

İNFEKSİYON HASTALIKLARINDA IgG AVİDİTE TESTİNİN DEĞERİ

THE VALUE OF IgG AVIDITY TEST IN INFECTIOUS DISEASES

Selda SAYIN KUTLU Aysel KOCAGÜL ÇELİKBAŞ

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1. İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

Anahtar Sözcükler: IgG avidite testi, infeksiyon hastalıkları

Key Words: IgG avidity test, infectious diseases

ÖZET

IgG antikor avidite testleri, primer infeksiyonun olası etiyolojisini ve süresini belirlemede ve primer infeksiyonun re-infeksiyon, reaktivasyon ya da aşılama sonrası yanıtıtan ayırımında kullanılmaktadır. Bu makalede, IgG avidite testleri ile ilgili kaynaklar gözden geçirilmiştir.

SUMMARY

The IgG antibody avidity assays are used to determine the probable aetiology and accurate time of primary infection. They are also used to distinguish primary infection from reinfection, reactivation or postvaccination. This article is a review of the literature on IgG avidity tests.

Akut virus, bakteri ve parazit infeksiyonlarının, IgM tipi antikorların saptanmasına dayalı serolojik tanısında çeşitli sorunlarla karşılaşmaktadır (1). IgM tipi antikorlar; akut infeksiyonda, beklenenden daha erken kaybolmakta veya düşük titrelerde aylar, yıllar boyunca saptanabilmekte (2, 3); ayrıca primer infeksiyon, re-infeksiyon veya reaktivasyon ayırımında yetersiz kalmaktadırlar (1). Bazı infeksiyonlarda, B lenfosit klonal stimülasyonu, farklı patojenlere yönelik uzamış IgM sentezine yol açabilmektedir (1). Örneğin, Epstein-Barr virus (EBV) ve parvovirus B19 infeksiyonlarında rubella IgM antikor yanıtı gelişebilir ve bu da yanlış pozitif sonuçlara neden olabilmektedir (4). Primer infeksiyonun olası etiyolojisini ve zamanını belirlemek ve reaktivasyon, re-infeksiyon veya primer infeksiyon ayırımında kullanılmak üzere IgG avidite testleri gündeme gelmiştir (1).

Primer infeksiyon sonrası oluşmaya başlayan spesifik IgG antikorların aviditelerinin, takip eden haftalar ve aylarda immün yanıtın matürasyonu ile progresif arttığı bilinmektedir. Bir başka deyişle, immün yanıtın erken

dönemlerinde düşük aviditeli, geç dönemlerinde ise yüksek aviditeli spesifik IgG antikorları vardır. Reaktivasyon ya da re-infeksiyon gibi sekonder immün yanıt durumlarında da, yine yüksek aviditeli antikorlar tabloya egemendir (2, 5-8). Bu durumda tek bir serum örneğinde spesifik IgG aviditesinin hesaplanması infeksiyon hastalıklarının tanısına yardımcı olacak bir yaklaşımdır (9).

Avidite, antijen üzerinde yer alan çok sayıdaki epitop ile antikor moleküllerinin bağlanma bölgeleri arasındaki bağlanma gücüdür (10, 11). Afinite ise, monovalan hapten ya da tek antijen determinantı ile monoklonal bir antikor arasındaki itici ve çekici kuvvetlerin net toplamıdır (3, 11, 12). En az iki bağlanma bölgesi olan bir antikorun tek değerli antijenle bağlanma gücü (afinite), çok değerli bir antijenin her iki bölgesine de bağlanmasıyla oluşan kuvvetten (avidite) daha düşüktür. Bir başka deyişle; antikor avidite değeri, antikor afinite toplamından daha büyüktür (10, 11).

Avidite olgunlaşmasının derecesi, antijen dozu ile orantılı görünmektedir. Düşük doz antijen daha çabuk olgunlaş

maya yol açmaktadır. Dolayısıyla düşük aviditeli antikorlar, yüksek antijen düzeylerinin bulunduğu infeksiyonun ilk evresinde üretilmektedirler (1).

