



# Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

## *Toxoplasma gondii*'nin İnsan ve Hayvan Sağlığı Açısından Önemi

Dilek KESKİN<sup>a,\*</sup>, Sevil TOROĞLU<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Çine Meslek Yüksekokulu, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, TÜRKİYE

<sup>b</sup> Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Kahramanmaraş Sütcü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, TÜRKİYE

\* Sorumlu yazarın e-posta adresi: dkeskin@adu.edu.tr

### ÖZET

Bu derlemede insan ve hayvan sağlığı açısından önemli olan *T.gondii*'nin nasıl bulaştığı ve ne gibi zararlara neden olduğu hakkında bilgiler toplanmıştır. *T.gondii*, Apicompleksa grubuna ait tek hücreli, intrasellüler, fakültatif protozondur. İnsan, kanatlı ve diğer memelilerde beyin, karaciğer ve kaslara yerleşerek toksoplazmosise neden olmaktadır. Bir çok insanda parazit semptomsuz seyrederken, immun sistemi baskılanmış hastalarda fırsatçı özelliği ile enfeksiyonlara neden olmaktadır. Tanıda, parazitin izolasyonu güçtür. Dolaylı tanı yöntemleri büyük bir kıymet taşır. Bu bulguların klinik bulgularla birleştirilmesi tanıyı güçlendirir. Günümüzde en güvenilir serolojik yöntemler; Sabin-Feldman test (SFT), İ.F.A.T. (İndirek Flouresan Antikor Testi), P.H.A. (Pasif Hemaglutinasyon), E.L.İ.S.A. (Enzyme Linked İmmunosorbent Assay), ve immünelektroforez gibi yöntemlerdir. Bunun yanında, Polimeraz Zincirleme Reaksiyonu (P.Z.R.), hibridizasyonu, izolasyon (in vivo/in vitro) ve histolojik inceleme gibi direk tanı teknikleriyle parazitin kendisi ve/veya DNA'sının gösterilmesini amaçlayan yöntemler de vardır. Toksoplazmosis'de ara konak, kedi, herbivor, omnivor ve insanlardır. Son konak olan kediler, aynı zamanda ara konakçılıkta yapmaktadır. Toksoplazmanın bulaşmasında sorumlu gıdalar olarak pastörize edilmemiş süt ve az pişmiş etler akla gelmektedir. Toksoplazmosis koyun ve keçilerde yaygın olan bir enfeksiyondur. Bununda nedeni *T.gondii* ookistlerinin meralardaki yaygın kontaminasyonundan dolayı olmaktadır. Toksoplazmoz seropozitifliği, dünyada ve ülkemizde bölgelere göre değişiklik göstermektedir. Seropozitivitenin dünya üzerindeki yaygınlığı, yöresel beslenme alışkanlıklarına, sosyoekonomik düzeye, iklim ve çevre koşullarına, kedilerle temasın yaygınlığına ve ilgili meslek gruplarına göre değişmektedir. Toksoplazmoz genellikle sessiz seyretmekte; gebelik döneminde geçirildiğinde ise düşük, ölü doğum, erken doğum ve konjenital anomalili doğumlara neden olmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Toxoplasma gondii*, insan, hayvan, sağlık.

## Toxoplasma gondii's Importance In Terms Of Human And Animal Health

### ABSTRACT

In this review, the the knowledge were given about *T. gondii* how it is transmitted and what damage cause to our bodies. *T. gondii* is a facultative protozoon members of a Apicompleksa, single cell, intracellular. It causes

toxoplasmosis settling in muscles, brain and liver in human, poultry and other mammalian. While the parasites occur no symptom in many people, It causes infection immun system comprised patients because of opportunist properties. It is difficult to isolation of parasites in diagnosis. Indirect diagnosis methods were big value. Nowadays, more reliable serological methods were Sabin-Feldman (Dye) test, İndirect Flouresan Anticor Test (İ.F.A.T), Pasif Hemaglutinasyon (P.H.A.), Enzyme Linked İmmunosorbent Assay, (E.L.İ.S.A.) and such as Immunelectroforese method. And also, there is methods Polimerase Chain Reaction (P.C.R), hibriditation, isolation (in vivo and in vitro) and histological analysis) aiming determination of parasites itself and DNA of parasites. Intermediate host were cat, herbivor, omnivor and human in Toxoplasmosis. The last host was cats same time an intermediate host. It comes to mind transmission of Toxoplasma is responsible for unpasteurized milk and undercooked meats. Toxoplasmosis is a common diseases in sheep and goats. The reason of this *T. gondii* oocysts are widespread contamination of the pasture. Seropositivity of Toxoplasma vary according to region in the world and in our country. Prevalence of seropositivity in the world varies according to the relevant professional groups, the local eating habits, socioeconomic level, climate and environmental conditions, prevalance of contact with cats. Toxoplasma is generally silent When it develops during pregnancy, miscarriage, stillbirth, premature birth and congenital anomalies.

*Keywords: Toxoplazma gondii, human, animal, health*

## I. GİRİŞ

**T**oxoplazmozis dünyanın diğer ülkelerinde olduğu gibi Türkiye’de oldukça yaygın olarak görülen zoonotik karakterli bir protozoon enfeksiyonudur. Toksoplazma hastalığının etkeni *T. gondii* ilk kez 1908 yılında tanımlanmıştır ve dünya nüfusunun yaklaşık %25’ini etkilemektedir[1].

Bu hastalık insan dahil bütün memeli hayvanlarda, kanatlılarda ve sürüngenlerde görülmektedir. Etkenin biyolojisinde insan dahil bütün memeliler ve kanatlılar hem ara konak, kediler ise hem ara konak hemde kesin konak olarak rol oynamaktadır. Paraziti alıp enfekte olan kedilerin, dışkıları ile çevreye 7-20 gün süresince milyonlarla ifade edilen sayıda ookist atıkları saptanmıştır. Kedilerin dışkıları toprağa gömme alışkanlıkları ookistlerin direkt güneş ışığına maruz kalmasını ve kurumasını önlediğinden parazitin neslinin doğada devamına katkıda bulunmaktadır. Ayrıca hamam böcekleri, karasinek gibi eklembacaklılar da kedi dışkısında bulunan ookistlerin çevreye yayılmasında etkilidir [2,3].

