

Toxoplasma gondii'nin İnsan ve Hayvanlardaki Moleküler Modelleri

Molecular Models of Toxoplasma gondii in Humans and Animals

✉ Banuçiçek Yücesan

Çankırı Karatekin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Çankırı, Türkiye

Cite this article as: Yücesan B. Molecular Models of *Toxoplasma gondii* in Humans and Animals. Türkiye Parazit Derg. 2024;48(2):128-32.

ÖZ

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) oldukça karışık olan yapısı ile hekimleri ve veteriner hekimleri ilgilendiren, zorunlu hücre içinde bulunan, zoonotik protozoan bir parazittir. Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birini enfekte ettiği bilinmektedir. Zoonoz bir hastalık olması nedeniyle insan maruziyetini önlemek için, hayvan popülasyonunu da kontrol altında tutmak gerekir. *T. gondii* tespiti ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve tip 1, 2, 3'ten oluşan üç klonal grubu olduğu tespit edilmiştir. Moleküler çalışmalarda oluşan gelişmeler paraziter hastalıklarda da taksonominin değişmesini ve yeni gelişmelerin oluşumunu sağlamıştır. Tanı, tedavi, antiparaziter ilaçların geliştirilmesi ve direncinin araştırılmasına yardımcı olmuştur. Ayrıca paraziter hastalıkların aşı çalışmalarının, genetik tiplendirmesinin ve filogenetiğin araştırılmasına da sağlamıştır. Bugün yapılan konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), gerçek zamanlı PZR ve genotiplendirme çalışmaları *T. gondii* hakkındaki bilgilerimizi artırmaktadır. PZR'de en fazla *B1*, *SAG1*, *SAG2*, *GRA1*, *529-bp repeat element*, *OWP* genleri ve 18S rRNA'lar ve genotiplendirmede ise MS, MLST, PZR-RFLP, RAPD-PZR ve HRM gibi yöntemler kullanılmaktadır. Toxoplasmosis tek sağlık kavramı çerçevesinde yer alan ve ilgi çekmesi zorunlu, Dünya'da halen eradike edilememiş ve edilmesi için insan, hayvan ve ekosistem için ortak çalışmalara ihtiyaç duyan bir hastalıktır. Bu ancak disiplinlerarası gruplar kurup, sörveyans ve eğitim çalışmaları yaparak mümkün olabilir.

Anahtar Kelimeler: Moleküler çalışmalar, PZR, *Toxoplasma gondii*

ABSTRACT

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) is an obligate intracellular, zoonotic protozoan parasite of interest to physicians and veterinarians with its highly complex structure. It is known to infect about one-third of the world's population. Since it is a zoonotic disease, it is necessary to keep the animal population under control in order to prevent human exposure. Many studies have been conducted on the detection of *T. gondii* and it has been determined that there are three clonal groups consisting of types 1, 2, 3. Developments in molecular studies have led to changes in the taxonomy and new developments in parasitic diseases. It has helped in diagnosis, treatment, development of antiparasitic drugs and research on resistance. They also provided research on vaccine studies, genetic typing and phylogenetics of parasitic diseases. Conventional polymerase chain reaction (PCR), real-time PCR and genotyping studies conducted today increase our knowledge about *T. gondii*. Methods such as *B1*, *SAG1*, *SAG2*, *GRA1*, *529-bp repeat element*, *OWP* genes and 18S rRNAs are mostly used in PCR, and methods such as MS, MLST, PCR-RFLP, RAPD-PCR and HRM are used in genotyping. Toxoplasmosis is a disease that is within the framework of the concept of one health and must attract attention, has not yet been eradicated in the world and needs joint studies for humans, animals and ecosystems to be eradicated. This can only be possible by establishing interdisciplinary groups, conducting surveys and training.