Düşük aviditeli antikorların, epitop yoğunluğu yüksek, antikor konsantrasyonu düşüken daha iyi saptandığı belirtilmektedir. Bir başka deyişle, antikor konsantrasyonu çok yüksek olduğunda, antijen bağlayan kısımlar esas olarak yüksek aviditeli antikorlar ile doldurulmaktadır (4).

Spesifik IgG antikorların aviditesinin saptanması; aglütinasyon, radyo-immunassay, kompleman fiksasyon, ELISA, immunfloresans, elektroblothing ve elektroforez gibi çeşitli yöntemler kullanılarak yapılmaktadır (1). Ancak bazı yazarlar; immunfloresans testin ELISA'ya göre daha kolay yorumlanabildiğini belirtmişler ve avidite ölçümlerinde bu yöntemin kullanılmasını önermişlerdir (6, 13).

Avidite immün yanıt sırasında antikorların afinitesinin maturasyonu temeline dayanmakta olup, yüksek antikor aviditesinin, antikorların yüksek fonksiyonel aktivitesi ile paralel olduğu düşünülmektedir (8, 14). Antikor aviditelerinin artması ile antijen-antikor komplekslerinin ortamda bulunan protein denatüre edici maddelere karşı daha stabil olmalarına neden olmaktadır ve buna bağlı olarak da bu maddelerle düşük aviditeli antikorlar antijenden kolayca ayrılabilir. Bu temel bilgiden yola çıkılarak immunolojik testlerde üre, di-etilamin, guanin hidroklorit, potasyum tiyosiyonat gibi protein denatüre edici maddelerin kullanılması ile antikorların aviditeleri hesaplanabilmektedir (1, 3, 9, 15, 16). Bu maddeler içerisinde, 8M üre kullanımı en basit olanıdır (1). Ancak di-etilamin, düşük aviditeli IgG saptanmasında üreden daha güvenilirdir, çünkü antijen antikor bağını daha güçlü denatüre eder. Ayrıca di-etilamin kullanımı, rubellada gösterildiği gibi beş-yedi ay sonrasına kadar düşük aviditeli antikorların saptanmasını sağlamaktadır. Üre kullanıldığında ise, düşük aviditeli antikorlar üç aydan sonra saptanamaz (1, 4). Üre ile di-etilaminin kullanılmasının karşılaştırıldığı çeşitli çalışmalarda da infeksiyonun ilk 15-28. günlerinde farklılıklar saptanmıştır. Bu çalışmalarda denatürasyon için üre kullanıldığında, di-etilamin kullanılmasına göre, düşük aviditeli antikorların saptanma oranı daha düşük bulunmuştur (4, 17, 18). Öte yandan; kullanılan antijene, antikor yanıtını oluşturan organizmanın tipine ve oluşturulan denatürasyonun gücüne göre düşük aviditeli antikorların saptanabileceği süre değişiklik göstermektedir. Bu nedenle, her mikro-organizma için hangi denatürasyon maddesinin kullanılacağı araştırılmalıdır (1, 19). Ürenin denatüran madde olarak kullanıldığı çeşitli çalışmalarda düşük aviditeli antikorların saptanabileceği süre, rubella ve sitomegalovirus (CMV) infeksiyonlarında üç ay ve toksoplazmozda beş ay olarak kabul edilmiştir (4, 16, 20).

Antikor aviditesinin hesaplanmasında çeşitli yöntemler tanımlanmakla birlikte, sıklıkla dilüsyon ve elüsyon yöntemleri kullanılmaktadır (1, 3). Dilüsyon yönteminde; protein denatüre edici madde serum dilüentine eklenerek, düşük aviditeli antikorların solit fazdaki antijene bağlanmaları engellenmekte, yüksek aviditeli antikorlar ise bağlanabilmektedir. Elüsyon yönteminde ise; protein denatüre edici madde antijen-antikor kompleksi oluştuktan sonra ortama eklenmektedir. Böylece düşük aviditeli antikorlarla oluşan antijen-antikor kompleksleri ayrılırken, yüksek aviditeli antikorlarca oluşmuş olan kompleksler etkilenmez. Her iki yöntemde de hasta serumlarının denatüre edici madde içeren ve içermeyen solüsyonlarla paralel olarak incelenmesi gerekmekte ve test sonucunda her bir serum örneği için elde edilen absorbanlar (optik dansite OP) karşılaştırılarak antikor aviditesi hesaplanmaktadır. Bugün ticari olarak kullanıma sunulmuş enzim immünassay prensibi ile çalışan kitlerde elüsyon yöntemi kullanılmakta ve sonuçta avidite indeksi (AI) hesaplanmaktadır (1, 3, 21).

