

GONCAGÜL KIR

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

2023



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
TIP - MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI



HIV/AIDS HASTALARINDA PERİFERİK KAN
ÖRNEKLERİNDE REAL-TİME PCR'IN TOKSOPLAZMOZ
TANISINDAKİ YERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

GONCAGÜL KIR

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

BURSA-2023





T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
TIP- MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM
DALI



**HIV/AIDS HASTALARINDA PERİFERİK KAN
ÖRNEKLERİNDE REAL-TİME PCR'IN TOKSOPLAZMOZ
TANISINDAKİ YERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

GONCAGÜL KIR

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:

Doç. Dr. Oktay ALVER

TGA-2022-765 – Bursa Uludağ Üniversitesi

Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi

BURSA-2023

**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “HIV/AIDS hastalarında periferik kan örneklerinde Real-Time PCR’ın toksoplazmoz tanısındaki yerinin değerlendirilmesi” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Goncagül KIR
20/02/2023

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

20/02/2023

Adı Soyadı: Goncagül Kır

Anabilim Dalı: Tıp - Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Konusu: HIV/AIDS hastalarında periferik kan örneklerinde Real-Time PCR'ın toksoplazmoz tanısındaki yerinin değerlendirilmesi

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>AÇIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Doç. Dr. Oktay ALVER

İmza:

İÇİNDEKİLER

DIŞ KAPAK	
İÇ KAPAK	
ETİK BEYANI	II
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	VII
İNGİLİZCE ÖZET	VIII
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Toxoplasma gondii.....	3
2.1.1. Tarihçe ve Sınıflandırma.....	3
2.1.3. Morfoloji	4
2.1.4. Genomu ve Genotipleri	7
2.1.5. Yaşam Döngüsü	9
2.1.6. Epidemiyoloji.....	10
2.1.7. Patogenez	11
2.1.8. Klinik	12
2.1.8.1. Konjenital Toksoplazmoz	12
2.1.8.2. Oküler Toksoplazmoz	13
2.1.8.3. İmmüsuprese Bireylerde Toksoplazmoz.....	14
2.1.9. Bulaş Yolları	14
2.1.10. Tanı	15
2.1.11. Tedavi.....	18
2.1.12. Korunma.....	18
2.2. Human Immunodeficiency Virus (HIV)	19
2.2.1. HIV ve AIDS'in Keşfi	19
2.2.2. HIV'in Yapısı.....	19
2.2.3. HIV Taksonomisi	20
2.2.4. HIV Epidemiyoloji.....	20
2.2.5. HIV Replikasyon Döngüsü	21
2.2.6. HIV Enfeksiyonu	22
2.2.7. HIV ile Enfekte Kişilerde Koenfeksiyonlar.....	23
2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (=Polymerase Chain Reaction-PCR).....	23
2.3.1. Gerçek Zamanlı PCR (=Real-Time PCR, qPCR).....	24
2.3.1.1. SYBR Green Boyası	25
2.3.1.2. Hidrolizasyon Problemleri (TaqMan).....	25
2.3.1.3. Moleküler Boncuk Yöntemi.....	26
2.3.1.4. Hibridizasyon Problemleri (Light Cycler)	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	29
3.2. DNA Ekstraksiyonu	29
3.3. DNA Amplifikasyonu	32
3.4. Hasta Bilgilerinin Taranması	34
3.5. İstatistiksel Analiz.....	35
4. BULGULAR	36
4.1. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Verileri	36
4.2. Real-Time PCR Sonuçları.....	42

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	46
6. KAYNAKLAR	52
8. SİMGE VE KISALTMALAR.....	62
9. EKLER.....	63
8. TEŞEKKÜR	66
9. ÖZGEÇMİŞ.....	67

TÜRKÇE ÖZET

Zorunlu hücre içi bir protozoon olan *Toxoplasma gondii*'nin neden olduğu toksoplazmoz, immünsuprese kişilerde önemli morbidite ve mortalite sebeplerindedir. İmmünkompetan kişilerde toksoplazmoz tanısında kullanılan serolojik testler, HIV'le yaşayan (Human Immunodeficiency Virus/ İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü) bireylerde antikor yanıtı olmadığından güvenilir değildir ve moleküler testler ile doğrulanmalıdır. Çalışmamızda HIV'li hasta grubunda, düşük antikor yanıtı nedeniyle oluşabilecek yanlış negatiflikleri qPCR (Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) testi ile doğrulayarak, toksoplazmoz koenfeksiyonunun teşhisinde moleküler tabanlı testin uygulanabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bursa Uludağ Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine randevulu olarak gelen HIV pozitif, Anti-Toxoplasma IgG ve Anti-Toxoplasma IgM (BioMérieux, France) istemi yapılan toplam 137 gönüllü çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen gönüllülerden EDTA'lı tüpe kan alınarak, buffy coat ayrıştırılmış ve DNA Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak ekstraksiyon yapılmıştır. QuantiNova Probe PCR Kit (QiaGen, Germany) ve Primer Design Advanced Kit (Genesig, UK) kullanılarak amplifikasyon gerçekleştirilmiştir. PCR testi sonuçları Anti-Toxoplasma IgG ve Anti-Toxoplasma IgM, CD4+ T lenfosit sayısı, hastaların kullandığı tedaviler ve demografik özellikleri ile karşılaştırılmıştır.

Gerçek Zamanlı PCR ile çalışılan 137 örnekten, iki örnekte (%1,45) *T. gondii* DNA'sı saptanmıştır ve bu iki hasta toksoplazmoz açısından seronegatif olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada pozitif çıkan iki hastanın birinde antiretroviral tedavinin yanı sıra profilaktik tedavi kullanmasına rağmen, *T. gondii* DNA'sı saptanmış olması ve iki hastanın da toksoplazmoz açısından seronegatif olması moleküler testlerin önemini vurgulamaktadır.

Anahtar kelimeler: HIV, AIDS, toxoplasma gondii, toksoplazmoz, real-time PCR, RE geni

İNGİLİZCE ÖZET

EVALUATION OF THE DIAGNOSIS TOXOPLASMOSIS'S BY REAL-TIME PCR IN PERIPHERAL BLOOD SAMPLES IN HIV/AIDS PATIENTS

Toxoplasmosis caused by *Toxoplasma gondii* is one of the important causes of morbidity and mortality in immunosuppressed people. Serological tests used in the diagnosis of toxoplasmosis in immunocompetent people are not reliable because there is no antibody response in individuals with HIV (Human Immunodeficiency Virus) and should be confirmed by molecular tests. In our study, it was aimed to verify the applicability of a molecular-based test that can help diagnose toxoplasmosis coinfection by using a Real-time Polymerase Chain Reaction test (qPCR) for false negativities that may occur due to a low antibody response in this patient group.

A total of 137 HIV-positive volunteers who came to Bursa Uludag University Infectious Diseases Outpatient Clinic by appointment, who were asked for Anti-Toxoplasma IgG and Anti-Toxoplasma IgM (BioMérieux, France), were included in the study. Blood was taken from the volunteers included in the study into a tube with EDTA, buffy coat was decomposed and DNA was extracted using a Mini Kit (Qiagen, Germany). Amplification was performed using the QuantiNova Probe PCR Kit (QiaGen, Germany) and the Primer Design Advanced Kit (Genesig, UK). PCR test results were compared with Anti-Toxoplasma IgG and Anti-Toxoplasma IgM, CD4+ T lymphocyte count, treatments used by patients and demographic characteristics. Of the 137 samples studied with Real-time PCR, in two samples (1.45%) *T. gondii* DNA was detected and these two patients were found to be seronegative for toxoplasmosis.

In this study, very high positivity rates were not expected due to the fact that there were very few patients with CD4+ T lymphocyte count <200 cells/ μ l, all patients were using antiretroviral therapy and had no symptoms in terms of toxoplasmosis. But despite the fact that one of the two patients who tested positive used prophylactic treatment in addition to antiretroviral therapy, the fact that *Toxoplasma gondii* DNA was detected and both patients were seronegative for toxoplasmosis emphasizes the importance of molecular tests.

Key words: HIV, AIDS, *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, real-time PCR, RE gene.

1.GİRİŞ

Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinin latent toksoplazmozla enfekte olduğu düşünülmektedir. Toksoplazmoz immünkompetan kişilerde genellikle asemptomatik seyreder. İmmüsupresyon durumunda, özellikle de CD4+ T lenfositlerini enfekte ederek, immün sistemin baskılanmasına neden olan HIV (Human Immunodeficiency Virus/ İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü) pozitif olan bireyler toksoplazmoz enfeksiyonları yönünden ciddi risk altındadır. *T. gondii* ara konak vücuduna değişik formlarda (ookist, bradizoit) alınarak, hızla taşizoit formuna dönüşür ve tüm vücuda yayılır. *T. gondii* taşizoitinin tüm vücuda yayılmasıyla akut enfeksiyon başlamış olur. Enfeksiyon ilerledikçe *T. gondii* ara konağın immün sisteminden kaçmak için kist oluşturan bradizoit formuna dönüşür ve kronik enfeksiyona sebep olur. *T. gondii* doku kistleri, sinir sistemine özellikle de beyindeki glial hücrelere yüksek afinite gösterir. Doku kisti formunda yıllarca latent halde kalabilir. İmmüsupresyon durumunda doku kistleri parçalanır, içerisindeki bradizoitler taşizoitlere dönüşür ve yeni bir enfeksiyon başlatabilir. HIV enfeksiyonunun ileri evrelerinde güçlü immüsupresyona bağlı olarak latent enfeksiyonun reaktivasyonu ile beyinde *T. gondii* gelişimi görülmektedir. HIV pozitif kişilerde toksoplazmoz en sık Toxoplasma Ensefaliti (TE) şeklinde görülürken, *T. gondii* taşizoitlerinin akciğere yayılım göstermesiyle pnömoni, göze yayılım göstermesiyle retinakoroidit, kalp kasına yayılım göstererek de miyokardite sebep olabilmektedir.

İmmünkompetan bireylerde toksoplazmoz tanısında serolojik testler yeterli olurken, immüsuprese kişilerde antikor yanıtı oluşmadığından bu hasta grubunda serolojik testler yetersiz kalabilmektedir. Bu hasta grubunda tanıda güvenilirliği arttırmak için birden fazla tanı yöntemin birlikte kullanılmasının en doğru yaklaşım olduğu bildirilmektedir. Literatürde serebral toksoplazmoz tanısında altın standart olarak kabul edilen yöntem manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'dir. Ancak literatüre bakıldığında MRG bulguları birbirinden farklı ve çelişkilidir. Bu yüzden bu hasta grubunda özellikle moleküler testlerin önemi ortaya çıkmaktadır (Azovtseva, Viktorova, Bakulina, Shelomov, & Trofimova, 2020).

Bu alışmada, HIV/AIDS'li kişilerde, düşük antikor yanıtı nedeniyle oluşabilecek yanlış negatiflikleri, gerçek zamanlı PCR ile doğrulayarak, serolojik testlerle moleküler testi karşılaştırarak, toksoplazmoz koenfeksiyonunun tanısında moleküler tabanlı testin uygulanabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilecek serolojik test ve gerçek zamanlı PCR sonuçları CD4 T+ lenfosit sayısı, hastanın profilaktik tedavi alıp almama durumu, yaş, cinsiyet gibi parametrelerle karşılaştırılacaktır. Bu çalışmadan çıkarılacak veriler doğrultusunda, *T. gondii*'nin tanısında moleküler testlerin uygulanabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Toxoplasma gondii*

Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birini enfekte eden *Toxoplasma gondii*, fırsatçı bir protozoon olup neden olduğu enfeksiyona toksoplazmoz adı verilir. Toksoplazmoz genellikle asemptomatik olmasına karşın bazı hasta gruplarında lenfadenopati veya oküler hastalık tablolarına yol açabilmektedir. İmmün düşkün hastalarda latent enfeksiyonun reaktivasyonu sonucunda ensefalit görülebilenken, gebelik sırasında karşılaşılan enfeksiyon ise fetüse ciddi zararlar verebilmektedir (Montaya, & Liesenfeld, 2004).

2.1.1. Tarihçe ve Sınıflandırma

İlk defa 1908 yılında Nicelle ve Manceaux tarafından Tunus'ta bir kemirgen türü olan *Ctenodactylus gundi*'den, *T. gondii*'nin taşızoit formu izole edilmiş ve morfolojisine bakılarak *Toxoplasma gondii* ismi verilmiştir. Aynı yıl Brezilya'da Splendore, bir tavşan türünde *T. gondii*'yi saptamış ancak *Leishmania* olduğunu düşünerek, isimlendirme yapmamıştır. Sonraki 30 yıl, *T. gondii* benzeri organizmalar birçok farklı konak türünde, özellikle de kuş türlerinde saptanmıştır. Canlı olarak *T. gondii*'yi ilk olarak izole eden ise 1937 yılında Sabin ve Olitsky olmuştur. Frenkel tarafından 1973 yılında *T. gondii*'nin doku kistleri içerisindeki formunu tanımlamak için bradizoit terimi önerilmiştir. *T. gondii*'nin yaşam döngüsü ise 1970'li yıllarda kedinin ince bağırsağında parazitin seksüel çoğalmasının keşfedilmesiyle tam olarak anlaşılmıştır (Aguirre ve ark., 2019; Dubey, 2008). *T. gondii* protozoa alanında, Toxoplasmatinae alt ailesinde bulunup *Toxoplasma* cinsine mensup tek türdür.

Günümüzde bu etkenin kullanılan sınıflandırması 1980 yılında Levine ve arkadaşları tarafından yapılmıştır.

Bölüm:	Ökaryot
Alem:	Protozoa
Şube:	Apicomplexa
Sınıf:	Conoidasida

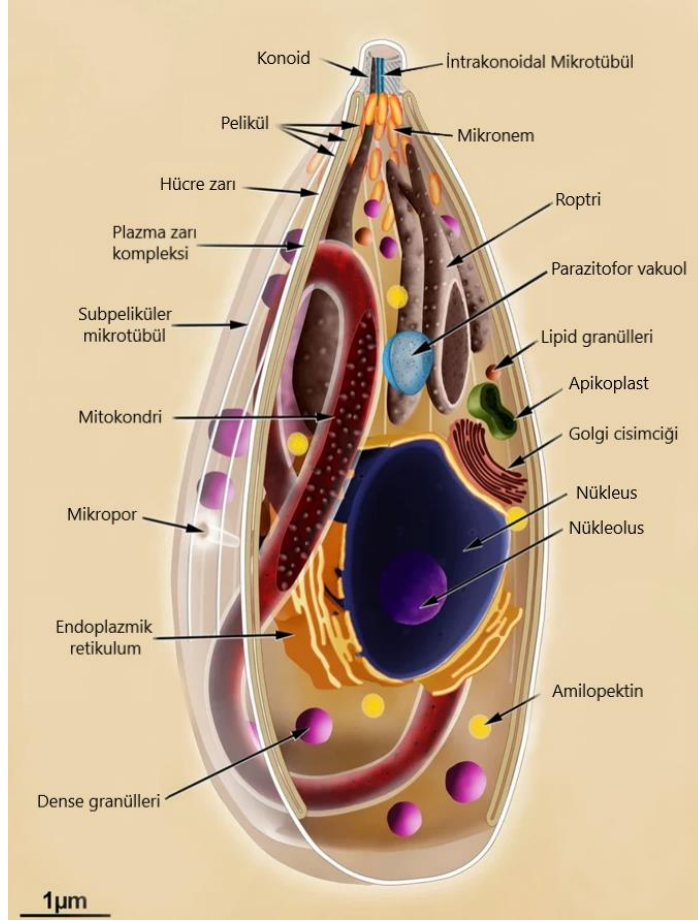
Alt Sınıf: Coccidiasina
Takım: Eucoccidiasina
Alt Takım: Eimeriorina
Aile: Sarcocytidae
Alt aile: Toxoplasmatinae
Tür: *Toxoplasma gondii*

(National Center for Biotechnology Information [NCBI], National Library of Medicine [NIH], 2022).

2.1.3. Morfoloji

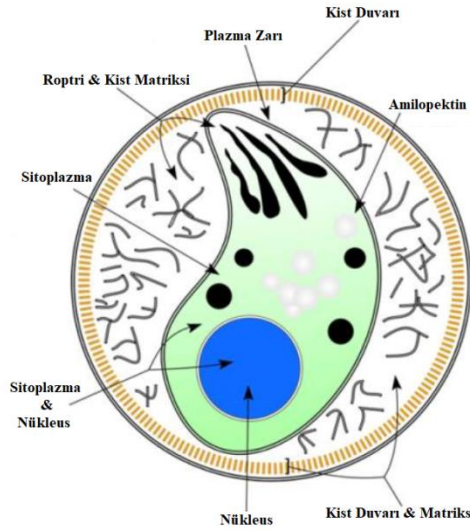
Toxoplasma gondii'nin taşızoit, bradizoit ve ookist olmak üzere üç formu vardır. Ara konağın herhangi bir hücresinde ve kesin konağın bağırsak dışı epitel hücrelerinde çoğalan formunu tanımlamak için, ilk olarak Frenkel tarafından taşızoit terimi kullanılmıştır. Taşızoitler 2x6 µm boyutlarında ve hilal şeklinde olup apikal ve polar halkalar, konoid, roptriler, mikronemler, golgi cisimciği, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum, ribozom, mikrotübüller, inklüzyon cisimcikleri gibi çeşitli organellerden oluşmaktadır. Hareket kabiliyetleri kayma, bükülme, dalgalanma ve dönme şeklinde olsa da silia, flagella veya psödopodia gibi görünür hareket organellerine sahip değildir. Konak hücre içerisinde, tekrarlanan endodiyogeni ile asekseül olarak çoğalırlar (Dubey, Lindsay, & Speer, 1998).

Bradizoitler, Coccidia olarak bilinen Apicomplexlerin bir alt sınıfına ait belirli organizmalardaki yavaş büyüyen bir yaşam formudur. Yaygın olarak beyin ve kas dokusunda (hücre içi doku kistlerinde) bulunan 7x1.5µm boyutlarında hilal şeklindeki yapıdır. Doku kistlerinin boyutları oldukça değişkendir, iki ila birkaç bin bradizoit içerebilmektedir. Bir ara konakta, doku kistleri içeren enfekte doku yutulduğunda, kist içerisinden salınan bradizoitler, akut enfeksiyona neden olan ve çeşitli organlara yayılım gösterebilen form olan taşızoitlere farklılaşmaktadır (Mayoral, Di Cristina, Carruthers, & Weiss, 2020).



Şekil 2.1: *Toxoplasma gondii*'nin taşıtoit formunun morfolojisi (Borkens, 2021)

Bradizoit



Şekil 2.2: *Toxoplasma gondii*'nin bradizoit formunun morfolojik yapısı (Mayoral, Di Cristina, Carruthers, & Weiss 2020)

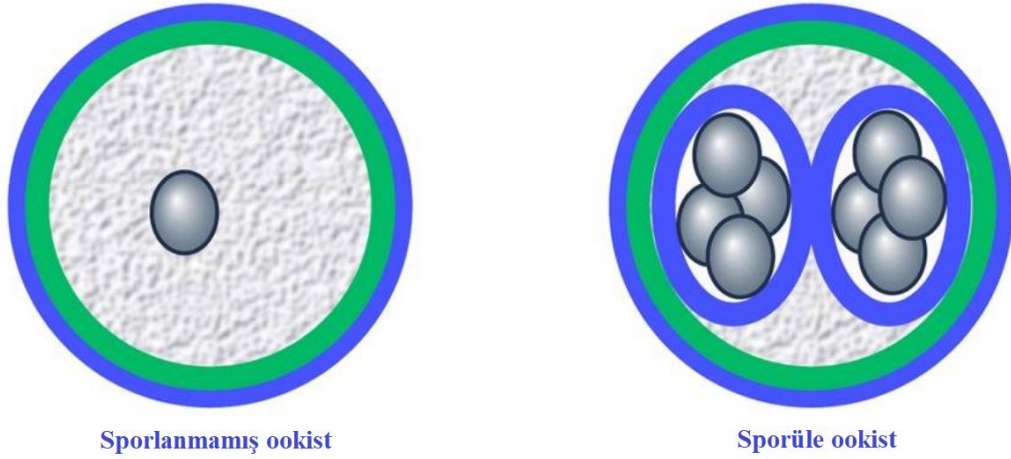
Ookistler kesin konak olan kedigillerin ince bağırsağında parazitin seksüel (eşeyli) çoğalmasından sorumlu olan yapıdır. Farklı yollarla *T. gondii* ile enfekte olan kedinin enterosit hücrelerinde parazit mikro ve makrogametositlere farklılaşır (Freppel ve ark., 2019; Kato, 2018).

Kedigillerin bağırsaklarının epitel hücrelerinde şizogonik bir çoğalmayı takiben gamegonik çoğalma sonucunda makrogametosit ve mikrogametosit meydana gelmektedir. Bu yapılar olgunlaşarak döllenme sonrasında zigotu oluşturacak makrogamet ve mikrogamete dönüşürler. Zigot yapısının içinde ookistler bulunmaktadır. Epitel hücrenin parçalanmasıyla barsak lümenine dökülen ookistler, dışkılamayla dış ortama atılmaktadırlar (Brown ve ark., 1995).

Bir mikrogametosit ortalama 6-21 tane mikrogamet oluşturma kapasitesine sahipken, her makrogametosit yalnızca bir makrogamet oluşturabilir. Mikrogametositler elipsoidal, makrogametositler ise daha küresel yapıdadır (Tomasina, &Francia, 2020). Mikrogamet, makrogameti olarak döllenmenin gerçekleşmesi için iki adet flagellası bulunur. *T. gondii*'nin flagella bulunduran tek formu mikrogamettir (Tomasina, &Francia, 2020).

Döllenme sonucunda meydana gelen ookistler kesin konak olan kedilerin dışkıyla atılır. Taze atılan ve sporlanmamış ookistler; oval, 10x12 µm boyutlarında, bol miktarda lipid ve polisakkarit içeren iki zarla çevrili yapılardır. Ookistler enfektif hale gelebilmek için kedi dışkısı ile atıldıktan sonra toprakta sporülasyona uğrarlar. Sporülasyon aşaması ortam koşullarına; özellikle sıcaklık, oksijen ve nem durumuna göre 1-5 gün arasında sürer. Sporlanma için gerekli optimum sıcaklık 20-25°C iken, 4°C' nin altındaki veya 37°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda sporülasyon inhibe edilir. Sporülasyon sonucunda her bir ookistte, içerisinde dört sporozoit bulunduran, boyutları 6x8 µm arasında olan iki sporokist meydana gelir (Freppel ve ark., 2019).

Ookistler kimyasal inaktivasyon ajanlarına, güçlü asitlere, çamaşır suyuna, gaz halindeki klor ve ozon içeren dezenfektanlara karşı oldukça dirençlidir. *T. gondii* ookistlerinin yüksek dozlardaki UV ışınlarına bile direnç gösterdiği bildirilmiştir. *T. gondii* ookistleri 60°C ve üzerindeki sıcaklıklarda canlılıklarını yitirmektedirler. (Dumètre ve ark., 2013; Freppel ve ark., 2019).