Toxoplazmozis koyunlarda ve keçilerde yaygın olan bir enfeksiyondur [4,5]. Bununda nedeni *T. gondii* ookistlerinin meralardaki yaygın kontaminasyonundan dolayı olmaktadır [6]. Enfeksiyonun görüldüğü ülkeler arasında, büyük Britanya, Avustralya, Uruguay, Norveç ve Amerika Birleşik Devletleri gelmektedir [7-10]. Toxoplazmozis koyun ve keçilerde hamileliğin herhangi bir aşamasında düşüklere ölü doğumlara ya da canlı doğumlarda dayanıksız yavruların meydana gelmesine neden olmaktadır. Çeşitli araştırmacılar keçilerde yaptıkları çalışmalarda bu oranı %12,3 ile %85.9 arasında bulmuşlardır [11-14]. Bu oranlar arasındaki farklılıklar kullanılan analiz yöntemi, bölgenin iklimi, keçilerin yaşı ve cinsiyeti gibi etkenlere bağlı olarak değişmektedir. İnsanlarda ise en sık rastlanan bulgular, ateş, baş ağrısı, soğuk algınlığı benzeri semptomlar, göz ve burun akıntısı, lenf bezlerinde şişme, sinirsel bulgular, inkoordinasyon, tremor, konvulziyonlar, ağır seyreden bulgularda ise miyokarditis ve ensefalitis olarak bildirilmiştir. *T.gondii* enfeksiyonlarında en büyük risk gebeliğin ilk üç ayında olup sonraki üç aylık dönemde ise enfeksiyon semptomsuz seyretmektedir [15].

Etken gebelerde düşük ve ölü doğumlara fetusta ise hidrosefalus, intrakranial kalsifikasyon, körlüğe kadar giden karyotenitis, ensefalitis, mikrosefali, karaciğer, dalak ve lenf düğümlerinde büyümeye



Waltner-Toews ve ark. [32].	1991	ELİSA	Kanada'da 103 koyun çiftliğinde %57.6
Puije ve ark. [33]	2000	ELİSA	Gana'da 732 koyun serumunda %33.2
Hashemi-Fesharki [34].	1996	LAT	İran'da 2209 koyun serumunu %24.3
Pita Gondim ve ark. [35].	1999	LAT	Brezilya'da 240 koyun serumunu %18.75
Stefanakes ve ark. [36].	1995	ELİSA	Yunanistan'da 8700 koyun serumunda %22.7
Ekmen, [37]	1967	SFT CFT	koyunlarda %43.1 %20
Altıntaş [38]	1975	SFT	Haymana %28.04, Sivas' %32, Tosya %26.1, Yozgat %32.73, Erzurum %31, Erzincan %31.08, Ağrı %32.08 Diyarbakır %39.28
Sarnıç [39]	1976	SFT	Diyarbakır Et ve Balık Kombinası 148 koyunun kan serumları %36.5
Altıntaş[40]	1981	SFT	Tahirovada %25.32, Gökçeada %55.19
İnci ve ark. [41]	1999	SFT	154 koyunun %33.76
Altıntaş ve ark. [42]	1997	SFT	Ankara çevresindeki ilçe ve köylerden 531 koyun

			kan serumunun %33-46
Babür ve ark. [43]	1997	SFT	62 koyun kan serumunun %88.70
Babür ve ark. [25]	2001	SFT	Yozgat ve ilçeleri 152 koyuna ait kan serum %45.4'ünü
Yıldız ve ark.[44]	2000	SFT	Kırıkkale Mezbahası'nda kesilen 119 koyunun %63.9
Arda ve ark. [45]	1987	IHA	64 koyunun kan serumunda %35.93
Dumanlı ve ark. [46]	1991	IHA	Elazığ'da gebe hayvanlarda %22.5, yavru atmış koyunlarda ise %30.97
Öz ve ark. [47]	1995	IHA ELİSA	%25.5, %22
Tütüncü ve ark. [48]	2003	IHA	150 koyun kan serumu %34.6
Zeybek ve ark. [49]	1995	LAT	1050 koyunda %14.66
Babür ve ark. [50]	1995	SFT IFAT LAT	Ankara'nın çeşitli ilçelerinden 414 koyun kan serumu %69, %72, %37
Sevinç ve ark. [51]	2000	IFA	283'ü atık yapmış ve 827'si atık yapmamış koyun olmak üzere toplam 1100 kan serumunu, atık yapmış koyunlarda %13.78 atık yapmamış koyunlarda %10.16
Kamburgil ve ark. [52]	2001	IFAT	180 koyun da %53.33

### III. İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMİ

İnsanda hastalık genellikle klinik belirti vermeden seyrederek. Ateş, yorgunluk, boğaz yanması, özellikle boyun bölgesinde lenfadenopati, bazen makulopapüler döküntüler, seyrek olarak hepatomegali ve sanlık tesbit edilebilir. İmmün sistemin baskılandığı hastalık ya da ilaç kullanımı durumunda; hastalık ağır seyrederek ve pnomoni, myokardit, nekrotizan ensefalit, korioretinit gelişebilir. Esas tehlike akut enfeksiyonun gebelik esnasında oluşmasıdır. Gebelikte geçirilen akut enfeksiyon, konjenital

toksoplazmozisin nedenidir. Konjenital toksoplazmozis sıklığı 1000 doğumda 1 ile 12 arasında bildirilmektedir[53-54]. Annedeki akut enfeksiyon sırasında fetusun transplasenter olarak enfekte olması sonucu abortus, ölü doğum, erken doğum ve ağır konjenital enfeksiyon oluşmaktadır. Erken gebelikte oluşan enfeksiyon neticesi % 10-15 oranında ağır fetal enfeksiyon gelişmektedir[-17-55]. Gebelik öncesi geçirilen enfeksiyon fetal enfeksiyon riskini ileri derecede azaltır. Ülkemizdeki toksoplazma seropozitivite oranları bölgeden bölgeye değişkenlik gösterir. Batıdan doğuya gidildikçe bu oranın arttığı gözlenir.

**Tablo2. Yurdumuzda Gebelerde Görülen *T. gondii* Seroprevalans Oranı**

Araştırmacının adı	Yayınlandığı Yıl	Kullanılan Yöntem	Seroprevalans Oranı
Kaleli ve ark[56]	1997	ELİSA	Denizli’de 238 gebenin 112’sinde (% 43.3) toksoplazmaya karşı IgG’nin pozitif bulunduğu, sadece 1 (% 0.4) gebede IgM’in pozitif
Polat ve ark. [57]	2002	ELİSA	İstanbul bölgesinden 428 gebenin IgG pozitiflik oranı % 43 ve IgM oranı da % 0.7
Kafkaslı ve ark., [58]	1996	ELİSA	Malatya’dan 510 gebe incelenmiş ve anti <i>T.gondii</i> IgG pozitiflik oranı % 37.6
Tekay ve ark[59]	2007	Kemiimmunesans İmmunoassay	Şanlıurfa yöresinde yapılan çalışmada bildirilen % 69.5 pozitif
Okyay ve ark., [60]	2013	ELİSA	IgG pozitiflik % 57, IgM pozitiflik ise % 3,6
Güngör ve ark [61]	1999	Sabin Feldman ve ELİSA	IgG pozitiflik oranı %41.6
Saraçoğlu ve Şahin [62]	2001	ELİSA	<i>T.gondii</i> IgG pozitiflik oranı %38.1 25 yaş altı grupta %31.3 IgG 26-30 yaş, %44.1 31-35 yaş %44.7 >35 gruplarda %50
Güneş ve ark [63]	2008		433 hasta 18-25 yaş, %21.3,

