

## Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Toksoplazmozis Sıklığının Real-Time PZR ile Belirlenmesi

Muhammet Karakavuk<sup>1,2\*</sup>, Hüseyin Can<sup>3</sup>, Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>1</sup>, Adnan Yüksel Gürüz<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Ödemiş Meslek Yüksekokulu, Ödemiş, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova, Türkiye

\*mkarakavuk@gmail.com<sup>ID</sup>, huseyin.can@ege.edu.tr<sup>ID</sup>, aysu.degirmenci.doskaya@ege.edu.tr<sup>ID</sup>,

yuksel.guruz@ege.edu.tr<sup>ID</sup>, mert.doskaya@ege.edu.tr<sup>ID</sup>

Makale gönderme tarihi: 05.04.2022, Makale kabul tarihi: 28.04.2022

### Öz

*Toxoplasma gondii* insan ve sıcakkanlı hayvanları enfekte edebilen zoonotik protozoon bir parazittir. Bu çalışmada çeşitli hasta gruplarından alınmış klinik örneklerde toksoplazmozis sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında 2009-2019 yılları arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Moleküler Parazitoloji laboratuvarına gönderilen ağırlıklı olarak amniyon sıvısı, kan ve beyin omurilik sıvısı örneklerinin dahil olduğu toplam 535 klinik örnek değerlendirilmiştir. Bu örneklerde DNA izolasyonu sonrası *T. gondii* RE geni varlığı Real-Time PZR ile araştırılmıştır.

Belirtilen zaman aralığında toksoplazmozis sıklığı %2,61 (14/535) olarak tespit edilmiştir. Hastalığın direkt etkilediği merkezi organlardan alınan örneklerde pozitiflik oranı %5,40 (8/148) iken periferden alınan örneklerde pozitiflik oranı %1,74 (5/286) olarak tespit edilmiş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0,05$ ). İmmünsüpresif hastalarda ise hastalığın pozitiflik oranı daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $P>0,05$ ).

Elde edilen bulgular toksoplazmozis tanısında Real-Time PZR yönteminin oldukça önemli bir yeri olduğunu göstermektedir. Ayrıca, örnek alım yöntemlerinin hastalığın tanısında oldukça önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Toxoplasma gondii*, toksoplazmozis, RT-PZR, RE geni

## Determination of Toxoplasmosis Frequency by Real-Time PCR in Ege University Medical Faculty Hospital

### Abstract

*Toxoplasma gondii* is a zoonotic protozoan parasite that can infect humans and warm-blooded animals. In this study, it was aimed to investigate the frequency of toxoplasmosis in clinical samples taken from various patient groups.

Within the scope of the study, a total of 535 clinical samples, including mainly amniotic fluid, blood and cerebrospinal fluid samples, which were sent to the Molecular Parasitology laboratory of Ege University Faculty of Medicine, Department of Parasitology between 2009 and 2019, were evaluated.

The frequency of toxoplasmosis was determined as 2.61% (14/535) in the specified time period. While the positivity rate was 5.40% (8/148) in the samples taken from the central organs directly affected by the disease, the positivity rate was 1.74% (5/286) in the samples taken from the periphery, and this difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Although the positivity rate of the disease was higher in immunosuppressive patients, no statistically significant difference was found ( $P>0.05$ ).

The findings show that Real-Time PCR method has a very important place in the diagnosis of active toxoplasmosis. In addition, it was concluded that sampling methods are very important in the diagnosis of the disease.