Şekil 2.3: *Toxoplasma gondii*'nin sporlanmamış ve iki sporokist, dört sporozoit bulunduran sporüle ookistinin yapısı (Samuelson, Bushkin, Chatterjee, & Robbins, 2013)

2.1.4. Genomu ve Genotipleri

Toxoplasma gondii'nin haploid genomu yaklaşık 65 milyon baz çifti uzunluğundadır. Şimdiye kadar tanımlanmış 8300'den fazla protein kodlayan geni bulunurken, 13 tane de kromozom içermektedir. (Fernández-Escobar., 2022; Lorenzi ve ark, 2016; Xia ve ark., 2021)

Araştırmacılar 1990'lı yıllarda Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi/ Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ile *T. gondii* suşlarını, farelerdeki virulansına göre üç klonal soya ayırmışlardır. Bu üç soy arasında DNA dizi düzeyinde % 1-2 gibi çok düşük oranda genetik farklılık bulunmaktadır. Bu genotiplendirme önce Avrupa ve ABD'deki izolatlarla yapılmıştır. Diğer kıtalardan gelen suşlar incelendiğinde bu belirlenen üç soya uymadığı görülerek yeni haplotiplerin tanımlanmasına yol açmıştır. Şimdiye kadar ilk belirlenen üç soyda dahil olmak üzere toplam 12 haplotip tanımlanmıştır. Ancak bu haplotiplere dahil edilemeyen, farklı polimorfizme sahip atipik izolatlar da bulunmaktadır (Dardé, & Robert-Gangneux, 2012; Fernández-Escobar., 2022). *T. gondii* haplotiplerinin dünya genelindeki dağılımı Tablo 2.1'de verilmiştir.

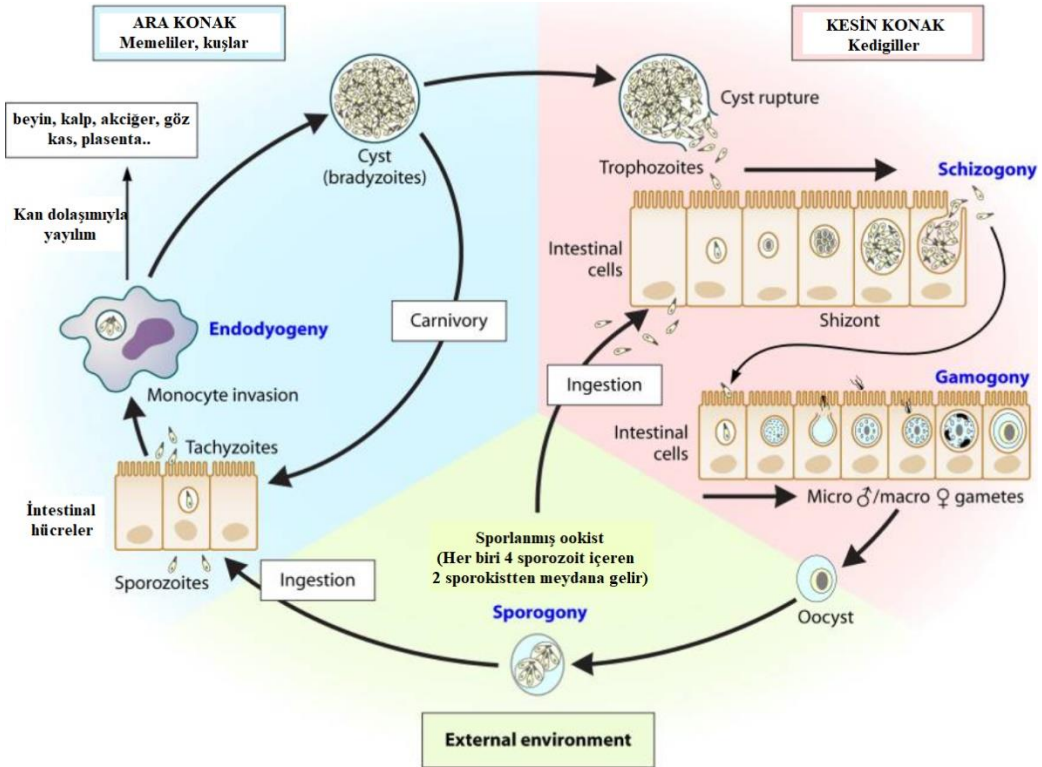
Tablo 2.1: *Toxoplasma gondii* genotipleri ve baskın olarak görüldüğü bölgeler (Dardé, 2012)

Bölgeler	Baskın Olarak Görülen Genotipler
Avrupa	-Tip II (Haplotip 2) oldukça baskın -Tip III (Haplotip 3) daha çok Güney Avrupa'da -Sporadik olarak diğer haplotipler
Kuzey Amerika	-Tip II (Haplotip 2) - Haplotip 12 -Tip III (Haplotip 3) -Nadirde olsa diğer haplotipler
Güney ve Orta Amerika	-Yüksek genotipik çeşitlilik -Haplotip 6 gibi Afrika ile paylaşılan bazı gruplar -Tip II (Haplotip2) sporadik -Nadiren karşılaşılan Tip I (Haplotip 1) -Amazon ormanlarında atipik genotipler
Afrika	-Afrika 1,2,3 olarak adlandırılan Haplotip 6 - Tip III (Haplotip 3) - Tip II (Haplotip 2)
Asya	-Genotipik çeşitlilik -Tip III (Haplotip 3) -Kıta genelinde yaygın olarak bulunan bir haplotip

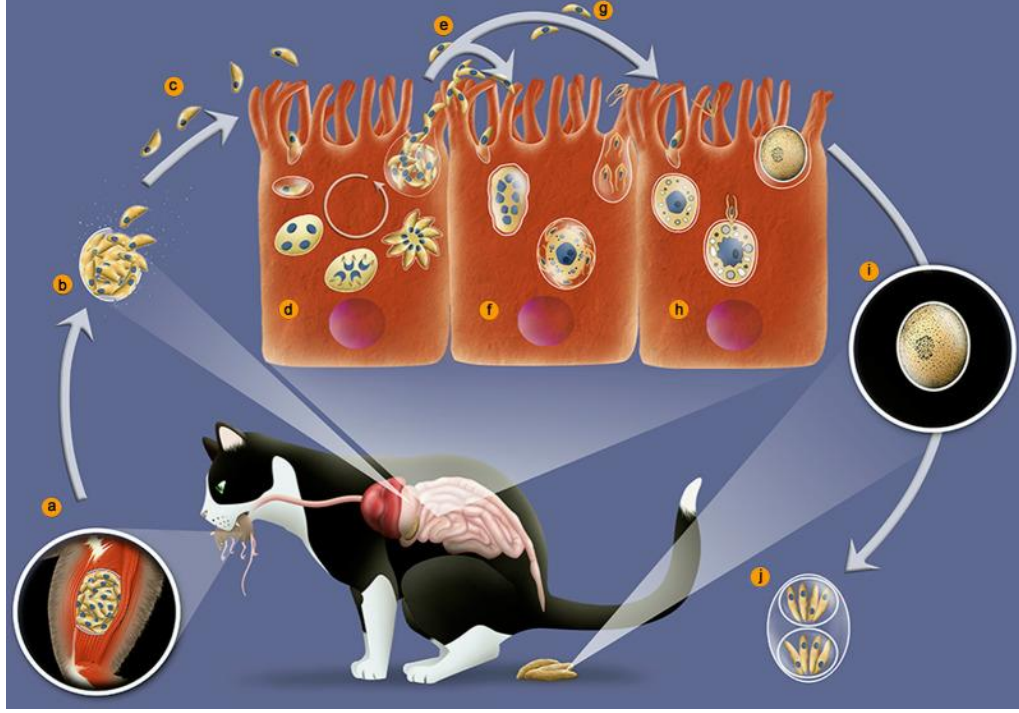
Belirlenen ilk üç soyun virülansına bakıldığında Tip I (Haplotip 1)'in diğer iki soydan daha öldürücü olduğu görülmüştür. Deneysel virülans, belirli sayıda taşızoitin fareye intraperitoneal aşılması ve sonuçların değerlendirilmesi ile belirlenmektedir. Tip I (Haplotip 1) izolatlar, fare modeline <10 taşızoitin aşılması ile 10 günden daha kısa bir sürede fareyi öldürerek yüksek derecede virülan olduğunu göstermiştir. Tip II (Haplotip 2) ve Tip III (Haplotip 3) izolatlar avirulent olarak kabul edilir ve ancak >103 taşızoitin aşılmasıyla parazit hayatta kalabilmektedir. Diğer haplotipler ve atipik suşlardan gelen izolatlar genlerin kombinasyonunda ki farklılıklara göre yüksek dereceden, orta veya virülan olmayan fenotipe göre değişmekle birlikte, Tip I (Haplotip 1) alellerin çoğunluğuna sahip genotipler genellikle daha ölümcül olduğu kanıtlanmıştır (Howe, Summers, & Sibley, 1996, Robert-Gangneux, & Dardé, 2012).

2.1.5. Yaşam Döngüsü

Toxoplasma gondii için kesin konak olan kedilerin ince bağırsak enterositlerinde seksüel üreme sonucu mikro-makrogametositler oluşur. Bu iki formun olgunlaşıp birleşmesiyle enterositler içerisinde makro ve mikrogamet oluşur. Mikro ve makrogametinin döllenmesi ile enterositler içinde ookistler meydana gelir ve bu şekilde sporule olmamış ookistler kedi dışkıyla ile çevreyi kontamine eder. Ookistlerin toprakta sporlanarak enfektif hale gelmeleri 1-5 gün sürer. Doğada yaşamını sürdüren kuş, kemirgen, çiftlik hayvanları gibi ara konaklar kontamine olmuş toprak, su veya bitkileri yiyerek enfekte olur. Ookistler ara konak tarafından vücuda alındıktan kısa bir süre sonra taşizoit formuna dönüşür. Taşizoitler sinir, kas gibi dokularda, doku kistleri içerisinde bradizoitlere dönüşür. İnsanlara ise *T. gondii* çeşitli yollarla bulaşabilmektedir. Kedi dışkıyla ile kontamine yiyecek veya su tüketimi ile doku kisti içeren etlerin çiğ ya da az pişmiş şekilde tüketilmesiyle, anneden fetüse plasenta yoluyla, nadir de olsa kan transfüzyonu ve organ nakli gibi yollarla da bulaş görülebilmektedir. (Attias ve ark., 2020; Severance ve ark., 2016).



Şekil 2.4: *Toxoplasma gondii*' nin yaşam döngüsü (Robert-Gangneux, & Dardé, 2012)



Şekil 2.5: *T. gondii* için kesin konak olan kedide yaşam döngüsü. **a.** *T. gondii* doku kisti içeren etlerin yutulması. **b.** Kist duvarı mide ve bağırsaklarda sindirilerek, bradizoitler serbest kalması. **c.** Bradizoitlerin bağırsak epitel hücrelerini istila etmesi. **d.** Enterositlerde, bradizoitlerin şizogoni ile bölünerek merozoitlere farklılaşması. **e.** Merozoitlerin mikro-makrogametlere dönüşmesi. **g.** Döllenmenin gerçekleşmesi. **h.** Ookistin meydana gelmesi. **i.** Ookistin dışkı ile atılması. **j.** sporlanma sonucu oluşan iki sporokist, dört sporozoit bulunduran sporüle ookistin yapısı (Attias ve ark., 2020)

2.1.6. Epidemiyoloji

Toxoplasma gondii 1908 yılında Kuzey Afrika’da tanımlanmasından bu yana yaklaşık iki milyar insanı enfekte etmiş olan önemli bir protozondur. Toksoplazmozun klinik önemi ilk olarak 1920’li yıllarda hidrosefali, retinokoroidit ve ensefalit tabloları ile konjenital olarak enfekte olmuş çocuklarda fark edilmiştir (Halonen, & Weiss, 2013). HIV ile ilişkili immün yetersizliği olan kişilerde 1980’li yıllarda ise latent enfeksiyonun reaktivasyonuna bağlı olarak ensefalit tabloları rapor edilmiştir. (Luft, & Remington, 1992).

Toksoplazmoz dünya çapında bir dağılıma sahip olmakla birlikte, sadece insanları değil neredeyse tüm memeli hayvanları ve birçok kuş türünü de enfekte ettiği bildirilmiştir (Hill, Chirukandoth, & Dubey, 2005).

Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinin latent toksoplazmoz ile enfekte olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte toksoplazmoz insidansı, az gelişmiş ülkelerde gelişmiş ülkelere göre daha yüksektir (Pappas, Roussos, & Falagas, 2009).

Toxoplasma gondii seroprevalansının Latin Amerika ve Sahra altı Afrika'nın tropikal bölgelerinde yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu bölgelerde 60 yaş üzerindeki kişilerin %65'inde seropozitiflik saptanmıştır. Sosyoekonomik düzey, yemek yeme alışkanlıkları, hijyen, coğrafi konum, ookistin olgunlaşması için gereken sıcaklık ve toprağın nem oranı prevalansı etkileyen faktörler arasındadır (Borkakoty, Biswas, Jakharia, & Mahanta, 2016).

2.1.7. Patogenez

Ara konak öncelikle *T. gondii*'yi kontamine yiyecek veya su ile (dikey bulaşma) vücuda alır. Vücuda giren ookistler taşızoit formuna dönüşerek hızla tüm vücuda yayılır ve akut enfeksiyon başlamış olur. Enfeksiyon ilerledikçe taşızoit formu; kist oluşturan, yavaş çoğalan bradizoit formuna dönüşür, bu da kronik enfeksiyona geçiş aşamasını temsil eder (Dubey, 2009).

İnsanlarda *T. gondii* enfeksiyonunda Tip I sitokinler olarak bilinen interlökin-12 (IL-12) ve interferon gamma (IFN gamma) üretimi CD40'ın ligandı olarak bilinen CD154 tarafından uyarılır. CD154; dendritik hücreleri ve makrofajları IL-12 salgılamak üzere uyarır, bu etki de T hücreleri tarafından IFN gamma üretimini arttırmaktadır. (Basavaraju, 2016)

İnsan İmmün Yetmezlik Virüs (HIV)'üne bağlı immüsupresyon durumunda ise; CD4 T lenfositlerin tükenmesi, IL-12, IFN gamma üretiminin ve sitotoksik T-lenfosit aktivitesinin bozulması sebebiyle *T. gondii* fırsatçı enfeksiyonu meydana gelmektedir. (Basavaraju, 2016)

Çoğu enfeksiyon etkeninin merkezi sinir sistemi (MSS)'ne geçtiğinde ağır klinik seyirlere hatta ölümcül enfeksiyonlara neden olurken, *T. gondii*'nin immünkompetan bireylerin MSS'nde asemptomatik olarak yıllar boyu kalabilmesi oldukça ilginçtir. Ancak *T. gondii* immüsupresif bireylerde morbidite ve mortalitesi oldukça yüksek enfeksiyonlara neden olabilmektedir. *T. gondii* dahil olmak üzere herhangi bir patojenin MSS'ye girebilmesi için kan-beyin bariyeri (KBB) ni geçmesi

gerekmektedir. KBB, beyindeki mikrodamarları kaplayan ve endotelial hücrelerden meydana gelen oldukça seçici bir tabakadır. Bu endotelial hücreleri bazal lamina ve perisitler çevreler. Bu hücreler etkileşimler KBB'nin büyük peptitler ve proteinlerin geçişine izin vermeyerek; sadece oksijen, karbondioksit gibi küçük moleküllerin difüzyonunu sağlamaktadır (Mendez, & Koshy, 2017).

Bradizoit ve doku kistlerine dönüşümünde parazitin, immün sistemin tespitinden kaçmasını sağladığı ve böylece kronik enfeksiyona yol açtığı düşünülen bir dizi geçiş meydana gelir (Dubey, 2009). Enfeksiyon etkenleri bu gelişmiş bariyeri aşabilmek için birden fazla geçiş mekanizması geliştirmiştir. *T. gondii* için üç farklı geçiş mekanizması söz konusudur. Bunlardan ilki transselüler geçiştir. Truva Atı Mekanizması olarak da bilinen bu mekanizma sayesinde, *T. gondii* ile enfekte bir immün sistem hücresi KBB'yi geçer ve beraberinde bu paraziti de bariyerden geçirmiş olur. İkinci mekanizma paraselüler geçiştir. *T. gondii*'de aktif bir hareket organeli olmamasına karşın, aktin-miyozini kullanarak kendini hareket ettirebilir. Bu hareket 'kayma motilitesi' olarak bilinmektedir (Dobrowolski, & Sibley, 1996). Bu kayma motilitesi, *T. gondii*'nin karşılaştığı ilk bariyer olan ince bağırsak epitelini geçmesine katkı sağladığı öne sürülmüştür. Üçüncü mekanizma ise transselüler migrasyondur. Yapılan çalışmalar kan dolaşımındaki taşıyıcıların MSS endotel hücrelerine yapışabildiğini, burada çoğalabildiklerini ve MSS parankim dokusunda biriktiğini göstermiştir (Konradt ve ark., 2016).

2.1.8. Klinik

2.1.8.1. Konjenital Toksoplazmoz

Gebe annedeki *T. gondii*'nin taşıyıcı formu, plasentayı geçerek fetüsü enfekte eder. Maternal toksoplazmozun etkileri gebeliğin evresine göre değişmektedir. İlk trimesterde maternal toksoplazmoz riski düşük olmasına rağmen, bulaştığında zeka geriliği, hidrosefali, spontan abortus gibi ciddi tablolara yol açmaktadır. Son trimesterde ise maternal toksoplazmoz riski yaklaşık %80 olarak bildirilmiştir. Bu yüksek orana rağmen, genellikle oküler toksoplazmoz gibi mortalitesi daha düşük enfeksiyonlara yol açmaktadır (S Al-Malki, 2021).

Konjenital toksoplazmozlu yenidoğanların yaklaşık %80'i doğumdan hemen sonra asemptomatiktir. Semptomatik yenidoğanların ise yaklaşık %65'inde intrakraniyel kalsifikasyon ve periferik retinokoroidit görülmektedir. Yine semptomatik yenidoğanların yaklaşık %30'unda hidrosefali veya maküler retinokoroidit görülmektedir. Konjenital toksoplazmozda en yaygın klinik tablolar; retinokoroidit, intrakraniyel kalsifikasyonlar ve hidrosefali olarak bildirilmiştir (Ahmed, Sood, & Gupta, 2020).

2.1.8.2. Oküler Toksoplazmoz

Göz tutulumu da gösteren *T. gondii*, görmeyi tehdit eden nekrotizan retinit, retinokoroidit gibi tablolara yol açabilir (Beder, & Esenkaya, 2020).

Asemptomatik oküler toksoplazmozlu bireylerde rutin muayenede inaktif hastalık bulguları görülmektedir. Aktif hastalık belirtileri, tipik olarak posterior üveittir. Posterior üveit yakın zamanda edinilmiş bir enfeksiyon veya yeniden aktive edilmiş bir hastalık durumunda gelişebilir (Greigert ve ark., 2017).

Posterior üveit, retina veya korioretinal inflamatuvar lezyon ile birlikte görme kaybı veya gözde uçuşan cisimcikler gören (vitreal floater) bir hastada toksoplazmozdan şüphelenilmektedir. Aktif oküler hastalığın tanısında oftalmolojik muayene ve aköz humor sıvısında serolojik testler ile antijen-antikor tespitinin yapılması önerilmektedir (Farhadi ve ark., 2018).

Toxoplasma gondii merkezi sinir sistemi ve özellikle retinaya yüksek afinite göstermektedir. Patolojik olarak genellikle sınırlı nekrotizan retinit tablosu görülürken buna nekrotizan veya granülomatöz koroidit de eşlik edebilir. Retinokoroidit, olguların yaklaşık %80 'inde görülür ve sıklıkla makula tutulumu ile karşılaşılır. Lezyonlar fark edildiğinde genellikle inaktif, pigmente düz skar formundadır. Yeni lezyonlar ise skar kenarında beyaz, kabarık lezyonlar olarak görülür ve bu lezyonlara sıklıkla vitreus reaksiyonu eşlik etmektedir. Yeni lezyonların skar etrafındaki satellit görünümüleri de oldukça tipiktir (Butler ve ark., 2013; Rahimi-Esboei ve ark., 2018).

2.1.8.3. İmmüsuprese Bireylerde Toksoplazmoz

Bağışıklık sistemi yeterli bireylerde genellikle semptomsuz seyreden toksoplazmoz, immüsuprese kişilerde önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir (Beder, & Taşbent, 2020). Bu gruptaki kişilerde toksoplazmoz, latent enfeksiyonun reaktivasyonu şeklinde görülür. İmmüsuprese bireylerde en sık toksoplazma ensefaliti (TE) görülürken, pnömoni, miyokardit gibi ciddi tablolar ile de karşılaşılabilir. TE'nin en yaygın belirtileri; baş ağrısı, ateş, ataksi ve nöbet şeklindedir (Sanchez, & Besteiro, 2021).

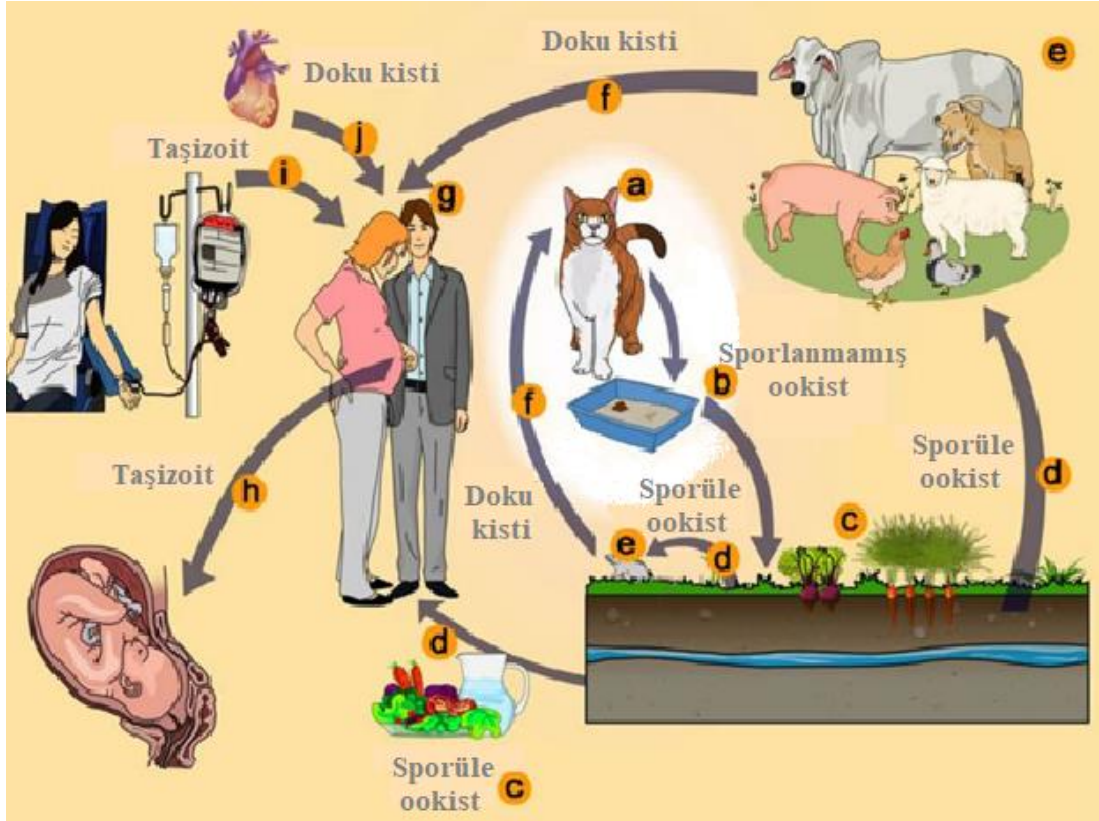
İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonunun geç evrelerinde güçlü immüsupresyona bağlı olarak latent enfeksiyonun yeniden aktivasyonu ile beyinde *T. gondii* gelişimi görülmektedir. Daha sonraki aşamalarda *T. gondii* beyinde yayılmaya devam ederken bir yandan da akciğer, göz, lenf düğümleri ve gastrointestinal sistem (GİS)'e kadar ilerleyebilmektedir. Serebral toksoplazmozda immün sistem baskılandığı için spesifik antikörlerin özellikle de IgM üretiminin düşük olması tanıyı zorlaştırmaktadır (Azovtseva, Viktorova, Bakulina, Shelomov, & Trofimova, 2020).

İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile enfekte hastalarda serebral toksoplazmozun klinik semptomları spesifik değildir ve primer lenfoma, progresif multifokal ensefalopati, tüberküloz, bakteriyel beyin apsisi, cytomegalovirus (CMV) ve *Herpes simplex* virüs (HSV) ensefaliti ve kriptokokkoz ile ayırıcı tanı gerektirmektedir (Bondarenko, Katsapov, Gavrylov, Didova, & Nahornyi, 2020). Serebral toksoplazmoz tanısında altın standart olarak kabul edilen yöntem manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'dir. Ancak literatüre bakıldığında MRG bulguları birbirinden farklı ve çelişkilidir. Bu hasta grubunda özellikle moleküler testler öne çıkmaktadır (Azovtseva, Viktorova, Bakulina, Shelomov, & Trofimova, 2020).

2.1.9. Bulaş Yolları

Bulaşma temel olarak üç farklı yolla olmaktadır. Ookistlerle kontamine olmuş su, sebze-meyvenin oral yolla vücuda alınmasıyla, doku kisti içeren etlerin çiğ ya da az pişmiş şekilde tüketilmesiyle ve gebe anneden fetüse transplasental yolla bulaş

şeklinde görülmektedir (Pinto-Ferreira ve ark., 2019). Ookist ile bulaş kaynaklı enfeksiyonlar, doku kisti ile bulaş kaynaklı enfeksiyonlardan daha şiddetli semptomlar gösterdiği bildirilmektedir (S Al-Malki, 2021).



Şekil 2.6: *T. gondii*'nin bulaş yolları. **a.** Kesin konak **b.** Kedi dışısındaki sporlanmamış ookistler **c.** Sporüle olmuş ookistler **d.** Ara konaklar tarafından su veya çiğ sebze tüketimi **e.** Ara konaklar (örnek: sığır, kuzu, inek, keçi, tavuk gibi) **f.** Pişmemiş enfekte et tüketimi ile doku kistlerinin yutulması **g.** Ara konaklar (insan) **h.** Plasenta yoluyla fetüse bulaş **i.** Kan transfüzyonu ile bulaş **j.** organ nakli ile bulaş (Attias ve ark., 2020)

2.1.10. Tanı

Toksoplazmoz tanısında *T. gondii*'ye karşı oluşan IgG ve IgM antikorlarının tespitine yönelik indirekt tanı yöntemlerine ilaveten parazitin veya DNA'sının saptanmasını hedefleyen direkt tanı yöntemleri (hayvan inokülasyonu, kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu) de kullanılmaktadır. Çoklu organ tutulumunun görüldüğü bağışıklığı sağlam ancak ağır olgularda kanda ve patolojik örneklerde parazite rastlanabilmektedir (Robert-Gangneux, & Dardé, 2012).

Günümüzde birçok rutin uygulamada toksoplazmoz tanısında Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Immunosorbent Agglutination Assay (ISAGA) ve Indirect Fluorescence Antibody (IFA) gibi farklı serolojik testler kullanılmaktadır (Liu, Wang, Huang, & Zhu, 2015).

Toksoplazmoz tanısında klinisyenin yaklaşımı hastanın immün durumu ile doğrudan ilişkilidir. İmmünkompetan kişilerde toksoplazmoz tanısında indirekt tanı yöntemleri tercih edilirken, immünkompromize bireylerde yeterli antikor yanıtı oluşmadığından bu hasta grubunda indirekt tanı testleri (serolojik testler) yetersiz kalabilmektedir. Günümüzde toksoplazmoz şüphesi olan immün sistemi baskılanmış kişilerde direkt tanı yöntemlerinin tercih edilmesi kabul görmektedir. Güvenilirliği arttırmak için tanıda birden fazla yöntemin bir arada kullanılmasının daha doğru bir yaklaşım olduğu ifade edilmektedir (Beder, & Taşbent, 2020).

İndirekt tanının temelini serolojik testler oluşturmaktadır. Günümüzde toksoplazmoz tanısında ELISA ekonomik, güvenilir, basit ve kullanışlı bir yöntem olması nedeniyle rutin laboratuvarlarda sıklıkla tercih edilen testtir. Bu testlerle tanı koymada sıklıkla karşılaşılan sorun; Anti-Toxoplasma IgG ve IgM antikorlarının sonuçlarının tam olarak yorumlanamaması nedeniyle akut, kronik enfeksiyon ayrımının yapılamamasıdır. Hastalığa özgü IgM antikorları akut enfeksiyonun en önemli belirteçlerinden olmakla birlikte toksoplazmoz tanısında tek başına yeterli değildir, takip gerektirir (Liu ve ark., 2015).

Anti-Toxoplasma IgM antikor titreleri, akut enfeksiyonu takiben beşinci günden sonra yükselmeye başlar ve 1-2 ay sonra maksimum seviyesini ulaşır. Ancak antikorların yarı ömürleri nedeniyle birkaç hafta sonra serumda saptanamayacak seviyelere düşebilmektedir. Literatürde yer alan bazı olgularda ise Anti-Toxoplasma IgM'nin bir yıldan daha uzun süre serumda saptanabilecek düzeyde kaldığı bildirilmiştir. Bu durumun özellikle gebeliğin ilk üç ayında toksoplazmoz şüphesi olan gebelerde tanıyı zorlaştırabileceği ifade edilmektedir (Paquet, & Yudin, 2018).

Anti-Toxoplasma IgM antikorları plasenta bariyerini geçememesi nedeniyle yenidoğan serumunda tespit edilmesi durumunda konjenital enfeksiyon belirteci olarak düşünülebilir. Bununla birlikte enfekte yenidoğanların %55 kadarının bu antikorları oluşturamadığı veya mevcut testlerin çoğunun bu düşük seviyedeki antikorları saptayamadığı bildirilmiştir. Maternal Anti-Toxoplasma IgG antikorları

yenidoğanın kanında bir yıla kadar sabit veya artan düzeylerde kalabilmesi konjenital enfeksiyonu düşündürülebilir. Konjenital toksoplazmoz tanısını doğrulamak için immünblotlama ve PCR gibi ileri tetkikler yapılması önerilmektedir (Storchilo ve ark., 2021).

Anti-Toxoplasma IgG ve IgM her ikisi de negatifse, ya hiç *T.gondii* ile karşılaşmamış ya da çok yakın bir zamanda akut enfeksiyonun varlığı düşünülerek, test tekrarlanmalıdır. Anti-Toxoplasma IgG pozitif, Anti-Toxoplasma IgM negatifse bir yıldan daha eski bir enfeksiyon olduğunu göstermektedir. Hem Anti-Toxoplasma IgG hem de Anti-Toxoplasma IgM pozitifse bu ya yeni bir enfeksiyon varlığını ya da yanlış test sonucunu göstermektedir. Akut enfeksiyondan şüpheleniliyorsa, 2-3 hafta sonra test tekrar edilmelidir. Anti-Toxoplasma IgG’de dört kat ve daha fazla titre artışı yeni bir enfeksiyonun varlığını göstermektedir. Hamilelik sırasında enfeksiyonun ne zaman meydana geldiğini bilmek, fetal geçiş riskini değerlendirmede ve tedavinin başlanmasında oldukça önemlidir. Bunun için de IgG’nin organizmaya bağlanma gücünü gösteren Anti-Toxoplasma IgG avidite testi kullanılmaktadır. Avidite değeri yüksekse bu enfeksiyonun en az beş ay önce meydana geldiğini göstermektedir (Paquet, & Yudin, 2018).

Oküler toksoplazmoz (OT) tanısı temelde oftalmolojik muayeneye dayanmaktadır. OT’da çoğunlukla aköz humor, vitreus sıvısı gibi göz sıvılarından immünolojik veya moleküler yöntemlerle *T. gondii* varlığı araştırılmaktadır (Robert-Gangneux, & Belaz, 2016).

İndirekt tanıda ELISA testlerinin yanı sıra; Sabin-Feldman Dye Test, Immunosorbent Agglutination Assay (ISAGA), İndirekt Floresan Antikor Tekniği (IFAT) ve Western Blot (WB) gibi testler kullanılabilir (Beder, & Taşbent, 2020).

Direkt tanı testlerinde, indirekt tanı testleri gibi antijen- antikor varlığını değil etkenin direkt olarak kendisi veya nükleik asidi araştırılmaktadır. Toksoplazmozun direkt tanısında in-vivo, in-vitro kültür yöntemleri ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Özellikle tanının zor olduğu bağışıklığı baskılanmış kişilerde ve konjenital toksoplazmozda oldukça önemli testlerdir. Toksoplazmozun moleküler teşhisinde birçok gen hedefi kullanılmıştır. Bunlardan en bilinenleri RE (REP-529) geni, B1 geni, TGR1E ve p30’dur. *T. gondii* genomundaki tekrar sayılarına

bakıldığında; RE geninin 200-300, B1 geninin 30-35, TGR1E hedef bölgesinin 100, p30 bölgesinin ise birdir. Literatürde karşılaştırmalı yapılan çalışmalara bakıldığında; RE gen bölgesi parazit genomundaki yüksek kopya sayısı nedeniyle tanı için duyarlı bir gen bölgesi olduğu bildirilmektedir (Robert-Gangneux, & Belaz, 2016).

2.1.11. Tedavi

Semptomu olmayan kişilerde tedavi gerekliliği yoktur. Hamileyken ilk kez *T. gondii* ile enfekte olmuş gebeler, oküler toksoplazmoz olan bireyler, immun sistemi baskılanmış kişiler ve transplant alıcıları mutlaka tedavi edilmelidir. Toksoplazmoz tedavisinde en sık kullanılan ilaçlar spiramisin, pirimetamin, sülfadiazin, klindamisin ve atovakuondur. Toksoplazmoz tedavisinde kullanılan ilaçların ana hedefi *T. gondii* taşıyıcılarının metabolik yollarını inhibe ederek çoğalmasını durdurmaktır. Bunun için folinik asit antagonistleri kullanıldığında tedaviye ek olarak folinik asit verilmektedir (Player, Gross, Schlüter, Wilkinig, & Seeber, 2019).

2.1.12. Korunma

Enfeksiyon hastalıkları ile ilgili olarak korunmada hijyen en temel noktadır. Toksoplazmozda parazitin yaşam döngüsü düşünüldüğünde yeme alışkanlıkları en az hijyen kadar önemlidir. Toprağa bulaşı önlemek için özellikle kedi sahipleri kedi dışkılarını günlük olarak çöp kutusuna çıkarmalı ve ookistlerin sporlanması birkaç gün sürdüğü için çöpler günlük olarak temizlenmelidir (Szewczyk-Golec, Pawlowska, Wesolowski, Wroblewski, & Mila-Kierzenkowska, 2021).

Etlerdeki *T. gondii* doku kistleri ile bulaşı önlemek için; etler en az 24 saat boyunca -12°C ve altındaki sıcaklıklarda dondurulmalı, çiğ veya az pişmiş şekilde tüketilmemelidir. Çiğ et ile temastan sonra eller iyice yıkanmalıdır. Toksoplazmoz konusunda toplumun bilgilendirilmesinin ve bulaş yollarının anlatılmasının, hastalığın insidansını azaltmaya yardımcı olabileceği bildirilmektedir (Beder, & Taşbent, 2020; Szewczyk-Golec, Pawlowska, Wesolowski, Wroblewski, & Mila-Kierzenkowska, 2021).

2.2. Human Immunodeficiency Virus (HIV)

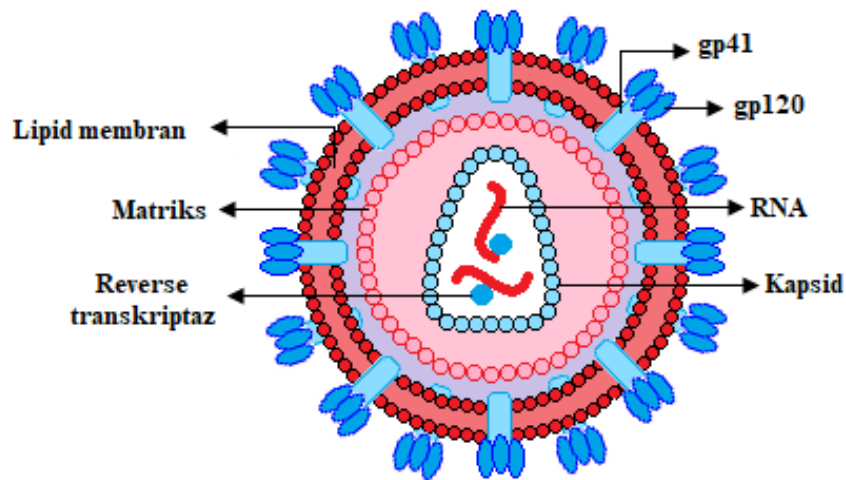
İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV), CD4+ T lenfositlerini enfekte eden ve tedavi edilmediğinde immün yetmezlik sendromuna (AIDS) yol açan bir patojendir (Duette ve ark., 2018).

2.2.1. HIV ve AIDS'in Keşfi

İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV), ilk olarak 1980'li yıllarda, eşcinsel erkeklerde çok sayıda ve açıklanamayan immün yetmezlik tabloları ile karşılaşılmasıyla dikkat çekmiştir. AIDS olarak 1982 yılında tanımlanan bu enfeksiyondan iki yıl sonra 1984'te AIDS'in nedeni HIV olarak tanımlanmıştır (Deeks, Overbaugh, Philips, & Buchbinder, 2015, Agarwai-Jans, 2020). Günümüzde HIV ile yaşayan yaklaşık 40 milyon insan olduğu tahmin edilmektedir. Bu durum HIV'in küresel anlamda önemli bir halk sağlığı sorunu olarak önemini koruduğunu göstermektedir (McLaren, & Fellay, 2021; Yoo ve ark., 2022).

2.2.2. HIV'in Yapısı

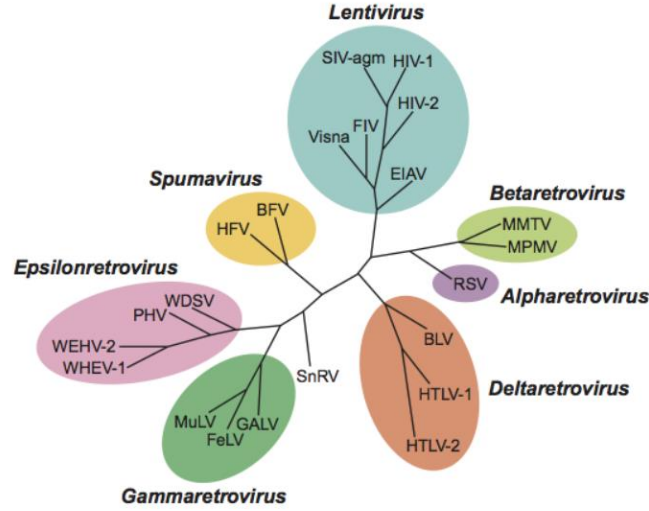
Tek sarmal yapıda, pozitif polariteli RNA genomunun iki kopyasını içeren, küresel, zarla çevrili pleomorfik virionlardır. Virüsün çapı yaklaşık olarak 1000-1500 Å (Armstrong) arasındadır (Ganser- Pornillos, Yeager, & Pornillos, 2012).



Şekil 2.7: HIV'in Yapısı (Rasheed ve ark., 2021)

2.2.3. HIV Taksonomisi

Sınıflandırmada HIV; Retroviridae ailesinde, Orthoretrovirinae alt ailesinde ve Lentivirüs cinsinin bir üyesidir.



Şekil 2.8: İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV)'nün sistematikteki yeri (International Committee on Taxonomy of Viruses [ICTV], 2022)

2.2.4. HIV Epidemiyoloji

Birleşmiş Milletler Ortak HIV/AIDS Programı (UNAIDS)'nin 2020 verilerine göre dünya üzerinde toplam 37,7 milyon kişi HIV ile yaşamaktadır. Yine 2020 yılında 1,5 milyon yeni HIV olgusu tanımlanmıştır ve aynı yıl toplam 680.000 kişi AIDS'le ilişkili nedenlerle hayatını kaybetmiştir. AIDS'in başlangıcından bu yana yaklaşık 35 milyon kişinin AIDS'e bağlı hastalıklardan öldüğü tahmin edilmektedir (Birleşmiş Milletler Ortak HIV/AIDS Programı [UNAIDS], 2022).

İnsan immün yetmezlik virüsünün keşfinden bu yana tedavi modellerinin uygulanmasında çeşitli zorluklar ortaya çıkmıştır. Bu zorluklar; ilaç direnci, ilaç toksisiteleri ve bazı popülasyonlarda ilaca sınırlı erişim ile ilişkilendirilmiştir. HIV'in ilk keşfedildiği yıllarda AIDS'li bir kişinin ortalama hayatta kalma süresi 1-2 yılken, günümüzde yaklaşık 53 yıl olarak hesaplanmıştır. AIDS'e bağlı ölümler 2005 yılından bu yana yarı yarıya azalmıştır (Eisinger, & Fauci, 2018).

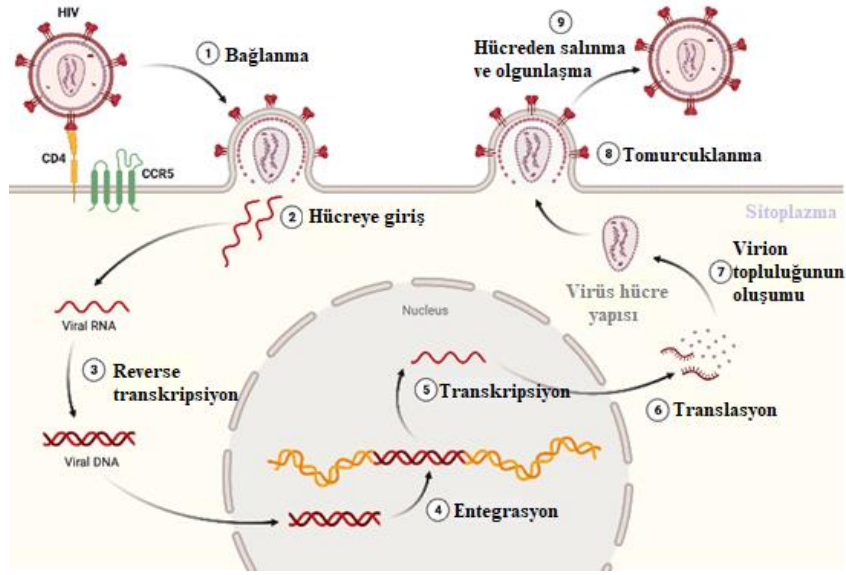
İnsan immün yetmezlik virüsü dünyada küresel bir dağılıma sahip olmakla birlikte, HIV ile enfekte kişilerin %54'ü Doğu ve Güney Afrika'da bulunmaktadır (De Cock, Jaffe, & Curran, 2021).

Ülkemizde 1985 yılından bu yana bildirilen HIV pozitif olgu sayısı toplamda 30.293, AIDS vakası ise 2083'tür. Yine ülkemizde 2021 yılında 2922 yeni HIV pozitif, 80 AIDS olgusu ve AIDS ile ilişkili 36 ölüm bildirilmiştir (Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, 2022).

2.2.5. HIV Replikasyon Döngüsü

İnsan immün yetmezlik virüsü-1 için birincil reseptör; T lenfositlerin, makrofajların, monositlerin ve dendritik hücrelerin yüzeyinde bulunan CD4 reseptörüdür. HIV ayrıca, konak hücreye giriş sağlayabilmek için kemokin reseptörleri olan CCR5 ve CXCR4'e ihtiyaç duyar (Deeks, Overbaugh, Philips, & Buchbinder, 2015). HIV-1 gibi zarflı virüslerin konak hücreye girişinde kullandığı strateji, enerji açısından uygun ancak yüksek kinetik bariyerlere sahip olan membran füzyonudur (Xiao, Cai, & Chen, 2021).

Virüsün replikasyon döngüsü; hedef hücreye tutunması ve sonrasında girişi ile başlar. Konak hücre zarına tutunabilmek için virüs, *env* geni tarafından üretilen gp120/gp 41 (viral zarf proteinleri) glikoproteinlerini kullanır. Virüs hücreye girerken zarfından soyunur, viral RNA konak hücre nükleusuna geçer, burada viral ters transkriptaz enzimi aktivitesiyle RNA'dan komplementer DNA (cDNA) üretilir ve virüs kendi genomunun bir kopyasını konak hücre kromozomuna entegre eder (McLaren, & Fellay, 2021, Turner, & Summers, 1999). Konak hücre bu aşamadan sonra virüse ait proteinleri sentezlemeye başlar. Son aşamada Şekil 2.9'da da görüldüğü gibi virüs tomurcuklanarak çoğalır ve hücre dışında olgunlaşır (Deeks, Overbaugh, Philips, & Buchbinder, 2015).



Şekil 2.9: HIV replikasyon döngüsü (Ramdas, Sahu, Mishra, Bhardwaj, & Chande, 2020)

2.2.6. HIV Enfeksiyonu

İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV), CD4+ T hücrelerini enfekte eder. Bulaşmadan sonra virüs, mukozal dokularda tutulur ve günler içerisinde lenfoid organlara yayılır. Yaklaşık onuncu günde virüs kanda saptanabilir düzeye gelir (Deeks, Overbaugh, Philips, & Buchbinder, 2015). Viral replikasyon hızla artar ve CD4+ T hücre sayısı ise geçici olarak düşük seyredir. CD4+ T sayısındaki azalmayla birlikte, CD8+ hücre sayıları artar. Zirve viremiyi takiben, CD4+ T hücre sayıları artarken, CD8+ hücre sayılarında düşüş görülür, ancak CD4+ sayısı artmasına rağmen eski seviyelerine ulaşamaz (Cooper, Tindall, Wilson, Imrie, & Penny, 1988).

Akut HIV enfeksiyonunda genellikle; ateş, lenfadenopati, döküntü, miyalji ve halsizlik gibi spesifik olmayan semptomlar görülür. Menenjit, ensefalit gibi ciddi komplikasyonlar görülebilse de HIV ile enfekte kişilerin birçoğu bu dönemde asemptomatiktir (Crowell ve ark., 2018; Kared ve ark., 2008; Robb ve ark., 2016). Bunun yanı sıra akut HIV enfeksiyonunda gastrointestinal sistem (GİS) birincil hedef olduğundan genellikle bulantı, kusma, ishal, iştahsızlık ve kilo kaybı gibi belirtiler de görülmektedir (Molina ve ark., 1992; Rizzardı, Tambussi, & Lazzarin, 1997). Bu dönemde plazmadaki HIV RNA sayısı maksimum düzeydedir. İmmün yanıt bir kez geliştiğinde viral yük ayar noktası olarak isimlendirilen bir evreye girer ve viral yük yaklaşık olarak 100 kat azalır. Viral yük ayar noktası klinik tablonun gidişatı

konusunda da bilgi vermektedir. Yüksek viral yük ayar noktasında, daha düşük viral yük ayar noktasına göre AIDS'e geçişin daha hızlı olabileceği düşünülmektedir (Deeks, Overbaugh, Philips, & Buchbinder, 2015).

2.2.7. HIV ile Enfekte Kişilerde Koenfeksiyonlar

Koenfeksiyonlar, HIV ile enfekte kişilerde morbidite ve mortaliteyi arttıran faktörlerdendir (Boulougoura, & Sereti, 2016). HIV-1 enfeksiyonunun, CD4+ T lenfosit hücre sayısında azalmaya yol açtığı ve vücudu fırsatçı enfeksiyonlara karşı savunmasız bıraktığı bilinmektedir (Rojas- Celis, Valiente- Echeverria, Soto-Rifa, & Toro-Ascuy, 2019). Kullanılan antiretroviral tedavi (ART) ile koenfeksiyonun tedavisinde kullanılan antibiyotik arasında farmakokinetik ve farmakodinamik etkileşimler de olabileceğinden, ilerlemiş HIV enfeksiyonu ve bu hasta grubundaki koenfeksiyonların tedavisi de zordur (Manzardo ve ark., 2015; Procop, 2017).