			26-35 yaş, %26.1
			36 ve üzeri %38.2
			toplamda ise % 26,6

### III. TANI

Toxoplasmosisin klinik belirtileri patogenomonik olmayıp, yerleştiği organa göre değişmektedir. Doğru tanı koyabilmek için değişik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler, direkt ve indirekt tanı yöntemleri olmak üzere iki grup altında incelenebilir. Direkt tanı etken izolasyonu, PZR, antijen spesifik lenfosit transformasyon, lenfosit 8 kopyalama tekniği ve histolojik metotlar ile yapılmaktadır[64]. İndirekt yöntemler, toxoplasmaya özgü antikorları belirlemek üzere kullanılan serolojik testleri kapsamaktadır. Hastalığın serolojik tanısı, enfeksiyonun genellikle subklinik seyrettiği durumlarda oldukça önem kazanmaktadır. Bu serolojik testlerden en çok kullanılanları, Sabin-Feldman Test (SFT), Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA), İndirekt Fluoresan Antikor Testi (IFAT) ve Modifiye Aglutinasyon Test (MAT) dir. Bunun dışında İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHAT), Komplement Fiksasyon Testi (CFT), Lateks Aglutinasyon Test (LAT) gibi testlerden de yararlanılmaktadır[37,65-70].Hastalığın serolojik tanısında, kullanılacak testin spesifitesi ve sensivitesinin önemi fazladır. Bu konuda hiçbir test tek başına yeterli olmayıp özellikle akut enfeksiyonların tanısını koyabilmek için IgM antikorlarını belirleyebilecek testlerin kullanımı önerilmektedir[64]. Latent enfeksiyonlar ve diğer Apikompleksan parazitlerin varlığında, *Toxoplasma gondii*'ye karşı düşük antikor titrasyonunda kross reaksiyon görülebilir[71-72].

#### *A. TOXOPLAZMOZİS TANISINDA KULLANILAN FARKLI YÖNTEMLER*

##### *A.1. FEKAL MİKROSKOBİ*

Işık mikroskobu, öncelikle yüksek miktarda kontamine olmuş örneklerde, ookistleri saptamak için kullanılmaktadır. Bu teknik *T.gondii* ookistlerinin, dışkıda morfolojik karakteristiklerine dayalıdır[73]. Bu method ilkel olmasına rağmen, pratikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha az ekipmana ihtiyaç duyan oldukça etkili bir metottur. Dışkıdan ookistlerin özgül ağırlığına dayalı ayırma metotları alternatif olarak kullanılmaktadır[74]. Farklı yüzdürme solüsyonları (şeker ve bakır sülfat), fekal dışkıyı ve *T.gondii* ookistlerini üst yüzeye çıkarmada yardımcı olur. Bu yaklaşım fekal simiri daha belirgin ve tanıyı daha kolaylaştırır[75]. Diğer bir modifiye uygulamada ise hem sporlanmış hemde sporlanmamış ookistlerin araştırılmasını kolaylaştırmak için ultraviyole ışığı kullanılmaktadır [76]. Fakat mavi otofloresan *T.gondii* ookistleri *Neospora*, *Hammondia*, ve *Cyclospora* türleri gibi koksidian ookistleri ile karıştırılmaktadır. Bunun yanısıra bütün ookistler, aynı süspansiyon içinde düşük sayıda ookistlerin bulunması durumunda, UV ışığı altında kendiliğinden ışımamasından dolayı, hatalı negatif sonuçların ortaya çıkmasına neden olmaktadır[77]. Fekal mikroskopi yapısal karakteristiklere dayandığından dolayı, diğer parazit ookistlerinin morfolojileri birbirine yakın olduğundan hatalı pozitif sonuçlar ortaya çıkabilir. Bu teknik oldukça zaman alıcı, parazitin doğrulanması içinde çok sayıda slayta gereksinim duymaktadır[78,79].

## *B. SEROLOJİK YÖNTEMLER*

T.gondii'ye karşı oluşmuş özgün antikorların araştırılması ve bulunması ile Toksoplazmosis tanısında uygulanan serolojik yöntemlerdir. İnsanlarda T.gondii'ye karşı oluşmuş olan antikorlar araştırıldığında, Dünyadaki toplumların birçoğunda bu antikorların yüksek düzeyde bulunduğunu görmekteyiz. Aynı zamanda bu antikorların sağlıklı insanlarda uzun zaman yüksek titrasyonda kalabildikleri bilinmektedir. Bu yöntemleri gösteren fazla sayıda serolojik yöntem bulunmakta, bunlardan bazıları da değişik antikorları aramaktadır. Ancak enfeksiyonun eski ve yeni olmasına, lokalizasyonuna ve kişinin gösterdiği reaksiyona göre değişebilen antikor titrelerinin yorumlanması, problem olmaya devam etmektedir. Ayrıca piyasada Toksoplazma antikorlarının aranmasında kullanılan birçok ticari kitler bulunmaktadır. Bu kitlerin hangi Toksoplazma suşuyla hazırlandığı bilinmediğinden, özellikle yurt dışında hazırlanan kitlerde kullanılan suşların farklı olmalarından dolayı, bu kitlerde yapılan testlerin bazıları yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuç verdiklerinden durum daha da karmaşık olmaktadır. Halen bir tek serolojik yöntemle akut ve kronik toksoplazmosisin kesin olarak ayrılabilmesi mümkün olamamakta olup, klinik hekimlerinin bu durumda Toksoplazma referans laboratuvarlarına başvurmaları önerilmektedir. Toksoplazmosis tanısında hangi serolojik yöntemlerin bir arada kullanılmasına ait serolojik test profili; SFDT-IgG+ELİSAIgG, IgM+IFAT olup, bunların yanında modifiye direkt aglütinasyon testi de kullanılmaktadır[80-82].

### *B.1. ELİSA ( ENZİM LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY= ENZİME BAĞLI ANTİKOR YÖNTEMİ) TABANLI YAKLAŞIMLAR*

Toxoplazmosis tanısında günümüzde özellikle Ig G antikorlarının aranmasında en fazla ELİSA yönteminin kullanıldığını görmekteyiz. Ticari olarak IgG antikorlarını arayan bir çok Toxoplazma tanı kitleri bulunmakta olup, bu kitlerin hazırlanış suşları, antikorun oluştuğu Toxoplazma suşu ile uyumlu olduğu takdirde doğru sonuçlar alınabilmektedir. Ancak pozitivite titresi ne olursa olsun sadece ELİSA (IgM, Ig G ve Ig A) sonucu ile hastalığın değerlendirilmemesi lazımdır. Toxoplazmosis şüpheli AIDS hastalarında ve özellikle toksoplazmik ensefalit olgularında, toksoplazmosisin sonradan kazanılmış veya konjenital olup olmadığına, latent, kronik veya akut olup olmadığına, sadece ELİSA sonucuyla karar verebilmek olanaksızdır. ELİSA yöntemi veya ticari kitleri yanlış pozitif sonuç vermektedir.. Diğer taraftan ticari olarak piyasada satılan IgM arayan tanı kitlerinin çok spesifik sonuç vermediği ve bu nedenle hastalık hakkında yanlış değerlendirme yapılabileceği, kitin değiştirilerek testin tekrar edilmesi veya bir başka yöntemle Ig M antikorunun titrasyonunun araştırılması gerektiği, alınacak sonuçlara göre hastalık hakkında daha doğru yorum yapılabileceği bildirilmektedir[83,84].

