

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**BİTKİSEL EKSTRAKTLARIN (*NIGELLA SATIVA*, *ZINGIBER OFFICINALE*)
TEK BAŞINA VE PRİMETAMİN-SÜLFADİAZİN İLE BİRLİKTE
KULLANIMININ *TOXOPLASMA GONDII*'YE KARŞI *IN VIVO* ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. NEVZAT ÜNAL**

**KASIM – 2012
SAMSUN**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**BİTKİSEL EKSTRAKTLARIN (*NIGELLA SATIVA*, *ZINGIBER OFFICINALE*)
TEK BAŞINA VE PRİMETAMİN-SÜLFADİAZİN İLE BİRLİKTE
KULLANIMININ *TOXOPLASMA GONDII*'YE KARŞI *IN VIVO* ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. NEVZAT ÜNAL

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. MURAT HÖKELEK

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO TIP.1904.10.045 proje numarası ile desteklenmiştir

KASIM - 2012

SAMSUN

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimim süresince; bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tez danışmanım Prof. Dr. Murat HÖKELEK'e, eğitimimde büyük katkısı bulunan, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Murat GÜNAYDIN'a, ve bölüm hocalarım; Prof. Dr. Belma DURUPINAR' a, Prof. Dr. Cafer EROĞLU'ya, Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ'ye, Doç. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN'a, Yrd. Doç. Dr. Çağatay ACUNER'e, Yrd. Doç. Dr. Adil KARADAĞ'a, Yrd Doç Dr. Kerametdin YANIK'a eğitimim boyunca bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nın değerli hocaları; Prof. Dr. Abdurrahman AKSOY'a ve Yrd. Doç. Dr. Kürşat DAŞ'a

Çalışma sürem boyunca birlikte olmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji AD çalışanlarına, tez çalışmam süresince ilgilerinden ve yardımlarından dolayı Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarına, uygulama, yazım, çizim aşamalarında emeği geçenlere

Tüm hayatım boyunca sevgi ve desteklerini yanımda hissettiğim, bugünlere gelmemi sağlayan annem, rahmetli babam, kardeşlerime, her konuda bana güç veren ve destek olan sevgili eşim Handan ve kızlarım Bengisu Nur, Handenur ve Melek'e

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Nevzat ÜNAL

2012

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	VI
ŞEKİL LİSTESİ	VII
RESİM LİSTESİ	VIII
GRAFİK LİSTESİ	IX
KISALTMALAR	X
ÖZET	XII
SUMMARY	XIV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>TOXOPLASMA GONDII</i>	4
2.1.1. <i>Toxoplasma gondii</i> ' nin tarihçesi	4
2.1.2. Sınıflandırma	5
2.1.3. Morfoloji	5
2.1.3.1. Ookist formu	6
2.1.3.2. Takizoit formu	6
2.1.3.3. Bradizoit ve doku kisti formu	8
2.1.4. Yaşam döngüsü	9
2.1.5. Bulaşma	10
2.1.5.1. Edinsel (akkiz) bulaşma	11
2.1.5.2. Konjenital (transplasental) bulaşma	12
2.2. TOKSOPLAZMOZ EPİDEMİYOLOJİSİ	12
2.3. PATOGENEZ ve PATOLOJİ	14
2.3.1. Lenf Nodülleri	16
2.3.2. Santral Sinir Sistemi (SSS)	16
2.3.3. Göz	17
2.3.4. Diğer organlar	17

	<u>Sayfa No</u>
2.4. KLİNİK	18
2.4.1. Edinsel Toksoplazmoz	18
2.4.1.1. İmmün sistemi sağlam hastalarda toksoplazmoz	18
2.4.1.2. İmmün yetmezliği olan hastalarda toksoplazmoz	18
2.4.1.3. İmmün sistemi sağlam hastalarda oküler toksoplazmoz	19
2.4.2. Konjenital Toksoplazmoz	19
2.5. TANI	19
2.5.1. Direkt tanı yöntemleri	20
2.5.1.1. <i>Toxoplasma gondii</i> izolasyonu ve üretilmesi	20
2.5.1.2. Histopatolojik tanı	20
2.5.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	20
2.5.2. İndirekt tanı yöntemleri	21
2.5.2.1. IgM, IgG IgA ve IgE antikorları	21
2.5.2.2. Sabin-Feldman Dye Test (SFDT)	22
2.5.2.3. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	22
2.5.2.4. İndirekt Floresans Antikor Testi (IFAT)	22
2.5.2.5. Direkt Aglutinasyon Testi (DA)	23
2.5.2.6. IgG Avidite Testi	23
2.5.2.7. IgM Double Sandwich ELISA (IgM-DS-ELISA)	24
2.5.2.8. IgM Immunosorbent Agglutination Assay (IgM-ISAGA)	24
2.5.2.9. Diğer indirekt tanı yöntemleri	24
2.6. İMMÜNİTE	24
2.7. TEDAVİ	27
2.7.1. Özgün klinik şekillerde tedavi yaklaşımı	28
2.7.1.1. İmmün sistemi sağlam hastalarda toksoplazmoz	28
2.7.1.2. İmmün yetmezliği olan hastalarda toksoplazmoz	28
2.7.1.3. Oküler toksoplazmoz	28
2.7.1.4. Hamile kadınlarda akut toksoplazmoz	29
2.7.1.5. Konjenital toksoplazmoz	29

	<u>Sayfa No</u>
2.7.2. İlaçlar	29
2.7.2.1. Pirimetamin (Daraprim)	30
2.7.2.2. Sülfadiazin	31
2.7.2.3. Klindamisin	32
2.7.2.4. Spiramisin	32
2.7.2.5. Azitromisin	33
2.7.2.6. Atovakuon	33
2.7.2.7. Trimetoprim – Sulfametoksazol (TMP-SMX)	33
2.7.2.8. Diğer antimikrobiyal ajanlar	34
2.7.2.9. Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>)	35
2.7.2.10. Çörek otu (<i>Nigella sativa</i>)	36
2.8. KORUNMA	37
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	39
3.1. <i>Toxoplasma gondii</i>	39
3.2. Fareler	39
3.3. İlaçlar	39
3.4. Farelerde <i>T. gondii</i> takizoitlerinin üretilmesi ve izolasyonu	40
3.5. Farelerin takizoitlerle enfekte edilmesi	41
3.6. Farelerin gruplandırılması	42
3.7. Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) ekstraktı elde edilmesi	43
3.7.1. Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) ekstraktının buhar distilasyon yöntemi ile elde edilmesi	43
3.7.2. Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) metanolik ekstraktın elde edilmesi	45
3.8. İlaçların hazırlanması	45
3.9. İlaçların farelere verilmesi	46
3.10. Tedavi etkinliğinin belirlenmesi	47
3.11. İstatistiksel yöntem	47

	<u>Sayfa No</u>
4. BULGULAR	48
4.1. Yaşam süresi değerlendirme bulguları	48
4.2. İstatistiksel analiz	55
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇLAR	62
7. KAYNAKLAR	64

TABLO LİSTESİ**Sayfa No****Tablo 1** : Grupların yaşam yüzdeleri

51

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1 : <i>T. gondii</i> ookisti	6
Şekil 2 : <i>T. gondii</i> 'nin yaşam döngüsü	10
Şekil 3 : Pirimetamin'in kimyasal yapısı	30
Şekil 4 : Sülfadiazin'in kimyasal yapısı	31

RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1 : Fare periton sıvısında <i>T. gondii</i> takizoitleri, giemsa boyama	7
Resim 2 : Hücre kültüründe <i>T. gondii</i> takizoitleri	7
Resim 3 : <i>T. gondii</i> doku kisti	8
Resim 4 : Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) bitkisinin kök bölümü	36
Resim 5 : Çörek otu (<i>Nigella sativa</i>) bitkisinin tohumları	37
Resim 6 : Çalışmada kullandığımız Balb/c fareler	39
Resim 7 : <i>T. gondii</i> intraperitoneal izolasyonu için pasaj fareleri	40
Resim 8 : <i>T.gondii</i> RH ile enfekte edilen farenin periton eksudasındaki takizoitlerin ışık mikroskobunda görünümü	41
Resim 9 : Farelerin intraperitoneal enfekte edilmesi	41
Resim 10 : Her biri dokuz adet fareden oluşan bir grup	43
Resim 11 : Buhar Distilasyon Sistemi	44
Resim 12 : Farelere gavaj ile ilaç verilmesi	46