Bağıışıklığı baskılanmış kişilerde görülen enfeksiyonlar, sağlıklı kişilerde görülen enfeksiyonlara göre daha ilerleyicidir. Örneğin; *Mycobacterium kansasii*, hem immünsuprese hem de immünkompetan bireylerde ciddi pulmoner enfeksiyonlara sebep olabilirken; *Mycobacterium genevense* ve *Mycobacterium haemophilum* gibi diğer *Mycobacterium* türleri, genellikle immünkompemize bireylerden izole edilmiştir (Procop, 2017).

İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV), ile enfekte kişilerde en sık görülen koenfeksiyonlar; *Cytomegalovirus* (CMV), *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi (PJP), mikobakteri enfeksiyonları, *Epstein-Barr* virüsü (EBV), *Varisella zoster* virüs (VZV), *Herpes simplex* virüs (HSV), toksoplazmoz, tüberküloz ve kriptokokkal menenjitir (Manzardo ve ark., 2015; Procop, 2017)

2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (=Polymerase Chain Reaction-PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'daki özgül bölgelerin çoğaltılmasını sağlayan basit ancak oldukça başarılı bir in vitro DNA sentezidir (Garibyan, & Avashia, 2013).

Mitotik hücre bölünmesi esnasında, her yeni somatik hücre için genomun bir kopyası oluşturulur. Bu işlem iki yeni hücre arasında eşit olarak paylaşılan DNA

miktarını iki katını çıkarır. Orijinal progenitör hücreden başlayarak sürekli hücre bölünmesi yoluyla çok hücreli bir organizma oluşturulduğundan, nükleer DNA'nın iki katına çıkması her hücre bölünmesinde gerçekleşen bir olaydır. Orijinal progenitör hücredeki genom kopyası, milyarlarca kopyaya dönüşmüş olur. PCR, çok düşük DNA konsantrasyonlarını, çok yüksek konsantrasyonlara dönüştürmek için benzer bir prensip ve bu sürecin izole edilmiş bileşenlerinden yararlanmaktadır (Waters, & Shapter, 2014).

PCR'in temel fiziksel bileşenleri; şablon DNA, dNTP (deoksi nükleotit fosfatlar), Taq DNA polimeraz (*Thermus aquaticus* adlı bakteriden izole edilmiştir), primerler, uygun iyonik güç ve ph değerine sahip tampon solüsyonudur (Canene-Adam, 2013).

Thermus aquaticus adlı bakteriden izole edilen Taq DNA polimeraz enzimi, DNA'nın denatürasyonu ve primer özgüllüğü için gereken yüksek sıcaklıklarda bozunmadan kalarak aktivitesini sürdürebilmektedir (Canene-Adam, 2013).

2.3.1. Gerçek Zamanlı PCR (=Real-Time PCR, qPCR)

Bu yöntem, PCR kimyasını aynı reaksiyon tüpünde amplifiye edilmiş amplikonların floresan probalar yardımıyla, hem çoğaltmayı hem de çoğaltılmış ürünün tespitini sağlamaktadır. Bu da konvansiyonel PCR yöntemlerinden daha kısa sürede sonuç elde etmeyi sağlamaktadır. Amplifikasyon ve saptama işlemleri aynı tüpte gerçekleştiğinden, amplifiye edilmiş nükleik asidin çevreye saçılma riski de ihmal edilecek düzeyde olmaktadır. Yüksek hassasiyet ve özgüllük, düşük kontaminasyon riski, uygulama kolaylığı ve hız, qPCR'ı birçok patojenin tespitinde kullanılan kültür tabanlı veya immünoassay tabanlı tanı testlerine alternatif olarak karşımıza çıkarmaktadır (Espy ve ark., 2006).

Klinik araştırma laboratuvarlarında qPCR'ın yaygın kullanımını sağlayan en büyük gelişme, yeni floresan etiketleme tespit sistemlerinin geliştirilmesi olmuştur. Birçok farklı metot olsa da, ana ilkesini floresan sinyalindeki artışın reaksiyonda üretilen amplikonun miktarı ile doğru orantılı olması oluşturmaktadır. En sık kullanılanlar; SYBR Green Boyası, hidrolizasyon problemleri (TaqMan), moleküler

boncuk yöntemi ve hibridizasyon problemleri (Light Cycler)'dir (Singh, & Roy-Chowdhuri, 2016, Espy ve ark., 2006).

2.3.1.1. SYBR Green Boyası

SYBR Green, bir floresan boyadır ve sadece çift zincirli DNA'ya bağlanmaktadır. PCR'ın ilk adımı olan denatürasyondan sonra primerler bağlanır ve uzama başladıktan sonra floresan boya molekülü iki zincirin arasına bağlanarak floresan sinyali yaymaya başlar. SYBR Green boyası hassas olmasına karşın, spesifik değildir (Singh, & Roy-Chowdhuri, 2016, Espy ve ark., 2006).

2.3.1.2. Hidrolizasyon Problemleri (TaqMan)

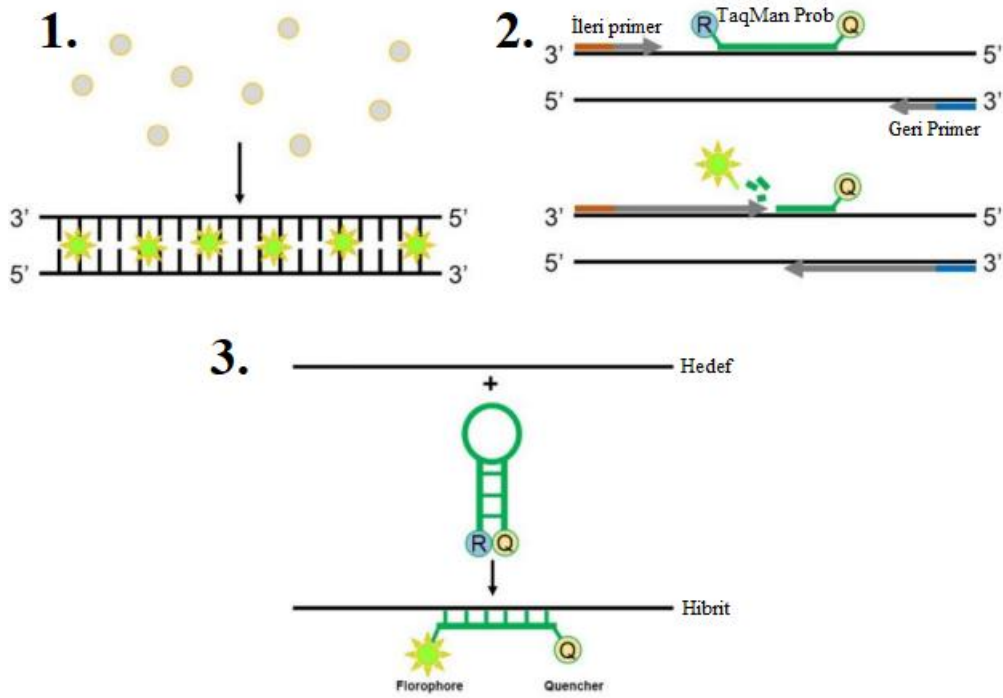
Hidrolizasyon Problemleri primerlere bağlanan ve DNA polimeraz enziminin 5' eksonükleaz aktivitesini kullanan kısa oligonükleotit dizileridir, Hidroliz problemleri donör florofor oligonükleotitin 5' ucunda, akseptör yani alıcı florofor ise 3' ucunda bulunacak şekilde tasarlanmıştır. Proben 3' ucunda bulunan akseptör, donörden gelen sinyali söndürmekle kalmaz, aynı zamanda probun 3' ucunu bloke ederek, probun DNA polimeraz tarafından spesifik olmayan uzantısını da önlemektedir (Singh, & Roy-Chowdhuri, 2016).

Bir PCR döngüsünün bağlanma safhasında oligonükleotit, hedef DNA'ya tamamlayıcı bir sekansta hibridize olur. Bağlanma sonrasında akseptör florofordan salınan floresan sinyali, PCR'ın erken safhalarında tespit edilebilir düzeyde olup, bu temel sinyali oluşturmaktadır. Daha sonra eğer ilgili hedef DNA reaksiyon karışımında mevcutsa, termostabil Taq DNA polimeraz, primer dizisinin uzamasına neden olur ve bu uzama probun 5' ucuna kadar ulaşır. Proben 5' ucunda bulunan donör florofor, DNA polimerazın 5' eksonükleaz aktivitesi ile bölünür. Bölünmüş donör florofordan gelen floresan sinyalin eşik çizgisinin üzerine çıkması halinde görünür hale gelmektedir (Espy ve ark., 2006; Singh, & Roy-Chowdhuri, 2016).

2.3.1.3. Moleküler Boncuk Yöntemi

Bu yöntemde probun 5' ucunda donör floresan boya, 3' ucunda akseptör boya bulunmaktadır. Moleküler boncuk probunun her bir ucundaki bir bölge, kendisini tamamlayıcı olacak şekilde tasarlanmış olması düşük ve yüksek sıcaklıklarda uçlar birbiri ile hibridize olarak saç tokası yapısı oluşturmasını sağlamaktadır (Espy ve ark., 2006)). Bu saç tokası konformasyonundaki yapının uç kısımlarında floroforlar, yuvarlak kısmında ise çoğaltılacak DNA ile komplementer dizi bulunacak şekilde tasarlanmıştır. Moleküler boncuk probu serbest haldeyken ışığa yapamaz, çünkü saç tokası konformasyonunda floroforlar birbirine yakındır ve akseptör boya, donör boyanın floresan ışık sinyalini engellemektedir. Prob, hedef DNA dizisine komplementer olacak şekilde dizayn edildiğinden, birbirleri ile karşılaştıklarında konformasyonu değişerek, saç tokası yapısından çok daha kararlı olan düz ve tek zincir konformasyonuna geçmektedir. Moleküler boncuk probu, hedef DNA dizisine hibridize olduktan sonra, değişen konformasyonla birlikte floroforlar birbirinden uzaklaştığından, donör florofor sinyali saptanır. Bu prob çeşidinde de oluşan floresan miktarı ile oluşan amplikon miktarı doğru orantılı şekilde değerlendirilmektedir (Günel, 2007).

Amplifikasyonda hedef dizi mevcut değilse, prob kendi içinde yeniden hibridize olur (saç tokası konformasyonunda) ve akseptör boya, donör boyanın floresan sinyalini engeller (Espy ve ark., 2006).

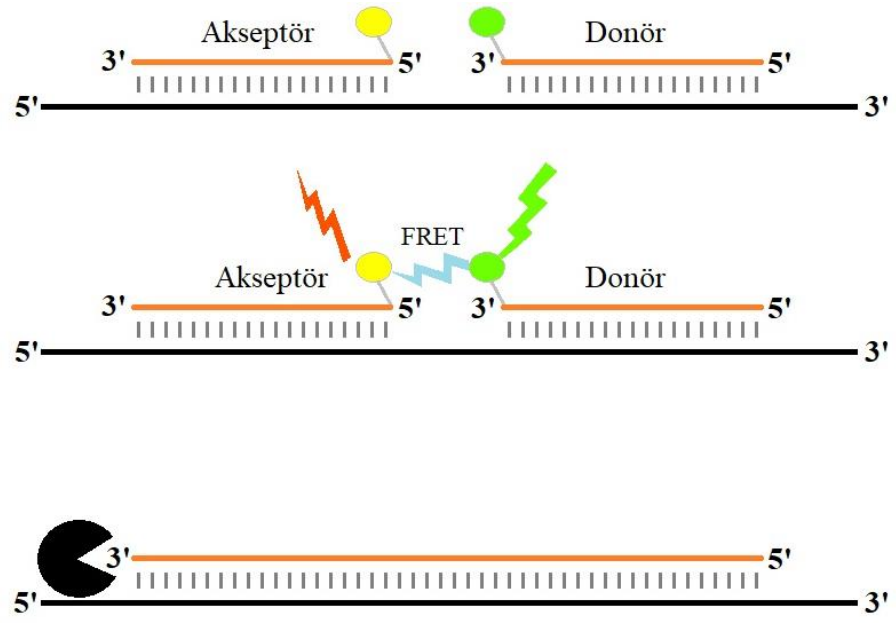


Şekil 2.10: 1. SYBR Green, 2. TaqMan Prob, 3. Moleküler Boncuk Proplarının Prensibi (Rocha, Monteiro-Júnior, Freire, Sousa, & Fonteles, 2015)

2.3.1.4. Hibridizasyon Probları (Light Cycler)

Hidrolizasyon problemleri ve moleküler boncuk yönteminin çalışma prensibi floresan rezonans enerji transferi (FRET) olarak adlandırılan iki boya molekülü arasındaki floresan ışık enerjisinin transferi temeline dayanmaktadır. Hibridizasyon problemleri, çoğaltılacak bölge üzerinde baştan sona bir konfigürasyonda yan yana bağlanacak şekilde tasarlanmış iki DNA probundan oluşmaktadır. Bir probun 3' ucunda bir donör floresan boya, diğer probun 5' ucunda ise alıcı yani akseptör boya bulunmaktadır. Her iki probta hedef nükleik aside bağlandığında, probun 3' ucunda bulunan boyadan gelen floresan, diğer probun 5' ucundaki akseptör boya tarafından emilmektedir. Akseptör boya, donör floresan boyadan gelen ışığı emer ve farklı bir dalga boyunda yeniden yayar, bu üçüncü dalga boyu tespit edilir. Tespit edilen floresan sinyali ne kadar fazla ise, amplifiye edilmiş DNA miktarı o kadar fazladır (Singh, & Roy- Chowdhuri, 2016, Espy ve ark., 2006).

Hibridizasyon problemlerinin reaksiyonda primer olarak kullanılmasını engellemek için probun 3' ucu fosforile edilmiştir (Espy ve ark., 2006).



Şekil 2.11: Hibridizasyon prob prensibi

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

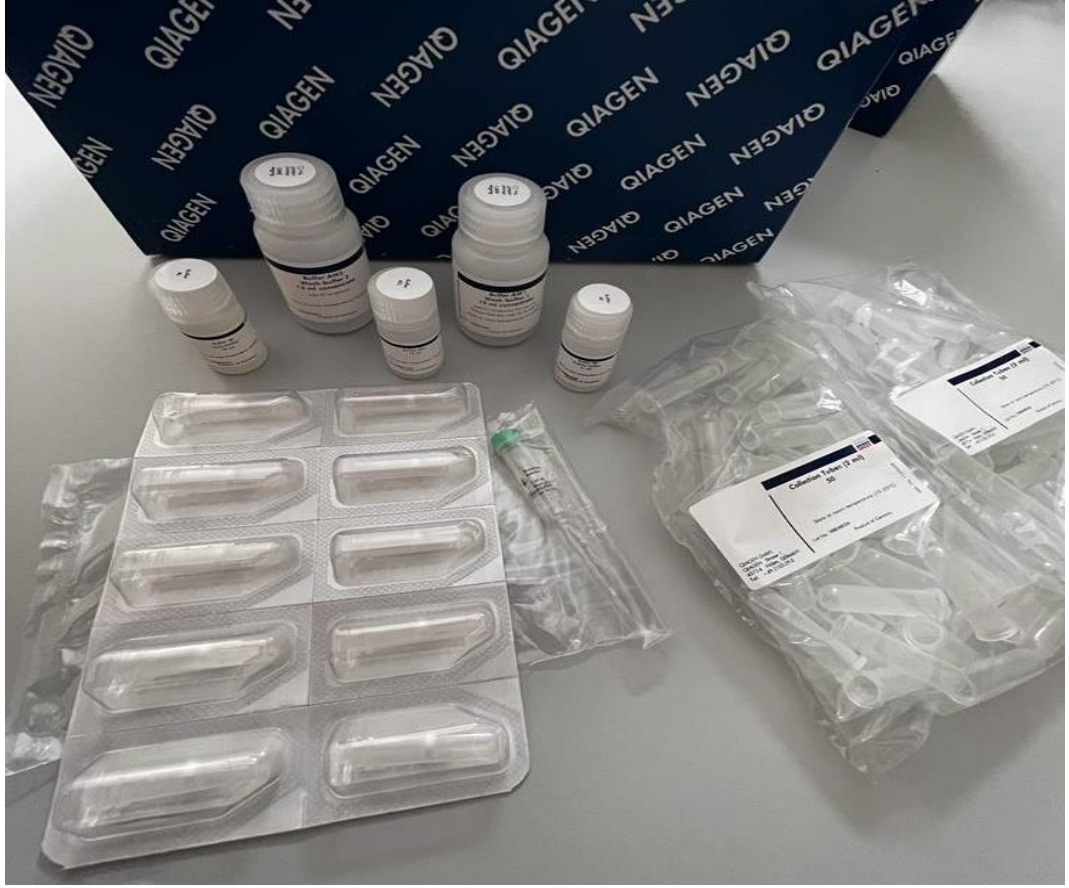
Bu çalışmanın etik kurul onayı, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 03.02.2021 tarihinde 2021-3/19 numaralı kararı ile alınmıştır.

Bursa Uludağ Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine randevulu olarak gelen HIV pozitif, Anti-Toxoplasma IgG ve Anti-Toxoplasma IgM istemi yapılan hastalar çalışmaya dahil edildi. Bu hastalar çalışma hakkında bilgilendirilerek, Bursa Uludağ Üniversitesi Etik Kurulu onaylı onam formları okutuldu. Çalışmaya katılmayı kabul eden kişilere onam formu imzalatıldı. Akabinde hastalar, hastanemiz Kan Alma Birimi'ne giderek kanlarını verdi. EDTA'lı tüpe alınan 4-5 ml periferik kan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı- PCR Laboratuvarında, 15 dk 3000 rpm de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası 300 µl plazma, 100 µl eritrosit kümesi, 100 µl buffy coat olmak üzere toplam 500 µl örnek ayrı bir tüpe alınarak, çalışılncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi.

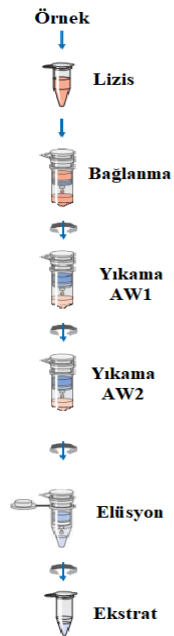
Örneklem büyüklüğünün belirlenmesi amacıyla yapılan güç analizi için benzer çalışmalar incelenerek Anti-Toxoplasma IgG pozitiflik oranı %90 olarak alınmıştır (Bavand ve ark., 2019). Etki büyüklüğü %10 olmak üzere 0,05 anlamlılık düzeyi ve %80 güç için çalışmaya dahil edilmesi gereken hasta sayısı 137 olarak belirlenmiştir.

3.2. DNA Ekstraksiyonu

Çalışma için belirlenen 137 hasta örneği -20⁰ C'den çıkarılarak oda sıcaklığında çözülmeye bırakıldı. Ekstraksiyon için ticari olarak DNA Mini Kit (Qiagen, Germany) kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi üretici firma önerileri dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1: Ekstraksiyon Kiti



Şekil 3.2: Kit prosedüründe belirtilen DNA ekstraksiyon aşamaları (QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook)

Kit protokolünde bazı modifikasyonlar yapılarak aşağıdaki adımlarla DNA ekstraksiyonu yapıldı. (Karakavuk, Can, Döşkaya, Gürüz,& Döşkaya, 2022)

- Santrifüj tüpünün (2 ml'lik) dibine 20 µl proteinaz K pipetlendi.
- Üzerine 200 µl hasta örneği eklendi.
- Numuneye 200 µl AL Tamponu eklendi. AL tamponundan hemen sonra 4 µl internal ekstraksiyon kontrol DNA'sı eklendi ve 15 sn. vortekslendi.
- 70°C'de 20 dk. benmaride inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra örnekler vortekslendi ve 10 sn. spin atıldı.
- 200 µl %100'lük etanol eklendi ve 15 sn. vortekslendi.
- Daha sonra karışım QiAmp Mini Spin kolon'a aktarıldı ve 14000 rpm de 1 dk. santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası 500 µl AW1 eklendi ve tekrar 10000 rpm de 1 dk. santrifüj edildi.
- Süzüntü içeren toplama tüpü atıldı ve QiAmp Mini Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.
- Spin kolona 200 µl AW1 eklenerek yıkama adımı tekrarlandı. 10000 rpm de 1 dk santrifüj edildi.
- Süzüntü içeren toplama tüpü atıldı ve QiAmp Mini Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.
- Spin kolona 500 µl AW2 eklendi ve 10000 rpm de 3 dk. santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası süzüntü içeren toplama tüpü atıldı ve QiAmp Mini Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.
- 200 µl AW2 eklenerek yıkama adımı tekrarlandı. 10000 rpm de 3 dk. santrifüj edildi.
- Süzüntü içeren toplama tüpü atılarak, spin kolon yeni toplama tüpüne aktarıldı ve 14000 rpm de 1 dk. santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası toplama tüpü atıldı, spin kolon mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı ve 60 µl AE Buffer eklendi ve oda sıcaklığında 10 dk. inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası 10000 rpm de 1 dk. santrifüj edildi.
- DNA saflığı spektrofotometre (ThermoFisher Nanodrop Spectrophotometer, ABD) ile ölçülerek 260/280 nm absorbans oranı 1,8-2,2 aralığında ölçülen

ekstratlar amplifikasyon yapılana kadar -20⁰C'de saklandı. Belirtilen değer aralığında olmayan ekstratlar ayrılarak yeniden ekstraksiyon yapıldı.

3.3. DNA Amplifikasyonu

Amplifikasyonda QuantiNova Probe PCR Kit (QiaGen, Germany) ve Primer Design Advenced Kit (Genesig, UK) kullanıldı. Kit içerikleri aşağıda tablo halinde verilmiştir. DNA amplifikasyonu Rotor-Gene Q (QiaGen, Germany) cihazı kullanılarak yapılmıştır.

Tablo 3.1: QuantiNova Probe PCR Kit içeriği

QuantiNova (QN) Probe PCR Kiti
QN Probe master mix <ul style="list-style-type: none">• Taq DNA polimeraz• QN Prob PCR Tamponu<ul style="list-style-type: none">• dNTP karışımı
QN seyreltme tamponu
QN ROX Boyası (PCR, Rotor-Gene Q cihazı kullanılarak yapıldığı için bu reaktif kullanılmadı)
RNase/DNase içermeyen su

Tablo 3.2: Primer Design kit içeriği

Primer Design Advenced Kit
<i>T. gondii</i> spesifik primer/prob mix (FAM işaretli)
<i>T. gondii</i> pozitif kontrol (standart)
İnternal ekstraksiyon kontrolü (IEC) DNA'sı
İnternal ekstraksiyon kontrolü primer/prob mix (VIC işaretli)
Endojen kontrolü primer/prob mix (FAM işaretli) (Farklı tüpte çalışılması gerektiğinden ve yeterli sayıda kit olmadığından çalışılmadı)
RNase/DNase içermeyen su
Şablon hazırlama tamponu

Amplifikasyon, üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlanarak çalışılmıştır. Hedef ve internal kontrolün primer-kalıp dizileri iki farklı organizmadan seçildiği ve farklı floresan boyalar içerdiğinden aynı tüpte çalışılmıştır.