$$AI = \frac{OD \text{ (protein denatüre edici madde içeren test)}}{OD \text{ (protein denatüre edici madde içermeyen test)}} \times 100$$

Bu testin güvenilirliğini test etmek için, hasta serum örneklerinin iki kez incelenmesi ve sonuçlar arasında %10'dan daha az fark saptanması gerekmektedir (4, 21).

Bazı araştırmacılar çalışmalarında, farklı hastalıklar için değişik avidite indekslerini sınır olarak belirlemişlerdir. Bir çalışmada (16), toksoplazmozda %20'nin altındaki değerleri düşük avidite, %25'in üzerindeki değerleri ise yüksek avidite olarak kabul edilmişken, başka bir çalışmada ise (2), bu sınırlar sırası ile %15 ve %30 olarak kabul edilip, %15-30 arasındaki değerleri ise ara değer kabul edilmiştir. Lafarga ve ark. (22) rubella infeksiyonu için düşük avidite sınırını %50 ve altındaki değerler olarak tanımlamıştır (2, 16, 22). Gutierrez ve ark. (19) birçok infeksiyon için %50 altındaki değerleri düşük avidite indeksi olarak kabul etmişlerdir. Bir başka çalışmada (23), HIV infeksiyonu için avidite indeksi sınırı %50 olarak belirtilmiştir. Bazı çalışmalarda ise, kit üreticisi firmaların önerdiği avidite indeksleri sınır kabul edilmiştir (6, 20).

Avidite testlerinin klinikte kullanımı

Birçok araştırmacı, toksoplazmoz, CMV, EBV ve rubella başta olmak üzere çeşitli infeksiyonlarda, farklı hasta gruplarında ve bazı aşılardan sonrası immün yanıtı değerlendirmede, spesifik IgG antikorlarının matürasyonunu incelemişlerdir (1, 3-6, 8, 13, 14, 16, 19, 24-26).

Gebelikte konjenital infeksiyonlara neden olan toksoplazmoz, CMV, rubella gibi infeksiyonlarda primer infeksiyon, re-infeksiyon veya reaktivasyon ayrımında sıklıkla baş-

vurulmaktadır (2, 22, 27). Toksoplazmoz, IgG avidite testinin en çok yapıldığı enfeksiyonlardan biridir. Hastaların birçoğunda düşük aviditeli antikorların yüksek aviditeli antikorlara dönüşümü altı ay içinde olmaktadır. Günümüzde bu testin en yararlı olduğu yer, gebeliğin erken dönemlerinde yüksek aviditeli antikorların yüksek oranda saptanmasıdır. Gerçekte yüksek aviditeli antikorlar primer enfeksiyonun son üç-beş aydan daha önce meydana geldiğini göstermektedir. IgM antikor testlerinin doğrulanmasında, avidite testi erken gebelik döneminde yararlı bir testtir. Ancak gebeliğin geç döneminde yüksek aviditeli antikorlar saptanması, gebeliğin erken dönemlerinde oluşan akut enfeksiyonu ekarte edemez (28, 29).

Organ transplantasyonlu veya immünsuprese hastalarda CMV, EBV, toksoplazmoz, Human Herpes Virüs 6 (HH6) primer veya rekürren enfeksiyonların ayırımında kullanılmaktadır (1, 3, 7, 30). İmmünsuprese hastalarda primer enfeksiyondan sonra antikorların maturasyonu, daha uzun sürede olmaktadır. Örneğin, CMV enfeksiyonunda yüksek aviditeli antikorlar, normalde iki-altı ayda oluşurken, immünsuprese hastalarda ise, en az bir yıl sonra oluşmaktadır (30, 31).