**Keywords:** *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, RT-PCR, RE gene

## GİRİŞ

*Toxoplasma gondii* insanlar ve hayvanları enfekte edebilme özelliğine sahip tıbbi ve veteriner önemi yüksek zorunlu hücre içi protozoon bir parazittir (Dubey ve ark., 1970; Karakavuk ve ark., 2018). İnsanlar sıklıkla, bradizoit içeren doku kistleri ile enfekte koyun, keçi ve sığır etlerini çiğ veya az pişmiş olarak tüketerek, sporlu ookistlerle kontamine gıdaların tüketimi yanında kontamine suların içilmesi ya da transplental yolla enfekte olmaktadır (Kim ve Weiss, 2004). Yapılan çalışmalarda, dünyada insan nüfusunun 1/3'ünün *T. gondii* ile enfekte olduğu gösterilmiş, ayrıca seroprevalansın farklı coğrafik bölgeler arasında büyük değişiklikler bulunduğu saptanmıştır (Karakavuk ve ark., 2021; Salant ve ark., 2010). Toplumlar arası seroprevalans farklılıklarının beslenme alışkanlıklarına, toprak ve kedi dışkısı ile temasa ve kişisel hijyene bağlı olduğu belirtilmektedir (Robert-Gangneux ve Dardé, 2012). Dünyada 500 milyon insanın, Avrupa'da doğurgan yaştaki kadınların %37 ile %58'nin *T. gondii* ile enfekte olduğu belirtilmiştir (Harma ve ark., 2004; Holland, 2003). Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise seroprevalansın %30 ile %60 arasında olduğu ortaya konulmuştur (Celik ve ark., 2008; Ertug ve ark., 2005; Sert ve ark., 2019; Tekay ve Özbek, 2007).

Toksoplazmozis sırasında tanısız yaklaşım hastanın immün durumuna ve gebe olup olmadığına göre değişmektedir. Tanı biyolojik, histolojik, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir. Son yıllarda tanıda en sık serolojik ve moleküler tanı yöntemleri kullanılmaktadır (Robert-Gangneux ve Dardé, 2012). Toksoplazmozis tanısında *T. gondii*'ye özgü antikorların serolojik yöntemlerle saptanması başlıca tanı yöntemidir. Serolojik tanıda birçok test kullanılmaktadır. Testlerin fazla olmasının nedeni etkene özgü antikorların sağlıklı kişilerde uzun süre yüksek titrede seyretmesine ve bu testlerin erken dönemde toksoplazmozis tanısını sağlayamamasındandır. Bundan dolayı toksoplazmozisin serolojik tanısında kullanılan testlerin yanlış pozitif veya negatif sonuç vermesini engellemek için birden fazla yöntemin beraber kullanılması tavsiye edilmektedir. Toksoplazmozisin erken tanısını tek başına sağlayabilecek serolojik test bulunmamaktadır (Montoya ve Liesenfeld, 2004).

Aktif enfeksiyonların yanı sıra konjenital toksoplazmozis, toksoplazmik retinokoroidit, organ

nakli alıcıları ve AIDS hastalarında kesin tanı için direk tanı yöntemleri serolojik tanıdan önde gelmektedir. Direk tanı yöntemlerinden *in vivo/in vitro* izolasyon, histolojik tanı ve PZR yöntemleri etkenin kendisi ya da DNA'sının gösterilmesi için kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden PZR testinin duyarlılık/özgüllüğü yüksek olması yanında hızlı, kolay, ucuz olmasından dolayı bu hastalara PZR testinin yapılması gerektiği bildirilmiştir (Remington ve ark., 2004). *T. gondii* DNA'sının belirlenmesinde, hedef gen olarak en sık B1 ve RE genleri kullanılmaktadır (Robert-Gangneux ve Dardé, 2012). Bu gen bölgelerinin *T. gondii* genomu içinde moleküler tanı için yeterli miktarda tekrar ettiği ve bu nedenle yüksek duyarlılık ve özgünlüğe sahip olduğu bildirilmiştir (M. Döşkaya ve ark., 2019; Karakavuk ve ark., 2022).

Bu çalışmada 2009-2019 yılları arasında farklı hasta gruplarından toplanmış amniyon sıvısı, kan, beyin omurlik sıvısı, BAL, göz sıvısı, lenf bezi ve doku örneklerinde toksoplazmozis sıklığının Real-Time PZR (RT-PZR) ile araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Örnekler

2009-2019 yılları arasında Moleküler Parazitoloji laboratuvarına gönderilen 535 örnekte (249 kadın ve 286 erkek) *T. gondii* RE geni (GenBank numarası:AF146527) RT-PZR ile araştırılmıştır. 6 göz sıvısı, 282 kan, 101 amniyon sıvısı, 9 lenf bezi, 4 bronko alveolar lavaj sıvısı (BAL), 97 beyin omur ilik sıvısı (BOS) ve 36 doku örneği çalışma grubunu oluşturmaktadır. Bu çalışma, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayları ile gerçekleştirilmiştir. (Karar numaraları: 13-3/3; 18-5.1/29).

### Örneklerin işlenmesi ve DNA ekstraksiyonları

Tüm DNA ekstraksiyonları QIAamp DNA mini kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak üretici firmanın protokolüne göre küçük modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir (Karakavuk ve ark., 2017).

Kan örnekleri 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek elde edilen bufy-coat ile DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. BOS ve göz sıvı örneklerinden direk DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Kısaca 500 µl bufy-coat örneği içerisine 50 µl proteinaz K ilave edilmiştir. Sonrasında 500 µl lizis solüsyonu (Buffer

AL) eklenip 15 sn vortekslenmiş ve bir kısa santirifüj yapılarak 70 °C' de 10 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 500 µl %96 etil alkol eklenerek 15 sn vorteks sonrasında kısa santrifüj yapılmıştır. Tüm sıvı, kite ait filtreli tüplere eklenerek 10000 rpm'de 1 dakika santifüj edilmiştir. Sonrasında filtreler yıkama solüsyonu 1 ve 2 (Buffer AW1 ve AW2) ile ikişer kez sırasıyla yıkanmıştır. Son olarak örneklere 500 µl elüsyon solüsyonu (Buffer AE) eklenmiş ve 1 dakika oda sıcaklığında beklendikten sonra 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek elde edilen DNA'lar RT-PZR yapılarına kadar -20 °C' de saklanmıştır.

Lenf bezi ve diğer doku örnekleri steril bir bistrü yardımıyla küçük parçalara ayrılarak 200 µl buffer ATL, 50 µl proteinaz K, 150 µg zirkonyum boncuk (2.0 mm) ve 50 µg cam boncuk (0.1 mm) (BioSpec Products) eklenerek termomikserde (Lab4You) 1400 rpm'de 56 °C' de gece boyu inkübe edilmiştir. Daha sonra erimiş doku üzerine 200 µl buffer AL eklenerek vortekslenmiş ve 10 dakika 70 °C' de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 200 µl %96'lık etil alkol eklenerek 15 sn vorteks sonrasında kısa santrifüj yapılmıştır. Daha sonra kan örneklerinde uygulanan protokol takip edilmiştir.

Amniyon sıvısı örneklerinden DNA ekstraksiyonu sırasında 10 ml amniyon sıvısı kullanılmıştır. Öncelikle 6 ml amniyon sıvısı 3000 rpm'de 15 dakika santirifüj edilerek 4 ml üst sıvı atılmıştır. Kalan sıvı üzerine 4 ml daha amniyon sıvısı eklenerek 6 ml örnek ile DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. 6 ml örnek üzerine 50 µl proteinaz K ilave edilmiştir. Daha sonra kan örneklerinde uygulanan protokol takip edilmiştir.

8-10 ml BAL sıvısı 3000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Üst sıvı 500 µl kalana kadar atılmış ve kalan sıvı ile pellet homojenize edilmiştir. Balgam örneklerinde ise 500 µl örnek ile ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan örneklerin üzerine 0,1 mm cam bead, 2 mm zirkonyum bead (BioSpecProducts) ve 50 µl proteinaz K eklenerek termo-mikserde (Lab4You) 1400 rpm'de, 55 °C' de 15 dakika tutulmuştur. Daha sonra 95 °C' de inkübe edilmiştir. İnkübasyon periyotlarından sonra 2 dakika sabit vorteks cihazında (Distribütör Genie, Scientific Industries) vortekslenmiştir. Takibinde her örnek kısa santrifüj yapıldıktan sonra tüplerdeki karışım 2 ml'lik ependorf tüplere alınmıştır. Daha sonra kan örneklerinde uygulanan protokol takip edilmiştir.

## Real-Time PZR

*Toxoplasma gondii* RE geni içerisinde 134 baz çifti büyüklüğündeki bölgeyi (Genbank erişim no: AF146527) hedefleyen RT-PZR reaksiyonu daha önce tarif edildiği gibi gerçekleştirilmiştir (M. Döşkaya ve ark., 2019). Analiz sonuçları LightCycler Real Time cihazı ile LightCycler programı versiyon 3.5 ile üretici protokollerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Roche). 134 bç' lik fragmenti amplifiye etmek için 5'-AGGCGAGGGTGAGGATGA-3' forward ve 5'-TCGTCTCGTCTGGATCGCAT-3' reverse primerleri kullanılmıştır. Hibridizasyon problemleri 5'-Red-640-CTCTCGTCTGCCAACCACG-phosphate-3' ve 5'-GCCGGAACATCTTCTCCCTCTCC-fluorescein-3' olacak şekilde tasarlanmıştır. 20 µl' lik reaksiyon karışımı, 5 µl kalıp DNA veya kontroller, 1xFastStart mix (Roche), 5 mmol MgCl<sub>2</sub>, 0,5 µmol Red-640 bağlı prob, 0,1 µmol fluorescein bağlı prob ve 5 µmol primer çiftleri içermektedir. Amplifikasyon koşulları 10 dakika 95 °C ilk denatürasyondan sonra 5 sn 95 °C, 30 sn 60 °C ve 15 sn 72°C 50 döngü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

## İstatiksel Analiz

Elde edilen veriler Microsoft Excel 2016 ile işlenmiş ve istatistiksel analizler GraphPad Prism 6 (San Diego, CA) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İmmun sistemin *T. gondii* pozitifliği üzerine etkisi Fisher'in ki-kare testi kullanılarak değerlendirilmiştir.  $P < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

*T. gondii* RE geninin RT-PZR ile araştırılması sonucunda toksoplazmozis sıklığı %2,61 (14/535) olarak tespit edilmiştir. Çalışılan örneklerde pozitiflik oranı göz sıvısı örneklerinde %16,66 (1/6), periferik kan örneklerinde %1,77 (5/282), amniyon sıvısında %0,99 (1/101), lenf bezi örneklerinde %22,22 (2/9), BOS örneklerinde %2,06 (2/97), doku örneklerinde %8,33 (3/36) olarak tespit edilirken BAL/balgam örneklerinde pozitiflik saptanmamıştır (Tablo 1). Hastalığın direk etkilediği merkezi organlardan (BOS, göz sıvısı, lenf bezi, doku) alınan örneklerde pozitiflik oranı %5,40 (8/148) iken periferden alınan örneklerde (Periferik kan, BAL/Balgam) ise %1,74 (5/286) olarak tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ( $P < 0,05$ ).

İmmünsüpresif hastalarda *T. gondii* sıklığı %5,26 (3/57) olarak tespit edilmiştir. İmmün sistemi sağlam hastalarda ise sıklığı %2,30 (11/478) olarak bulunmuştur. İmmünsüpresif hastalarda hastalığın pozitiflik oranı daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $P>0,05$ ) (Tablo 2).

Son olarak kadınlarda hastalığın sıklığı %2,81 (7/289) iken erkeklerde %2,44 (7/286) olarak tespit edilmiştir. Kadınlarda sıklık daha yüksek tespit edilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $P>0,05$ ).

*T. gondii* tıbbi ve veteriner önemi yüksek olup tüm sıcakkanlı canlıları enfekte edebileceği düşünülen protozoon bir parazittir. Hastalık sağlıklı insanlarda genellikle klinik bulgu göstermezken immün sistemi baskılanmış hastalarda ölüme kadar varabilen ciddi klinik bulgular oluşturmaktadır. Ayrıca hastalık hamilelerde bebeğe geçerek konjental toksoplazmozise neden olarak abort veya malformasyonlara neden olabilmektedir (Robert-Gangneux ve Dardé, 2012). Tüm bu nedenlerden dolayı aktif toksoplazmozisin RT-PZR ile tanısı oldukça önemlidir.

*Toxoplasma gondii*'nin PZR ile tanısında *in house* ve ticari RT-PZR testleri kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan *in house* RT-PZR test ile ticari RT-PZR tanı kitinin (TIBMolBiol) karşılaştırıldığı bir çalışmada 38 şüpheli örnek kullanılmıştır. Ticari kit referans test olarak kullanıldığında *in house* RT-PZR testinin duyarlılığı %87,5, özgüllüğü %100 olarak tespit edilirken *in house* RT-PZR referans test olarak değerlendirildiğinde ticari RT-PZR kitinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %96,8 olarak bulunmuştur (Döşkaya ve ark., 2019).

*T. gondii* B1 ve RE genleri gom içerisinde yüksek kopya sayısına sahip olduğu için hastalığın moleküler tanısında en çok kullanılan gen bölgeleridir (Costa & Bretagne, 2012; M. Döşkaya ve ark., 2019; Homan, Vercammen, Braekeleer, & Verschueren, 2000). Yapılan çalışmalarda *T. gondii* RE geninin B1 genine göre daha yüksek hassasiyete sahip olduğu ortaya konmuştur (Belaz ve ark., 2015; Filisetti ve ark., 2015). Ancak Doğu Afrika'da yapılan bir çalışmada *T. gondii* pozitifliği bilinen örneklerde B1 geni ile gerçekleştirilen RT-PZR' da tüm pozitif örnekler uyumlu iken RE geni ile gerçekleştirilen RT-PZR ile 3 pozitif örnek hatalı negatif sonuç vermiştir. Bunun nedeni olarak Afrika genotiplerinde RE geninin 275. pozisyonundaki G/C

varyasyonunun RT-PZR sonuçlarını etkileyebileceği düşünülmüştür (Wahab ve ark., 2010).

Dünyada yapılan toksoplazmozisin PZR ile araştırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Brezilya'da yapılan bir çalışmada IgM pozitif (n=35), IgG pozitif (n=110 ve seronegatif kişilerin (n=38) periferik kan örneklerinde toksoplazmozis tanısı RT-PZR ile araştırılmıştır. Çalışma sonucunda IgM pozitiflerde %48,6 (17/35), IgG pozitiflerde %3,6 (4/110) ve seronegatiflerde ise %7,9 (3/38) *T. gondii* B1 geni pozitifliği saptanmıştır (Kompalic-Cristo ve ark., 2007). İran'da spontan abort yapan kadınlarda yapılan diğer çalışmada plesanta dokularından DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve nested-PZR ile RE geni varlığı araştırılıp %14,5 (48/330) pozitiflik saptanmıştır (Maani ve ark., 2021).

Türkiye'de sınırlı sayıda insanlarda *T. gondii* moleküler tanı çalışması bulunmaktadır. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesinde yapılan bir çalışmada 13-18 haftalık hamile olan 300 kişiden amniyon sıvısı alınarak B1 genini hedefleyen ticari bir kit ile RT-PZR testi ile *T. gondii* pozitifliği araştırılmıştır. 300 örneğin B1 genini hedefleyen RT-PZR sonucunda 4 örnek (%1,3) pozitif olarak bulunmuştur (Günel ve ark., 2012). Kocaeli'nde yapılan bir diğer çalışmada 170 allojenik kök hücre nakli hastasında serebral toksoplazmozis manyetik rezonans ve BOS kullanılarak gerçekleştirilen RT-PZR ile araştırılmıştır. 170 örneğin çalışılması sonrasında *T. gondii* açısından 4 örnek pozitif olarak saptanmıştır (Hakko, Ozkan, Karaman, & Gulbas, 2013). Karaciğer transplantasyonu hastalarında yapılan diğer bir çalışmada 40 hastadan alınan kan ve BOS örneklerinde RT-PZR ve nested-PZR ile toksoplazmozis araştırılmıştır. 4 hasta *T. gondii* pozitif saptanmıştır (Caner ve ark., 2007). Yeni doğmuş iki bebekten alınan BOS sıvılarında yapılan bir diğer çalışmada ise RT-PZR sonucunda 2 örnek pozitif olarak saptanmış ve mikrosatellit genotiplendirme yaklaşımı ile her iki örnek Afrika-1 genotipi olarak tanımlanmıştır (Döşkaya ve ark., 2013).

Bu çalışma bildiğimiz kadarıyla Türkiye'de en yüksek örnek ile çalışılan toksoplazmozis çalışmasıdır. RT-PZR ile %2,61 (14/535) oranında pozitiflik saptanmış olup bu sonuç ülkemizde yapılan diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile uyumludur. İmmün sistemi sağlam hastalarda toksoplazmozis sıklığı %2,30 (11/478) olarak tespit edilmiş, immünsüpresif hastalarda ise %5,26 (3/57)

Araştırma makalesi/Research article  
 DOI: 10.29132/ijpas.1099082

olarak belirlenmiştir. Hastalık immun sistemi zayıf olanlarda daha yüksek saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu sonuçlar immun sistemi sağlam olanlarda da toksoplazmozis riski bulunduğunu göstermektedir. Diğer taraftan hastalığın direk etkilediği merkezi organlardan (BOS, göz sıvısı, lenf bezi, doku) alınan örneklerde pozitiflik oranı %5,40 (8/148) iken

periferden alınan örneklerde (Periferik kan, BAL/Balgam) ise %1,74 (5/286) olarak tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ( $P<0,05$ ). Bu sebeple *T. gondii* PZR tanısında merkezi organlardan alınan örneklerin periferden alınan örneklere göre daha değerli olduğu düşünülmüştür.

**Tablo 1.** Örnek alım yöntemine göre *T. gondii* prevalansı

Örnekler	Örnek Sayısı	Pozitif Sayısı	%
Göz sıvısı	6	1	16,66
Periferik Kan	282	5	1,77
Amnion sıvısı	101	1	0,99
Lenf bezi	9	2	22,22
BAL/balgam	4	0	0
BOS	97	2	2,06
Doku	36	3	8,33
<b>Toplam</b>	<b>535</b>	<b>14</b>	<b>2,61</b>

**Tablo 2:** İmmunite durumuna göre *T. gondii* prevalansı

	Örnek sayısı	Pozitif sayısı	%
HIV+	28	2	7,14
Diğer immunsupresif	29	1	3,44
<b>Toplam immunsupresif hasta</b>	<b>57</b>	<b>3</b>	<b>5,26</b>
<b>İmmun sistemi sağlam</b>	<b>478</b>	<b>11</b>	<b>2,30</b>
<b>Toplam</b>	<b>535</b>	<b>14</b>	<b>2,61</b>

## SONUÇLAR

Sonuç olarak bu çalışma büyük bir örnek sayısı ile geniş zaman aralığında yapılmış Türkiye'deki ilk kapsamlı çalışmadır. Elde edilen bulgular *T. gondii* enfeksiyonunun immunsupresif hastalar kadar immun sistemi sağlam bireylerde de görülebileceğini göstermiştir. Ayrıca örnek alım yöntemlerinin toksoplazmozis tanısında önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 13-TIP-050 numaralı proje ile desteklenmiştir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar/ Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemektedir.

## ARAŞTIRMA VE YAYIN ETİĞİ BEYANI

Yazar/Yazarlar bu çalışmanın araştırma ve yayın etiğine uygun olduğunu beyan eder.

Araştırma makalesi/Research article  
 DOI: 10.29132/ijpas.1099082

## KAYNAKLAR

- Belaz, S., Gangneux, J. P., Dupretz, P., Guiguen, C., & Robert-Gangneux, F. (2015). A 10-year retrospective comparison of two target sequences, REP-529 and B1, for *Toxoplasma gondii* detection by quantitative PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(4), 1294–1300. <https://doi.org/10.1128/JCM.02900-14>
- Caner, A., Döşkaya, M., Karasu, Z., Değirmenci, A., Guy, E., Kılıç, M., ... Gürüz, Y. (2007). Incidence and Diagnosis of Active *Toxoplasma* Infection Among Liver Transplant Recipients in Western Turkey. *Liver Transplantation*, 13(5), 767–768. <https://doi.org/10.1002/lt>
- Celik, T., Karaman, U., Celebi, B., Turan, A., Babur, C., & Daldal, N. (2008). Evaluation of the municipality dustmen in terms of toxoplasmosis and listeriosis seropozitivity in Malatya. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 65(2), 81–85.
- Costa, J. M., & Bretagne, S. (2012). Variation of B1 gene and AF146527 repeat element copy numbers according to *Toxoplasma gondii* strains assessed using real-time quantitative PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4), 1452–1454. <https://doi.org/10.1128/JCM.06514-11>
- Döşkaya, M., Pullukçu, H., Karakavuk, M., Şahar, E. A., Taşbakan, M. S., Taşbakan, M. I., ... Gürüz, A. Y. (2019). Comparison of an in house and a commercial real-time polymerase chain reaction targeting *Toxoplasma gondii* RE gene using various samples collected from patients in Turkey. *BMC Infectious Diseases*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4666-z>
- Döşkaya, Mert, Caner, A., Ajzenberg, D., Değirmenci, A., Dardé, M. L., Can, H., ... Gürüz, Y. (2013). Isolation of *Toxoplasma gondii* strains similar to Africa 1 genotype in Turkey. *Parasitology International*, 62(5), 471–474. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2013.06.008>
- Dubey, J. ., Miller, N. ., & J.K, F. (1970). The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *J Exp Med*, 132(4), 636–662.
- Ertug, S., Okyay, P., Turkmen, M., & Yuksel, H. (2005). Seroprevalence and risk factors for toxoplasma infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. *BMC Public Health*, 5, 1–6. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-5-66>
- Filiseti, D., Sterkers, Y., Brenier-Pinchart, M. P., Cassaing, S., Dalle, F., Delhaes, L., ... Bastien, P. (2015). Multicentric Comparative assessment of the bio-evolution *Toxoplasma gondii* detection kit with eight laboratory-developed PCR assays for molecular diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(1), 29–34. <https://doi.org/10.1128/JCM.01913-14>
- Gunel, T., Kalelioglu, I., Ermis, H., Has, R., & Aydinli, K. (2012). Large scale pre-diagnosis of *Toxoplasma gondii* DNA genotyping by real-time PCR on amniotic fluid. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 26(2), 2913–2915. <https://doi.org/10.5504/bbeq.2011.0106>
- Hakko, E., Ozkan, H. A., Karaman, K., & Gulbas, Z. (2013). Analysis of cerebral toxoplasmosis in a series of 170 allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients. *Transplant Infectious Disease*, 15(6), 575–580. <https://doi.org/10.1111/tid.12138>
- Harma, M., Harma, M., Güngen, N., & Demir, N. (2004). Toxoplasmosis in pregnant women in Şanlıurfa, Southeastern Anatolia City, Turkey. *Journal of Egyptian Society for Parasitology*, 34, 519–525.
- Holland, G. N. (2003). Ocular toxoplasmosis: A global reassessment. Part I: Epidemiology and course of disease. *American Journal of Ophthalmology*, 136(6), 973–988. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2003.09.040>
- Homan, W. ., Vercammen, M., Braekeleer, J. De, & Verschuere, H. (2000). Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *International Journal for Parasitology*, 30(1), 69–75.
- Karakavuk, M., Aldemir, D., Mercier, A., Şahar, E. A., Can, H., Murat, J. B., ... Döşkaya, M. (2018). Prevalence of toxoplasmosis and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* strains isolated in wild birds of prey and their relation with previously isolated strains from Turkey. *PLoS ONE*, 13(4), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196159>
- Karakavuk, M., Aykur, M., Şahar, E. A., Karakuş, M., Aldemir, D., Döndüren, Ö., ... Döşkaya, M. (2017). First time identification of *Acanthamoeba* genotypes in the cornea samples of wild birds; Is *Acanthamoeba* keratitis making the predatory birds a target? *Experimental Parasitology*, 183, 137–142. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.08.007>
- Karakavuk, M., Can, H., Karakavuk, T., Gül, A., Alak, S. E., Gül, C., ... Döşkaya, A. D. (2022). Rapid detection of *Toxoplasma gondii* DNA in cat feces using colorimetric loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays targeting RE and B1 genes. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 81(December 2021). <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2022.101745>
- Karakavuk, M., Can, H., Selim, N., Yesilsiraz, B., Atli, E., Sahar, E. A., ... Döşkaya, M. (2021). Investigation of the role of stray cats for transmission of toxoplasmosis to humans and animals living in Izmir, Turkey. *Journal of Infection in Developing*

Araştırma makalesi/Research article  
 DOI: 10.29132/ijpas.1099082

- Countries, 15(1), 155–162.  
<https://doi.org/10.3855/jidc.13932>
- Kim, K., & Weiss, L. M. (2004). *Toxoplasma gondii*: The model apicomplexan. *International Journal for Parasitology*, 34(3), 423–432.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.12.009>
- Kompalic-Cristo, A., Frotta, C., Suárez-Mutis, M., Fernandes, O., & Britto, C. (2007). Evaluation of a real-time PCR assay based on the repetitive B1 gene for the detection of *Toxoplasma gondii* in human peripheral blood. *Parasitology Research*, 101(3), 619–625. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0524-9>
- Maani, S., Rezanezhad, H., Solhjoo, K., Kalantari, M., & Erfanian, S. (2021). Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from human spontaneous aborted fetuses in Jahrom, southern Iran. *Microbial Pathogenesis*, 161(PA), 105217.  
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105217>
- Montoya, J., & Liesenfeld, O. (2004). Toxoplasmosis. *Lancet*, 363, 1965–1976.  
<https://doi.org/10.4067/s0718-04622007000200009>
- Remington, J. S., Thulliez, P., & Montoya, J. G. (2004). Recent Developments for Diagnosis of Toxoplasmosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(3), 941–945.  
<https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.941-945.2004>
- Robert-Gangneux, F., & Dardé, M. L. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(2), 264–296.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.05013-11>
- Salant, H., Spira, D. T., & Hamburger, J. (2010). A comparative analysis of coprologic diagnostic methods for detection of *Toxoplasma gondii* in cats. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(5), 865–870.  
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0635>
- Sert, U. Y., Ozgu-Erdinc, A. S., Gokay, S., & Engin-Ustun, Y. (2019). *Toxoplasma* Screening Results of 84587 Pregnant Women in a Tertiary Referral Center in Turkey. *Fetal and Pediatric Pathology*, 38(4), 307–316.  
<https://doi.org/10.1080/15513815.2019.1587122>
- Tekay, F., & Özbek, E. (2007). *Çi ğ Köftenin Yayg ı n Tüketildi ğ i Ş anl ı urfa İ linde Kad ı nlarda Toxoplasma gondii Seroprevalans ı*. 31(3), 176–179.
- Wahab, T., Edvinsson, B., Palm, D., & Lindh, J. (2010). Comparison of the AF146527 and B1 repeated elements, two real-time PCR targets used for detection of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(2), 591–592.  
<https://doi.org/10.1128/JCM.01113-09>