1. Amplifikasyon için kullanılacak reaktiflerin hazırlanması:

- *T. gondii* primer/prob karışımına 165 µl RNase/DNase içermeyen su eklendi.
- IEC primer/prob karışımına 165 µl RNase/DNase içermeyen su eklendi.
- IEC DNA'sına 600 µl şablon hazırlama tamponu eklendi.
- *T. gondii* pozitif kontrolüne (standart) 500 µl şablon hazırlama tamponu eklendi.
- Standart eğri oluşturmak ve kantitatif tespit için standart (pozitif kontrol) ile seyreltme serisi hazırlandı.
 - 1. Tüp → Pozitif kontrol
 - 2. Tüp → 90 µl şablon hazırlama tamponu + 1. Tüpten 10 µl
 - 3. Tüp → 90 µl şablon hazırlama tamponu + 2. Tüpten 10 µl
 - 4. Tüp → 90 µl şablon hazırlama tamponu + 3. Tüpten 10 µl
 - 5. Tüp → 90 µl şablon hazırlama tamponu + 4. Tüpten 10 µl
 - 6. Tüp → 90 µl şablon hazırlama tamponu + 5. Tüpten 10 µl

Tablo 3.3: Hazırlanan bu seyreltme serisine göre standartların kopya sayıları

STANDART	KOPYA SAYISI
STANDART 1	2×10^5 per/ µl
STANDART 2	2×10^4 per/ µl
STANDART 3	2×10^3 per/ µl
STANDART 4	2×10^2 per/ µl
STANDART 5	20 per/ µl
STANDART 6	2 per/ µl

2. Reaksiyon karışımının hazırlanması

- Standartlar ve örnekler için üretici firmanın kit prosedürü farklı karışımlar hazırlamayı önermektedir. Buna göre hazırlanan reaksiyon karışımları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 3.4: Reaksiyon karışımları

Örneklerin Reaksiyon Karşımı	Standart/Negatif kontrol Reaksiyon Karşımı
10 µl QN Prob master mix	10 µl QN Prob master mix
1 µl <i>T. gondii</i> primer/prob mix	1 µl <i>T. gondii</i> primer/prob mix
1 µl IEC primer/prob mix	4 µl RNase/DNase içermeyen su
3 µl RNase/DNase içermeyen su	

- Reaksiyon karışımı, çalışılacak reaksiyon kadar, pipet kayıpları da göz önünde bulundurularak yukarıda verilen tabloya göre hazırlandı.
3. Soğuk blok üzerine yerleştirilen strip tüplere örnekler için, örnek reaksiyon karışımından, standart ve negatif kontrol için standart reaksiyon karışımından 15'er µl koyuldu.
 4. Reaksiyon karışımının üzerine 5 µl DNA (ekstrat) eklendi. Her çalışmaya standartlar, *T. gondii* DNA'sı ve negatif kontrol eklendi. Negatif kontrol için DNA yerine RNase/DNase içermeyen su kullanıldı.
 5. Her amplifikasyonda, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'ndan aldığımız fare periton pasajından izole edilen taşıyıcılar (ekstrakte edilerek, ekstrat çalışmaya dahil edildi) ve *T. gondii* DNA örneği pozitif kontrol olarak çalışmaya dahil edilmiştir.
 6. Kapakları kapatılarak cihaza yerleştirildi. PCR cihazının amplifikasyon koşulları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 3.5: Amplifikasyon koşulları

Enzim Aktivasyonu	95° C - 2 dakika	1 DÖNGÜ
Denatürasyon	95° C - 10 saniye	
Veri Toplama/Okuma	60° C - 60 saniye	50 DÖNGÜ

7. Amplifikasyon tamamlanınca sonuçlar değerlendirildi.

3.4. Hasta Bilgilerinin Taranması

Çalışmaya dahil edilen hastaların öyküsü, yaşı, cinsiyeti, CD4+ T lenfosit düzeyleri (çalışmamız için kan örneği aldığımız haftadaki), HIV pozitif tanı tarihi, sekonder enfeksiyon varlığı, Anti-Toxoplasma IgG ve Anti-Toxoplasma IgM sonuçları, kullandığı ART (antiretroviral tedavi) ve profilaktik tedavi alıp almadığı bilgileri Hastane Bilgi Yönetim Sistemi MiaMed sisteminden alınmıştır.

Toxoplasma gondii'ye özgü antikorlar, hastanemiz ELISA Laboratuvarında enzimatik bir sandviç metodu olup, floresan üretme prensibine dayanmakta olan Enzyme-Linked Fluorescence Assay (ELFA) tekniği ile üretici firmanın [VIDAS (BioMérieux, France)] önerdiği prosedüre göre çalışılmaktadır.

Çalışmaya dahil edilen HIV pozitif hastaların, poliklinik takiplerinde CD4+ T lenfosit düzeylerine rutin olarak bakılmaktadır. Hastanemiz İmmünoloji Laboratuvarında CD4+ T lenfosit düzeyi akım sitometri tekniği kullanılarak Navios EX Flox Cytometer (Beckman Coulter, ABD) ile çalışılmıştır.

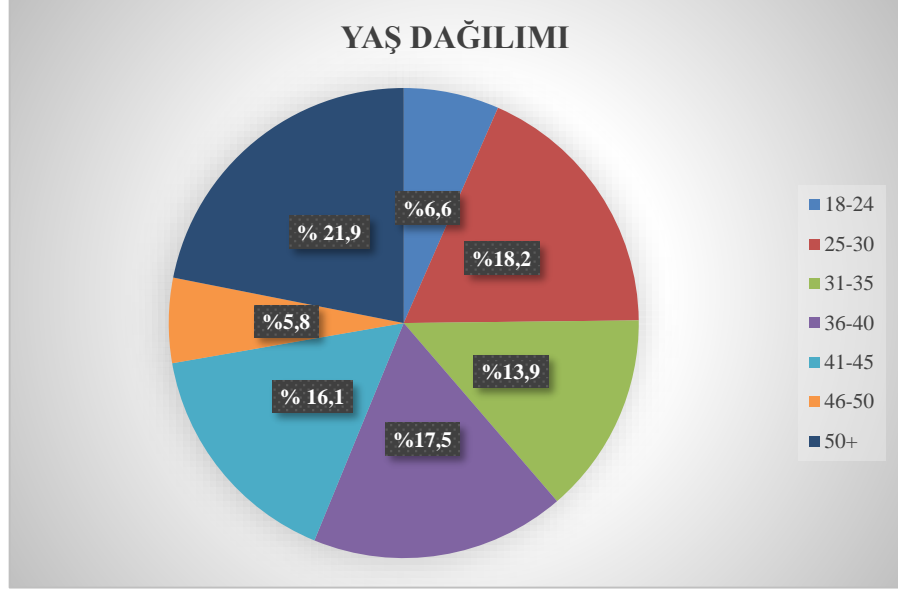
3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışma verilerinin istatistiksel analizinde IBM SPSS Versiyon 28.0 (IBM Corp. Released 2021. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 28.0. Armonk, NY: IBM Corp) kullanılmıştır. Verilerin tanımlayıcı istatistikleri nicel veriler için medyan, minimum ve maksimum, nitel veriler için frekans ve yüzde olarak verilmiştir. CD4+ T lenfosit düzeyinin yaş ve HIV RNA kopya sayısı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon katsayısı kullanılmıştır. Anti-Toxoplasma IgG pozitif ve negatif olanlarla CD4+ T lenfosit düzeyinin karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Ayrıca sınıflandırılmış CD4+ T lenfosit düzeyinin Anti-Toxoplasma IgG ile ilişkisinin incelenmesinde Fisher-Freeman-Halton testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

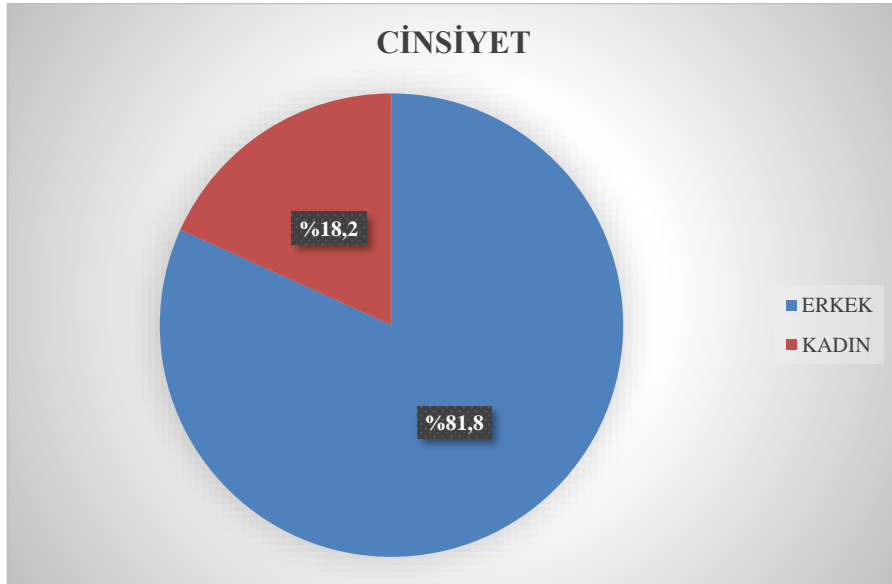
4.1. Çalışmaya Dahil Edilen Hasta Verileri

- Çalışmaya dahil edilen 137 hastanın yaş dağılım aralığı değerlendirildiğinde; en fazla saptanan yaş aralığı %21,9 ile 50 yaş ve üzeri gruptu (Şekil 4.1).



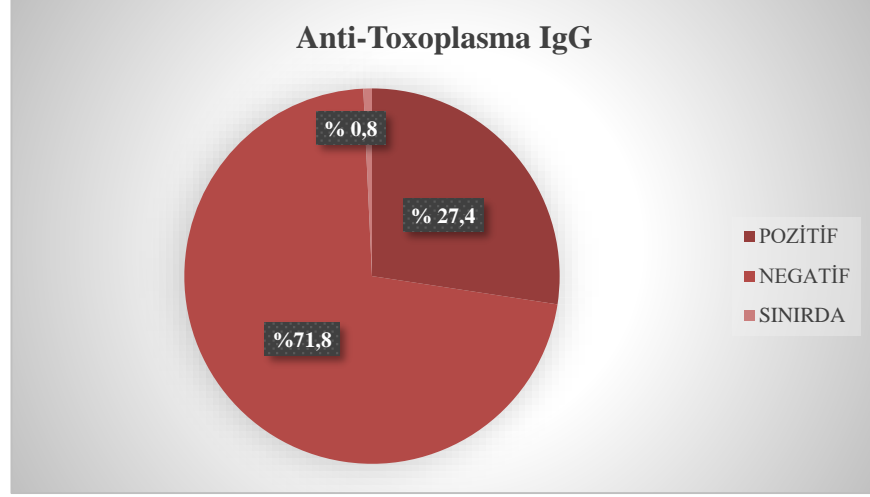
Şekil 4.1: Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş aralığı

- Çalışmaya dahil edilen 137 HIV pozitif hastanın 25'i (%18,2) kadın, 112'si (%81,8) erkekti (Şekil 4.2).



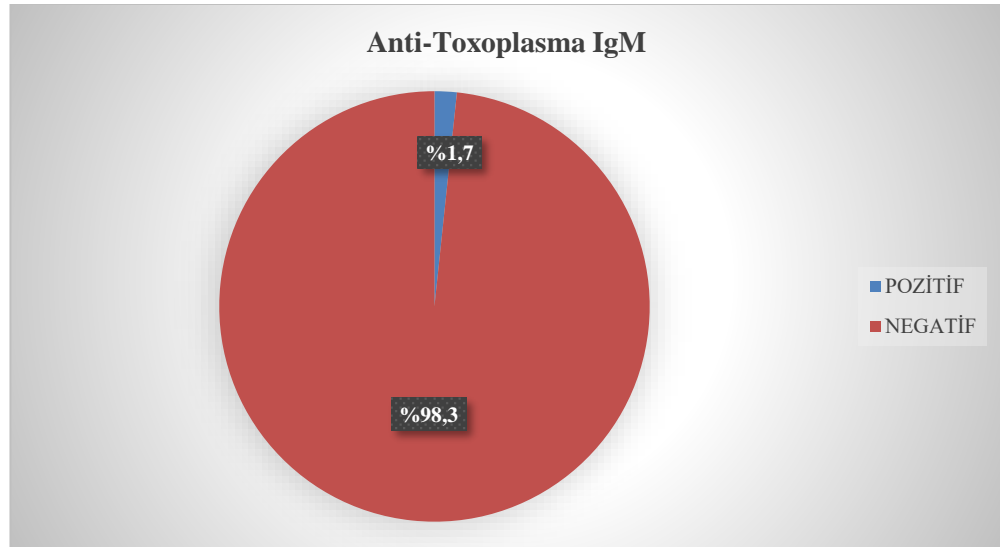
Şekil 4.2: Çalışmaya dahil edilen hastaların cinsiyet dağılımı

- Çalışmaya dahil edilen 137 hastanın ikisinde (%1,5) Anti-Toxoplasma IgG sonucuna ulaşılammıştır. Ulaşılan veriler doğrultusunda Anti-Toxoplasma IgG sonucu 37 (%27,4) hastada pozitif, 97 (%71,8) hastada negatif, bir hastada (%0,8) ise sınırda bulunmuştur (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: Çalışmaya dahil edilen hastaların Anti-Toxoplasma IgG sonuçları

- Çalışmaya dahil edilen hastalardan 120'sinin Anti-Toxoplasma IgM sonucuna ulaşılmıştır. Elde edilen verilere göre iki hastada (%1,7) Anti-Toxoplasma IgM pozitifliği bir yıldan uzun süredir devam etmektedir (Şekil 4.4).



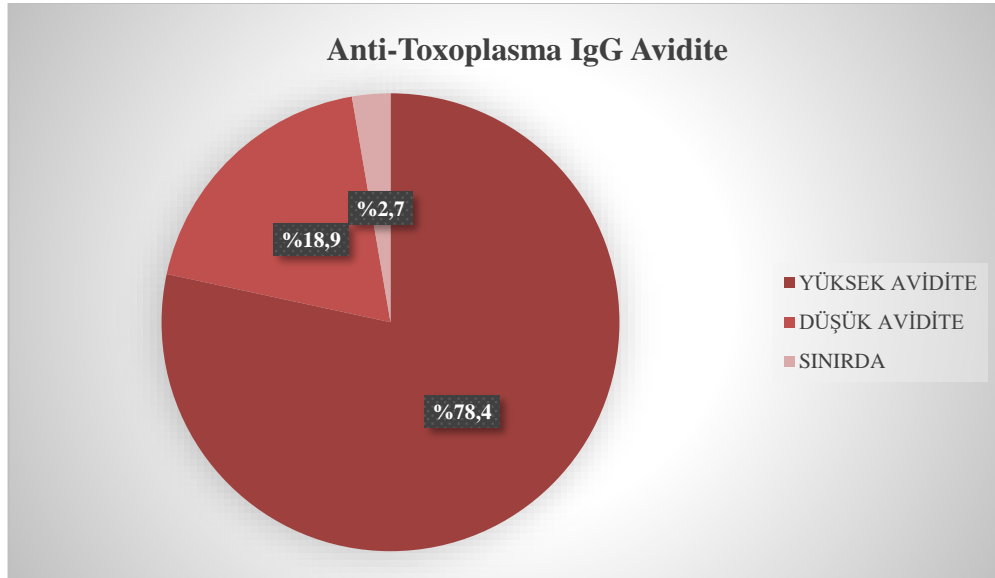
Şekil 4.4: Çalışmaya dahil edilen hastaların Anti-Toxoplasma IgM sonuçları

- Çalışmada *T. gondii* IgG seropozitifliği erkeklerde % 27,3 (30/110), kadınlarda % 32 (8/25) (p=0,635) olarak belirlendi (Tablo 4.1).
- 2005-2013 yılları ve 2014-2022 yılları arasındaki dokuz yıllık dönemlerde HIV tanısı almış hasta sayıları ile Anti-Toxoplasma IgG pozitifliği arasında anlamlı ilişki saptandı (p<0,001) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: *T. gondii* IgG seroprevalansının yaş, cinsiyet ve HIV tanı yılına göre dağılımı

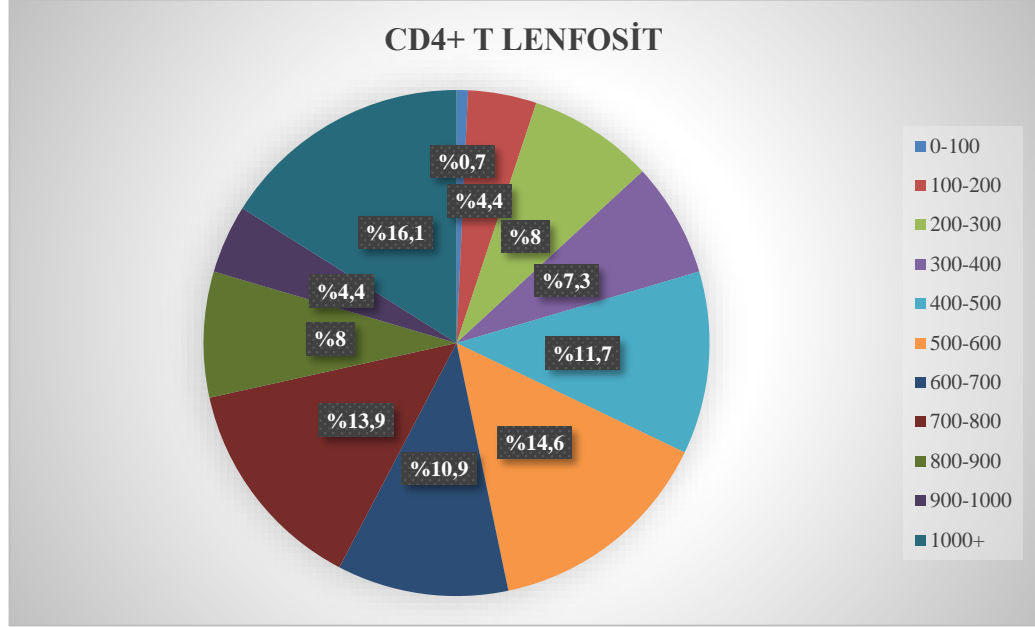
	<i>T. gondii</i> IgG (+) N/%	<i>T. gondii</i> IgG (-) N/%	Toplam	p
Cinsiyet				
Erkek	30 (% 27,3)	80 (% 72,7)	110	0,635
Kadın	8 (% 32)	17 (% 68)	25	
Yaş				
18-24	1 (% 11,1)	8 (% 88,9)	9	0,068
25-30	4 (% 16)	21 (% 84)	25	
31-35	2 (% 11,1)	16 (% 88,9)	18	
36-40	6 (% 27,3)	16 (% 72,7)	22	
41-45	9 (% 41)	13 (% 59)	22	
46-50	4 (% 50)	4 (% 50)	8	
>50	12 (% 41,4)	17 (% 58,6)	29	
HIV Tanı Yılı				
2005-2013	9 (% 81,8)	2 (% 18,2)	11	<0,001
2014-2022	29 (% 23,4)	95 (% 76,6)	124	

- Anti-Toxoplasma IgG sonucu pozitif çıkan 37 hastanın Anti-Toxoplasma IgG aviditesine bakılmıştır. Bu hastaların 7'si (%18,9) düşük avidite, 29'u (%78,4) yüksek avidite, biri sınırdadır (%2,7) saptanmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: Anti-Toxoplasma IgG sonucu pozitif çıkan hastaların, Anti-Toxoplasma IgG avidite sonuçları

- Çalışmaya dahil edilen 137 hastada 44'ünün (%32,1) CD4+ T lenfosit sayısı <500 hücre/μl 'ydi (Şekil 4.6).

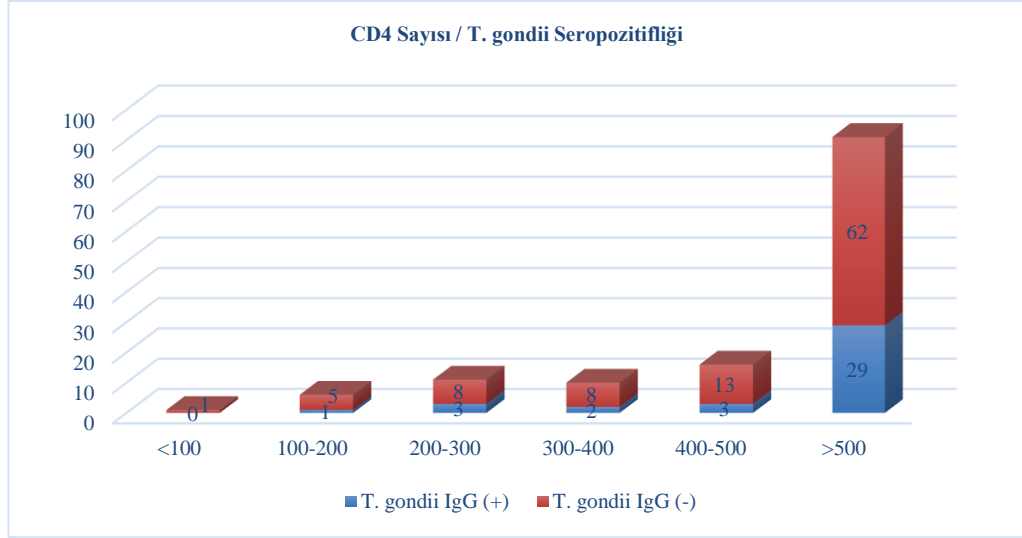


Şekil 4.6: Çalışmaya dahil edilen hastaların CD4+ T lenfosit düzeylerinin dağılımı (hücre/μl)

- Anti-Toxoplasma IgG ile CD4+ T lenfosit sayısı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p= 0,484$). (Tablo 4.2, Tablo 4.3, Şekil 4.7).

Tablo 4.2: Anti-Toxoplasma IgG ile CD4+ T lenfosit düzeylerinin karşılaştırılması

<i>T. gondii</i> IgG	N	Median	Minimum	Maximum	p
Negatif	97	645,00	73	1777	0,484
Pozitif	38	637,00	189	1368	
Toplam	135	645,00	73	1777	



Şekil 4.7: CD4+ T lenfosit sayısının *T. gondii* IgG seropozitifliğine göre dağılımı

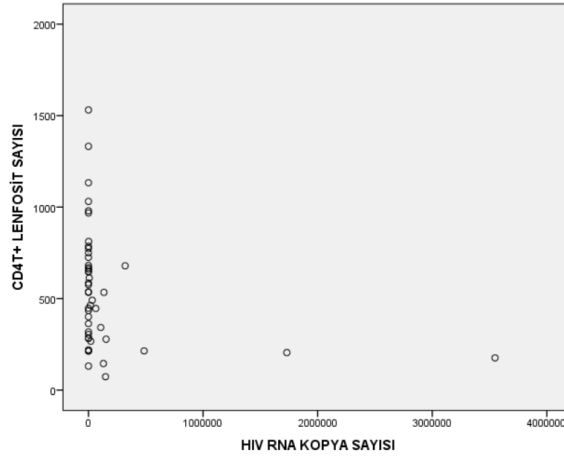
Tablo 4.3: *T. gondii* IgG seroprevalansının CD4+ T lenfosit sayısına göre dağılımı

CD4 Sayısı	<i>T. gondii</i> IgG (+) N/%	<i>T. gondii</i> IgG (-) N/%	Toplam	p
<100	0 (% 0)	1 (% 100)	1	0,870
100-200	1 (% 16,7)	5 (% 83,3)	6	
200-300	3 (% 27,3)	8 (% 72,7)	11	
300-400	2 (% 20,0)	8 (% 80,0)	10	
400-500	3 (% 18,8)	13 (% 81,3)	16	
>500	29 (% 31,9)	62 (% 68,1)	91	

- HIV RNA kopya sayısı ile CD4+ T lenfosit düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (Spearman korelasyon katsayısı= -0,322, p=0,029) (Tablo 4.4, Şekil 4.6).