### *B.2. DİREKT AGLUTİNASYON TEST(DAT)*

Formol içinde saklanabilen Toxoplazma takizoitleri, ticari olarak da bulunabileceğinden önerilmekte ve sadece Ig G antikorlarının aranmasında kullanılmaktadır. Bu yöntem serumda bulunabilen spesifik olmayan Ig M antikorlarına karşı çok duyarlı olduğundan yanlış pozitif aglütinasyon ile, yanlış sonuç verebilmektedir. Testin uygulanmasında şüpheli serumlar önceden 2-merkapetenol ile muamele edildikten sonra kullanıldığında, Ig M antikorunun etkisi giderilebilmektedir. Bu yöntemin uygulanmasının çok basit ve sonucunda güvenilir olduğu bildirilmekte ve Ig M aranmasında kullanılması önerilmektedir[85]. Konjenital enfeksiyon riski bulunan anne/bebeklere ait örneklerde,



direkt aglutinasyon testinin uygulanması, diğer testlerde alınan sonuçların doğrulanması olarak kullanılmaktadır.

Direkt aglutinasyon testinde Toksoplazma trofozoitlerinin önceden tripsin ile muamele edilerek, sitoplazmik antijenik yapılarının ortaya çıkarılmasından sonra testin uygulanmasıyla, duyarlılığın daha da artabileceği, SF yöntemiyle karşılaştırıldığında DAT duyarlılığının %96, özgünlüğünün ise %98 olabildiği görülmüştür[86].

### *B.3. MODİFİYE AGLUTİNASYON TEST (MAT)*

Serumda spesifik T.gondii IgG2nin saptanmasına gereksinim duymaktadır. MAT ve ELİSA'yı kıyasladığımızda, Toksoplazma antikorlarının saptanmasında, her iki teknikde Toksoplazma antikorlarını saptamada değerlendirilmektedir[87,88]. Sonuçlar göstermiştir ki, ELİSA'nın performansı, MAT'dan biraz daha iyidir. ELİSA'nın optikal dansitesi ile MAT titresi arasında güzel bir bağlantı vardır. Doku sıvısı ve serumu kıyasladığımızda, T gondii'nin ELİSA ile hassasiyeti doku sıvısında daha düşüktür. MAT sonuçları daha zor yorumlanırken, ELİSA oldukça yararlı bir testdir [89].

### *B.4. SABİN-FELDMAN TESTİ(SFT)*

Toxoplazmozis tanısında kullanılan diğer yöntemlere göre, bu test referans tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Şüpheli hasta serumunda kompleman ve antikor bulunduğunda, toksoplazma trofozoit veya takizoit şekillerinin erimesiyle pozitif sonuç veren bir nötralizasyon yöntemi bulunmaktadır. Bu yöntem de diğer serolojik yöntemler gibi enfeksiyondan 1-2 hafta sonra oluşarak 1-2 ay sonra tepe noktasına ulaşan Ig G antikorlarını aramaktadır. Bu testin pozitif sonuç vermesiyle hastalığın durumu arasında bir bağlantı bulunmamaktadır. Bu yöntemin uygulanmasında canlı Toksoplazma parazitleri gerektiğinden, ancak bazı referans laboratuvarlarında kullanılmakta olup, hastalığın laboratuvar çalışanlarına bulaşma riski olduğundan çok dikkatli olunması gerekmektedir. SFT yöntemiyle negatif sonuç alındığında, kişinin daha önce Toxoplazmozis etkeniyle karşılaşmamış olduğuna inanılmaktadır. Bununla beraber bazı toxoplazmik ensefalitis ve korioretinitis olgularında SFT ile negatif sonuç alındığını bildiren çalışmalarda bulunmaktadır [85].

### *B.5. İNDİREKT FLUORESAN ANTİKOR YÖNTEMİ(IFAT)*

Bu test bir çok parazitoloji laboratuvarında kullanılmakta olup, canlı toksoplazma parazitlerinin kullanılması gerekmediğinden ve SF testine göre daha ekonomik olduğundan tercih edilmektedir. IFAT de SF yönteminde olduğu gibi Ig G antikorlarını aramak için uygulandığında, SF ile aynı titrelere pozitif sonuç alınmaktadır. Öldürülmüş takizoitlerin sürüntüsünden, mikroskopik slayt yapılır ve bunlar daha sonraki kullanımlar için -200C'de bekletilir. IFAT daha az hassas olmasına rağmen, diğer serolojik testlere göre daha az özgündür. Bu test hamilelerde doğrulama testi olarak kullanılmaktadır. IFAT'ın Direkt aglutinasyon teste oranla daha güvenli, daha basit olması, ayrıca canlı organizmaya gerek duymaması gibi bazı avantajları vardır[90].

IFAT ve MAT'ı değerlendirdiğimizde, IFAT'a oranla MAT'ın birkaç avantajı vardır. Mikroskoba gereksinim olmamasından dolayı MAT sonuçlarını okumak oldukça kolaydır ve pratikdir. Ayrıca büyük miktarlarda serum örnekleri, kısa zamanda analiz edilir. MAT farklı hayvan türleri arasındaki enfeksiyonu tanımlamada kullanılmaktadır ve spesifik konjugatların varlığına gereksinim duymaz.

Fakat, IFAT ise her bir hayvan için gerekli olan anti-IgG konjugatlarının kullanımına ihtiyaç duymaktadır[91-92]. Diğer taraftan IFAT'ın kolayca okunabilir olma gibi bazı avantajları vardır. İlave olarak IFAT sonuçlarını yorumlamak daha objektiftir. Her iki testin özgünlüğü ve hassasiyeti vardır. İlave olarak, IFAT sonuçlarını yorumlamak daha objektiftir. Her iki testin özgünlüğü ve hassasiyeti aynıdır. Fakat, IFAT antijenleri, MAT antijenlerinden daha ekonomiktir [93].

#### *B.6. ALGORİTMA TABANLI AKIM SİTOMETRİ: AKIM SİTOMETRİ*

T.gondii antikorları tanımlamak için kullanılan serolojik yaklaşımlara dayalı yeni yöntemlerden biridir [94]. Akut Toksoplazmozis tanısında spesifik Ig G bağlanması yardımcı olmaktadır. Bu teknik, insanlarda Toksoplazmozis tanısında, serolojik yaklaşımlara alışılmış olarak göze çarpan yöntemlerden biridir. Serolojik yöntemler, Toxoplazma enfeksiyonlarını tanımlamada kullanılan başlıca yöntemlerden biridir. Fakat bu yöntemler akut ve kronik enfeksiyonları birbirinden ayırmak için yeterli değildir. Akut ve kronik enfeksiyon durumlarında, konjenital toksoplazmozis gözle görülen hastalıklar ve transplantasyon öncesi klinik durumlar gibi farklı özelliklere sahiptir.