Keywords: Molecular studies, PCR, *Toxoplasma gondii*

GİRİŞ

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) yaklaşık 120 yıldır bilinen, oldukça karışık olan yapısı ile hekimleri ve veteriner hekimleri ilgilendiren ve konu ile ilgili birçok çalışmayı bünyesinde barındıran protozoan bir parazittir. Günümüzde bu parazitin etiyolojisi,

morfoloji ve yaşam siklusu, immünitesi, korunma ve bulaş mekanizmaları, teşhis, tedavi ve aşılama çalışmaları ile ilgili yüzlerce çalışma yapılmış ve bilim dünyasının hizmetine sunulmuştur. *T. gondii* dünya nüfusunun yaklaşık %30'unu enfekte etmiştir (1,2). Sadece insanları değil, tüm sıcakkanlı ve bazı soğukkanlı hayvanları ve tüketimdeki su, gıda vb.'ni

Geliş Tarihi/Received: 25.09.2023 Kabul Tarihi/Accepted: 25.05.2024

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Banuçiçek Yücesan, Çankırı Karatekin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Çankırı, Türkiye
Tel/Phone: +90 536 322 65 94 E-Posta/E-mail: yucesanbanu@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-7051-3045



de enfekte edebilme potansiyeli olması nedeniyle, tek sağlık çerçevesinde değerlendirilmesi gereken zoonotik bir parazittir (3). Hücre içine yerleşebilen bu parazit, bulaş mekanizmalarının artması ve konakçı hücreden kaçabilme potansiyeli olan, komplike bir yapıya sahiptir. Parazitin hızlı üreyen formu olan takizoitlerinin, organizmanın savunma mekanizmalarından kaçabilmek adına uzun yıllar sessizce bekleyebilen formu olan, doku kisti ve bradizoit formuna dönüşebilmesi mümkündür (4). Bu yetenek parazitin komplike yapısını artırmaktadır. Felidea ailesinin fertlerinin ince barsaklarında, seksüel olarak çoğalıp gelişen ookist ise sporulasyondan sonra enfekte edebilme potansiyeli olan formudur (5,6).

Toxoplasmosis uzun yıllardır hekimlerin ve veteriner hekimlerin dikkatini çekmektedir. İmmünitesi sağlam kişilerde %90 oranında asemptomatik olarak seyreden *T. gondii*, son zamanlarda immün sistemi baskılanmış hastaların (AIDS, kanser ve immünoşüprese bazı ilaçları kullanan kişiler vb.) sayısının artışı ile parazit ile oluşan ciddi hastalıkların görülme potansiyelini de artırmıştır. Ayrıca konjenital toxoplasmosis, oküler toxoplasmosis ve parazitin reaktivasyon ile gelişimi ölümcül olabilecek komplikasyonlara yol açtığından, klinik olarak dikkat çeken bir parazittir (2). Bunun yanı sıra *T. gondii* ciddi ekonomik kayıpların ve düşüklüklerin oluşumu ile ülke ekonomisini etkileyebildiğinden veteriner hekimlerin de ilgi alanına girmiştir (7). Türkiye'de evcil hayvanlar ve vahşi hayata dair de birçok çalışma yürütülmüştür. Bunlarda *T. gondii* pozitiflik oranları araştırılmış ve ekonomik zararları tartışılmıştır (8). Zoonoz bir hastalık olması nedeniyle insan maruziyetini önlemek için hayvan popülasyonunu kontrol altında tutmak gerekir. Veteriner hekimler koyun sürülerinde düşük yapmayı önleyici antiparaziter aşı bulmuştur. Ancak tüm çabalara rağmen insanlarda tam olarak bir aşı geliştirilememiştir (7).