Hepatit C Virus enfeksiyonunda primer, kronik veya geçirilmiş enfeksiyon tanısında ve primer özgül antikor yanıtı ile pasif kazanılmış yanıtın ayırımında kullanılmaktadır (1, 32, 33).

Human immunodeficiency virus enfeksiyonunda, virusun bulaş zamanının belirlenmesinde kullanılmakta, bu sayede erken tedavi şansı ortaya çıkmaktadır (23). Erken tedavi edilmiş (kontaminasyondan sonraki ilk altı ay içinde) hastalarda düşük aviditeli antikor saptama süresi uzamaktadır. Antikorların maturasyonu, tedavi edilmemiş hastalarda iki-sekiz ayda meydana gelirken, erken tedavi uygulanmış hastalarda bu süre 8-27 aya uzayabilmektedir (23). Bununla birlikte, CD4 hücre sayısı ve antikor aviditesinin klinik durumu değerlendirmede birlikte başarıyla kullanılabilirliği belirtilmiş; antikor aviditesi, klinik durumu iyi olan hastalarda daha yüksek bulunmuştur (34).

Çeşitli çalışmalarda pnömokok, meningokok, *H. influenzae* ve tetanoz aşılardan sonra oluşan antikor yanıtını izlemekte başarıyla kullanılmıştır (14, 24, 25, 35).

IgG antikor avidite testi, enfeksiyon hastalıklarının yanında oto-immün hastalıklarda da kullanılmaktadır. Yüksek aviditeli antikorlar gerçek oto-immün hastalığı gösterirken, düşük aviditeli antikorlar kronik karaciğer hastalığı veya diğer nedenlere bağlı geçici pozitiflikleri belirtir (36, 37).

Avidite testlerinin özgüllüğü ve duyarlılığı her mikro-organizma için %100 değildir. Bunun çeşitli nedenleri vardır;

- Geçirilmiş enfeksiyonda veya reaktivasyonda immatür antikorların varlığı nedeniyle düşük aviditeli antikorların meydana gelmesi,
- Primer enfeksiyonlu hastada antikor aviditesinin çabuk olgunlaşması ile yüksek aviditeli antikorların oluşması,
- Yüksek antikor konsantrasyonu ile düşük aviditeli antikorların saptanmasında yetersizlik olması,
- Kullanılan ticari antijenin belirli bir mikro-organizma subtipinin antikorlarını uygun olarak saptayamaması,
- Farklı denatüran madde ihtiyacı,
- Kullanılan antijen, antikor yanıtını oluşturan organizmanın tipi ve oluşturulan denatürasyon gücüne göre, düşük aviditeli antikorların saptanacağı sürenin değişmesi (1, 19).

Avidite testlerinin eksikliklerinden biri, sadece IgG antikor saptanan serum örnekleri ile yapılabilmeleridir. Ayrıca beyin-omirilik sıvısında kullanılamazlar (1).

Avidite testlerinde en iyi sonuç, yüksek aviditeli antikor saptandığında alınmaktadır. Yüksek aviditeli antikorların saptanması, son üç-beş ay içinde akut enfeksiyon geçirilmediğini göstermektedir, çünkü düşük aviditeli antikorlar, akut enfeksiyondan aylar sonra saptanabilmektedir (2, 29).