Bu yaklaşımlar akut ve kronik toksoplazmozis enfeksiyonlarının ayrımında daha güvenilir yöntemler sağlamaktadır. Flow sitometriye dayalı metotlar, geleneksel metotlara (ELİSA ve immunofluoresans yöntem) kıyasla daha pahalıdır. Fakat serolojik yaklaşımlar rutin immunofloresan yöntemden oldukça etkilidir. Ayrıca flow sitometriye dayalı yöntemler tamamıyla otomatize edilmiştir[95].

#### *B.7. LATEKS AGLUTİNASYON TESTİ (LAT)*

Toxoplazma takizoit veya trofozoitlerinin sonikasyon yöntemiyle parçalanmasıyla elde edilen toksoplazma membran ve sitoplazma antijenleri solüsyonu ile duyarlı hale getirilmiş (kaplanmış) lateks partikülleri, test edilecek şüpheli kan serumu ile belli sulandırma derecelerinde karıştırılarak oda ısısında 12 saat inkube edilmektedir. İnkübasyon sonucunda U şeklindeki test plakları dibinde aglütinasyon meydana gelirse sonuç pozitif olarak değerlendirilir. Eğer plak çukuru içinde büyük nokta şeklinde görüntü oluşursa sonuç negatif olarak değerlendirilir. Bu yöntem SF testi ile duyarlılığın%99 ve özgünlüğünün ise %81 olduğu ortamda özgün olmayan IgM antikorları bulunduğu bu testin%1-2 oranında yalancı pozitif verdiği bildirilmektedir [85].

#### *C. PZR TABANLI YAKLAŞIMLAR*

##### *C.1. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU( PZR ) İLE TANI*

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR): İmmünkompetan hastalar dışındaki hasta gruplarında klasik tanı yöntemlerinin yetersiz kalması son yıllarda moleküler biyolojik yöntemlerin devreye girmesine neden olmaktadır. İnfeksiyon hastalıklarının tanısında patojeni direkt olarak belirleyebilmek en çok arzulanandır. Mikroskopik inceleme ve kültür gibi klasik tanı yöntemleri önemini eskisi gibi korumakla birlikte birçok enfeksiyon etkeninin tanımlanmasında yetersiz kalmaktadır. Moleküler biyoloji ve biyoteknolojideki gelişmeler, özellikle klasik yöntemlerle saptanması güç enfeksiyon etkenlerinin tanısında önemli bir gelişme yaşanmasına neden olmuştur. Nükleik asit çoğaltma yöntemleri içerisinde PZR; muayene maddesinde etkene özgül DNA/RNA'nın belirlenmesine dayanmakta olup, genelde nükleik asidin gösterilmesi enfeksiyon hastalığının varlığının kanıtı olarak değerlendirilmektedir. Bu yöntemde ortamda az sayıda bulunan nükleik asitlerin sayısı çoğaltılmakta,

daha sonra saptanabilir düzeye erişen bu moleküllerin varlığı, klasik hibridizasyon yöntemi ile gösterilmektedir[96].

### *C.2. GELENEKSEL PZR*

PZR ile B1 geninin saptanması, hem konjenital hemde akut toksoplazma enfeksiyonlarının saptanmasında oldukça yararlı bir metottür. Bu metotda B1 geni ham hücre lizatından amplifiye edilmektedir. Bu gen, insan leukositleri içinde, milyonlarca saf DNA'lardan çoğaltılabilmektedir[97-99]. Son zamanlarda oldukça hızlı ve spesifik geleneksel PZR, T.gondii genomunun saptanmasında optimize edilmiştir. Bu çalışmada Toksoplazma'nın B1 ve ITS1 bölgelerine karşı yeni primer dizileri kullanılmıştır [100].

### *C.3. NESTED PZR*

Nested PZR, geleneksel PZR'nin modifikasyonu ile çoğaltılmış ürünlerin özgünlüğünü artırmaktadır. B1 gen bölgesinin kopyaları çok yüksek sayılara ulaşsa bile, T. gondii'nin bütün strainlerinde, bu gen yüksek oranda korunmuştur. P30 geni ile kıyasladığımızda, 18rDNA oldukça hassas ve özgündür. Genin bu özelliğinden dolayı, işaretlendikten sonra, T.gondii'nin varlığını bulmak kolaydır[101-103].

### *C.4. REAL TIME PZR*

Geleneksel PZR ile Real Time PZR'ı kıyasladığımızda, Real time PZR oldukça hassas, doğru, hızlı moleküler metottür. Konjenital enfeksiyonlar, konjenital anomalilerin %2-3'ünden sorumludur. Buda prenatal tanıda önemlidir. İşaretlenmiş B1 geniyle, RT-PZR, toksoplazmazın prenatal enfeksiyonlarının tanısında günümüzde kullanılmaktadır[104]. Amniyotik sıvı, RT-PZR ile parazitin B1 geni kullanılarak saptanmaktadır.

Diğer bir çalışmada ise, enfeksiyonun saptanmasında Taqman probu kullanılarak, T.gondii'nin RT-PZR ile yapılmaktadır. Bu yaklaşımda, protozoon enfeksiyonlarının saptanmasında, B1 geni işaretlenerek fluorogenik prob ile bir dizi primer seti kullanılmaktadır. Bu proses oldukça hassas ve kopyalanabilmektedir[105-106].

### *C.5. İZOTERMAL AMPLİFİKASYON ARACILI DÖNGÜ*

(Loop Mediated Isothermal Amplification ): Parazit enfeksiyonlarının erken tanısında, son zamanlarda; LAMP rutin tanıda oldukça yararlı bir yaklaşımdır. Önceki çalışmalarda olduğu gibi, bu metotda B1 geni işaretlenmektedir[107]. Diğer bir çalışmada ise 529 baz çifti içeren tekrarlı element LAMP asseylerinde kullanılmaktadır. Bu metot oldukça pahalı ve yüksek özgünlüktedir[108-109]. RT-LAMP, Toksoplazma enfeksiyonlarının tanısında, ilk defa rapor edilmiştir. Parazit saptanması için 18rRNA'nın korunmuş bölgesi işaretlenerek kullanılmıştır. Bu moleküler yaklaşım oldukça hassas, hızlı, yüksek özgünlükte ve güvenilirdir. RT-LAMP'de kullanılan aletler oldukça basittir ve sonuçlar doğrudan görüntülenebilir[110].