Toxoplasma gondii için Moleküler Çalışmalar

T. gondii enfeksiyonunda etkenin saptanmasına yönelik birçok yöntem vardır. Tanıda kullanılan bu yöntemlere ait antijen ve/veya antikorlar Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. *Toxoplasma gondii* serolojik testleri, antijen ve antikorları (9)

Serolojik metotlar	Kullanılan antijen/antikorlar	Test edilen antijen/antikorlar
DT	Canlı takizoit	IgG, IgM, IgA
MAT	Formalin-fikse edilmiş takizoitler	IgG
IFAT	Tamamı ölü takizoitler	IgG, IgM
IHA	Soluble antijenler ile kaplanmış eritrositler	IgG
ELISA	Takizoit lizat antijen, rekombinant antijen veya spesifik antikorlar	IgG, IgM, IgA, antijenler
ISAGA	Anti-human IgM antikorları	IgM
LAT	Soluble antijenler ile kaplanmış lateks partikülleri	IgG, IgM
WB	Takizoit lizat antijen, rekombinant antijen	IgG, IgM
Avidite testi	Takizoit lizat antijen, rekombinant antijen	IgG, IgE, IgA

Bu serolojik metotlar, oldukça zor olsa da, özellikle hamile kadınlarda ve düşük durumlarında yorumlanması zaruri durumlardır. Fetüsün enfekte olup olmadığı kararını vermek tedaviye başlamak için son derece önemlidir. Şüpheli durumlarda amniyotik sıvıda polimeraz zincir reaksiyon (PZR) analizleri gerçekleştirilmeli ve kesin tanı konmalıdır. Ancak amniyotik sıvıdan örnek alma işlemi fetüs için oldukça riskli bir konudur ve insanlarda 18. gebelik haftasında veya daha sonra gerçekleştirilmesi önerilir. PZR analizleri tanı koyma ve paraziti tanımlama yöntemlerinde yardımcı olmaktadır (2).

Yapılan diğer PZR çalışmaları sonucu Kuzey Amerika ve Avrupa'da görülen *T. gondii* suşları, üç gruptur. Bunlar tip 1, 2 ve 3'tür. Ayrıca Multilokus RFLP analiz tekniği ile de bu üç klonal grup bulunmuştur (10). Son araştırmalar, Güney Amerika'da tespit edilen suşlarının ise genetik olarak farklı olduğunu ortaya koymuştur. İnsan enfeksiyonlarında (Kuzey Amerika ve Avrupa) ve tarım hayvanlarında tip 2 suşların yaygın olduğu görülmüştür. Tip 1; insanlarda nadirdir ve özellikle farelerde yüksek oranda virülansa sahiptir. Tip 2; farelerin daha az etkilendiği, çoklukla insan, koyun ve domuzlardan elde edilen ve kiste dönüşümü oldukça kolay olduğu bir suştur. Tip 3; rekombinant veya sıra dışı aleller ile belirlenen tiptir. Sıklıkla vahşi hayvanlarda ve insanda sıra dışı olarak izole edilen bir suştur (11). Tip 1 dünya çapında nadirdir. Tip 2 ve tip 3 suşları Brezilya (nadir) dışında dünya çapında yaygındır. Son çalışmalar atipik suşları 4. klonal grup olarak tanımlamıştır. Atipik suşlardan biri olan Afrika 1 suşu ise Sahraaltı bölgelerden gelen insanlarda tanımlanmıştır (12).

Son 30 yılda moleküler çalışmalar hızla artmıştır (13). Özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek yöntemlerin ortaya çıkması ile tanısal yaklaşımlar güçlenmiştir. Tanı, tedavi, antiparaziter ilaçların geliştirilmesi ve direncinin araştırılmasına yardımcı olmuştur. Ayrıca paraziter hastalıkların aşı çalışmalarının, genetik tiplendirmesinin ve filogenetiğin araştırılmasını da sağlamıştır (14). Her ne kadar çoklukla kullanılsa da, geleneksel yöntemler sınırlı tanı yöntemleridir. Moleküler yöntemler artık bu konuda tanımlama testleri olarak kullanılmaya başlamıştır (15).