GRAFİK LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Grafik 1: Kontrol, Grup 1, Grup 7 ve Grup 8'nin yaşam yüzdesi	50
Grafik 2: Kontrol, Grup 1, Grup 3' ve Grup 4'ün yaşam yüzdesi	50
Grafik 3: Kontrol, Grup 2, Grup 9 ve Grup 10'un yaşam yüzdesi	51
Grafik 4: Kontrol, Grup 2, Grup 5 ve Grup 6'nın yaşam yüzdesi	51
Grafik 5: Kontrol, Grup 13 ve Grup 14'ün yaşam yüzdesi	52
Grafik 6: Kontrol, Grup 11 ve Grup 12'nin yaşam yüzdesi	52

KISALTMALAR

AIDS	: Edinsel İmmün Yetmezlik Sendromu
ANA	: Anti Nükleer Antikor
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CMV	: Cytomegalovirus
DMSO	: Dimethyl sulfoxide
DS	: Double Sandwich
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
HeLa	: İnsan serviks epiteloid karsinom hücresi
Hep-2	: İnsan larinks epiteloid karsinom hücresi
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HSV	: Herpes Simplex Virus
IFA	: İndirekt Floresans Antikor
IFN-γ	: İnterferon-gama
IgA	: İmmünoglobulin A
IgE	: İmmünoglobulin E
IgG	: İmmünoglobulin G
IgM	: İmmünoglobulin M
IHA	: İndirekt Hemaglutinasyon Testi
ISAGA	: Immunosorbent Agglutination Assay
MHC	: Doku Uygunluk Kompleksi
NK	: Doğal Öldürücü
NO	: Nitrik Oksit
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PMNL	: Polimorfo Nükleer Lökositler
PYR	: Pirimetamin
RF	: Romatoid Faktör
RNI	: Reaktif nitrojen ara ürünleri
SDZ	: Sülfadiazin
SF	: Serum Fizyolojik
SFDT	: Sabin-Feldman Dye Test
SMZ	: Sulfamethoxazole

- SSS** : Santral Sinir Sistemi
TE : Toksoplazmik Ensefalit
TMP-SMX: Trimetoprim–Sulfametoksazol
TNF- α : Tümör Nekroz Faktör-alfa
TSP : Toksoplazmik serolojik profil
EC₅₀ : Etkin Konsantrasyon 50
LD₅₀ : Öldürücü Doz 50

ÖZET

Toksoplazmoz, zorunlu hücre içi paraziti olan *T. gondii*'nin etkeni olduğu edinsel veya konjenital klinik şekillerde ortaya çıkan bir zoonozdur. İmmün sistemi sağlam kişilerde çoğu zaman asemptomatik seyreden toksoplazmoz, özellikle AIDS, kanserler, transplantasyon gibi durumlarda çok ağır seyretmektedir. Ölümle sonuçlanabilen ciddi klinik tabloların gelişmesi toksoplazmozun önemini artırmıştır.

Pirimetamin ve sülfadiazin kombinasyonu tedavide ilk ve en etkili seçenektir. Bu ilaçlar takizoitlere etkili olup bradizoitlere ise etkisiz olmakla beraber hamile kadınlarda, konjenital enfeksiyonlarda, immün sistemi baskılanmış ve göz enfeksiyonu olan hastalarda çok ciddi yan etkilere neden olmaktadır. Bu nedenle, toksoplazmoz tedavisinde daha etkili ve daha az yan etkileri olan tedavi protokollerine ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın amacı *in vivo* olarak *T. gondii*'ye karşı etkili ilaçların (Primetamin-Sülfadiazin) toksoplazmozda çok önemli olan immün sistemin, immünmodülatör ajanlarla (*Nigella sativa* veya *Zingiber officinale*) kombine edilmesi sonrası yaşam süresine etkisini araştırmaktır.

Çalışmamızda Balb/c fareleri (n=135) 10^5 *T.gondii* takizoiti ile intraperitoneal olarak enfekte ettikten 24 saat sonra oral tedaviye başlandı (n=126). her biri 9 fareden oluşan 15 grup kullanıldı (1 enfeksiyon kontrol grubu, 4 tedavi kontrol grubu, 10 çalışma grubu). Enfeksiyon kontrol grubuna tedavi verilmedi. Diğer gruplarda tedaviye 10 gün devam edildi. Fareler enfeksiyon sonrası 30 gün gözlemlenerek yaşam süreleri değerlendirildi. Tedavide primetamin 12,5 - 6,25 mg/kg/gün ve sulfadiazin 200 - 100 mg/kg/gün tedavi dozunda, *Zingiber officinale* 400 - 200 mg/kg/gün ve *Nigella sativa* 1700 - 850 mg/kg/gün dozu ile kombine edildi. Bulgular değerlendirildiğinde primetamin 6,25 + sülfadiazin 100 mg/kg/gün ile 400 - 200 mg/kg/gün *Zingiber officinale* veya 1700 - 850 mg/kg/gün *Nigella sativa* ve primetamin 12,5 + sülfadiazin 200 ile 400 mg/kg/gün *Zingiber officinale* kombine edilen gruplarda yaşam yüzdesinin arttığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (P < 0,05). Primetamin 12,5 + sülfadiazin 200 mg/kg/gün ile 1700 - 850 mg/kg/gün *Nigella sativa* veya 200 mg/kg/gün *Zingiber officinale* kombine edilen gruplarda yaşam yüzdesinin arttığı gözlemlendi. Ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (P > 0,05).

Sonuç olarak, *Zingiber officinale* veya *Nigella sativa* ile birlikte pirimetamin-sülfadiazin kombinasyonunun tedavide alternatif bir seçenek olarak kullanılabileceği

akla gelmektedir. İmmunmodölatör ilaçların *T. gondii*'ye karşı etkinliğinin daha net olarak ortaya koyulabilmesi için farklı dozlarda ve etkin olan farklı ilaçlarla kombine edilerek daha ileri *in vivo* çalışmalara gereksinim vardır

Anahtar kelimeler: *Toxoplasma gondii*, sülfadiazin, pirimetamin, *Nigella sativa*, *Zingiber officinale*

SUMMARY

Toxoplasmosis is a zoonotic infection that caused by *Toxoplasma gondii* which is an obligate intracellular parasite and become acquired or congenital clinical manifestations. Toxoplasmosis is usually asymptomatic in immunocompetent persons, but it can be very serious results and death in AIDS, malignancy, and transplantation. In the treatment, first and the most efficient choice is combination of pyrimethamine and sulphadiazine. These agents are effective to the tachyzoites but not to bradyzoites and cause serious side effects in the pregnant women, congenital infections, immunocompromised patients and patients with the ocular disease. Therefore, there is a need for a more effective treatment protocols with less side effects.

The aim of this study was to investigate the effects of adding two different immunomodulatory agents, *Nigella sativa* or *Zingiber officinale*, to the classical therapeutic agents, pyrimethamine and sulphadiazine, in combination, to support immune system, which is very important in toxoplasmosis, and on the survival of mice.

In our study, Balb/c mice were infected ($n=135$) by 10^5 *T. gondii* tachyzoites intraperitoneally and treatment was begun after the first 24 hours ($n=126$). The total number of groups were 15 (1 infection control group, 4 treatment control groups, 10 test groups). Each group contained 9 mice. No drugs were used in the infection control group. In the treatment the dosage that were use; pyrimethamine 12,5 - 6,25 mg/kg/day and sulphadiazine 200 - 100 mg/kg/day and *Zingiber officinale* 400 - 200 mg/kg/day and *Nigella sativa* 1700 - 850 mg/kg/day. In the test groups, combinations of an immunomodulatory agent (*Zingiber officinale* or *Nigella sativa*) and two different dose classical therapeutic agents were used. All drugs were continued for 10 days. After the mice were infected, they were observed for 30 days and their life time was evaluated. When we evaluated our findings it has been seen that the survival rate at the pyrimethamine 6,25 + sulphadiazine 100 mg/kg/day and 400 - 200 mg/kg/day *Zingiber officinale* or 1700 - 850 mg/kg/day *Nigella sativa* and pyrimethamine 12,5 + sulphadiazine 200 and 400 mg/kg/day *Zingiber officinale* combination group was increased and it has been found statistically significant ($p < 0,05$). At the pyrimethamine 12,5 + sulphadiazine 200 mg/kg/day and 1700 - 850 mg/kg/day *Nigella sativa* or 200 mg/kg/day *Zingiber officinale* combination group, it has been seen in the increase of survive. But the findings has not found statistically significant ($p > 0,05$).

In conclusion, our findings considered that, combination of PYR-SDZ with *Zingiber officinale* or *Nigella sativa* as an alternative choice in the treatment. Further *in vivo* studies involving different agent combinations under specified dosage regimens are needed to demonstrate the effects of immunomodulatory agents in the treatment of *T. gondii* infections.