Son zamanlarda kullanıma girmiş olan ve çeşitli enfeksiyonların tanısında ve özellikle reaktivasyon, re-enfeksiyonların ayırılmasında değer taşıyan IgG avidite testinde henüz tam bir standardizasyon sağlanmamıştır. Kullanılan denatürasyon maddesi, mikro-organizma tipi ve kullanılan tekniğine göre avidite indeksi sınırı da değişmektedir (1). Her mikro-organizma için kullanılacak denatürasyon maddesi, avidite indeksi sınırı, avidite indeksi değişim süresi ve kullanılacak test yönteminin belirlenmesi ile ilgili çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Gutierrez J, Maroto C. Are IgG antibody avidity assays useful in the diagnosis of infectious diseases? A review. *Microbios* 1996; 87: 113-21.
2. Liesenfeld O, Montoya JG, Kinney S, Press C, Remington JS. Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: experience in a US reference laboratory. *J Infect Dis* 2001; 183: 1248-53.
3. Çolak D. Enfeksiyon hastalıklarının tanısında immünglobulin G avidite testleri. *ANKEM Derg* 2001; 15: 621-4.
4. Gutierrez J, Rodriguez MJ, De Ory F, Piedrola G, Maroto MC. Reliability of low-avidity IgG and of IgA in the diagnosis of primary infection by rubella virus with adaptation of a commercial test. *J Clin Lab Anal* 1999; 13: 1-4.
5. Ward KN, Turner DJ, Prada XC, Thiru chelvam AD. Use of IgG antibody avidity for differentiation of primary Human Herpesvirus 6 and 7 infections. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 959-63.