Konvansiyonel PZR yüksek sensitiviteye sahip bir yöntemdir. *T. gondii*'nin PZR ile belirlenmesinde en sık B1 (majör yüzey antijeni) gen bölgesi kullanılır (16). *T. gondii*'nin tanımlanmasında SAG1, surface antigen of *T. gondii* (SAG2), 529 bp repeat element, internal transcriber spacer (ITS-1), 18S rDNA, dense granule protein 1 (GRA1) gibi gen dizileri kullanılabilir. B1 geninden daha hassas olan 529 bp repeat element, daha az hassas ise ITS-1 ve 18S rDNA'dır (Tablo 2) (17).

Gerçek zamanlı PZR DNA'nın çoğaltılması ve görüntülenmesinde floresan işaretli prob ve boyalar (SYBR Green 1, Etidyum bromid) kullanılan bir yöntemdir. Toxoplasmosisin tedavisinin hangi boyutlarda olduğu ve hastalığın takibi açısından moleküler yöntemlerin ilerlemesi ve kullanılması oldukça önemlidir. Bu yöntemler ile *T. gondii* DNA'sı kanda, amniyotik sıvıda ve beyin omurilik sıvısında bulunabilmektedir (18).

PZR yöntemleri çevresel numunelerde de enfeksiyon yayılımı açısından önemlidir. Sadece su banyosu ve ısı bloğu gibi ucuz malzemeler ile gerçekleştirilen LAMP alternatif bir yöntemdir. Bu yöntem kontaminasyona duyarlı olduğu için kalite kontrol de gerektirir. *T. gondii* DNA'sının tespiti LAMP ile klinik numunelerle yapılmaktadır. Su örneklerinde ise *T. gondii* B1, SAG1, SAG2, GRA1, 529-bp repeat element, genleri ve 18S rRNA'ları tanımlamak gerekmektedir. LAMP yöntemi ile; B1 ve OWP genleri ile takizoit DNA'sı belirlenirken, SAG1'e tanımlamasıyla erken tanımlama gerçekleştirilir (19,20).

T. gondii'yi genetik olarak tanımlayabileceğimiz hedef gen bölgeleri ve kullanılan yöntemler Tablo 2'de sunulmaktadır.

Toxoplasmosis epidemiyolojik araştırmalarında genotip tanımlaması yeni çalışmalar ve araştırmalar için taban oluşturmaktadır. Genotiplendirme ile yeni suşların tanımlaması yapılırken taksonomik tanımlamalar da mümkün olabilmektedir. Bu çalışmalar MS, MLST, PZR-RFLP, RAPD-PZR ve HRM gibi yöntemler kullanılarak yapılmaktadır (9).

T. gondii'nin yapılmış ve yapılmakta olan tüm genom çalışmaları (WGS) paraziti tanımda yardımcı olmaktadır. Bu çalışmalar ayrıca referans genomla yapılmış olan tüm genom çalışmasının karşılaştırılması sonucu, yeni genomda varolan polimorfizmleri, çeşitlerini ve özelliklerini tanımlayabilir. Bu şekilde yapılan tüm genom çalışmaları bize; parazitin vital fonksiyonlarını, virülans

bölgelerini kodlayan proteinleri ve bunlardaki polimorfizmleri de tanımlayabilir. Ayrıca parazitin tanısı için gerekli olan hedef gen bölgelerini bulmamıza yardımcı olur. Bununla beraber *T. gondii* ile ilgili ilaç üretimi ve aşı hedef bölgelerini tespit etmekte yararlıdır. Günümüzde yeni nesil dizileme teknolojilerinin gelişmesiyle WGS çalışmaları hızlanmıştır. *T. gondii*'nin günümüze kadar [NCBI veri bankası (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/?taxon=5811>)] verileri 19.08.2023 tarihine kadar taranmıştır] tespit edilmiş 28 genom mevcuttur. Referans genom *T. gondii* ME49'dur (ABD). WGS'ler insan ve hayvanlardan izole edilmiştir. Türkiye'den izole edilen *T. gondii* genomu ise *T. gondii* TR01'dir (21). Bunlar;

Tüm bu genom çalışmaları *T. gondii* genomunun yüksek oranda korunduğunu göstermektedir. *T. gondii*'nin genotipleme için elde edilmiş olan suşun minimum kontaminasyon ve kalitede olması gerekir. Çalışmaları devam eden suşlarda *T. gondii* DNA'sına sahip olmak ve bunu da canlı suşlardan sağlamak mümkün olur (2).

PZR analizlerinde ortamda parazit DNA'sının bulunması elzemdir. PZR tekniği insan kan örneklerinde hızlı, duyarlı ve spesifiktir. Ancak fetüste ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda PZR sonuçları pozitif bulunduğu tedavi şarttır. Fakat negatif olduğunda bu sonuç toxoplasmosisi dışlamaz (23). PZR analizleri yapılırken duyarlılık ve özgüllüğü yüksek olan gen bölgeleri tercih edilmeli ve pozitif/negatif kontrol örnekleri ile birlikte değerlendirilmelidir (24). PZR yöntemleri ile ortamda az sayıda bulunan nükleik asitlerin sayısı çoğaltılmakta, daha sonra saptanabilir düzeye erişen bu moleküllerin varlığı gösterilmektedir (15). RT-PCR ve nested PZR *T. gondii* DNA'sını belirlemede konvansiyonel PCR'den daha başarılıdır. Kompalic-Cristo ve ark. (25), RT-PZR ile DNA konsantrasyonları düşük olduğunda dahi parazit yükünü doğru bir şekilde ölçebildiğini göstermişlerdir. Yanlış PZR negatif sonuçlar, amnion sıvısında yeterince DNA yükü olmaması, örneklerin uygun şekil ve zamanda alınmaması, teknik sorunlar ve plasentaya geç nüfuz etmiş *T. gondii* gibi nedenlerle olabilir (24,26). Kandan PZR analizi yapılırsa pozitif sonuç enfeksiyonu doğrular, ancak negatif sonuç enfeksiyonu dışlayan bir özellikte değildir (27). PZR *T. gondii*'nin erken tanısında etkin olan ve kan örneği ise hayvan ve insan olgularının tanısında gereken en önemli örnektir. Ancak kan örnekleriyle toxoplasmosis için bazen farklı sonuçlar alınabilir. Takizoit,

Tablo 2. *Toxoplasma gondii* kullanılan moleküler yöntem ve hedef bölgeler (9)

Moleküler metodlar	Amaç	DNA hedef gen bölgeleri
Konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyon (PZR)	Tür tanımlaması	B1 gen, 529 bp repeat, 18S rDNA gen, SAG1, SAG2, GRA1
Real time PZR	Tür tanımlaması	B1 gen, 529 bp repeat, 18S rDNA gen, SAG1
LAMP	Tür tanımlaması	529 bp repetitive element, B1 gen, SAG1, SAG2, GRA1, oocyst duvar proteini
Mikrosatellit analiz	Genotiplendirme	TUB2, W35, TgM-A, B18, B17, M33, IV.1, XI.1, M48, M102, N60, N82, AA, N61, N83
Multilokus sekans tiplendirme	Genotiplendirme	BTUB, SAG2, GRA6, SAG3
PZR-RFLP	Genotiplendirme	SAG1, SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1, Apico
RAPD-PZR	Genotiplendirme	Genomik DNA
HRM (high-resolution melting) analiz	Genotiplendirme	B1 gen

Tablo 3. NCBI'da yer alan *Toxoplasma gondii* WGS'ler (22)

<i>T. gondii</i> ME49 (Acces no: ABPA02)	<i>T. gondii</i> VEG (Acces no: AAYL02)
<i>T. gondii</i> CTG (Acces no: JACGUD01)	<i>T. gondii</i> VAND (Acces no: AEYJ02)
<i>T. gondii</i> ME49 (Acces no: JACEHA01)	<i>T. gondii</i> GAB2-2007-GAL-DOM2 (Acces no: AHZU02)
<i>T. gondii</i> RH88 (Acces no: JADBJC01)	<i>T. gondii</i> p89 (Acces no: AEYI02)
<i>T. gondii</i> RH-88 (Acces no: JAAUHK01)	<i>T. gondii</i> ARI (Acces no: AGQS02)
<i>T. gondii</i> TR01 (Acces no: WOEV01)	<i>T. gondii</i> MAS (Acces no: AEXC02)
<i>T. gondii</i> CAST (Acces no: AHIV02)	<i>T. gondii</i> TgCatPRC2 (Acces no: AHZP02)
<i>T. gondii</i> ME49XCTG (Acces no: JACGXV01)	<i>T. gondii</i> CtCo5 (Acces no: AKIR01)
<i>T. gondii</i> ME49XCTG (Acces no: JACGUB01)	<i>T. gondii</i> TgCATBr9 (Acces no: AFHV02)
<i>T. gondii</i> ME49XCTG (Acces no: JACEGZ01)	<i>T. gondii</i> COUG (Acces no: AGQR02)
<i>T. gondii</i> ME49XCTG (Acces no: JACGUC01)	<i>T. gondii</i> FOU (Acces no: AEYH02)
<i>T. gondii</i> ME49XCTG (Acces no: JAGGUA01)	<i>T. gondii</i> RUB (Acces no: AFYV02)
<i>T. gondii</i> RH (Acces no: LLKL01)	<i>T. gondii</i> TgCATBr5 (Acces no: AFPV01)
<i>T. gondii</i> GT1 (Acces no: AAQM03)	<i>T. gondii</i> CkUg2 (Access no: CAMZOD,1)

bradizoit ve sporozoit ile enfekte olma, kan enfeksiyonunun süresi ve parazitin kanda kalıcılığı testin pozitifliği etkiler (28).

SONUÇ

Tek sağlık çerçevesinde bakıldığında insanlarda ve hayvanlarda toxoplasmosis açısından hala yetersiz bilgi seviyesine sahip olduğumuzu görmekteyiz. Zoonotik bir enfeksiyon olması ve yüzlerce moleküler çalışmanın yapılmış olması dahi bilgi dağarcığımızın artırılmaya muhtaç olduğunu göstermektedir. Tek sağlık insan ve hayvan sağlığına, çevre ve bitki sağlığına odaklanan yapıları bünyesinde barındırır. Toxoplasmosis tek sağlık kavramı çerçevesinde yer alan ve ilgi çekmesi zorunlu, dünyada halen eradike edilememiş ve edilmesi için disiplinlerarası (insan-hayvan-ekosistem) ortak çalışmalara ihtiyaç duyan bir hastalıktır (29). Bugün dünya ticaretinin ve hayvan hareketlerinin çok fazla oluşu da enfeksiyonu önlemedeki handikaplardandır. Gelişmekte olan moleküler teknolojilerin dahi, parazitin karmaşık yapısını tanımlamakta zorluk çektiği bilinmektedir. *T. gondii* DNA'sının serebral, oküler ve konjenital toxoplasmosis açısından araştırılması ve PZR testlerinin pozitif çıkması ensefalit açısından kesin tanı koydurucudur. Yüksek duyarlılık ve özgüllüğü olmasına rağmen bu yöntem toxoplasmosis varlığını dışlayamamaktadır. Amniyotik sıvısında ile gerçekleştirildiğinde ise daha zor bir hal almaktadır. PZR sayesinde insan ve hayvanlarda *T. gondii*'nin erken tanısı önemli olmuştur. Akut enfeksiyonun tanımlanması özellikle insanda gereklidir. PZR'da hazır kitlerde en fazla kullanılan hedef bölge *T. gondii* B1 gen dizisidir. SAG1, SAG2, GRA bundan sonra gelen bölgelerdir. Günümüzde tedavisinde kullanılan ilaçlar takizoitleri hedef almakta, bradizoit formuna etkili olamamaktadır. Dolayısıyla parazitin tedavisi de zorlaşmaktadır (30). Dünya'da toxoplasmosisin immün sistemi baskılanmış hastalarda mortalite ve morbiditeyi artırdığı gözlemlenmiştir (31-33). *T. gondii* enfeksiyonunun hızla yayılımı ve ookist dağıtımını önleyici faaliyetlerde bulunmak gereklidir. Bu amaçla *T. gondii*'yi ve dağılım mekanizmalarını tam olarak anlatmak ve hekim, veteriner hekim ve diğer ekosistem araştırmacılarının da içinde disiplinlerarası gruplar kurarak enfeksiyonu önlemeye çalışmak gerekmektedir.

* Etik

Finansal Destek: Yazar tarafından finansal destek alınmadığı belirtilmiştir.

KAYNAKLAR

- Milne G, Webster JP, Walker M. *Toxoplasma gondii*: an underestimated threat? Trends Parasitol. 2020; 36: 959-69.
- Babur C, Yücesan B, Sezen F, Kılıç S. Evaluation of Seropositivity of Toxoplasmosis Suspected Patients Admitted to the National Parasitology Reference Laboratory Between 2009 and 2019. Türkiye Parazitolojisi Dergisi. 2021; 45: 181-9.
- Zhao XY, Ewald SE. The molecular biology and immune control of chronic *Toxoplasma gondii* infection. J Clin Invest. 2020; 130: 3370-80.
- Lourido S. *Toxoplasma gondii*. Trends Parasitol. 2019; 35: 944-5.
- Sanchez SG, Besteiro S. The pathogenicity and virulence of *Toxoplasma gondii*. Virulence. 2021; 12: 3095-114.
- Yücesan B, Babur C, Koç N, Sezen F, Kılıç S, Gürüz Y. Investigation of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cats using Sabin-Feldman dye test in Ankara in 2016. Türkiye Parazitolojisi Dergisi. 2019; 43: 5-9.

- Djurković-Djaković O, Dupouy-Camet J, Van der Giessen J, Dubey JP. Toxoplasmosis: overview from a one health perspective. Food Waterborne Parasitol. 2019; 15: e00054.
- Kolören Z, Dubey J. A review of toxoplasmosis in humans and animals in Turkey. Parasitology. 2020; 147: 12-28.
- Liu Q, Wang ZD, Huang SY, Zhu XQ. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. Parasit Vectors. 2015; 8: 292.
- Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. J Infect Dis. 1995; 172: 1561-6.
- Dardé ML. Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. Ann Ist Super Sanita. 2004; 40: 57-63.
- Döşkaya M, Caner A, Ajzenberg D, Değirmenci A, Dardé ML, Can H, et al. Isolation of *Toxoplasma gondii* strains similar to Africa 1 genotype in Turkey. Parasitol Int. 2013; 62: 471-4.
- Gasser RB. Molecular tools—advances, opportunities and prospects. Vet Parasitol. 2006; 136: 69-89.
- Bişkin Z, Yıldırım A, İnci A, Düzlü Ö. Molecular Biological Techniques used for Diagnosis in Parasitology. J Fac Vet Med Univ Erciyes. 2011; 8: 43-51.
- Tunçbilek S. Toksoplazmoz Tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Yeri. Türk Hij Den Biyol Derg. 2000; 57: 195-202.
- Burg JL, Grover CM, Pouletty P, Boothroyd J. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol. 1989; 27: 1787-92.
- Calderaro A, Piccolo G, Gorrini C, Peruzzi S, Zerbin L, Bommezzadri S, et al. Comparison between two real-time PCR assays and a nested-PCR for the detection of *Toxoplasma gondii*. Acta Biom. 2006; 77: 75-80.
- Gürüz AY, Özcel MA. Toxoplasmosis. İçinde: Özcel MA editör. Tıbbi Parazit Hastalıkları. Meta Basım. İzmir: Bornova; 2007. s.141-187.
- Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acids Res. 2000; 28: E63.
- Yücesan B, Özkan Ö. Suda *Toxoplasma gondii* analizi ve yeni bir yaklaşım: İlmige Dayalı İzotermal Amplifikasyon tekniği. Euroasian JHS. 2018; 1: 30-7.
- Yucesan B, Guldemir D, Babur C, Kilic S, Cakmak A. Whole-genome sequencing of a *Toxoplasma gondii* strain from a Turkish isolate using next-generation sequencing technology. Acta Tropica. 2021; 218: 105907.
- NCBI (National Center for biotechnology Information) Access time: 26.08.2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/?taxon=5811>.
- Ho-Yen D, Joss A, Balfour A, Smyth E, Baird D, Chatterton J. Use of the polymerase chain reaction to detect *Toxoplasma gondii* in human blood samples. J Clin Pathol. 1992; 45: 910-3.
- UMS (Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvarı Tanı Rehberi)- Parazitoloji/Mikrobiyolojik Tanımlama/P-MT-08/Sürüm:1-1/01.01.2015 Editör: Akbaş E, Yardımcı Editörler: Abacıoğlu H, Ogtun SN, Ankara-2015, ISBN: 978-975-590-489-4, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934.
- Kompalic-Cristo A, Frotta C, Suárez-Mutis M, Fernandes O, Britto C. Evaluation of a real-time PCR assay based on the repetitive B1 gene for the detection of *Toxoplasma gondii* in human peripheral blood. Parasitol Res. 2007;101:619-25.
- Valian HK, Mirhendi H, Mohebbi M, Shojae S, Fallahi S, Jafari R, et al. Comparison of the RE-529 sequence and B1 gene for *Toxoplasma gondii* detection in blood samples of the at-risk seropositive cases using uracil DNA glycosylase supplemented loop-mediated isothermal amplification (UDG-LAMP) assay. Microb Pathog. 2020; 140: 103938.
- Guy EC, Joynson DH. Potential of the polymerase chain reaction in the diagnosis of active *Toxoplasma* infection by detection of parasite in blood. J Infect Dis. 1995; 172: 319-22.

28. Tavassoli M, Ghorbanzadehghan M, Esmailnejad B. Foll Detection of *Toxoplasma gondii* in sheep and goats blood samples by PCR-RFLP in Urmia. *Vet Res Forum*. 2013; 4: 43-7.
29. Aguirre AA, Basu N, Kahn LH, Morin XK, Echaubard P, Wilcox BA, et al. Transdisciplinary and social-ecological health frameworks—Novel approaches to emerging parasitic and vector-borne diseases. *Parasite Epidemiol Control*. 2019; 4: e00084.
30. Sağlık Bakanlığı Türkiye Zoonotik Hastalıklar Eylem Planı (2019-2023). Erişim adresi: <https://ekutuphane.saglik.gov.tr/Yayin/564>. Erişim tarihi: 21.04.2024
31. Wang ZD, Wang SC, Liu HH, Ma HY, Li ZY, Wei F, et al. Prevalence and burden of *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis. *Lancet HIV*. 2017; 4: e177-e88.
32. Khan IA, Moretto M. Immune responses to *Toxoplasma gondii*. *Curr Opin Immunol*. 2022; 77: 102226.
33. Kurtoglu E, Hidayetoglu T. Akut Lenfoblastik Lösemili Hastada Gelişen ve Ampirik Yaklaşımla Tedavi Edilen Multipl Odaklı Beyin Apsesi Olgusu. *Fırat Tıp Dergisi*. 2004; 9: 59-61.