Key Words: *Toxoplasma gondii*, sulphadiazine, pyrimethamine, *Nigella sativa*, *Zingiber officinale*

1. GİRİŞ

Toksoplazmoz, bir protozoon olan *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*)' nin neden olduğu, zoonotik, paraziter enfeksiyon hastalığıdır (Ryan KJ ve ark., 2004; Winn WC ve ark., 2006; Topçu AW ve ark., 2008). Parazit insan vücudundaki tüm organları tutabilir. Özellikle akut dönemde kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), meni, gözyaşı tükürük, idrar gibi tüm vücut salgılarında bulunabilen, transplasental geçiş ile kalıcı fetal anomalilere neden olan bir hastalık tablosu oluşturur. Bağışıklık sistemi sağlam kişilerde genellikle selim seyirli olan toksoplazmoz özellikle T - hücrelerine bağlı bağışıklık sistemi bozukluğuna yol açan AIDS, hematolojik kanserler, kemik iliği ve soliter organ nakli gibi tablolarda çok ağır seyretmekte ve kontrol altına alınmadığında ölümlerle sonuçlanabilmektedir (Unat ve ark., 1991) *T. gondii*' nin kesin konağı kedi olmakla birlikte, birçok sıcak kanlı hayvan, insanlar ara konak ve taşıyıcıdır (Dubey JP ve ark., 2007).

Toksoplazmoz tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. Ancak sıcak ve nemli bölgelerde soğuk ve kuru bölgelere oranla daha yüksek olarak bulunduğu bildirilmektedir. Dünyanın çeşitli bölgelerinde kedilerin yaklaşık % 1'i dış ortama ookist atmaktadır. Bu kistlerle ortam kontamine olmakta ve birçok hayvan hastalığı geçirmektedir. İnsana en sık iyi pişmemiş etlerdeki doku kistlerinin alınması ile bulaşmaktadır. Genellikle Toksoplazmoz seroprevalansı, yaş ile birlikte artmakta olup, topluluğun yaşam tarzı, alışkanlıkları ve geleneklerine bağlı olarak ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Çiğ et yeme alışkanlığına bağlı olarak Paris'te seropozitivite %50, yaş ile birlikte %90'ın üzerine, Washington'da %19, yaş ile birlikte %32'ye kadar çıkmaktadır. Çin'de ise oran % 0,7 gibi çok düşük seviyededir, bunun da etlerin iyice pişirilerek yenmesine ve kedi sayısındaki azlığa bağlı olduğu bildirilmektedir (Kuman H A ve ark., 1996; John DT ve ark., 2006).

Ülkeler arasında insanların yaşam tarzına, beslenme alışkanlıklarına ve geleneklerine bağlı olarak toksoplazmoz seroprevalansı değişiklik göstermektedir. Genellikle yaşa bağlı olarak oran artmaktadır. Amerika'da, Fransa'da, Türkiye'de ve Brezilya'da 40 yaşın üstündeki nüfusta seroprevalans oranı, %90'nın üstünde olduğu bildirilmektedir (Kasper LH ve ark., 1998; Kuman H A ve ark., 1996) Altıntaş ve ark. Türkiye'de 1991-1995 yılları arasında farklı yaş gruplarında yaptıkları çalışmada, seropozitiflik prevalansını genel olarak % 49 bulurken, hamile kadınlarda ise bu oranın

% 55 olduğunu bildirmişlerdir (Altıntaş N ve ark., 1997). Ülkeler arasında konjenital toksoplazmoz riskinin 1000 canlı doğumda 1-15 arasında değiştiği kaydedilmektedir (Jones J ve ark., 2003). ABD’de, *T. gondii* seroprevalansı insan immünyetmezlik virüsü (HIV) ile enfekte hastalarda % 15-40 arasında iken, Batı Avrupa ve Afrika’nın bazı bölgelerinde bu oran % 96’ya kadar çıkmaktadır (Kuman H A ve ark., 1996). Bu veriler incelendiğinde toksoplazmozun öneminin arttırmakta olduğu anlaşılmaktadır.

Toksoplazmoz, gebelik esnasında enfekte olan kadınların fetusları, *T. gondii* antikorlarına önceden sahip AIDS’li hastalar ve organ nakli alıcıları için önemli bir problem olamaya devam etmektedir (Araujo FG ve ark., 1997). Deneysel çalışmalarda, IFN- γ ile kombine tedavinin yaşam yüzdesini arttırdığı ve immün süpresif hastalarda IFN- γ ’nın kullanılabilmesi belirtilmiştir (Khan AA ve ark., 2001; Suzuki Y ve ark., 1990) *T. gondii*’nin yaşam siklusu evreleri göz önünde bulundurulduğunda, özellikle immün yetmezliği olan hastaların korunması için gerekli tedbirler alınmalı ve mümkünse profilaksi yapılmalıdır. Özellikle hastalığın bulaşmasında önemli rolü olan ve potansiyel tehlike olarak dokularda bulunan bradizoit evresindeki *T. gondii*’lere etkili olabilecek nitelikteki bir tedavi, infeksiyonun yaşamı tehdit etme olasılığını ortadan kaldıracak gibi yayılmasını da önleyerek hastalığın kontrolüne katkı sağlayacaktır (Hökelek M., 1996).

Günümüzde kullanılan tüm antimikrobiyaller yalnızca takizoit formlara etkili olup doku kistleri bu ilaçlara dirençlidir. Toksoplazmoza karşı ideal bir antimikrobiyal ajan bulunmamakla beraber enfeksiyonun çoğunlukla asemptomatik geçirilmesi, semptomatik olguların büyük çoğunluğunun da kendiliğinden iyileşmesi, tedavi sürecini zorlaştırmaktadır (Lebech M ve ark., 1999; Petersen E., 2007). Standart tedavide kullanılan ilaçlar pirimetamin-sülfadiazin kombinasyonu, spiramisin ve klindamisin (Montoya JG ve ark., 2009; Trierney LM ve ark., 2001). Alternatif olarak ise pirimetamin ile yeni makrolidlerin kombinasyonu veya trimetoprim-sulfametoksazol kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda yeni makrolid grubu antibiyotiklerin doku kistlerine de etki edebileceği düşünülmektedir. Son yıllarda in vitro olarak pirimetamin, klindamisin, spiramisin ve azitromisine karşı *T. gondii* mutantlarında direnç saptanmıştır (Pfefferkorn ER ve ark., 1994; Reynolds MG ve ark., 2001). Özellikle potansiyel tehlike olarak dokularda *T. gondii*’nin bradizoit formlarına da etki

edebilecek nitelikte bir tedavinin, enfeksiyonun yaşamı tehdit etme olasılığını ortadan kaldırabileceği düşünülmektedir.

T. gondii'nin üretilmesi için deney hayvanları (fareler, ratlar), embriyonlu yumurta veya doku kültürleri gibi canlı hücreler gereklidir (Topçu AW ve ark., 2008)

Bu çalışmanın amacı *in vivo* olarak *T. gondii*'ye karşı etkili ilaçların (Primetamin-Sülfadiazin) tedavisine ek olarak, immünmodülatör ajanlarla (*Nigella sativa*, *Zingiber officinale*) kombine edilmesi sonrası farelerin yaşam süresine etkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TOXOPLASMA GONDII

2.1.1. *Toxoplasma gondii* 'nin Tarihçesi

Toksoplazmozun etkeni olan *Toxoplasma gondii* zorunlu hücre içi parazitidir. Tıpta Nobel ödülü kazanmış olan Charles Nicolle tarafından ilk kez 1908 yılında tanımlanmıştır. Parazitin tür ismini aldığı *Ctenodactylus gundii* adlı bir kemirgenden Nicolle ve Manceaux tarafından izole etmişlerdir. Parazitin yay şekline benzemesi nedeniyle genus ismini ise Yunanca'da "yay" anlamındaki "toxon" kelimesinden almıştır (Montoya JG ve ark., 2009; Frenkel JK.,1970).