## IV. SONUÇ

Toxoplazmozun genel olarak tüm sıcak kanlı hayvanlarda görülmesi, parazitin kompleks bir biyolojik siklusa sahip olması, bulaşma yollarının çok çeşitli olması, mevcut ilaçlarla dokulardaki parazitin öldürülememesi gibi birçok nedene bağlı olarak, bu enfeksiyon hem insanlarda hem de kasaplık hayvanlarda çok sıkı bir şekilde takip edilmesi ve gözlenmesi gereken bir hastalıktır. Enfeksiyonun ana kaynaklarından birisi hayvan etlerindeki doku kistlerinin tüketilmesidir. Koyun ve keçilere ait hayvan etleri başlıca enfeksiyon kaynağıdır. Sığır etlerini tüketmenin enfeksiyon için bir kaynak oluşturacağına işaret eden araştırmalar olmasına karşın, tüketime sunulan etlerde canlı parazit izole edilememiştir. Alınacak çok basit önlemlerle toksoplazmozdan korunulabilir. Özellikle gebelik süresinde çiğ ya da az pişmiş et yenmemelidir. İkinci olarak, hastalığın yayılmasında en önemli konak olan kedilerle ilişkinin kesilmesi ve kedi pisliklerinin her gün gömülmesi ya da kanalizasyona atılması çok yararlıdır. Ookistler ancak 1-5 günde yeni asalakları oluşturabilecek duruma gelir. Gebe kaldıktan sonra Toxoplazmoz tanısı konmuşsa, dölüte yüzde 25 olasılıkla enfeksiyonun geçeceği ve altıda bir olasılıkla da doğacak bebekte belirgin oluşum bozuklukları görülebileceği konusunda anne adayım bilgilendirmek gerekir. Bu bilgilendirmenin, olası bir gebeliği sona erdirmiş işleminin zamanında gerçekleştirilebilmesi açısından, gebeliğin 20. haftasından önce yapılması zorunludur.

**TEŞEKKÜR:** Bu çalışma Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2012.05.01.001).

## V. KAYNAKLAR

- [1] J. G. Montoya, ve O. Liesenfeld. *Lancet* **363** (2004) 1965–1976.
- [2] N.D Levine. Veterinary, Protozoology, The Iowa State University Press Ames Iowa ,**10** (1985) 75.
- [3] A. Kuman ve N.Altıntaş. Protozoon Hastalıkları Bornova –İzmir (1996).
- [4] J.P. Dubey ve A. Towle. Toxoplasmosis in Sheep. Miscellaneous Publication –Commonwealth Institute of Parasitology ( United Kingdom) No 10 CAB, International Slough(1986).
- [5] J.P. Dubey. Toxoplasmosis, *JAVMA*, 205(**11**) (1994) 1593-1597.
- [6] J.P. Dubey. Toxoplasmosis- a waterborne zoonosis. *Vet Parasitol.* Dec 9;**126**(1-2):5 (2004) 7-72.
- [7] D.A. Blewett ve W.A. Watson. *Br Vet J.* Jan-Feb;**140**(1) (1984)54-63.
- [8] J.P. Dubey and C.P. Beattie. Toxoplasmosis of Animals and Man. By J. 220 pages. (1988)
- [9] E. Skjerve, H. Waldeland, T. Nesbakken, G. Kapperud. *Prev Vet Med.* Jun **1**;**35**(3): (1998) 219-27.
- [10] A. Freyre, J. Bonino, J. Falcon, D. Castells, O. Correa, A. Casaretto. *Vet Parasit* **81**(1) (1999) 85-88.

- [11] M. Karaca, C. Babür, B. Çelebi, H.A. Akkan, M. Tütüncü, İ. Keleş, B. A. Uslu ve S. Kılıç. *Y.Y.Ü Vet. Fak. Derg*, 18(1) ( 2007) 45-49.
- [12] G.Masala, R.Porcu, L. Madau, A.Tanda, B. Ibba , G. Satta , S. Tola . *Vet Parasitol*. Nov 3;117(1-2) (2003) 15-21.
- [13] S.Jittapalpong, A. Sangvaranond, N. Pinyopanuwat, W. Chimnoi, W. Koizumi, S. Maruyama . *Vet Parasitol*. Jan 4;127(1) (2005) 17-22.
- [14] A. Bisson , S. Maley , C.M. Rubaire-Akiiki, J.M. Wastling. *Acta Trop*. Jul 21;76(1) (2000) 33-8.
- [15] E.K. Unat, A.Yücel, K.Atas ve M. Samastı. Unatın Tıp Parazitolojisi, İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Bulaşan Hastalıkları, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa tıp Fakültesi yayınları, Yayın No: 3641, Fakülte yayın No: 162, İstanbul (1991).
- [16] C.P. Beatie. *Ecol Dis* 1(1982)13-20.
- [17] Renal G. Desmounts ve J. Couvreur. *Bull NY Acad Med* 50 (1974) 146-159.
- [18] G. Desmonts, J.Couvreur, F. Alison, J. Baudelot, J. Gerbeaux, M. Lelong. *Rev Fr Etud Clin Biol*. Nov;10(9) (1965) 952–958.
- [19] J.M. Jay. Foodborne animal parasites. *Modern Food Microbiology*. Fourth edition,p 611-639 (1992).
- [20] E.H. Marth and J.L. Steele. Toxoplasmosis. *Applied and Dairy Microbiology*,(1998) p 361-369.
- [21] H.P. Rieman, M.E. Meyer, J.H. Thesis, G.Kelso, D.E. Behymer. *J. Pediat*, 87(1975) 573-576.
- [22] J.J.Sacks, R.R.Roberio, N.F Borooks. *J American Med Assoc*, 248(1982) 1728-1732.
- [23] L.J. Skinner, A.C. Timperley, D. Wightman, J.M. Chatterton, D.O. Hoyen *Scand J. Infect Dis*,22 (1990) 359-361.
- [24] T.İ Karagenç, H. Ertabaklar, B. Ulutaş, S.Aypak, S. Ertug. Yüzüncü Yıl üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 16(1) (2005) 67-70.
- [25] C. Babür, B. Esen, G. Bıykoğlu. *Turk J Vet Anim Sci*, 25 (2001) 283-285.
- [26] N. Öcal, C. Babür, B.B. Yağcı, , H.C. Macun, B. Çelebi, S. Kılıç, İ. Pir -Yağcı . *Kafkas Üniv. Vet Fak Derg*, 14(1) (2008) 75-81.
- [27] T.Oncel ve G. Vural, *Veterinarski Arhiv*, 76, No 6 (2006) 547–553.