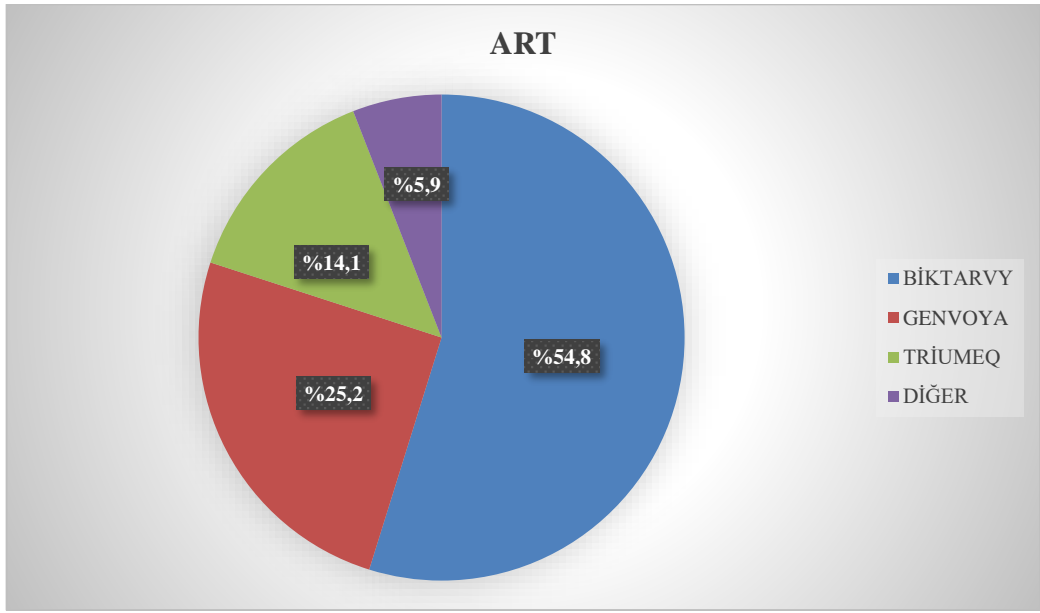
Tablo 4.4: HIV RNA kopya sayısı ile CD4+ T lenfosit arasındaki korelasyon analizi

		CD4+ T LENFOSİT SAYISI	
Spearman's rho	HIV RNA KOPYA SAYISI	r	-0,322*
		p	0,029
		n	46



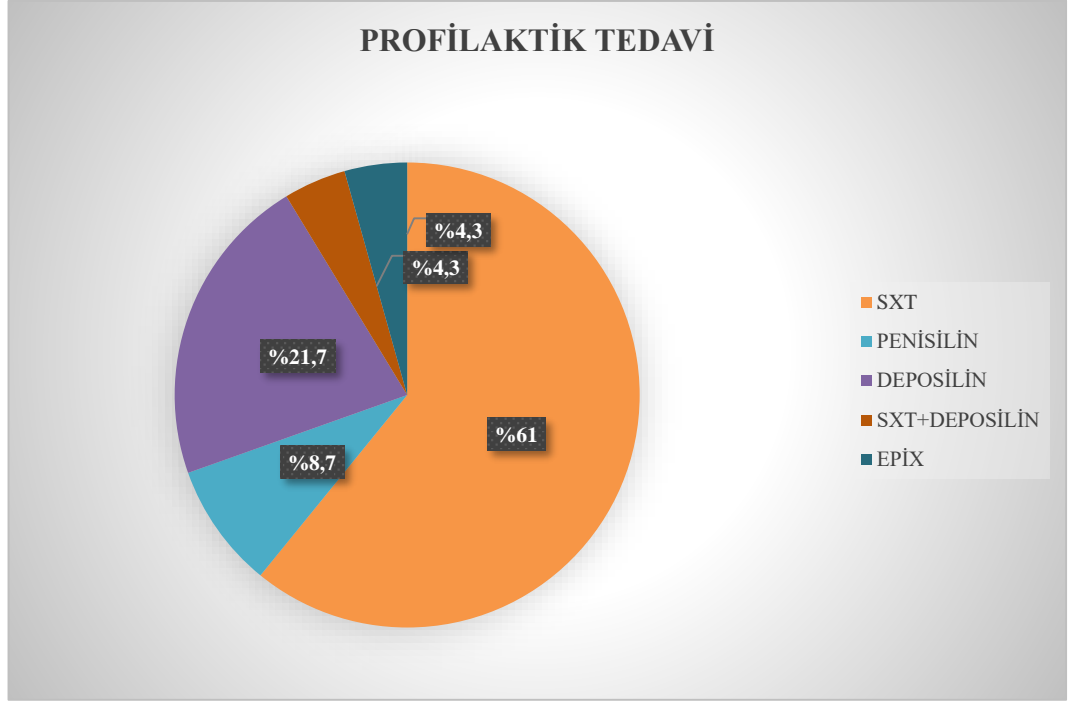
Şekil 4.8: HIV RNA kopya sayısı ile CD4+T lenfosit arasında korelasyon grafiği

- Çalışma grubunda bulunan 137 hastadan 135 (%98,5)'i ART kullanmaktaydı (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: Çalışmaya dahil edilen hastaların kullandığı ART dağılımı

- ART'ye ek olarak profilaktik tedavi kullanan toplam 23 hastadan 18 (%78,3)'inin CD4+ T lenfosit düzeyi 500 hücre/ μ l' nin altında, 5 (%21)'inin ise 200 hücre/ μ l' nin altında olduğu saptanmıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10: Çalışmaya dahil edilen hastalarda profilaktik tedavi kullanımı

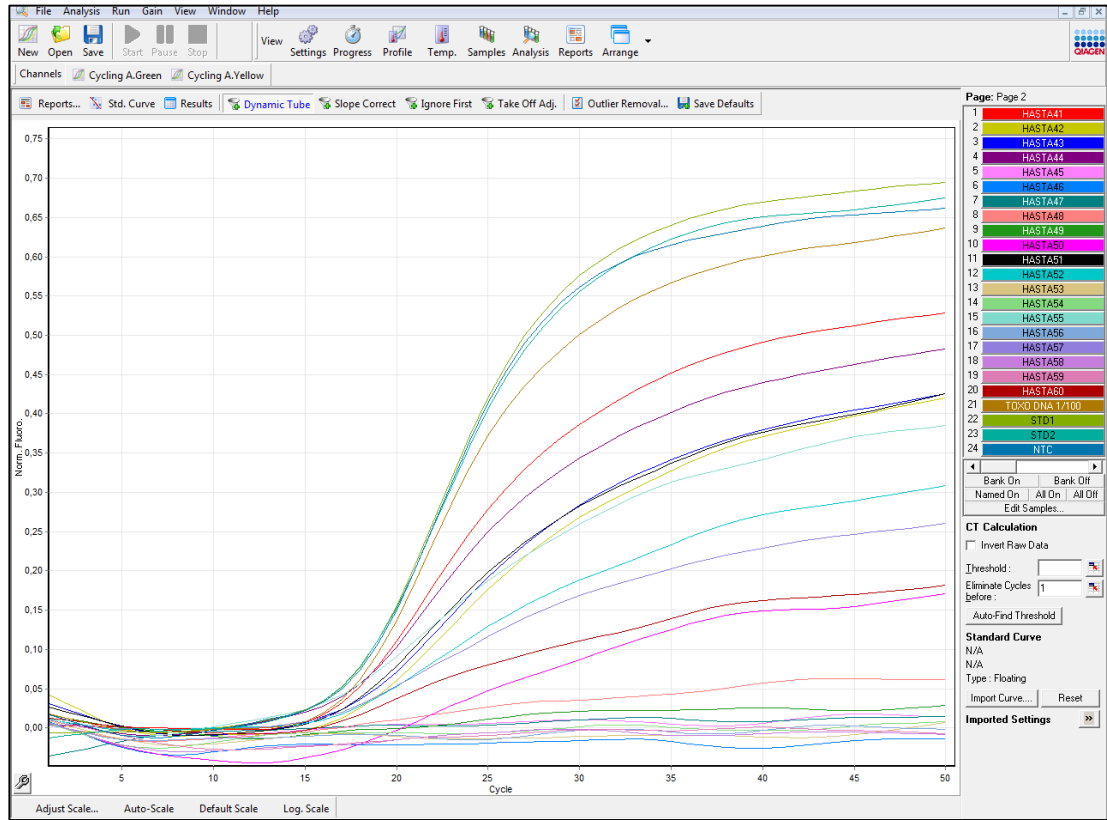
4.2. Real-Time PCR Sonuçları

Real-Time PCR ile çalışılan 137 örnekten iki örnekte (%1,45) *T. gondii* DNA'sı saptanmıştır. İki örneğin Ct değerleri 46,79 ve 47,2 idi (Şekil 4.11).

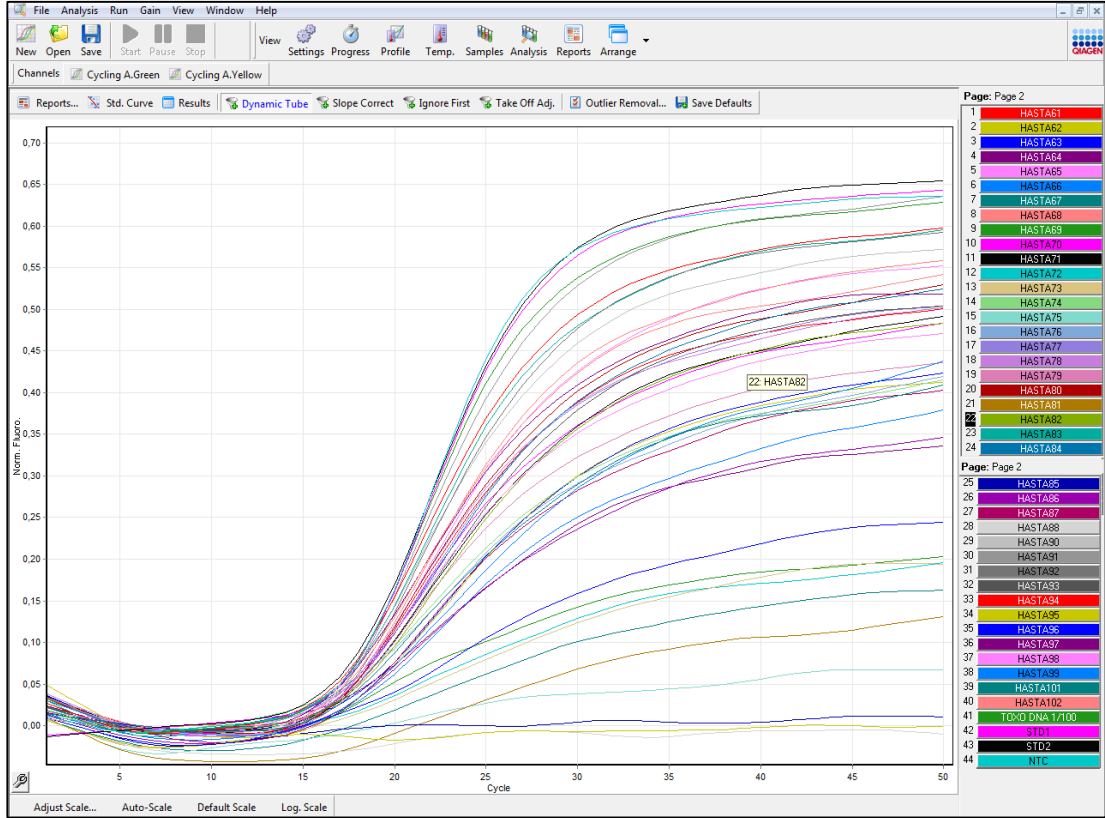
No.	Ct	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc (IU/L)	Calc Conc (IU/ml)	% Var	Rep. Ct	Rep. Ct Stc	Rep. Ct (95% CI)	Rep. Calc. Conc.	Rep. Calc. Conc. (95% CI)
1		HASTA61	Unknown										
2		HASTA62	Unknown										
3		HASTA63	Unknown										
4		HASTA64	Unknown										
5		HASTA65	Unknown										
6		HASTA66	Unknown										
7		HASTA67	Unknown										
8		HASTA68	Unknown										
9		HASTA69	Unknown										
10		HASTA70	Unknown										
11		HASTA71	Unknown										
12		HASTA72	Unknown										
13		HASTA73	Unknown										
14		HASTA74	Unknown										
15		HASTA75	Unknown										
16		HASTA76	Unknown										
17		HASTA77	Unknown										
18		HASTA78	Unknown										
19		HASTA79	Unknown										
20		HASTA80	Unknown	46,79					46,79				
21		HASTA81	Unknown										
22		HASTA82	Unknown										
23		HASTA83	Unknown										
24		HASTA84	Unknown										
25		HASTA85	Unknown										
26		HASTA86	Unknown										
27		HASTA87	Unknown										
28		HASTA88	Unknown										
29		HASTA90	Unknown										
30		HASTA91	Unknown										
31		HASTA92	Unknown										
32		HASTA93	Unknown										
33		HASTA94	Unknown										
34		HASTA95	Unknown										
35		HASTA96	Unknown										
36		HASTA97	Unknown										
37		HASTA98	Unknown										
38		HASTA99	Unknown										
39		HASTA101	Unknown	47,20					47,20				
40		HASTA102	Unknown										
41		TDXD DNA 1/10C	Unknown	20,36			796		20,36			796	
42		STD1	Standard	12,63		200.000	200.000	0,0%	12,63			200.000	
43		STD2	Standard	15,95		20.000	20.000	0,0%	15,95			20.000	
44		NTC	NTC										

Şekil 4.11: Pozitif iki örneğin Ct değerleri

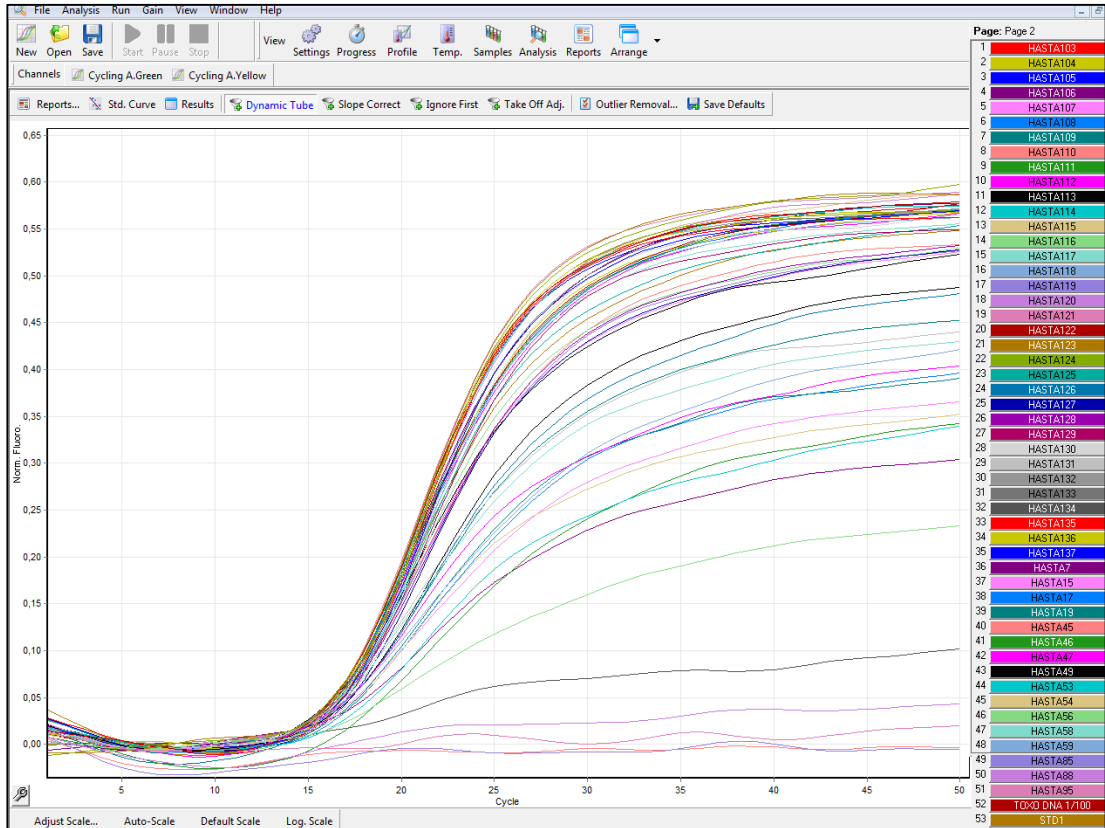
Pozitif bulunan bu iki örnekte UV 260/280 oranı $>1,8$ 'di ve ekstraksiyon aşamasında AL tamponu ile birlikte örneğe eklenen IEC (İnternal Ekstraksiyon Kontrol) DNA'sı da pozitif saptandığından, bu örneklerde hiçbir inhibisyonun olmadığı sonucuna varılmıştır. İnternal ekstraksiyon VIC kanalında okunmuştur (Şekil 4.12-14). İnternal kontrolde pozitiflik saptanamayan veya düşük pozitiflik saptanan örnekler yeniden çalışılmıştır.



Şekil 4.12: İnternal kontrol grafiği



Şekil 4.13: İnternal kontrol grafiği



Şekil 4.14: İnternal kontrol grafiği

Real-Time PCR ile *T. gondii* DNA saptanan iki olguda (33 ve 36 yaşlarında) erkekti. Heriki olguda da Anti-toxoplasma IgM ve IgG seronegatif. Olguların her ikisi de ART tedavisi almakta olup sadece biri *T. gondii*'ye yönelik profilaktik tedavi almaktaydı. Bir olguda CD4+T lenfosit sayısı 558 hücre/ μ l diğesinde ise 282 hücre/ μ l idi (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: *T. gondii* DNA'sı saptanan iki hastanın verileri

	Hasta no 80	Hasta no 101
Cinsiyet	Erkek	Erkek
Yaş	33	36
ART	Genvoya	Triumeq
Profilaktik tedavi	-	SXT
Anti-toxoplasma IgM	Negatif	Negatif
Anti-toxoplasma IgG	Negatif	Negatif
HIV RNA kopya sayısı	Negatif	89
CD4+T lenfosit sayısı	558 hücre/ μ l	282 hücre/ μ l
Sekonder enfeksiyon	Yok	Yok
HIV+ tanı tarihi	Ocak 2020	Şubat 2021

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Güney Marmara’da üçüncü basamak hastane olarak hizmet veren Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi Enfeksiyon Hastalıkları kliniğinde serolojik (ELISA yöntemi ile Anti-Toxoplasma IgG ve IgM, ELFA tekniği ile Anti-Toxoplasma IgG avidite) ve moleküler (qPCR ile REP-529 olarak da bilinen spesifik RE geni) metodlar kullanarak HIV tanısı almış klinik izlemi yapılan hastalarda *T. gondii*’nin insidansı araştırıldı.

Serolojik testler bir kişinin yakın geçmişte veya yeni enfekte olup olmadığını saptamak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. *T. gondii* ve HIV koenfeksiyonu, konak bağışıklık sistemini baskılayarak iki patojenin etkileşimi ile her iki enfeksiyonun seyrini etkileyebilen önemli bir halk sağlığı sorunudur (Góngora-Biachi ve ark., 1998). İnsan immün yetmezlik virüsü ile enfekte kişilerin yaklaşık yarısı *T. gondii* ile koenfektidir (Daryani, Sharif, & Meigouni, 2011; Shimelis, Tebeje, Tadesse, Tegbaru, & Terefe, 2009). *Toxoplasma gondii* enfeksiyonunun seroprevalansı; sosyoekonomik koşullar, kırsal kesimde ikamet etme, kültürel alışkanlıklar, farklı yaşam tarzları, iklim, coğrafi bölgeler, yaş, eğitim durumu ve çiğ veya az pişmiş et yeme nedeniyle dünya çapında büyük farklılıklar göstermektedir (Joseph ve ark., 2002). HIV hastalarının yaklaşık %40’ında ciddi ensefalite neden olan toksoplazmozun reaktivasyonuna yol açabileceği ve %10-30 mortal seyredebileceği rapor edilmiştir (Ammassari, Murri, Cingolani, De Luca, & Antinori., 1996).

Çalışmada toplam 135 olgunun 37’sinde (%27,4) Anti-Toxoplasma IgG pozitifliği saptandı. Çalışmamız Türkiye’de HIV pozitif popülasyonu ile yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında; Toxoplasma prevalans oranı daha düşük olarak belirlendi. Örneğin HIV/AIDS hastalarında İstanbul’da, üniversite hastanesinde %41,6 (Ergen, Yılmaz-Karadağ, & Aydın, 2020), Eğitim ve Araştırma Hastanesinde %43,6 (Şenoğlu, Yeşilbağ, Aydın, Kumbasar, & Karaosmanoğlu, 2018) oranında Anti-Toxoplasma IgG pozitifliği saptandığı bildirilmiştir. Çalışmanın yapıldığı merkezde %37,9 (Alver, Payaslıoğlu, & Sağlık, 2021), Bursa’da sığırlarda Sabin Feldman tekniği ile %73 (Kennerman, Kaya, Gazyağcı, Babür, & Kılıç, 2006), aynı bölgede Kocaeli’nde (Şimşek, Ütük, Babür, & Koroğlu, 2006) köpeklerde %69,8 anti-Toxoplasma IgG pozitifliği saptandığı bildirilmiştir. Bu bölgede HIV ile yaşayan

bireylerin toksoplazmoz yönünden risk altında olabileceği düşünülebilir. Çalışmadaki toksoplazmoz prevalans oranı, etin kontaminasyonu ve bölgedeki yeme alışkanlıkları ile ilişkilendirilebilir. Bu çalışmada Anti-Toxoplasma IgG pozitifliği Etiyopya (%93.3) (Shimelis ve ark., 2009), Gana (%57.6) (Pappoe ve ark., 2017), İran (%49.75) (Mohraz ve ark., 2011) ve Güney Afrika (%31.7) (Ngobeni, & Samie, 2017) gibi ülkelerdekinden de daha düşük orandaydı. Dünyanın farklı bölgelerinde toksoplazmoz seroprevalans oranlarındaki değişkenlikler; yeme ve kültürel alışkanlıkları, insanların yaşam tarzları, iklim durumu, coğrafi konumu, çevredeki kedilerin yoğunluğu ve ayrıca kullanılan serolojik testlerin duyarlılığına bağlı olabilir (Arefkhah, Sarkari, Afrashteh, Rezaei, & Dehghani, 2018).

İnsanlarda *T. gondii* enfeksiyonu seroprevalansı yaş gruplarına göre değişiklik gösterebilir (Montoya, & Liesenfeld, 2004). Bu çalışmada latent toksoplazmoz seroprevalansının en fazla saptandığı yaş dağılım aralığı %31,6 ile 50 yaş ve üzeri gruptu. Çalışmamızda yaşa bağlı seroprevalans, ABD’de 2002 yılında yapılan bir çalışma (Falusi ve ark., 2002) ile uyumlu olarak yaşla birlikte artmaktaydı. Ancak her iki çalışmada da seroprevalans ve yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştı. İran’da 2018 yılında yapılan bir çalışmada en yüksek *T. gondii* seropozitifliğini, 31–45 yaş grubunda, Çin’de 2015 yılında yapılan başka bir çalışmada yaşamın 3. ve 4. dekadlarında, Etiyopya’da 2013 yılında yapılan çalışmada ise, 21–30 yaş grubunda saptadıklarını bildirmişlerdir. Bu durum yaşlanmayla enfeksiyona maruz kalma olasılığında artma ile ilişkilendirilebilir (Nazari ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2015; Walle ve ark., 2013).

Çok değişkenli analiz kullanılarak, erkek cinsiyetin toksoplazmoz için en anlamlı risk faktörü olduğu ifade edilmektedir (Nissapatorn ve ark., 2010; Akanmu, Osunkalu, Ofomah, & Olowoselu, 2010). Erkeklerin seks steroid hormonlarının bağışıklık tepkilerini azaltması, hastalık direnci genini ve davranışlarını etkilemesi nedeniyle çeşitli enfeksiyonlara yakalanma konusunda daha duyarlı oldukları bildirilmektedir (Klein, 2000). Bu durum erkek HIV/AIDS’li kişilerin toksoplazmoza karşı seropozitifliğinin, kadın HIV/AIDS’li kişilere göre anlamlı derecede yüksek olması ile ilişkilendirilebilir (Roberts, Walker, & Alexander, 2001). Çalışmamızda HIV tanısı konmuş erkeklerde %27,3 (30/110), kadınlarda %32 (8/25) Anti-Toxoplasma IgG seropozitifliği saptandı ($p= 0.635$). Çin’de HIV/AIDS’li bireylerin

Anti-Toxoplasma IgG prevalansı erkeklerde %7.7 (15/196), kadınlarda % 15.9 (10/63) olarak bildirilmiştir ($p>0.05$) (Shen ve ark., 2016). Kadın ve erkekler arasında Anti-Toxoplasma IgG prevalans oranlarındaki farklılıklar toksoplazmoz yönünden risklerle karşılaşp karşılaşmama durumuyla ilişkilendirilebilir.