İnsanlarda ilk defa Castellani, 1913'te bulduğu yay şeklindeki paraziti, 1914'te *Toxoplasma pyrogenes* olarak tanımlamıştır. 1923'de Prag'da Janku, retinopati, mikroftalmi ve konjenital hidrosefalisi olan 11 aylık bir bebeğin retinasında parazit kistlerini göstermiş; Levaditi ve ark. tarafından ise 1929 yılında tavuk embriyo kültüründe üretilmiştir. Wolf ve Cowen 1937'de, *T.gondii*'ye bağlı infantil granüloamatöz ensefaliti tanımlamışlar ve bu hastalığın konjenital yolla geçtiğini bildirmişlerdir. Pinkerton ve Weinman 1940 yılında bu hastalığın sonradan kazanılabileceğini, Pinkerton ve Henderson ise 1941'de ölümcül akut febril aksentematöz bir hastalık olduğunu bildirmişlerdir. Aynı yıllarda Sabin çocuklarda toksoplazmik ensefaliti tanımlamıştır. Sabin ve Feldman, 1948'de kendi adlarını taşıyan boyama yöntemi ile bu parazite karşı insanlarda antikörler olduğunu bulmuşlardır (Kuman HA., 1996). Balducci, 1956'da HeLa hücrelerinde *T. gondii*'yi üretmiştir (Akısü Ç.,1998). Lainson, 1958'de parazitin psödokist ve kist şekillerini farelerde tanımlamıştır. Hogan ve ark. 1960 yılında doku kistlerinin varlığını ortaya koymuşlardır. Kesin konağın kediler olduğu ancak 1970 yılında ortaya konabilmiştir. Dubey ve Frenkel, 1976'da biyolojik ve morfolojik olarak bradizoit ve doku kistlerinin gelişmesini tanımlamışlardır (Dubey JP ve ark., 1998). *T. gondii* antikörlerini aramak için ELISA yöntemini ilk kez Voller ve ark. kullanmışlardır (Atasü T ve ark., 1985). Burg ve ark. ilk kez, 1989 yılında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemini *T. gondii*'nin tanısında kullanmışlardır (Burg JL ve ark., 1989).

Türkiyede ilk kez 1950'de Akçay ve arkadaşları bir köpekte histo-patolojik olarak toksoplazmoz belirlemişlerdir. Unat, Alyanak ve Şahin tarafından parazit 1953 yılında insanda histopatolojik olarak gösterilmiştir (Unat EK ve ark., 1995; Mete M ve

ark.,1999). Parazitin Türkiye’de ilk izolasyonu ise 1973 yılında Ekmen ve Altıntaş tarafından yapılmıştır (Ekmen H ve ark., 1973).

2.1.2. Sınıflandırma

T. gondii’nin güncel sınıflaması; (Winn WC ve ark., 2006).

- Bölüm *Protozoa*
- Şube *Apicomplexa*
- Sınıf *Conoidasida*
- Alt Sınıf *Coccidiasina*
- Takım *Eucoccidiorida*
- Alt Takım *Eimeriorina*
- Aile *Sarcocystidae*
- Alt aile *Toxoplasmatinae*
- Cins *Toxoplasma*
- Tür *gondii*

2.1.3. Morfoloji

Toxoplasma gondii’nin bilinen 3 morfolojik şekli bulunmaktadır.

1. Ookist formu; sadece enfekte kedi dışkısında görülmekte olup, parazitin kedi ince bağırsaklarında çoğalan seksüel döngüsü sonucu oluşmakta insan dahil, kuşlar ve tüm sıcak kanlı hayvanları enfekte edebilmektedir (Özcel MA., 2007).

2. Trofozoit (takizoit, endozoit) formu; aseksüel olarak hızlı çoğalabilen form

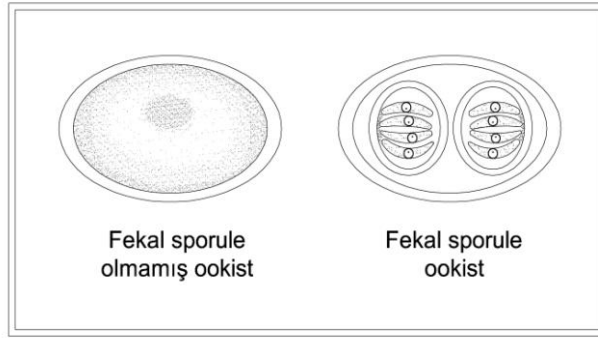
3. Bradizoit (doku kisti) formu; dokularda oluşan enfektif form

İnsanlarda parazitin proliferatif şekilleri yani takzoitler ve bradizoitleri bulunmaktadır. Parazitin ookist formu sadece kedilerde, takizoit ve bradizoit formları ise kedi dahil tüm ara konaklarda ve insanlarda görülür. İnsanlar ve hayvanlar bradizoit ve ookistler ile enfekte olurlar (Montoya JG ve ark., 2009). Yapılan genetik analizler sonucunda *T. gondii* ‘nin tip I, tip II ve tip III olmak üzere üç farklı klonal genotipi tanımlanmıştır. İnsanlarda çoğunlukla tip II, hayvanlarda ise en sık tip III enfeksiyona neden olduğu bildirilmektedir (Topçu AW ve ark., 2008).

2.1.3.1. Ookist Formu

Kesin konak olan kedilerin, vaşakların ve bazı kedigillerin dışkılarıyla çıkartılan ookistler, oval, 11-14 µm x 9-14 µm büyüklüğündedir. Ookistlerin enfektif olabilmesi için olgunlaşması (sporulasyon) gerekmektedir. Ortamın ısı ve oksijen durumuna göre sporulasyon süresi 1-5 gün arasında değişmektedir. Sporulasyonun 24°C’de 2-3 gün, 15°C’de 8 gün, 11°C’de 14-21 gün sürdüğü, 4°C’nin altında ve 38°C’nin üstünde ise oluşmadığı gösterilmiştir (Montoya JG ve ark., 2009; Topçu AW ve ark., 2008). Sporulasyon sonucunda ookistler önce iki sporoblasta, sonrada her birinde 4 sporozoit bulunan iki adet sporokiste dönüşürler. Olgunlaşan ookistler nemli toprakta ve uygun ısıda 1 yıl ve daha fazla canlı kalabilirler (Özcel MA ve ark., 2007). Ookistler, kaynar suda 5 dakikada veya % 7’lik amonyum hidroksit ile ölürlür. % 1,3’lük sodyum hipoklorid ile dış tabakasını kaybeder ve ölürlür (Montoya JG ve ark., 2009; Dubey JP., 1998).

Kedilerde prepatent dönemin (ookist atılımına kadar geçen süre) alınma şekline göre değiştiği, takizoit alınmışsa 19-48 gün, doku kisti alınmışsa 3-10 gün, ookist alınmışsa 21-40 gün olduğu görülmüştür (Özcel MA ve ark., 2007).

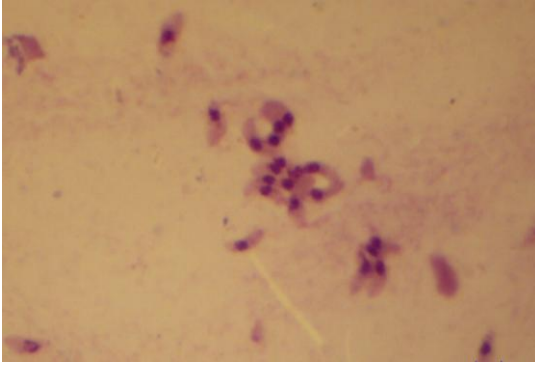


Şekil 1: *T. gondii* ookisti (©)

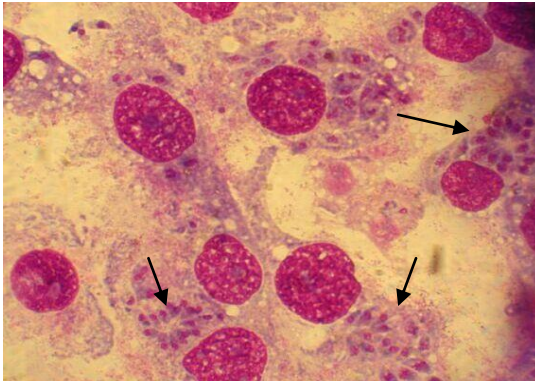
2.1.3.2 Takizoit Formu

Takizoitler, primer ve reaktif enfeksiyonlarda görülür ve varlığı aktif enfeksiyonun belirtisidir (Montoya JG ve ark., 2009). Boyut olarak 2-4 µm eninde, 4-8 µm boyunda olan takizoitler, bir ucu sivri diğer ucu yuvarlak, sıklıkla hilal veya oval şekildedirler. Kesin konak ve ara konağın dokularında hızlı bir şekilde çoğaldıkları için Frenkel tarafından “tachyzoite” (tachos= Yunanca hızlı) olarak adlandırılmıştır. Yapısında çok sayıda organel ve inklüzyon cisimleri bulunur. Bunlar; dış membran, iç

membran kompleksi, tepe ve kutup halkaları, konoid, roptriler, mikronemler, mikropor, mitokondri, pellikül altı mikrotübüller, granüllü ve düz endoplasmik retikülüm, golgi cisimciği, ribozomlar, nükleus, nükleus zarı, sentriyoller, yoğun granüller, lipid cisim, amilopektin ve apikoplast gibi organellerdir (Hökelek M ve ark., 2001). Takizoitler; kayarak, dalgalanarak, bükülerek ve dönerek hareket ederler ve konak hücreye aktif penetrasyon veya fagositoz ile girerek sitoplazmik vakuol oluştururlar (Montoya JG ve ark., 2009).