6. **Strasek K, Marin J.** Epstein-Barr Virus infections—avidity test for IgG antibodies. *Zdrav Vestn* **2001**; 70: 321-3.
7. **Mechain B, Garin YJF, Robert-Gangneux F, et al.** Lack of utility of specific immunoglobulin G antibody avidity for serodiagnosis of reactivated toxoplasmosis in immunocompromised patients. *Clin Diag Lab Immunol* **2000**; 7: 703-5.
8. **Rauer S, Beittlich P, Neubert U, Rasiah C, Kaiser R.** Avidity determination of *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in Lyme disease. *Scand J Infect Dis* **2001**; 33: 809-11.
9. **Korhonen MH, Brunstein J, Haario H, Katnikov A, Rescaldani R, Hedman K.** A new method with general diagnostic utility for the calculation of immunoglobulin G avidity. *Clin Diag Lab Immunol* **1999**; 6: 725-8.
10. **Owen M, Steward M.** Antigen recognition. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, eds. *Immunology*. 4th ed. London: Mosby-Year Book, **1996**: 7.1-7.13.
11. **Hamburger HA.** Methods in laboratory immunology. In: Middleton EJ, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NFJ, Yunginger JW, Busse WW, eds. *Allergy: Principles and Practice*. 5th ed. St. Louis: Mosby, **1998**: 417-29.
12. **Aybay C.** Antijen tanınması, salgısal ve hücrel immün yanıt. Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*'de. Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**: 177-85.
13. **Weissbrich B.** The use of semi-automated EBV IgG avidity determination for the diagnosis of infectious mononucleosis. *J Med Virol* **1998**; 54: 145-53.
14. **Wuorimaa T, Dagan R, Vakevainen M, et al.** Avidity and subclasses of IgG after immunization of infants with an 11-valent pneumococcal conjugate vaccine with or without aluminium adjuvant. *J Infect Dis* **2001**; 184: 1211-5.
15. **Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, eds.** *Review of Medical Microbiology*. 7th ed. Connecticut: Lange Medical Publications, **1987**: 170-90.
16. **Prince HE, Wilson M.** Simplified assays for measuring *Toxoplasma gondii* IgG avidity. *Clin Diag Lab Immunol* **2001**; 8: 904-8.
17. **Thomas HJ, Morgan-Capner P.** The use of antibody avidity measurements for the diagnosis of rubella. *Rev Med Virol* **1991**; 1: 41-50.
18. **Thomas HJ, Morgan-Capner P, Cradeck-Watson JE, Enders G, Best JM, O'Shea S.** Slow maturation of IgG1 avidity and persistence of specific IgM in congenital rubella: implications for diagnosis and immunopathology. *J Med Virol* **1993**; 41: 196-200.
19. **Gutierrez JF, Rodriguez M, Maroto C.** Relationship between evaluation time of human brucellosis and the avidity of specific IgG antibodies. *Rev Med Chile* **1995**; 123: 819-22.
20. **Bodeus M, Beulne D, Goubau P.** Ability of three IgG-avidity assays to exclude recent cytomegalovirus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2001**; 20: 248-52.
21. **Guerineau ALB, Dhote R, Christiann F, Rayet P, Assous MV.** Differentiation between early and late complicated Lyme borreliosis by specific IgG avidity. *Lancet* **1999**; 354: 1096-7.
22. **Lafarga B, Noguera FJ, Perez MC, Copado R, Garcia A, Soria E.** Usefulness of determining low-avidity IgG antibodies in the diagnosis of primary rubella infection in pregnant women. *Enferm Infect Microbiol Clin* **1998**; 16: 413-8.
23. **Le Guillou H, Le Meur A, Bourdon S, et al.** Antibody avidity: use for the diagnosis of HIV early infection. *Ann Biol Clin* **2001**; 59: 41-7.
24. **Borrow R, Goldblatt D, Andrews N, Richmond P, Sautern J, Miller E.** Influence of prior meningococcal C polysaccharide vaccination on the response and generation of memory after meningococcal C conjugate vaccination in young children. *J Infect Dis* **2001**; 184: 377-80.
25. **Romero-Steiner S, Fernandez J, Billoft C, et al.** Functional antibody activity elicited by fractional doses of *H. influenzae* type b conjugate vaccine. *Clin Diagn Lab Immunol* **2001**; 8: 1115-9.
26. **Nedeljkovic J, Jovanovic T, Oker-Blom C.** Maturation of IgG avidity to individual rubella virus structural proteins. *J Clin Virol* **2001**; 22: 47-54.
27. **Bodeus M, Goubau E.** Predictive value of maternal-IgG avidity for congenital human cytomegalovirus infection. *J Clin Virol* **1999**; 12: 3-8.
28. **Montoya JG, Remington JS.** *Toxoplasma gondii*. In: Mandell GL, Bennett EJ, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. New York: Churchill Livingstone, **2000**: 2858-88.
29. **Liesenfeld O, Montoya JG, Remington JS.** Letter to the Editor. *J Infect Dis* **2001**; 184: 944-6.
30. **Lazzarotto T, Varani S, Spezzacatena P, et al.** Delayed acquisition of high-avidity anti-cytomegalovirus antibody is correlated with prolonged antigenemia in solid organ transplant recipients. *J Infect Dis* **1998**; 178: 1145-9.
31. **Lutz E, Ward KN, Gray JJ.** Maturation of antibody avidity after primary human cytomegalovirus infection is delayed in immunosuppressed solid organ transplant patients. *J Med Virol* **1994**; 44: 317-22.
32. **Kanno A, Kazayuma Y.** Immunoglobulin G antibody avidity assay for serodiagnosis of hepatitis C virus infection. *J Med Virol* **2002**; 68: 229-33.
33. **Ward KN, Dhaliwal W, Ashworth KL, Clutterbuck EJ, Teo CG.** Measurement of antibody avidity for hepatitis C virus distinguishes primary antibody responses from passively acquired antibody. *J Med Virol* **1994**; 43: 67-72.
34. **Sciascia C, Palomba E, Gay V, Tovo PA.** Anti-HIV-1 antibody avidity is correlated with clinical status in infected children. *Pediatr AIDS HIV Infect* **1996**; 7: 14-9.
35. **Aboud S, Matre R, Lyamuya EF, Kristoffersen EK.** Levels and avidity of antibodies to tetanus toxoid in children aged 1-15 years in Dar es Salaam and Bagamoyo, Tanzania. *Ann Trop Paediatr* **2000**; 20: 313-22.
36. **Lindorfer MA, Schuman TA, Craig ML, Martin EN, Taylor RP.** A bispecific dsDNA monoclonal antibody construct for clearance of anti-dsDNA IgG in systemic lupus erythematosus. *J Immunol Methods* **2001**; 248: 125-38.
37. **Werle E, Blazek M, Fiehn W.** The clinical significance of measuring different anti-dsDNA antibodies by using the Farr assay, an enzyme immunoassay and a *Criethidia luciliae* immunofluorescence test. *Lupus* **1992**; 1: 369-77.