Çalışmada Anti-Toxoplasma IgM istemi yapılan 120 hastanın 2'sinde (%1.7) (biri kadın diğeri erkek) seropozitiflik saptanmış olması *T. gondii* primer enfeksiyonunun göstergesidir. Ancak çalışmada da belirlendiği gibi (%98,3 Anti-Toxoplasma IgM negatiflik) HIV/AIDS'li kişilerde düşük immün yanıtı bağılı saptanamayacak düzeylerde antikor oluşması nedeniyle serolojik testlerde büyük oranda negatif sonuç çıkabilmektedir (Bhaskar, 2005). Anti-Toxoplasma IgM primer enfeksiyonda, yeniden oluşan enfeksiyonlarda ya da enfeksiyonların yeniden aktif olması durumunda da yükselebileceğinden pratikte sık tercih edilir. Ancak Anti-Toxoplasma IgM antikorları birkaç ay veya bir yıldan daha uzun süre saptanabileceğinden akut veya kronik olup olmadığına karar verilemeyen olgularda Anti-Toxoplasma IgG avidite testi tamamlayıcı test olarak kullanılmaktadır (Reischl, Bretagne, Krüger, Ernault, & Costa, 2003). Yüksek Anti-Toxoplasma IgG avidite değerleri kişinin enfeksiyonu 3-5 ay önce geçirdiğini gösterirken, düşük avidite değeri primer toksoplazmozun göstergesi olarak kabul edilir (Montoya, Liesenfeld, Kinney, Press, & Remington, 2002). Çalışmamızda olgularımızın %18,9'unda (7/37) düşük Anti-Toxoplasma IgG avidite saptanması yeni bir enfeksiyonun göstergesi olarak düşünöldü. Hasta kayıtlarından anlaşıldığı gibi hastaların yakından takip edildiği ve klinik toksoplazmoz gelişmediği sonucuna varıldı.

Günümüzde asemptomatik *T. gondii* enfeksiyonunda Anti-Toxoplazma IgG antikorları ile latent veya geçirilmiş enfeksiyon ayrımı yapılamadığını, serolojik testler olmadan da *T. gondii* DNA'sının tespiti ile aktif ve latent enfeksiyon arasında ayrım yapılamayacağını, serolojik ve moleküler testlerin toksoplazmoz tanısında birlikte değerlendirilmesi gerektiği kabul görmektedir (Pawelczyk ve ark., 2022). Aktif toksoplazmoz tanısında PCR'ın kullanımı özellikle serolojik testler yetersiz kaldığında immünsüprese hastalarda ve konjenital toksoplazmoz tanısında büyük öneme sahiptir (Ashburn, Joss, Pennington, & Ho-Yen, 1998).

Çalışmada kullanılan DNA ekstraksiyon protokolü, PCR hedef geni, kullanılan primerler ve hatta kan numunelerinin hacimleri, buffy coat dahil bir çok örnekte *T.*

gondii DNA'sının tespiti için PCR testinin duyarlılığını etkileyebildiği bilinmektedir (Ajzenberg ve ark., 2016). *Toxoplasma gondii* genomu içerisinde B1 ve RE genleri yüksek kopya sayısına sahip olması nedeniyle hastalığın moleküler tanısında en çok tercih edilen gen bölgeleridir (Homan, Vercammen, De Braekeleer, & Verschueren, 2000). Birçok çalışmada *T. gondii* RE geninin B1 genine göre daha yüksek hassasiyete sahip olduğu ifade edilmiştir (Belaz, Gangneux, Dupretz, Guiguen, & Robert-Gangneux, 2015; Filisetti ve ark., 2015). Bu çalışmada *T. gondii* RE genine özgü tasarlanan primerlerin kullanıldığı ticari Real Time PCR kitiyle HIV tanısı almış 137 olgunun buffy coat örneğinin ikisinde (%1,45) pozitiflik saptandı. Bu durum HIV tanısı almış hastalarımızda sekonder immün yetmezliğe bağlı latent enfeksiyonun reaktivasyonunu düşündürülebilir (Colombo ve ark., 2005). Olguların her ikisinde de Anti-Toxoplasma IgG ve IgM seronegatif ve ART kullanımı mevcuttu. Bir olguda CD4+ T lenfosit sayısı 558 hücre/ μ l değerinde ise 282 hücre/ μ l idi. Bir olgunun *T. gondii*'ye yönelik profilaktik tedavi almaması yeni *T. gondii* bulaşı yönünden risk taşıdığı düşünüldü. Pozitif bulunan bu iki örnekte UV 260/280 oranı >1,8'di ve inhibisyon gözlenmedi. Ticari Real Time PCR kitinin kullanıldığı çalışmamızda örneklerde *T. gondii* RE gen konsantrasyonunu düşük olduğu gerçeğini destekler nitelikte Ct değerleri 46,79 ve 47,2 idi. İran'da AIDS hastaları ile yapılan bir çalışmada (Bavand ve ark., 2019) seropozitif olguların %13,1'inde, (Gashout ve ark., 2016) Brezilya'da serebral toksoplazmoz olmayan olguların %2,34'ünde olmak üzere çalışmamızdan daha yüksek oranda *T. gondii* DNA pozitifliği saptadıklarını bildirmişlerdir. İran'da yapılan başka bir çalışmada gerek seropozitif gerek se seronegatif buffy coat örneklerinin hiçbirisinde *T. gondii* DNA saptamadıklarını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar bu durumu hastalarda *T. gondii* DNA konsantrasyonunun düşük düzeyde olmasıyla ilişkilendirmişlerdir (Arefkhah ve ark., 2018). Toksoplazmoz riski, HIV ile enfekte bireylerde immüsupresyon durumuna bağlı olarak artmaktadır.

Uyarılmış CD4+ T lenfositleri, *T. gondii* ile enfekte olmuş hücreler için sitotoksiktir (Jones ve ark., 2001). HIV pozitif hastalarda latent toksoplazmozun reaktivasyonu için bir eşik olan CD4+ seviyeleri 100 hücre/ μ L'nin altına düştüğünde Toksoplazma ensefaliti riskinin bulunduğu bilinmektedir (Arefkhah ve ark., 2018). Serebral toksoplazmoz, yaygın olarak CD4+ T lenfosit düzeyi 100 hücre/ μ L'nin altında

olan HIV ile enfekte bireylerde görülmesine rağmen; CD4+T lenfosit düzeyi 200 hücre/ μ l'ye kadar olan kişilerde de nadir de olsa vakalar bildirilmiştir (Studeničová, Benčaiová, & Holková, 2006; Berger, Goulet, Le Strat, & Desenclos, 2009). HIV RNA kopya sayısı ile CD4+ T lenfosit düzeyi arasında anlamlı ilişkinin saptandığı çalışmamızda ART alan hastalarda *T. gondii* IgG seropozitifliği %33,9 (37/109) idi. Bu oran birçok çalışmadan düşük idi (Yohanes, Debalke, & Zemene, 2014; Walle ve ark., 2013).

Çalışmada ART almayan ve ART'ye ek olarak profilaktik tedavi alan hastaların oranı sırasıyla %1.5 (2/137) ve %17 (23/135) idi. AIDS'li olguların %30-40'ında dormant kistlerin yüksek oranda reaktivasyonu sonucunda toksoplazmozun geliştiği bildirildiğinden (Luma ve ark., 2013) olgularımızın toksoplazmoz oluşma riski taşıdığı düşünülebilir. Hasta kayıtlarında *Toxoplasma* ensefalit bilgisi bulunmamaktaydı. Çalışmamızda Anti-Toxoplasma IgG seropozitifliği CD4+ düzeyi 100 hücre/ μ l altında %0, 100-200 hücre/ μ l arasında ise %16,7 (bir olgu) olup bu olgunun azda olsa reaktivasyon riski taşıdığı düşünülebilir. Çalışmamızda, birçok çalışmada (Ngobeni, & Samie, 2017; Yohanes ve ark., 2014) olduğu gibi Anti-Toxoplasma IgG seropozitifliği ile CD4+ T lenfosit düzeyi arasında anlamlı ilişki bulunmamaktaydı.

Çalışmamızda HIV hasta grubunda hem Anti- Toxoplasma IgM hem de Anti-Toxoplasma IgG seronegatif iki olguda *T. gondii* DNA pozitifliğinin [%1.45, (2/137)] saptanmış olması immun sistemi baskılanmış olgularda moleküler testlerin kullanımının gerektiği düşünmekteyiz. Hastanemizde özellikle son yıllarda HIV pozitif hasta sayısındaki artış ($p<0.001$) nedeniyle bu hastalıktan korunmada topluma, çalışmamızda olguların %71,8'inde (97/135) Anti-Toxoplasma IgG seronegatifliğinin saptanmış olması *T. gondii* enfeksiyonundan korunma önlemleri (etlerin 116°C'ye kadar pişirilmeli -ette pembelik kalmayacak şekilde-, çiğ ete dokunulduktan sonra ağız, göz gibi mukoz membranlarla temastan kaçınılmalı, eller yıkanmalı, çiğ etle temas eden mutfak yüzeyleri temizlenmeli, sebze ve meyveler yenilmeden önce yıkanmalı, kedi dışkısı ile kontamine olma ihtimali olan materyallerle temasta eldiven kullanılmalı, güvenli içme suyu kullanılmalı) açısından bu hasta grubuna eğitim verilmesi gerektiği kanatindeyiz (Aydın, Karaosmanoğlu, Korkusuz, & Nazlıcan, 2011).

Çalışmaya dahil ettiğimiz 137 örnekten yalnızca iki tanesinde (%1,45) *T. gondii* DNA'sı saptadık. Pozitiflik oranının bu kadar düşük olmasının birkaç sebebi olduğu kanaatindeyiz. İlki çalışmaya dahil edilen hastaların hiçbirisi toksoplazmoz açısından semptom bulundurmamaktaydı. Ancak çalışmayı planlarken ki hedefimiz HIV'le yaşayan bireyler için yüksek morbitide ve mortalite sebebi olan toksoplazmozun erken teşhisinin sağlanabilmesiydi. İkincisi ise neredeyse tüm hastaların ART (%98,5) kullanıyor olmasıydı. Ayrıca 24 (%17,8) hasta ART'ye ek olarak profilaktik tedavi kullanmaktaydı. Bir diğer sebep ise CD4+ T lenfosit sayısının 200 hücre/ μ l'nin altında olduğu çok az hasta (%6,1) olması olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda qPCR ile pozitif çıkan iki hastadan biri ART'ye ek olarak profilaktik tedavi de kullanırken, aynı zamanda her ikisi de *T. gondii* antikorları açısından da seronegatif (Tablo 4.5). Çalışmaya dahil ettiğimiz *T. gondii* antikorları bakımından seropozitif olan ve Anti-Toxoplasma IgM pozitifliği bir yıldan daha uzun süredir devam eden iki örneğin qPCR sonucu negatif çıkmıştır. Bu veriler doğrultusunda serolojik testlerin, immün sistemi baskılanmış kişilerde yetersiz kaldığı, moleküler testlerle doğrulanması gerektiğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

- Agarwal-Jans S. (2020). Timeline: HIV. *Cell*, 183(2), 550. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.004>
- Aguirre, A. A., Longcore, T., Barbieri, M., Dabritz, H., Hill, D., Klein, P. N., Lepczyk, C., Lilly, E. L., McLeod, R., Milcarsky, J., Murphy, C. E., Su, C., VanWormer, E., Yolken, R., & Sizemore, G. C. (2019). The One Health Approach to Toxoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies. *EcoHealth*, 16(2), 378–390. <https://doi.org/10.1007/s10393-019-01405-7>
- Ahmed, M., Sood, A., & Gupta, J. (2020). Toxoplasmosis in pregnancy. *European Journal Of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 255, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.10.003>
- Ajzenberg, D., Lamaury, I., Demar, M., Vautrin, C., Cabié, A., Simon, S., Nicolas, M., Desbois-Nogard, N., Boukhari, R., Riahi, H., Dardé, M. L., Massip, P., Dupon, M., Preux, P. M., Labrunie, A., & Boncoeur, M. P. (2016). Performance Testing of PCR Assay in Blood Samples for the Diagnosis of Toxoplasmic Encephalitis in AIDS Patients from the French Departments of America and Genetic Diversity of *Toxoplasma gondii*: A Prospective and Multicentric Study. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 10(6), e0004790. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004790>
- Akanmu, A. S., Osunkalu, V. O., Ofomah, J. N., & Olowoselu, F. O. (2010). Pattern of demographic risk factors in the seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in HIV infected patients at the Lagos University Teaching Hospital. *Nigerian Quarterly Journal of Hospital Medicine*, 20(1), 1-4.
- Alver, O., Payaslıoğlu, A. M., & Sağlık, İ. (2021). Son İki Yılda (2017-2018) Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Görülen *Toxoplasma gondii* Serolojik Prevalansı. *Turkiye Parazitolojisi Dergisi*, 45(4), 257-61.
- Ammassari, A., Murri, R., Cingolani, A., De Luca, A., & Antinori, A. (1996). AIDS-associated cerebral toxoplasmosis: an update on diagnosis and treatment. *Current Topics In Microbiology and Immunology*, 219, 209–222. https://doi.org/10.1007/978-3-642-51014-4_19
- Arefkhah, N., Sarkari, B., Afrashteh, M., Rezaei, Z., & Dehghani, M. (2018). *Toxoplasma gondii*: the prevalence and risk factors in HIV-infected patients in Fars province, southern Iran. *Iran Red Crescent Med J*, 20(6), e66521.
- Ashburn, D., Joss, A. W., Pennington, T. H., & Ho-Yen, D. O. (1998). Do IgA, IgE, and IgG avidity tests have any value in the diagnosis of toxoplasma infection in pregnancy?. *Journal of Clinical Pathology*, 51(4), 312–315. <https://doi.org/10.1136/jcp.51.4.312>
- Attias, M., Teixeira, D. E., Benchimol, M., Vommaro, R. C., Crepaldi, P. H., & De Souza, W. (2020). The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. *Parasites & vectors*, 13(1), 588. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04445-z>
- Aydın, Ö. A., Karaosmanoğlu, H. K., Korkusuz, R., & Nazlıcan, Ö. (2011). HIV/AIDS hastalarında *Toxoplasma gondii* IgG seroprevalansı. *Turkiye Parazitolojisi Dergisi*, 35, 65-7.
- Azovtseva, O. V., Viktorova, E. A., Bakulina, E. G., Shelomov, A. S., & Trofimova, T. N. (2020). Cerebral toxoplasmosis in HIV-infected patients over 2015-2018 (a

- case study of Russia). *Epidemiology and Infection*, 148, e142. <https://doi.org/10.1017/S0950268820000928>
- Basavaraju A. (2016). Toxoplasmosis in HIV infection: An overview. *Tropical Parasitology*, 6(2), 129–135. <https://doi.org/10.4103/2229-5070.190817>
- Bavand, A., Aghakhani, A., Mohraz, M., Banifazl, M., Karami, A., Golkar, M., Babaie, J., Saleh, P., Mamishi, S., & Ramezani, A. (2019). Prevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies and DNA in Iranian HIV Patients. *Iranian Journal Of Pathology*, 14(1), 68–75. <https://doi.org/10.30699/IJP.14.1.68>
- Beder, D., & Esenkaya Taşbent, F. (2020). General Features and Laboratory Diagnosis of *Toxoplasma gondii* Infection. *Turkiye Parazitolojii Dergisi*, 44(2), 94–101. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2020.6634>
- 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>
- Berger, F., Goulet, V., Le Strat, Y., & Desenclos, J. C. (2009). Toxoplasmosis among pregnant women in France: risk factors and change of prevalence between 1995 and 2003. *Revue d'epidemiologie et de sante publique*, 57(4), 241–248.
- Bhaskar, R. (2005). Seronegative central nervous system toxoplasmosis in HIV/AIDS. *Internet J Intern Med*, 5(2), 9.
- Birleşmiş Milletler Ortak HIV/AIDS Programı [UNAIDS], 2022 Erişim Adresi: <https://www.unaids.org/en>
- Bondarenko, A. V., Katsapov, D. V., Gavrylov, A. V., Didova, T. V., & Nahorny, I. A. (2020). Immunodiagnosics of cerebral toxoplasmosis depending on permeability of blood-brain barrier. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*, 73(2), 285–288.
- Borkakoty, B., Biswas, D., Jakharia, A., & Mahanta, J. (2016). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Among Pregnant Women in Northeast India. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 64(10), 24–28.
- Borkens, Y. (2021). *Toxoplasma gondii*–gegenwärtige Arzneimittel und zukünftige Impfstoffe gegen eine unterschätzte Protozoonose. *Der Internist*, 62(10), 1123–1132.
- Boulougoura, A., & Sereti, I. (2016). HIV infection and immune activation: the role of coinfections. *Current opinion in HIV and AIDS*, 11(2), 191–200. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000241>
- Brown, C. R., Hunter, C. A., Estes, R. G., Beckmann, E., Forman, J., David, C., Remington, J. S., & McLeod, R. (1995). Definitive identification of a gene that confers resistance against *Toxoplasma* cyst burden and encephalitis. *Immunology*, 85(3), 419–428.
- Butler, N. J., Furtado, J. M., Winthrop, K. L., & Smith, J. R. (2013). Ocular toxoplasmosis II: clinical features, pathology and management. *Clinical & experimental ophthalmology*, 41(1), 95–108. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.2012.02838.x>
- Canene-Adams K. (2013). General PCR. *Methods in enzymology*, 529, 291–298. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418687-3.00024-0>
- Colombo, F. A., Vidal, J. E., Penalva de Oliveira, A. C., Hernandez, A. V., Bonasser-Filho, F., Nogueira, R. S., Focaccia, R., & Pereira-Chiocola, V. L. (2005). Diagnosis of cerebral toxoplasmosis in AIDS patients in Brazil: importance of

- molecular and immunological methods using peripheral blood samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(10), 5044–5047. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.10.5044-5047.2005>
- Cooper, D. A., Tindall, B., Wilson, E. J., Imrie, A. A., & Penny, R. (1988). Characterization of T lymphocyte responses during primary infection with human immunodeficiency virus. *The Journal of Infectious Diseases*, 157(5), 889–896. <https://doi.org/10.1093/infdis/157.5.889>
- Crowell, T. A., Colby, D. J., Pinyakorn, S., Fletcher, J., Kroon, E., Schuetz, A., Krebs, S. J., Slike, B. M., Leyre, L., Chomont, N., Jagodzinski, L. L., Sereti, I., Utay, N. S., Dewar, R., Rerknimitr, R., Chomchey, N., Trichavaroj, R., Valcour, V. G., Spudich, S., Michael, N. L., ... RV254/SEARCH010 Study Group (2018). Acute Retroviral Syndrome Is Associated With High Viral Burden, CD4 Depletion, and Immune Activation in Systemic and Tissue Compartments. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 66(10), 1540–1549. <https://doi.org/10.1093/cid/cix1063>
- Daryani, A., Sharif, M., & Meigouni, M. (2011). Seroprevalence of IgG and IgM anti-Toxoplasma antibodies in HIV/AIDS patients, northern Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(4), 271–274. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60084-9](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60084-9)
- De Cock, K. M., Jaffe, H. W., & Curran, J. W. (2021). Reflections on 40 Years of AIDS. *Emerging Infectious Diseases*, 27(6), 1553–1560. <https://doi.org/10.3201/eid2706.210284>
- Deeks, S. G., Overbaugh, J., Phillips, A., & Buchbinder, S. (2015). HIV infection. *Nature reviews. Disease primers*, 1, 15035. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.35>
- Dobrowolski, J. M., & Sibley, L. D. (1996). Toxoplasma invasion of mammalian cells is powered by the actin cytoskeleton of the parasite. *Cell*, 84(6), 933–939. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81071-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81071-5)
- Dubey J. P. (2008). The history of Toxoplasma gondii--the first 100 years. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 55(6), 467–475. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2008.00345.x>
- Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of Toxoplasma gondii tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev*. 1998 Apr;11(2):267-99. doi: 10.1128/CMR.11.2.267. PMID: 9564564; PMCID: PMC106833.
- Dubey, J.P. (2009). *Toxoplasmosis of Animals and Humans* (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420092370>
- Duette, G., Pereyra Gerber, P., Rubione, J., Perez, P. S., Landay, A. L., Crowe, S. M., Liao, Z., Witwer, K. W., Holgado, M. P., Salido, J., Geffner, J., Sued, O., Palmer, C. S., & Ostrowski, M. (2018). Induction of HIF-1 α by HIV-1 Infection in CD4⁺ T Cells Promotes Viral Replication and Drives Extracellular Vesicle-Mediated Inflammation. *mBio*, 9(5), e00757-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.00757-18>
- Dumètre, A., Dubey, J. P., Ferguson, D. J., Bongrand, P., Azas, N., & Puech, P. H. (2013). Mechanics of the Toxoplasma gondii oocyst wall. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(28), 11535–11540. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308425110>

- Eisinger, R. W., & Fauci, A. S. (2018). Ending the HIV/AIDS Pandemic. *Emerging Infectious Diseases*, 24(3), 413–416. <https://doi.org/10.3201/eid2403.171797>
- Ergen, P., Yilmaz-Karadağ, F., & Aydın, Ö. (2020). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in HIV-infected patients admitted to a university hospital. *Journal of Health Sciences and Medicine*, 3(4), 372-376.
- Espy, M. J., Uhl, J. R., Sloan, L. M., Buckwalter, S. P., Jones, M. F., Vetter, E. A., Yao, J. D., Wengenack, N. L., Rosenblatt, J. E., Cockerill, F. R., 3rd, & Smith, T. F. (2006). Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 165–256. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.1.165-256.2006>
- Falusi, O., French, A. L., Seaberg, E. C., Tien, P. C., Watts, D. H., Minkoff, H., Piessens, E., Kovacs, A., Anastos, K., & Cohen, M. H. (2002). Prevalence and predictors of *Toxoplasma* seropositivity in women with and at risk for human immunodeficiency virus infection. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 35(11), 1414–1417. <https://doi.org/10.1086/344462>
- Farhadi, A., Haniloo, A., Fazaeli, A., Moradian, S., & Farhadi, M. (2017). PCR-based Diagnosis of *Toxoplasma* Parasite in Ocular Infections Having Clinical Indications of Toxoplasmosis. *Iranian Journal of Parasitology*, 12(1), 56–62.4.
- Fernández-Escobar, M., Schares, G., Maksimov, P., Joeres, M., Ortega-Mora, L. M., & Calero-Bernal, R. (2022). *Toxoplasma gondii* Genotyping: A Closer Look Into Europe. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 842595. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.842595>
- Filiseti, D., Sterkers, Y., Brenier-Pinchart, M. P., Cassaing, S., Dalle, F., Delhaes, L., Pelloux, H., Touafek, F., Varlet-Marie, E., Yera, H., Candolfi, E., & 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>
- Freppel, W., Ferguson, D. J. P., Shapiro, K., Dubey, J. P., Puech, P. H., & Dumètre, A. (2018). Structure, composition, and roles of the *Toxoplasma gondii* oocyst and sporocyst walls. *Cell surface (Amsterdam, Netherlands)*, 5, 100016. <https://doi.org/10.1016/j.tcs.2018.100016>
- Ganser-Pornillos, B. K., Yeager, M., & Pornillos, O. (2012). Assembly and architecture of HIV. *Advances in experimental medicine and biology*, 726, 441–465. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0980-9_20
- Garibyan, L., & Avashia, N. (2013). Polymerase chain reaction. *The Journal of Investigative Dermatology*, 133(3), 1–4. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.1>
- Gashout, A., Amro, A., Erhuma, M., Al-Dwibe, H., Elmaihub, E., Babba, H., Nattah, N., & Abudher, A. (2016). Molecular diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in Libya. *BMC infectious diseases*, 16, 157. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1491-5>
- Góngora-Biachi, R. A., González-Martínez, P., Castro-Sansores, C., Alvarez-Moguel, R., Pavía-Ruz, N., Lara-Perera, D., Alonzo-Salomón, G., & Palacios-Pérez, E. (1998). Anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en pacientes con VIH en Yucatán [Antibodies against *Toxoplasma gondii* in patients with HIV in