- [28] M.Aktaş, N. Dumanlı, C. Babür, Z. Karaer, H. Öngör. *Turk J Vet Anim Sci*, **24** (2000) 239-241.
- [29] M. Sevgili, C. Babür, S. Nalbantoğlu, G. Kardeş and Z. Vatansever, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **29** (2005) 107-111.
- [30] Y. Goz, C. Babur, A. Aydın ve S. Kilic. *Rev. Med. Vet.*, **158**(2007) 534-539.
- [31] A.M. Tenter, A.R. Heckerroth, L.M. Weiss. *Int. J. Parasitol.*, **30** (2000) 1258-127.
- [32] D. Waltner-Toews, R. Mondesire, P. Menzies. *Can. Vet .J.*, **32** (1991) 734-737.
- [33] W.N.A. Puije, K.M. Bosompem, E.A. Canacoo, J.M. Wastling, B.D. Akanmori. *Acta Tropica*, **76** (2000) 21-26.
- [34] R.Hashemi- Fesharki. *Vet. Parasitol.*, **61** (1996)1-3.
- [35] L.F. Pita Gondim, Jr, H.V. Barbosa, C.H.A.R. Filho, H. Saeki. *Vet. Parasitol.*, **82** (1999) 273-276.
- [36] A. Stefanakes, A. Bizake, E. Krambovites. *Bull. Hellen. Vet. Med. Soc.*, **46** (1995) 243-249.
- [37] H. Ekmen. *Mikrobiol Bült.*, **1** (1967) 243.
- [38] K. Altıntaş. *Mikrobiyoloji Bülteni.*, **8**(1974) 5-24.
- [39] H .Sarnıç.. *Diyarbakır Üniv. Tıp. Fak. Derg.*, **5** (1976) 565
- [40] K. Altıntaş. *T. Parazitol. Derg.*, **4** (1981) 87.
- [41] A. İnci, N. Aydın, C. Babür, Y. Çam, C. Akdoğan, Ş. Kuzan. *Pendik. Vet. Mikrobiyol. Derg.*, **30** (1999) 41-46.
- [42] K. Altıntaş, Ç. Güngör, H. Zeybek, C.Yaralı. *T. Parazitol. Derg.*, **21** (1997) 63-65.
- [43] C. Babür, A. İnci, Z. Karaer. *T. Parazitol. Derg.*, **2** (1997) 409-412.
- [44] K.Yıldız, C. Babür, S. Kılıç, M. Aydenizöz, D.Dalkılıç. *T. Parazitol. Derg.*, **24** (2000) 180-185.
- [45] M. Arda, W. Bisping,N. Aydın, E.İstanbuluoğlu,Ö.Akay, M.İzgür, S.Diker, Z.Karaer. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **34**(1987) 195-206.
- [46] N.Dumanlı, S. Güler, E. Köroğlu, S. Orak. *Doğa. Tr. Vet. Anim. Sci.* ,**16** (1991) 10- 18.
- [47] D.Öz, M. Özyer, M. Çorak. *Etilik Vet. Mikrob. Derg.*, **8** (1995). 87-99.
- [48] M.Tütüncü, E. Ayaz,M. Yaman, H.A. Akkan. *Indian. Vet. J.*, **80** (2003) 401-403.

- [49] H. Zeybek, C. Yaralı, H. Nishikawa, F. Nishikawa, B. Dündar. *Etlik Vet. Mikrob Derg.*, **8** (1995) 80-86.
- [50] C.Babür, Z. Karaer, A. Çakmak, C.Yaralı, H.Zeybek. *Fırat Üniv. Sađ. Bil. Derg.*, **10** (1996) 273-277.
- [51] F. Sevinç, K. Kamburgil, B. Dik, F. Güçlü, H. Aytakin. *Fırat Üniv. Sađ. Bilim. Derg.*, **14** (2000) 137-142.
- [52] K. Kamburgil, R. Durgut, E. Handemir. *Veterinarium*, **12** (2001) 1-4.
- [53] K.D. Wenstrom. Toxoplasmosis. In Gleicher N (Ed ) *Princip les and practice of medical therapy in pregnancy*. New-York , Appleton Angle, (1989) 627-630.
- [54] A.O. Carter ve J.W. Frank. *CMAJ*, **135** (1988) 618- 632.
- [55] G.Desmont and J. Couvreur. Congenital toxoplasmosis: A pros pective study of the offspring of 542 women who acquired toxoplasmosis during pregnancy pathophysiology of congenital di sease. In Thallhammer O, Baumgardden K, Pollak A (Eds) *Perinatal Medecine*, Stuttgart, George -Thieme, (1979) 51-57.
- [56] B. Kaleli, İ. Kaleli, E. Aktan, H. Akalın, F. Akşit. *T Parazitol Derg*; **21**(1997) 241- 3.
- [57] E. Polat, M. Aslan, R. İsenkul, G. Aygün, N. Aksın, İ.Çepni. *T Parazitol Derg*; **26** (2002) 350-1.
- [58] A. Kafkaslı, D. Üryan, A. Buhur, M. Köroğlu, R. Durmaz. *Perinatoloji Dergisi*; **4**(1996) 94-6.
- [59] F .Tekay ve E .Özbek.. *T Parazitol Derg*; **31**(2007) 176- 9.
- [60] A. G. Okyay, A Karateke, E. Yula, M.İnci, D.Benk-Şilfeler,V. Köksaldı- Motor. *J Turk Soc Obstet Gynecol*; **10**(2013) 160- 4.
- [61] Ç. Güngör, M.Özsan, A. Karaaslan. *Ankara Tıp Mecmuası* **53**(2000) 91-93.
- [62] F.Saraçoğlu ve D. Şahin. *T Klin Jineköl Obst*; **11**(2001) 326-8.
- [63] H.Güneş, S.Kaya, E.Sesli Çetin, T.Taş, M. Demirci. *S.D.Ü.Tıp Fak Derg*; **15**(2008) 21-4.
- [64] H.A. Kuman, N. Altıntaş, Ş.Üstün, A.Y.Gürüz. *T. Parazitol. Dern. Yayın., No:12* (1995) 137-164.
- [65] A.Kobayashi, N. Hirai, Y. Suzuki. *Japan .J. Parasitol.*, **26** (1977) 175-180
- [66] P.J. O'donoghue, M..J. Riley, J.F. Clarke,. *Aust. Vet. J.*, **64**(1987) 40-46.
- [67] S.Ohshima, N. Tsubota, K.Hiraoka. *Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig A* 250 (1981) 376-382.