Resim 1: Fare periton sıvısında *T. gondii* takizoitleri, giemsa boyama (©)



Resim 2: Hücre kültüründe *T. gondii* takizoitleri (Hökelek M., 2009).

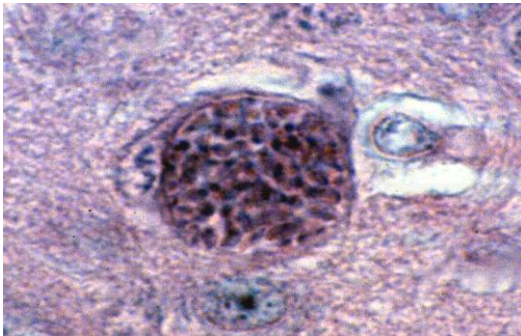
Takizoitler yaşamak ve çoğalmak için hücre içi yerleşime gereksinim duymaktadır. Konak hücresi içinde tekrarlayan endodyogeni (Yunanca Endo:iç, dyo:iki, genesis:doğum) ile ikiye bölünerek çoğalırlar (Özcel MA., 2007). Parazitin optimal olarak 37-39°C'de üreyebildiği, doku içinde her 4-6 saatte tekrarlanan endodyogeni ile çoğaldığı bu bölünmelerin trofozoit sayısı 64-128 olduğunda konak hücreyi patlatarak sonlandığı gösterilmiştir (Topçu AW ve ark., 2008).

Takizoitler kuruluğa, donmaya, çözünmeye ve gastrik salgılara duyarlı olup, gastrik salgı içinde birkaç dakika, triptik sindirim sıvılarında 3 saate kadar canlı kalabilmektedirler. Takizoitlerin gözyaşında 4 gün, idrarda 7 gün, sütte 6 gün ve tükürkte 5 gün canlı kalabildikleri, mukoza yoluyla vücuda giren 10 takizoitin hastalık oluşması için yeterli olabileceği bildirilmektedir. Takizoitler konak vücuduna girdikten sonra kana karışıklarında, salgıladıkları enzim yapısındaki penetrasyon kolaylaştırıcı faktör ile konak hücre membranında değişikliğe yol açarak hücre içine girmekte, fagosite edilerek hem fagositik, hem de nonfagositik hücreleri işgal edebilmekte, konak hücrede bir vakuol içinde, vakuol duvarına temas etmeden yaşamını sürdürdüğü bildirilmektedir (Özcel MA., 2007). Takizoitler insanlarda nazal, vajinal, göz salgılarından, süt, tükürük, idrar, sperm ve dışkıdan izole edilirler ve bulaşmada tüm bu çıkartıların rolü vardır (Kuman HA ve ark., 1996).

Takizoitler; Giemsa, Wright ve immünoperoksidaz boyalar ile boyanırlar ve Sabin-Feldman boya testi ve Fluoresan antikör testleri gibi serolojik testlerde canlı olarak kullanılırlar (Montoya JG ve ark., 2009; Kuman HA ve ark., 1996).

2.1.3.3. Bradizoit ve Doku Kisti Formu

Doku kisti içinde yavaşça çoğalan organizmayı tanımlamak için Frenkel tarafından “bradyzoite” (brady= Yunan dilinde yavaş) terimi kullanılmıştır. Konak immünitesinin devreye girmesi ile takizoitler immün yanıtta kaçmak ve metabolik ihtiyaçlarını en aza indirmek için kist içinde yavaş çoğalan formlara dönüşmektedirler. Endodiyojeni ile bölünen bradizoitler hücre içinde kalır ve doku kistleri gelişir. Doku kistleri yuvarlak ve oval şekilde 5-100 µm çapında olabilmektedir. Büyüklükleri farklılık gösteren bu kistlerin içinde yüzlerce bradizoit olabilmektedir. Tüm dokulara yerleşebilen kistlerin beyin, iskelet ve kalp kasını daha sık tuttuğu, beyindekilerin daha yuvarlak, kas liflerindeki ise lifin yapısına uygun morfoloji gösterdiği bilinmektedir.



Resim 3: *T. gondii* doku kisti (Dubey JP)

T. gondii doku kistleri enfeksiyonunun 8. günü gibi oldukça erken bir dönemde oluşurlar ve konağın tüm yaşamı boyunca canlılığını korurlar (Özcel MA.,2007; Montoya JG ve ark.,2008). Bradizoitler, takizoitlerden daha ince olmalarına rağmen proteolitik enzimlerin yıkımına daha dayanıklıdır. Periodic Acid-Schiff boyası (PAS), Wright, Giemsa, immünoperoksidaz ve Gomori'nin Methenamine Gümüş (GMG) boyasıyla çok iyi boyanırlar (Montoya JG ve ark.,2004; Montoya JG ve ark.,2008; Petersen E.,2007).

Kist duvarının peptik ve triptik etki parçalanması sonucu serbest kalan bradizoitler, pepsin-HCl içinde 2 saat, tripsin içinde de yaklaşık 6 saat canlı kalabilmektedirler. Etteki kistler, gama ışınlama (0,4 kGy), etin her tarafının 67°C'de ısıtılması veya -20°C'de 24 saat dondurup eritilmesi durumunda canlılığını kaybederken, +4°C'de ise 2 ay canlı kalabilmektedirler (Özcel MA., 2007; Montoya JG ve ark.,2008).

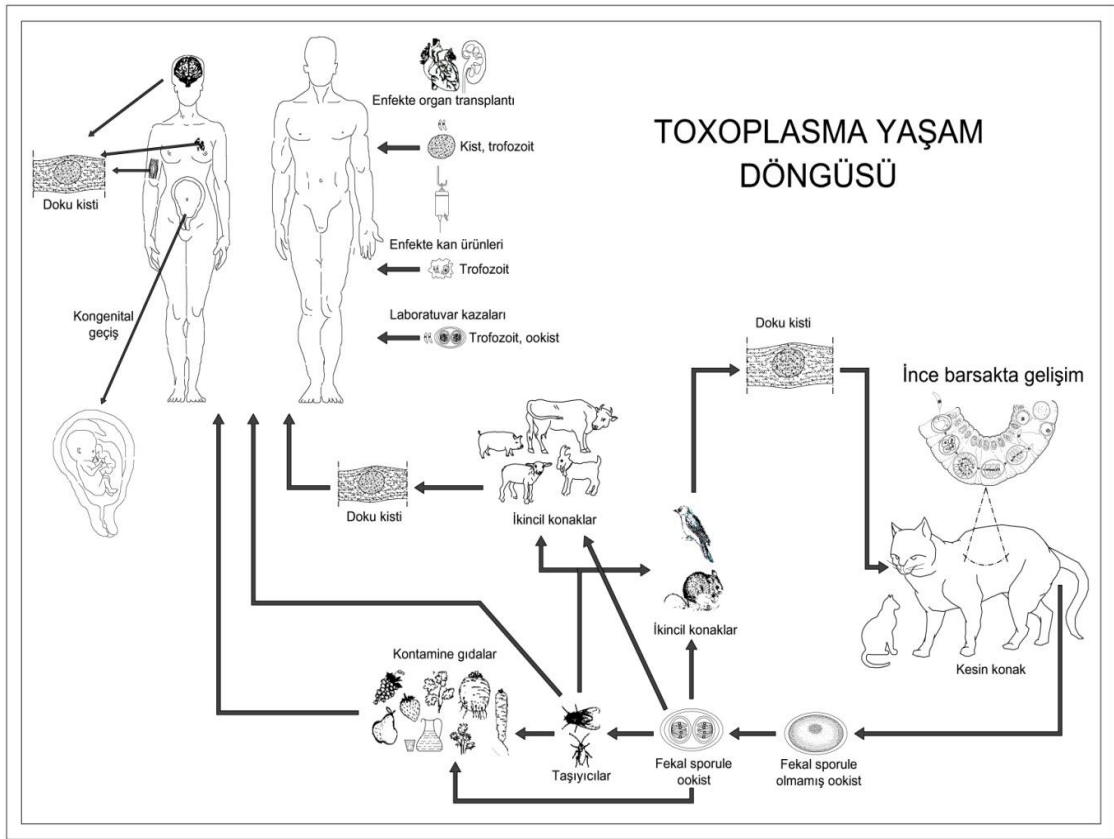
2.1.4. Yaşam Döngüsü

T. gondii seksüel (eşeyli) çoğalması yalnızca kedigillerde (felidae ailesinde) meydana gelmektedir. Kesin konak olan kedilerde seksüel siklus barsaklarda gerçekleşir. Ookistler kedi ve kedigillerden başka hayvanlarda oluşmadığından kediler kesin konaktır. İnsan dahil köpek, sığır, koyun, domuz, fare, tavşan gibi memeliler ve tavuk, güvercin gibi kanatlılar ara konak durumundadırlar (Unat EK., 1995).

Ara konaklar tarafından alınan enfektif formlar bağırsağa gelerek buradan tüm organ ve doku hücrelerine girerek endodyogeni ile çoğalarak çok sayıda takizoit oluştururlar. Daha sonra hücreyi parçalayan takizoitler yeni hücreleri enfekte ederler. Bu evrede tüm doku hücreleri ve vücut sıvılarında takizoitler görülebilir (Montoya JG ve ark.,2008; Kuman HA ve ark., 1996). Takizoitler, immün sistemin etkisi ile bradizoit şekline dönüşmekte ve doku kistlerini oluşturmaktadırlar (Özcel MA.,2007). Ara konaklarda doku kistlerine karşı immün yanıt gelişmediği için bradizoitler yıllarca canlılıklarını korurlar (Montoya JG ve ark.,2008).

Kesin konak olan kediler de oral yolla enfektif formları almaktadırlar (Ekmen H ve ark.,1973). Kediler; fare, sıçan yiyerek *T. gondii*'nin herhangi bir formu ile enfekte olduğunda parazit ince bağırsak epitel hücrelerine girer. Burada şizogoni (aseksüel çoğalma) sonucu ortalama 10-16 merozoit oluşur. Sporogoni (seksüel çoğalma) sonucu ookistler meydana gelir. Bu olayda önce 3-15 günde gametositogenezis ile makrogametosit ve mikrogametositler oluşur, bunlar olgunlaşarak makrogamet ve

mikrogamet haline geçerler. Mikrogamet, makrogameti döllemesi ile zigot oluşur. Zigot olgunlaşmamış ookistlere dönüşüp önce bağırsak boşluğuna, buradan da dışkı ile dışarı atılmaktadır (Montoya JG ve ark.,2008; Topçu AW ve ark.,2008; Ferreira RA., 2006). İlk 1-3 haftalık dönemde akut enfekte olan bir kedi günde 10^5 - 10^8 ookist çıkarabilmektedir (McLeod R ve ark., 2000; Kasper LH ve ark., 1998). Ookistlerin kedi dışkısı ile toprağa gömülmesi, direkt güneş ışığına maruz kalmalarını ve kurumalarını önlediğinden parazitin doğadaki devamlılığını sağlamaktadır (Hökelek M.,2001).



Şekil 2: *T. gondii*'nin yaşam döngüsü (©)

2.1.5. Bulaşma

Toksoplazmoz insan ve hayvanlara genel olarak doku kisti içeren etlerin az pişmiş veya çiğ olarak yenmesiyle, ookist içeren su ve gıdaların tüketilmesiyle veya hamilelik sırasında akut enfeksiyon geçiren anneden fetusa transplasental yolla bulaştığı gösterilmiştir. Bunun dışında olası bulaş yolları arasında enfekte organ transplantasyonu, kan nakli, laboratuvar kazaları da sayılabilmektedir (Altıntaş K, 1997). Bulaşmada esas rol oynayan formlar; bradizoit ve ookistlerdir (Kuman HA ve ark., 1996; Kılıçturgay K,

1996). Toksoplazmozda bulaşma, edinsel veya konjenital yolla olmaktadır (Montoya JG ve ark., 2009).

2.1.5.1. Edinsel (akkiz) Bulaşma

Enfeksiyonun edinsel bulaşı genellikle oral, nadiren parenteral yolla oluşmaktadır. Takizoit, doku kisti ve ookist şekilleriyle konağa geçmektedir (Ajioka JW ve ark., 2007; Altıntaş K, 1997).

Takizoitlerle bulaşma: Oral yolla bulaşma, takizoitler mide asidine dayanıklı olmadıklarından oldukça güçtür, ancak parazitemi döneminde enfektif vericiden alınan kan transfüzyonu ile mümkün olabilmektedir. Takizoitlerle bulaşma, laboratuvar kazası sonucu, konjunktivaya bulaşma, ağızda veya elde yara, kesik gibi bir giriş kapısı varlığında mümkündür (Kayaalp O., 2009 , Altıntaş K, 1997). Mukoza yoluyla enfeksiyon oluşumu için 10 adet *Toxoplasma* 'nın girmesi yeterlidir (Topçu AW ve ark., 2008). Toksoplazmozun kan veya lökosit transfüzyonu ile geçebildiği bildirilmiştir. Sitratlı kanda 4°C'de takizoitlerin 50 gün kadar canlı kalabildiği bildirilmektedir (Holliman RE., 1988). Ayrıca iyi pişmemiş ya da pastörize edilmemiş süt ve yumurtadan da bulaşma olabileceği gösterilmiştir (Freiland JS ve ark., 1994).

Doku kistleri (bradizoit formlar) ile bulaşma: Enfeksiyonun en sık görülen bulaşma şeklidir. Doku kistleri içeren hayvan etlerinin çiğ veya az pişmiş (çiğ köfte, çiğ sucuk) yenmesi sonucu görülür. Organ transplantasyonunda da bu tür bulaş görülmektedir. Doku kistlerinin kuzu ve domuz etlerinin yaklaşık % 25'inde bulunduğu, sığır etinde ise % 0-9 oranında saptandığı bildirilmektedir (Topçu AW ve ark., 2008; Kuman HA ve ark., 1996). Doku kistlerinin canlılığını kaybetmesi için etlerin 65°C'nin üstünde en az 10 dakika pişirilmesi ya da -20°C'de 24 saat dondurulması yeterli olmaktadır (Altıntaş K, 1997).

Sporule ookistlerle bulaşma: Akut enfeksiyon geçiren bir kedi her gün dışkılarıyla 100 milyon kadar ookist atabilir. Toprakla uğraşan ve el yıkama alışkanlığı olmayan erişkinler, toprakla oynayan, toprak yeme alışkanlığı olan çocuklar risk altındadırlar. Çilek başta olmak üzere toprakta yetişen tüm meyveleri, özellikle nane, maydonoz, roka, turp, havuç gibi kontamine sebzeleri çiğ olarak ve yıkamadan tüketen

kişiler, sporlu ookistlerle enfekte olabilirler (Topçu AW ve ark., 2008, Kuman HA ve ark., 1996).

2.1.5.2. Konjenital (transplasental) Bulaşma

Transplasental bulaşma genellikle immün sistemi normal olan annenin gebeliği esnasında geçirdiği primer enfeksiyon sonucu meydana gelir. Nadiren gebelik başlamadan önceki 6 ay içinde geçirilen primer enfeksiyon da konjenital toksoplazmoza neden olabilir. Kronik enfeksiyonlu immün sistemi baskılanmış kadınlarda (lupus eritematosus, sistemik kortikosteroid kullananlar) fetuslarına enfeksiyonu geçirebilmektedirler (Mcleod R ve ark., 2000; Altıntaş K, 1997).

T. gondii ile enfekte olan gebelerde takizoitler hematogen yolla plasentaya ulaşır ve doku kistleri meydana gelir. Bu kistler açıldıktan sonra serbest hale geçen bradizoitler plasentayı aşarak embriyo ve fetusa ulaşırlar. Konjenital enfeksiyonun düzeyi, annenin immün sistemine, plasentanın büyüklüğüne, *T. gondii* suşunun virulansına, serbestleşen bradizoit sayısına bağlı olarak değişmektedir (Altıntaş N ve ark., 1997; Altıntaş K, 1997).

Transplasental yolla fetusta enfeksiyon oluşma sıklığı, *T. gondii*'nin alındığı gebelik trimestiri ile orantılıdır, gebelik evresi ilerledikçe fetusun bulaşma riski artmakta, ancak enfeksiyon oluşma riski azalmaktadır (Lopes FMR ve ark., 2007). Bulaşma gebeliğin erken döneminde olmuşsa, fetus ve yeni doğanda hastalık sekel bırakabilir ya da ölüme yol açabilir. Gebeliğin üçüncü trimestirinde transplasental bulaşma oranı yüksektir, ancak yeni doğan genellikle asemptomatiktir. Bulaşma söz konusu olduğunda gebeye ilaç tedavisi uygulanırsa fetal enfeksiyon olasılığı düşmektedir. Yapılan bir çalışmada, tedavi almayanlarda insidans, ilk trimestirde % 10, ikinci trimestirde % 30 ve üçüncü trimestirde % 60 iken, tedavi alan aynı hasta gruplarında oranlar ilk trimestirde % 4,5 ikinci trimestirde % 17,3 ve üçüncü trimestirde % 28,9 olarak saptanmıştır. Fetal enfeksiyon insidansı gebeliğin ilk 4 haftasında % 1-2 olarak bildirilmektedir (Wong SY ve ark., 1994).

2.2. TOKSOPLAZMOZ EPİDEMİYOLOJİSİ

T. gondii enfeksiyonu tüm dünyada yaygın olan bir zoonozdur. *T. gondii*, herbivorları, omnivorları, karnivorları ve tüm memelileri enfekte edebilen bir protozoondur (Unat EK., 1995). Hastalığın insidansındaki coğrafi farklılık, toplumların

beslenme alışkanlıklarına, iklime, kedi ile olan temasa paralellik göstermekte, kedi nüfusunun çok olduğu, az pişmiş ya da çiğ et yenilen, ılıman ve nemli bölgelerde insidansın daha yüksek olabileceği bildirilmektedir (Özcel MA., 2007). Enfeksiyon sıcak iklim ve düşük rakımlarda, soğuk iklim ve dağlık bölgelere göre daha yaygın görülmektedir. Bu farklılık ookistlerin yaşaması ve sporulasyonu için en uygun ortamlar olmasından kaynaklanmaktadır (Wilson M ve ark., 2007). *T.gondii*'ye karşı özgün antikor prevalansının toplumun yaşı ile doğrudan bağlantılı olarak artış göstermesi, hastalığın tüm yaşam boyunca geçirilmesine bağlanmaktadır (Özcel MA., 2007).

Türkiye'de yapılan araştırmalar sonucunda, prevalans değişik bölgelere göre % 17 ile % 78 arasında değişiklik göstermektedir. Farklı çalışmalara göre Edirne'de % 33, Bursa'da % 63, İzmir'de % 52, Adana'da % 48, Ankara'da % 34, Sivas'ta % 51, Isparta'da % 30,6 ve Batman'da % 78 olarak bildirilmektedir (Demirci M ve ark., 2001; Akarsu AG ve ark., 2002). Ülkemizde Cerrahpaşa Tıp Fakültesi laboratuvarlarına başvuran 20-45 yaşları arasındaki 1253 hamile kadında ELISA yöntemi ile yapılan bir araştırmada, % 34,19 oranında IgG ve % 0,24 oranında IgM antikorları saptanmıştır (Özcel MA., 2007).

1988 ve 1994 yılları arasında oniki ve daha büyük yaştaki kişilerden, Third National Health and Nutritional Assessment Survey (NHANES III) tarafından toplanan örneklerde tespit edilen Amerikadaki tüm seroprevalans % 22,5 olarak bulunurken, çocuk doğuran kadınlar arasında seroprevalans (14-44 yaş) % 15'tir (Wilson M ve ark., 2007).

Afrika ülkelerinden Kenya'da seroprevalans 1-3 yaş arası % 40 iken 10 yaşında % 60'a çıkmaktadır. Hollanda'da bayanlarda yapılan bir araştırmada seroprevalans 10-14 yaş arasında % 30, 20-29 yaş arasında ise % 50-60 olarak saptanmıştır. (Kuman HA ve ark., 1996). Çin'de ise seropozitiflik oranının % 0,7 düzeyinde bulunması, yemeklerin geleneksel olarak iyi pişirilmesi ve kedi popülasyonunun az olmasına bağlanmaktadır (Topçu AW ve ark., 2008). Hindistan'da seroprevalans % 45, Malezya'da ise % 55,7 olarak saptanmıştır (Singh S ve ark., 2004).

Gebelik sonrası 1000 canlı doğumda 0,2-2 oranında konjenital toksoplazmoz riski bildirilmektedir (Lopes FMR ve ark., 2007). HIV ile enfekte *T. gondii* antikorları pozitif gebelerde, CD4⁺ T hücre sayısı 100/mm³ ün altına düştüğünde, fetusa bulaş riskinin % 4 olduğu bildirilmektedir (Bachmeyer C ve ark., 2006). HIV ile enfekte hastalar arasında, *T. gondii* seroprevalansı ABD'de % 15-40, Batı Avrupa ve Afrika'nın

bazı bölgelerinde ise % 96'ya kadar çıkmaktadır (Montoya JG ve ark., 2009). AIDS'li hastalarda AIDS tanısı aldıktan sonraki iki yıl içinde toksoplazmik ensefalit geçirme riski % 28 olarak hesaplanmıştır. Bu risk Avrupa ve Afrikadaki AIDS'lilerde % 30-70'e ulaşmaktadır (Topçu AW ve ark., 2008).

T. gondii'nin prevalansı hayvan türleri arasında da farklılık göstermektedir. Örneğin kedilerde % 45,6 yabani kemirgenlerde % 20-60 oranında iken, yabani kuşlarda % 13,4-66,7 olduğu bildirilmektedir (Webster JP., 2001).

Ülkemizde hayvanlardaki seropozitiflik düzeylerini araştırmak amacıyla yapılan çalışmalarda bölgelere göre farklı sonuçlar bildirilmektedir. Ankara yöresinde ev ve sokak kedilerinde anti-toksoplazma antikorları SFDT ve İndirekt Fluoresan Antikor Testi (IFAT) ile araştırılmış, 99 kediden alınan kan örneklerinin incelenmesinde SFDT ile % 40,4 oranında ve IFAT ile % 34,3 oranında saptanmış, ev kedileri sokak kedilerine göre % 2 kadar daha düşük oranda seropozitivite göstermiştir (Özcel MA., 2007). Koyunlarda yapılan çalışmalarda ise Yalova'da % 42, Mersin'de % 48, Şanlıurfa'da % 55, Amasya'da % 66, Afyon'da % 54 ve Hatay'da % 53 seropozitiflik tespit edilmiştir (Çiçek H ve ark., 2004).

2.3. PATOGENEZ ve PATOLOJİ

Genellikle ookist ve doku kistlerinin ilk giriş yeri sindirim kanalıdır. Bu formlar mide asidine ve pepsine dirençlidir, ancak diğer sindirim enzimleri dış duvarlarını eritirler (Derouin F ve ark., 1992). İntestinal sistemde doku kistlerinden çıkan bradizoitler veya ookistlerden çıkan sporozoitler bağırsak epitel hücrelerine aktif olarak veya fagositozla girerler. Hücrelerin içerisinde çoğalırlar. Daha sonra morfolojik değişim geçirerek takizoit forma dönüşürler (Altıntaş K., 1997). Takizoitler, konak hücrenin membranını apikal kompleks adı verilen organeli kullanarak delerler ve hücre içine girerler. Konak hücre membranını kullanarak parazitofor vakuol oluştururlar. Bu vakuol içinde, lizozomal füzyon ve fagositozun diğer aşamalarından korunarak yaşamlarını sürdürürler (Dubey JP., 1998; Töre O ve ark., 1996). Parazitin hücre içine invazyonu 15-40 saniye gibi çok kısa bir sürede gerçekleşir. Bu süreçte; *T. gondii*'nin yüzey molekülleri (SAG1-5) ve konak hücre yüzey reseptörleri (laminin, $\alpha 1/\alpha 6$ integrin), mikronem proteinler (MIC1-11), roprilerden salınan proteinler (ROP 2, 4, 7), yoğun granüler proteinler (GRA1-8, *T. gondii* proteaz inhibitör) gibi birçok protein

konak hücelere bağlanma ve aktif penetrasyonda rol oynamaktadırlar (Zhou XW ve ark., 2005; El-Malky M ve ark., 2005).

Takizoitlerin makrofajları aktif invazyonu ile oksidatif öldürme mekanizmasının başlamadığı, makrofaj içinde parazitifer vakuol içinde olan parazitlerin makrofajların öldürücü etkisini sağlayan ve lizozomlar tarafından salınan enzimleri nötralize ettiği görülmüştür. Takizoitler, reaktif oksijen ara ürünleri, asidifikasyon, osmotik değişimler, reaktif nitrojen ara ürünleri, hücre içi triptofan azalması ve komplemanla birleşmiş özgül antikorlarının birleşmesi ile konak tarafından öldürülmeye çalışılır (Özcel MA., 2007).

Parazitler, intestinal sistemde konağın mukozal immün yanıtından kurtulduktan sonra mezenter lenf nodüllerine geçer. Buradan kan ve lenfatikler yoluyla en sık olarak santral sinir sistemine (SSS), lenfatik doku, iskelet kasları, kalp kası, retina, gebelerde plasenta ve diğer organlara yayılırlar. Akut enfeksiyon sonrası konağın hücrel ve humoral immünitesinin etkin hale gelmesiyle, doku kisti içinde olmayan tüm *T. gondii* takizoitleri öldürülmektedir (Özcel MA., 2007).