- Yucatan]. *Revista de investigacion clinica; organo del Hospital de Enfermedades de la Nutricion*, 50(5), 419–422.
- Greigert, V., Pfaff, A. W., Sauer, A., Filisetti, D., Candolfi, E., & Villard, O. (2019). Biological Diagnosis of Ocular Toxoplasmosis: a Nine-Year Retrospective Observational Study. *mSphere*, 4(5), e00636-19. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00636-19>
- Günel, T. (2007). Gen anlatımının kantitatif analizi “Real-Time PCR”. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 27, 763-767.
- Halonen, S. K., & Weiss, L. M. (2013). Toxoplasmosis. *Handbook of clinical neurology*, 114, 125–145. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53490-3.00008-X>
- Hill, D. E., Chirukandoth, S., & Dubey, J. P. (2005). Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Animal Health Research Reviews*, 6(1), 41–61. <https://doi.org/10.1079/ahr2005100>
- Homan, W. L., Vercammen, M., De Braekeleer, J., & Verschueren, 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. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(99\)00170-8](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(99)00170-8)
- Howe, D. K., Summers, B. C., & Sibley, L. D. (1996). Acute virulence in mice is associated with markers on chromosome VIII in *Toxoplasma gondii*. *Infection and Immunity*, 64(12), 5193–5198. <https://doi.org/10.1128/iai.64.12.5193-5198.1996>
- International Committee on Taxonomy of Viruses [ICTV], 2022 Erişim adresi: <https://talk.ictvonline.org/>
- Jones, J. L., Kruszon-Moran, D., Wilson, M., McQuillan, G., Navin, T., & McAuley, J. B. (2001). *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *American Journal of Epidemiology*, 154(4), 357-365.
- Joseph, P., Calderón, M. M., Gilman, R. H., Quispe, M. L., Cok, J., Ticona, E., Chavez, V., Jimenez, J. A., Chang, M. C., Lopez, M. J., & Evans, C. A. (2002). Optimization and evaluation of a PCR assay for detecting toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(12), 4499–4503. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.12.4499-4503.2002>
- Karakavuk, M., Hüseyin, C. A. N., Döşkaya, A. D., Gürüz, A., & Döşkaya, M. (2022). Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Toksoplazmozis Sıklığının Real-Time PZR ile Belirlenmesi. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, 8(1), 217-223.
- Kared, H., Lelièvre, J. D., Donkova-Petrini, V., Aouba, A., Melica, G., Balbo, M., Weiss, L., & Lévy, Y. (2008). HIV-specific regulatory T cells are associated with higher CD4 cell counts in primary infection. *AIDS (London, England)*, 22(18), 2451-2460. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328319edc0>
- Kato K. (2018). How does *Toxoplasma gondii* invade host cells?. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 80(11), 1702–1706. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0344>
- Kennerman, E., Kaya, G., Gazyağcı, S., Babür, C., & Kılıç, S. (2006). Bursa Bölgesindeki sığırlarda toxoplasmosisin serolojik tanısı ve anti-toxoplasma gondii antikor seroprevalansının belirlenmesi. *Vet. Bil. Derg.* (2006), 22, 1-2: 45-49.

- Klein, S. L. (2000). The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(6), 627-638.
- Konradt, C., Ueno, N., Christian, D. A., DeLong, J. H., Pritchard, G. H., Herz, J., Bzik, D. J., Koshy, A. A., McGavern, D. B., Lodoen, M. B., & Hunter, C. A. (2016). Endothelial cells are a replicative niche for entry of *Toxoplasma gondii* to the central nervous system. *Nature Microbiology*, 1, 16001. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.1>
- Liu, Q., Wang, Z. D., Huang, S. Y., & Zhu, X. Q. (2015). Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasites & vectors*, 8, 292. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0902-6>
- Lorenzi, H., Khan, A., Behnke, M. S., Namasivayam, S., Swapna, L. S., Hadjithomas, M., Karamycheva, S., Pinney, D., Brunk, B. P., Ajioka, J. W., Ajzenberg, D., Boothroyd, J. C., Boyle, J. P., Dardé, M. L., Diaz-Miranda, M. A., Dubey, J. P., Fritz, H. M., Gennari, S. M., Gregory, B. D., Kim, K., ... Sibley, L. D. (2016). Local admixture of amplified and diversified secreted pathogenesis determinants shapes mosaic *Toxoplasma gondii* genomes. *Nature communications*, 7, 10147. <https://doi.org/10.1038/ncomms10147>
- Luft, B. J., & Remington, J. S. (1992). Toxoplasmic encephalitis in AIDS. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 15(2), 211–222. <https://doi.org/10.1093/clinids/15.2.211>
- Luma, H. N., Tchaleu, B. C., Mapoure, Y. N., Temfack, E., Doualla, M. S., Halle, M. P., Joko, H. A., & Koulla-Shiro, S. (2013). *Toxoplasma* encephalitis in HIV/AIDS patients admitted to the Douala general hospital between 2004 and 2009: a cross sectional study. *BMC research notes*, 6, 146. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-6-146>
- Manzardo, C., Guardo, A. C., Letang, E., Plana, M., Gatell, J. M., & Miro, J. M. (2015). Opportunistic infections and immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-1-infected adults in the combined antiretroviral therapy era: a comprehensive review. *Expert review of anti-infective therapy*, 13(6), 751–767. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1029917>
- Mayoral, J., Di Cristina, M., Carruthers, V. B., & Weiss, L. M. (2020). *Toxoplasma gondii*: Bradyzoite Differentiation In Vitro and In Vivo. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 2071, 269–282. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9857-9_15
- McLaren, P. J., & Fellay, J. (2021). HIV-1 and human genetic variation. *Nature reviews. Genetics*, 22(10), 645–657. <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00378-0>
- Mendez, O. A., & Koshy, A. A. (2017). *Toxoplasma gondii*: Entry, association, and physiological influence on the central nervous system. *PLoS pathogens*, 13(7), e1006351. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006351>
- Mohraz, M., Mehrkhani, F., Jam, S., SeyedAlinaghi, S., Sabzvari, D., Fattahi, F., Jabbari, H., & Hajiabdolbaghi, M. (2011). Seroprevalence of toxoplasmosis in HIV(+)/AIDS patients in Iran. *Acta Medica Iranica*, 49(4), 213–218.
- Molina, J. M., Welker, Y., Ferchal, F., Decazes, J. M., Shenmetzler, C., & Modaï, J. (1992). Hepatitis associated with primary HIV infection. *Gastroenterology*, 102(2), 739. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(92\)90138-o](https://doi.org/10.1016/0016-5085(92)90138-o)

- Montoya, J. G., & Liesenfeld, O. (2004). Toxoplasmosis. *Lancet (London, England)*, 363(9425), 1965–1976. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16412-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16412-X)
- Montoya, J. G., Liesenfeld, O., Kinney, S., Press, C., & Remington, J. S. (2002). VIDAS test for avidity of Toxoplasma-specific immunoglobulin G for confirmatory testing of pregnant women. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(7), 2504–2508. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.7.2504-2508.2002>
- Mousavi, P., Mirhendi, H., Mohebali, M., Shojaee, S., Keshavarz Valian, H., Fallahi, S., & Mamishi, S. (2018). Detection of *Toxoplasma gondii* in Acute and Chronic Phases of Infection in Immunocompromised Patients and Pregnant Women with Real-time PCR Assay Using TaqMan Fluorescent Probe. *Iranian Journal of Parasitology*, 13(3), 373–381.
- National Center for Biotechnology Information [NCBI], National Library of Medicine [NIH], (2022) Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/>
- Nazari, N., Bozorgomid, A., Janbakhsh, A., & Bashiri, F. (2018). Toxoplasma gondii and human immunodeficiency virus co-infection in western Iran: A cross sectional study. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 11(1), 58.
- Ngobeni, R., & Samie, A. (2017). PREVALENCE OF *TOXOPLASMA GONDII* IGG AND IGM AND ASSOCIATED RISK FACTORS AMONG HIV-POSITIVE AND HIV-NEGATIVE PATIENTS IN VHEMBE DISTRICT OF SOUTH AFRICA. *African Journal of Infectious Diseases*, 11(2), 1–9. <https://doi.org/10.21010/ajid.v11i2.1>
- Nissapatorn, V., Lee, C. K. C., Lim, Y. A. L., Tan, K. S., Jamaiah, I., Rohela, M., ... & Khairul Anuar, A. (2010). Toxoplasmosis: a silent opportunistic disease in HIV/AIDS patients. *Research Journal of Parasitology*, 5(4), 258-266.
- Pappas, G., Roussos, N., & Falagas, M. E. (2009). Toxoplasmosis snapshots: global status of Toxoplasma gondii seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *International Journal for Parasitology*, 39(12), 1385–1394. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.04.003>
- Pappoe, F., Cheng, W., Wang, L., Li, Y., Obiri-Yeboah, D., Nuvor, S. V., Ambachew, H., Hu, X., Luo, Q., Chu, D., Xu, Y., & Shen, J. (2017). Prevalence of Toxoplasma gondii infection in HIV-infected patients and food animals and direct genotyping of *T. gondii* isolates, Southern Ghana. *Parasitology research*, 116(6), 1675–1685. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5442->
- Paquet, C., & Yudin, M. H. (2018). No. 285-Toxoplasmosis in Pregnancy: Prevention, Screening, and Treatment. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada : JOGC = Journal D'obstetrique et Gynecologie du Canada: JOGC*, 40(8), e687–e693. <https://doi.org/10.1016/j.jogc.2018.05.036>
- Pawelczyk, A., Bednarska, M., Caraballo Cortés, K., Glamkowska-Sady, M., Kowalska, J., Uszyńska-Kałuża, B., Radkowski, M., & Welc-Fałęciak, R. (2022). Seronegative Infection with *Toxoplasma gondii* in Asymptomatic Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1)-Infected Patients and in Blood Donors. *Journal of Clinical Medicine*, 11(3), 638. <https://doi.org/10.3390/jcm11030638>
- Pinto-Ferreira, F., Caldart, E. T., Pasquali, A., Mitsuka-Breganó, R., Freire, R. L., & Navarro, I. T. (2019). Patterns of Transmission and Sources of Infection in Outbreaks of Human Toxoplasmosis. *Emerging Infectious Diseases*, 25(12), 2177–2182. <https://doi.org/10.3201/eid2512.181565>

- Pleyer, U., Gross, U., Schlüter, D., Wilking, H., & Seeber, F. (2019). Toxoplasmosis in Germany. *Deutsches Arzteblatt International*, 116(25), 435–444. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2019.0435>
- Procop G. W. (2017). HIV and mycobacteria. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 34(4), 332–339. <https://doi.org/10.1053/j.semmp.2017.04.006>
- Rahimi-Esboei, B., Zarei, M., Mohebal, M., Valian, H. K., Shojaee, S., Mahmoudzadeh, R., & Salabati, M. (2018). Serologic Tests of IgG and IgM Antibodies and IgG Avidity for Diagnosis of Ocular Toxoplasmosis. *The Korean Journal of Parasitology*, 56(2), 147–152. <https://doi.org/10.3347/kjp.2018.56.2.147>
- Ramdas, P., Sahu, A. K., Mishra, T., Bhardwaj, V., & Chande, A. (2020). From Entry to Egress: Strategic Exploitation of the Cellular Processes by HIV-1. *Frontiers in Microbiology*, 11, 559792. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.559792>
- Rasheed, SP, Aiswarya, PJ, Basheer, A., Arshida, TP, Basila, P., TE, FR, & Abdu, RA (2021). Anti-HIV Fito-bileşenlerinin Ortaya Çıkışı. *Asya Eczacılık ve Sağlık Bilimleri Dergisi*, 11 (3).
- Reischl, U., Bretagne, S., Krüger, D., Ernault, P., & Costa, J. M. (2003). Comparison of two DNA targets for the diagnosis of Toxoplasmosis by real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes. *BMC Infectious Diseases*, 3, 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-3-7>
- Rizzardi, G. P., Tambussi, G., & Lazzarin, A. (1997). Acute pancreatitis during primary HIV-1 infection. *The New England Journal of Medicine*, 336(25), 1836–1837. <https://doi.org/10.1056/NEJM199706193362516>
- Robb, M. L., Eller, L. A., Kibuuka, H., Rono, K., Maganga, L., Nitayaphan, S., Kroon, E., Sawe, F. K., Sinei, S., Sriplienchan, S., Jagodzinski, L. L., Malia, J., Manak, M., de Souza, M. S., Tovanabutra, S., Sanders-Buell, E., Rolland, M., Dorsey-Spitz, J., Eller, M. A., Milazzo, M., ... RV 217 Study Team (2016). Prospective Study of Acute HIV-1 Infection in Adults in East Africa and Thailand. *The New England Journal of Medicine*, 374(22), 2120–2130. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1508952>
- Robert-Gangneux, F., & Belaz, S. (2016). Molecular diagnosis of toxoplasmosis in immunocompromised patients. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 29(4), 330–339. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000275>
- 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>
- Roberts, C. W., Walker, W., & Alexander, J. (2001). Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(3), 476–488.
- Rocha, A. J., Monteiro-Júnior, J. E., Freire, J. E., Sousa, A. J., & Fonteles, C. S. (2015). Real time PCR: the use of reference genes and essential rules required to obtain normalisation data reliable to quantitative gene expression. *Journal of Molecular Biology Research*, 5(1), 45.
- Rojas-Celis, V., Valiente-Echeverría, F., Soto-Rifo, R., & Toro-Ascuy, D. (2019). New Challenges of HIV-1 Infection: How HIV-1 Attacks and Resides in the Central Nervous System. *Cells*, 8(10), 1245. <https://doi.org/10.3390/cells8101245>
- S Al-Malki E. (2021). Toxoplasmosis: stages of the protozoan life cycle and risk assessment in humans and animals for an enhanced awareness and an improved

- socio-economic status. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 962–969. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.007>
- Samuelson, J., Bushkin, G. G., Chatterjee, A., & Robbins, P. W. (2013). Strategies to discover the structural components of cyst and oocyst walls. *Eukaryotic cell*, 12(12), 1578–1587. <https://doi.org/10.1128/EC.00213-13>
- Sanchez, S. G., & Besteiro, S. (2021). The pathogenicity and virulence of *Toxoplasma gondii*. *Virulence*, 12(1), 3095–3114. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.2012346>
- Severance, E. G., Xiao, J., Jones-Brando, L., Sabunciyan, S., Li, Y., Pletnikov, M., Prandovszky, E., & Yolken, R. (2016). Toxoplasma gondii-A Gastrointestinal Pathogen Associated with Human Brain Diseases. *International Review of Neurobiology*, 131, 143–163. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2016.08.008>
- Shen, G., Wang, X., Sun, H., & Gao, Y. (2016). Seroprevalence of Toxoplasma gondii Infection among HIV/AIDS Patients in Eastern China. *The Korean Journal of Parasitology*, 54(1), 93–96. <https://doi.org/10.3347/kjp.2016.54.1.93>
- Shimelis, T., Tebeje, M., Tadesse, E., Tegbaru, B., & Terefe, A. (2009). Sero-prevalence of latent Toxoplasma gondii infection among HIV-infected and HIV-uninfected people in Addis Ababa, Ethiopia: A comparative cross-sectional study. *BMC research notes*, 2, 213. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-2-213>
- Singh, C., & Roy-Chowdhuri, S. (2016). Quantitative Real-Time PCR: Recent Advances. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1392, 161–176. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3360-0_15
- Storchilo, H. R., Teixeira, G. M., Moreira, A., Gomes, T. C., Borges, C. L., & de Castro, A. M. (2021). Identification of Biomarkers for Diagnosis and Prognosis of Congenital and Acute Toxoplasmosis. *The Journal of Infectious Diseases*, 223(11), 1965–1972. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa613>
- Studeníčová, C., Benčaiová, G., & Holková, R. (2006). Seroprevalence of Toxoplasma gondii antibodies in a healthy population from Slovakia. *European Journal of Internal Medicine*, 17(7), 470-473.
- Szewczyk-Golec, K., Pawłowska, M., Wesołowski, R., Wróblewski, M., & Mila-Kierzenkowska, C. (2021). Oxidative Stress as a Possible Target in the Treatment of Toxoplasmosis: Perspectives and Ambiguities. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5705. <https://doi.org/10.3390/ijms22115705>
- Şenoğlu, S., Yeşilbağ, Z., Aydın, Ö. A., Kumbasar, H., & Karaosmanoğlu, K. K. Y. (2018). HIV/AIDS Hastalarında Toxoplasma gondii IgG Seroprevalansı. *Türkiye Parazitol Derg*, 42(3), 175-9.
- Şimşek, S., Ütük, A. E., Babür, C., & Köroğlu, E. (2006). Kocaeli yöresi köpeklerinde Toxoplasma gondii seroprevalansı. *Türkiye Parazitol Derg*, 30(3), 171-174.
- Tomasina, R., & Francia, M. E. (2020). The Structural and Molecular Underpinnings of Gametogenesis in *Toxoplasma gondii*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 608291. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.608291>
- Turner, B. G., & Summers, M. F. (1999). Structural biology of HIV. *Journal of Molecular Biology*, 285(1), 1–32. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.2354>
- Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Bulaşıcı Hastalıklar ve Erken Uyarı Dairesi Başkanlığı, HIV-AIDS İstatistik, 2022.
- Walle, F., Kebede, N., Tsegaye, A., & Kassa, T. (2013). Seroprevalence and risk factors for Toxoplasmosis in HIV infected and non-infected individuals in Bahir Dar,

- Northwest Ethiopia. *Parasites & vectors*, 6(1), 15.
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-15>
- Waters, D. L., & Shapter, F. M. (2014). The polymerase chain reaction (PCR): general methods. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1099, 65–75.
https://doi.org/10.1007/978-1-62703-715-0_7
- Xia, J., Venkat, A., Bainbridge, R. E., Reese, M. L., Le Roch, K. G., Ay, F., & Boyle, J. P. (2021). Third-generation sequencing revises the molecular karyotype for *Toxoplasma gondii* and identifies emerging copy number variants in sexual recombinants. *Genome research*, 31(5), 834–851.
<https://doi.org/10.1101/gr.262816.120>
- Xiao, T., Cai, Y., & Chen, B. (2021). HIV-1 Entry and Membrane Fusion Inhibitors. *Viruses*, 13(5), 735. <https://doi.org/10.3390/v13050735>
- Yohanes, T., Debalke, S., & Zemene, E. (2014). Latent *Toxoplasma gondii* infection and associated risk factors among HIV-infected individuals at Arba Minch Hospital, South Ethiopia. *AIDS Research and Treatment*, 2014.
- Yoo, M., Wang, J. S., Park, S. J., Cha, J. O., Jung, Y., Chung, Y. S., Han, M. G., Choi, B. S., Kim, S. S., & Kee, M. K. (2022). Characteristics of recent HIV infection among individuals newly diagnosed as HIV-positive in South Korea (2008-2015). *Scientific Reports*, 12(1), 10515. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13953-0>
- Zhang, Y. B., Cong, W., Li, Z. T., Bi, X. G., Xian, Y., Wang, Y. H., Zhu, X. Q., & Zhang, K. X. (2015). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Patients of Intensive Care Unit in China: A Hospital Based Study. *Biomed Research International*, 2015, 908217. <https://doi.org/10.1155/2015/908217>

8. SİMGE VE KISALTMALAR

- µl:** Mikrolitre
µm: Mikrometre
°C: Santigrat (Celcius) derece
Å: Armstrong
AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome, Edinsel Bağışıklık Eksikliği Sendromu
ART: Antiretroviral tedavi
BOS: Beyin omurilik sıvısı
CMV: Sitomegalovirüs
DNA: Deoksiribo nükleik asit
dNTP: Deoksi nükleotit fosfatlar
EBV: *Epstein-Barr* Virüs
EDTA: Etilen diamin tetraasetik asit
ELISA: Enzym-Linked Immunosorbent Assay
FRET: Floresan rezonans enerji transferi
GEB: Guanidin Etilendiamintetraasetik asit eklenmiş kan
GİS: Gastrointestinal sistem
HIV: Human Immunodeficiency Virus, İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HSV: *Herpes simplex* Virüs
ICTV: International Committee on Taxonomy of Viruses, Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi
IEC: İnternal Ekstraksiyon Kontrolü
IFAT: İndirekt Floresan Antikor
IFN gamma: İnterferon gamma
IgG: İmmünglobulin G
IgM: İmmünglobulin M
IL-12: İnterlökin-12
ISAGA: Immunorobent Agglutination Assay
KBB: Kan-beyin bariyeri
LAMP: Loop Aracılı İzotermal Amplifikasyon
ml: Mililitre
MRG: Manyetik rezonans görüntüleme
MSS: merkezi sinir sistemi
nm: Nanometre
OT: Oküler toksoplazmoz
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PJP: *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi
RFLP: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
rpm: Revolutions per Minute
TE: Toxoplasma ensefaliti
UDG-LAMP: Urasil DNA Glikozilaz Destekli Loop Aracılı İzotermal Amplifikasyon
UNAIDS: Birleşmiş Milletler Ortak HIV/AIDS Programı
UV: Ultraviyole
VZV: *Varisella zoster* Virüs
WB: Western Blot

8. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum, deneyim ve bilgilerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, tez danışmanım olarak tezimi hazırlama ve yazma aşamaları boyunca her türlü fedakarlığı gösteren saygıdeğer hocam Doç. Dr. Oktay ALVER'e,

Eğitimimde katkıları olan bölümümüz hocaları Prof. Dr. Beyza ENER'e, Prof. Dr. Cüneyt ÖZAKIN'a, Doç. Dr. İmran SAĞLIK'a, Prof. Dr. Harun AĞCA'ya, Doç. Dr. Melda PAYASLIOĞLU'na, Doç. Dr. Sevim AKÇAĞLAR'a, Uzm. Dr. Nazmiye Ülkü TÜZEMEN'e,

Projemizde bana çok katkıları olan, klinik anlamda bilgi ve birikimlerinden faydalandığım Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim dalı hocaları Prof. Dr. Halis AKALIN'a, Prof. Dr. Emel YILMAZ'a, Doç. Dr. Esra KAZAK'a, Doç. Dr. Yasemin Heper'e,

Hasta örneklerini toplamada bana yardımcı olan, Dr. Ayşe Sena ŞİŞMAN ve çalışma azmine her zaman hayran olduğum Enfeksiyon Hastalıkları Poliklinik sekreteri Nagihan Doyan'a,

Eğitim hayatım boyunca bilgi, birikim, deneyimlerimden faydalandığım bölümümüzün tüm teknikerlerine,

Her zaman yanımda olan, birbirimizi hep destekleyerek daha iyi yerlere taşıdığımız, beraber çalışmaktan keyif aldığım yüksek lisans arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, sabrını ve desteklerini benden hiç esirgemeyen, hayatım boyunca her kararımın arkasında olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma TGA-2022-765 nolu proje kapsamında Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir

Goncagül KIR
Bursa, 2023

9. ÖZGEÇMİŞ

2019 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi'nden mezun oldu. Aynı yıl Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı.