al. Transmission of toxoplasmosis by leukocyte transfusion. *Blood* 1971; 37: 388-94.
17. Raisanen S. *Toxoplasmosis transmitted by transfusions*. *Transfusion* 1978; 18: 329-32.
18. Kimball AC, Kean BH, Kellner A. The risk of transmitting toxoplasmosis by blood transfusion. *Transfusion* 1965; 5: 447-51.
19. Jackson BMH, Hutchison WM. A seroepidemiological survey of toxoplasmosis in Scotland and England. *Ann Trop Med Parasitol* 1987; 81: 359-65.
20. Griffin L, Williams KAB. Serological and parasitological survey of blood donors in Kenya for toxoplasmosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983; 77: 763-6.

21. Hejlícek K, Literak I, Chalupa B. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in blood donors 1980-1990. *Cesk Epidemiol Mikrobiol Immunol* 1992; 42: 135-40.
22. Özcan K. Ankara'da sağlıklı kişilerde *Toxoplasma gondii* antikorlarının dolaylı floresan antikor yöntemiyle gösterilmesi. *Mikrobiyol Bült* 1981;15: 121-9.
23. Gün H, Tanyüksel M, Altıntaş K, Baysallar M, Anter U: Kan donörlerinde anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının insidansı. *T Parazitol Derg* 1994; 18: 403-8.
24. Nikkou H, Özcan K. Adana'da sağlıklı kişilerde dolaylı floresan antikor tekniği (DFAT) ile *Toxoplasma gondii* IgG ve IgM antikorlarının dağılımı. *T Parazitol Derg* 1989; 13: 33-8.
25. Yiğit S, Özcan K, Tanrıverdi S, Kılıç B, Kara H. Kan donörlerinde *Toxoplasma gondii* antikorlarının IHA yöntemi ile aranması. *T Parazitol Derg* 1996; 20: 325-31.
26. Elçi S, Gül K, Akpolat NÖ, Suay A, Mete Ö. Kan donörlerinde anti-*Toxoplasma gondii* antikorları sıklığı. *T Parazitol Derg* 1997; 21: 11-3.
27. Willis MS, Southern P, Latimer MJ. Parasitic Infections: *Toxoplasma* Infection: Making the best use of laboratory tests. *Infect Med* 2002; 19: 522-32.
28. Reiter-Owona I, Petersen E, Joykson D et al. The past and present role of the Sabin-Feldman dye test in the diagnosis of toxoplasmosis. *Bull WHO* 1999; 77: 929-35.
29. Hussein AH, Nagaty IM, Fouad MA. Evaluation of IgM-ELISA versus PCR in diagnosis of recent *Toxoplasma gondii* infection. *J Egypt Soc Parasitol* 2002, 32: 639-46.
30. Coelho RA, Kobayashi M, Carvalho LB Jr. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2003, 45: 229-31.