- [68] M.R. Owen, M.J. Clarkson, A.J. Trees,. *Vet. Rec.*, 142(**17**): (1998). 445-448.
- [69] M..A. Özcel ve D. Sermet. *T. Parazitol. Derg. Yay.* **3**(1983) 95-121.
- [70] M. Tanyüksel, H.Gün, N.Erdal, T.Haznedaroğlu, C.Babür, M. Baysallar, A. Başustaoğlu. *T. Parazitol. Derg.*, **18**(1994) 266-276.
- [71] B.Helmick, A. Otter, J.Mcgarry, D. Buxton. *Res. Vet. Sci.*, **73** (2002) 187-189.
- [72] N.M. Silva, E.V. Lourenco, D.A.O .Silva, J.R .Mineo. *Vet. J.*, **163** (2002) 94-98.
- [73] W. J. Foreyt. *Veterinary parasitology reference manual*. Iowa State University Press, Ames, Iowa. **5**(2001) 5-8.
- [74] H. A Dabritz, M. A. Miller, E. R. Atwill, I. A. Gardner, C. M. Leutenegger, A. C. Melli and P. A. J. Am. *Vet. Med. Assoc.* **231** (2007) 1676-1684.
- [75] M. A. E.G Amany ve A. M. A. *J. Life Sci.* **9** (2012) 133-146.
- [76] G. Berlin, J. Peter, C. Gagne, C. Conteas and L. Ash. *Emerg. Infect. Dis.* **4** (1998) 127-128
- [77] A. Dumetre ve M. L. Darde. *FEMS Microbiol. Rev.* **27** (2003) 651-661.
- [78] K. Parajuli, S. Hanchana, M. Inwong, S. Pukrittayakayamee and P. Ghimire. *Nepal Med. Coll. J.* **11** (2009) 23-27.
- [79] G. Schares, N. Pantchev, D. Barutzki, A. O. Heydorn, C. Bauer and F. J. Conraths. *Int. J. Parasitol.* **35** (2005) 1525-1537.
- [80] B.C. Walton, I. Arjona, B.M. Benchoff. *Am J Trop Med Hyg.*, **15** (1966) 492– 495.
- [81] K.W. Walls, S.L. Bullock ve D.K English. *J. Clin. Microbiol.* **5** (1977) 273-277.
- [82] A. Balsari, G. Poli, V. Molina, *et al.* *J Clin Pathol*, **33** (1980) 640–643.
- [83] M. Ak. Enzyme Linked İmmunosorbent Assay (ELISA). Kitap: Özcel MA, Altıntaş N, Parazit Hastalıklarında Tanı. 1.Baskı, Türkiye Parazitoloji Derneği, Yayın No: 5, 8.Bölüm, (1997) 241-259.
- [84] M. Wilson, J.S.Remington, C.Clavet, G.Varney, C.Press, D.Ware. *J Clin Microbiol.*, **35** (12) (1997) 3112-5.
- [85] Y. Gürüz ve M. Korkmaz. *T Parazitol Derneği* No: 15 İzmir, (1997) 293-319.
- [86] G. Desmonts ve J. S. Remington. *J Clin Microbiol.*, **11**(**6**) ( 1980) 562–568.
- [87] S.B Glor, R. Edelhofer, F. Grimm, P. Deplazes, W. Basso. *Parasitology & Vectors*, v. **6** (2013) p. 85.



- [88] Zhu, C., L. Cui and L. Zhang *Iranian J. Parasitol.* **7** (2012) 89-95.
- [89] H. R. Gamble, J. P. Dubey and D. N. Lambillotte. *Vet. Parasitol.* **128** (2005) 177–181.
- [90] U.Krainara, S. Thongrungrat, W. Usawattanakul, P. Petmitr and Y. Sukthana. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.*, **35** (2004) 37-39.
- [91] A. Oksanen, M. Tryland, K. Johnsen and J. P. Dubey. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.*, **21** (1998) 107-114.
- [92] A. F. Silva, F. C. R. Oliveirab, J. S. Leite, M. F. V. Melloc, F. Z. Brandãoa, R. I. J. C. K. Leite, E. Frazão-Teixeirab, W. Lilenbauma, A. B. M. Fonsecae and A. M. R. Ferreiraa. *Vet. Parasitol.*, **191** (2013) 347– 352.
- [93] A. Minho, P. R. L. Freire, O. Vidotto, S. M. Gennari, E. M. Marana, J. L. Garcia and I. Navarro. *Vet. Bras* **24** (2004) 199-202.
- [94] J. F. Pissinate, I. T. Gomes, V. Peruhype-Magalhaes, R. Dietze, O. A. Martins-Filho and E. M. Lemos. *J. Immunol. Methods.* **336** (2008) 193-202.
- [95] P. P Silva-dos-Santos, G. B. Barros, J. R. Mineo, D. A. d. O. Silva, M. H. W. Menegaz, J. C. Serufo, R. Dietze, O. d. A. Martins-Filho and E. M. Lemos. *J. Immunol. Methods.* **378** (2012) 33-43.
- [96] K.B. Mullis ve F.A. Faloona. *Methods in Enzymology*; **155** (1986) 335-350.
- [97] J. L Burg, C. M. Grover, P. Pouletty and J. C. Boothroyd. *J. Clin. Microbiol.* **27** (1989) 1787-1792.
- [98] Z. I. Chaudhary, R. S. Ahmed, S. M. I. Hussain and A. R. Shakoori. *Pakistan J. Zool.*, **38** (2006) 333-336.
- [99] S.-E Lee, S.-H. Hong, S.-H. Lee, Y.-I. Jeong, S. J. Lim, O. W. Kwon, S. H. Kim, Y. S. You, S.H. Cho and W.J. Lee. *Korean J. Parasitol.* **50** (2012) 229-231.
- [100] A. Rahumatullah, B. Y. Khoo and R. Noordin. *Exp. Parasitol.* **131** (2012) 231-238.
- [101] T. Hierl, U. Reischl, P. Lang, H. Hebart, M. Stark, P. Kyme and I. B. Autenrieth. *J. Med. Microbiol.*, **53** (2004) 629-632.
- [102] K. Horiuchi, I. Yabe, Y. Tajima, T. Kondo, Y. Takizawa, H. Yamada and H. Sasaki *Rinsho shinkeigaku Clin. Neurol.* **50** (2010) 252-256.
- [103] J. Y. Lee, S. E. Lee, E. G. Lee and K. H. Song. *Res. Vet. Sci.* **85** (2008) 125-127.
- [104] L. Delhaes, H. Yera, S. Ache, V. Tsatsaris and V. Houfflin-Debarge. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **76** (2013) 244–247.
- [105] A. Kompalic-Cristo, C. Frotta, M. Suárez-Mutis, O. Fernandes and C. Britto. *Parasitol. Res* (2007) 101: 619-625.

- [106] U. Reischl, S. Bretagne, D. Krüger, P. Ernault and J.M. Costa. *BMC Infect. Dis.* **3** (2003) 1-9.
- [107] H. Xin, C. W. Pan, Y.F. Li, H. Wang and F. Tan *Folia Parasitol.* **59**(1) (2012) 21-26.
- [108] W. Homan, M. Vercammen, J. De Braekeleer and H. Verschueren. *Int J Parasitol.* Jan; **30**(1) (2000) 69-75.
- [109] Q. M Kong, S. H. Lu, Q. B. Tong, D. Lou, R. Chen, B. Zheng, T. Kumagai, L. Y. Wen, N. Ohta and X. N. Zhou. *Parasites & vectors* **5**(2012) 1-7.
- [110] Q. Daofeng, H. Zhou, J. Hana, S. Taoa, B. Zhengc, N. Chia, C. Sud and A. Due. *Vet Parasitol.* **192** (2013) 98-103.