Enfeksiyon immün sistemi sağlıklı kişilerde akut aşama sonrasındaki organ yayılımı ile kronik latent bir seyir gösterir. AIDS hastaları ve diğer immün yetmezliklerde ise akut enfeksiyon olarak görülebileceği gibi, çoğu zaman doku kistlerinin açılıp bradizoitlerin serbestleşmesi ve latent enfeksiyonun reaktivasyonu ile ensefalit, pnömoni, korioretinit gelişebilmektedir (Özcel MA., 2007; Töre O ve ark., 1996).

Patolojik bulgular immün yetmezlikli hastaların ve ağır enfeksiyonlu bebeklerin otopsileri ile immün sistemi sağlam kişilerin lenf bezi biyopsi örneklerinden elde edilen sonuçlarla sınırlı kalmaktadır (Topçu AW ve ark., 2008; Kuman HA ve ark., 1996). Bulgular enfeksiyonun akut, subakut veya kronik oluşuna göre değişmektedir. Akut vakalarda başta kalp, beyin ve akciğerler olmak üzere hemen her organda küçük veya büyük iltihabi ve nekrozlu odaklar görülür. Subakut vakalarda başlıca lezyonlar beyin ve gözde tespit edilir. Kronik vakalarda ise en çok beyinde, gözde, çizgili kaslarda ve adrenaller olmak üzere çeşitli organlarda doku kistlerine rastlanmaktadır (Özcel MA., 2007).

2.3.1. Lenf Nodülleri

Toksoplazma lenfadenitindeki histopatolojik değişiklikler ayırt edilebilir ve tanı koydurucudur. Tipik bulgular şunlardır;

1. Reaktif foliküler hiperplazi
2. Germinal merkezlerin sınırlarını bozan düzensiz epitelooid histiosit kümelenmesi
3. Sinüslerin monosit infiltrasyonuna bağlı genişlemesi

Reed Steinberg dev hücreleri, Langhans dev hücreleri, granülomlar, mikroabseler ve nekroz odakları tipik olarak görülmez. Nadiren takizoitler ve doku kistleri görülebilmektedir (Topçu AW ve ark., 2008; Ajioaka JW ve ark., 2007; Özcel MA., 2007).

2.3.2. Santral Sinir Sistemi (SSS)

Toksoplazmozda SSS'de hücrel nekroz, mikroglial nodüller, perivasküler mononükleer enflamasyonla birlikte, akut veya fokal diffüz meningoensefalit gelişebilmektedir (Topçu AW ve ark., 2008). Nekrozlar lezyonların damarlara yayılmasına neden olduğundan hastalığın gelişiminde en önemli belirleyicidir. Patolojik bulguların düzeyi; yaşa, suşun virulansına, konjenital enfeksiyonda ise anneden fetusa geçen parazit sayısına, enfeksiyonun geçtiği gebelik dönemine ve bebeğin immün sistemine göre farklılık göstermektedir.

Konjenital toksoplazmozis olgularında; leptomeninkslerle beraber beyin ve omurilik dokuları da etkilenmektedir. Bu dokularda konjesyon, lenfosit infiltrasyonu, plazma hücreleri, makrofajlar ve eozinofiller görülmektedir.

İmmün sistemi ileri derecede baskılanmış olan veya AIDS hastalarında toksoplazmik ensefalitin (TE) en belirgin tablosu çok sayıda oluşan beyin apseleridir ve bunlar histopatolojik olarak üç katmandan oluşurlar;

1. Merkezde avasküler bir alan
2. Apse merkezini çevreleyen ileri dercede hiperemik yangı ve hücre infiltrasyonu, perivasküler alanları saran lenfosit, plazma hücresi, makrofajlar ve takizoitleri içeren orta katman
3. *T.gondii* kistlerini içeren dış katman (Özcel MA., 2007).

2.3.3. Göz

İmmün sistem yetmezliği olan hastalarda göz enfeksiyonu ağır enflamasyon ve nekroz ile karakterize akut korioretinite neden olur. AIDS hastalarında korioretinit; segmental panoftalmit, kist ve takizoitleri içeren koagulasyon nekroz alanlarıyla karakterizedir. Enflamasyon fazla olmamasına rağmen nekrotik alanlara komşu tromboze retinal damarlar çevresinde çok sayıda mikroorganizmaya rastlandığı gösterilmiştir. Gözdeki lezyonlar birden fazla, sıklıkla bilateral olarak saptanır (Topçu AW ve ark., 2008).

Oküler toksoplazmoz, genellikle konjenital bulaşmadan kaynaklanırken edinsel enfeksiyon sonucu da gelişebilir (Ertabaklar H ve ark., 2005). Retina ve koroiddeki tek veya birden fazla doku nekrozu odakları oküler toksoplazmozun erken bulguları olarak kabul edilmektedir. Vitrit, iridosiklit ve kataraktlar korioretinitin komplikasyonlarıdır (Topçu AW ve ark., 2008).

2.3.4. Diğer Organlar

Toksoplazmik miyokardit; SSS bulgularının baskın olduğu olgularda çoğu zaman bulgu vermez ancak otopside tanı konulur. Fokal nekroz, ödem ve infiltrasyon tipiktir, apselere de rastlanabilir. Kardiyak miyozitler pseudokist oluşturacak şekilde takizoitlerle dolmuştur ve enflamasyon görülmez.

T.gondii'ye bağlı miyozit AIDS'te sık rastlanan bir semptomdur. HIV ile infekte olmuş hastaların yaklaşık % 4'ünde görülür. İskelet kası biyopsilerinden etken izole edilebilmektedir (Topçu AW ve ark., 2008; Kuman HA ve ark., 1996).

Latent enfeksiyonun reaktivasyonu ile pulmoner toksoplazmoz oluşabilir. Klinik olarak interstisyel pnömoni, nekrotizan pnömoni veya konsolidasyon şeklinde görülebilmektedir. Alveolar makrofaj, plevral sıvı ve hücre dışında alveolar eksudada takizoitler saptanabilir. PZR ile bronkoalveolar lavaj sıvısından DNA izolasyonu mümkündür. Gastrointestinal sistemde karaciğer, pankreas tutulumu, ayrıca seminifer tubuluslar, prostat, adrenal bezler, böbrekler ile kemik iliği tutulumları da gösterilmiştir (Montoya JG ve ark., 2009; Topçu AW ve ark., 2008).

2.4. KLİNİK

Klinik olarak edinsel ve konjenital toksoplazmoz olmak üzere iki ana şekilde ortaya çıkmaktadır.

2.4.1. Edinsel Toksoplazmoz

Edinsel toksoplazmoz üç farklı klinik şekilde incelenmektedir. Klinik bulgular toksoplazmoz için spesifik değildir ve geniş bir ayırıcı tanı yapılmalıdır.

2.4.1.1. İmmün Sistemi Sağlam Hastalarda Toksoplazmoz

Bu hastaların % 10-20'si semptomatik olup servikal lenfadenopati (LAP) şikayetiyle doktora başvurumaktadırlar. Lenf nodülleri hareketli, ağrısız, nadiren 3 cm'den büyük, sert veya yumuşak olup hiç bir zaman süpüre olmazlar. Semptomatik hastalarda ateş, halsizlik, gece terlemeleri, kas ağrıları, boğaz ağrısı, makülopapüler döküntüler bulunabilir. Retroperitoneal veya mezenterik LAP varlığında karın ağrısı görülebilmektedir. Semptomlar genellikle birkaç ayda kaybolur. Benzer semptomlarla seyreden Enfeksiyöz Mononükleoz (EMN) veya Sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonu ile ayırıcı tanısı yapılmalıdır (Özcel MA., 2007).

2.4.1.2. İmmün Yetmezliği Olan Hastalarda Toksoplazmoz

Toksoplazmozis; AIDS, hematolojik kanserler, kemik iliği ve soliter organ nakli gibi immün sisteminin baskılandığı durumlarda çok ağır seyretmekte ve kontrol altına alınmadığı durumlarda ölümlerle sonuçlanabilmektedir (Özcel MA., 2007). AIDS'li hastalarda toksoplazmoz en sık toksoplazmik ensefalit olmak üzere, pnömoni ve korioretinite neden olur. AIDS'li hastaların % 88,7'sinde TE saptanmıştır ve 1 yıl içinde % 70'inde ölüm görülmüştür (Topçu AW ve ark., 2008).

Toksoplazmoz, AIDS dışında immün yetmezliği olanlarda akut ya da latent enfeksiyonun reaktivasyonu şeklinde gelişmektedir. Bu hastaların % 76'sında SSS, % 38'inde miyokardiyal ve % 23'ünde pulmoner tutulum ön planda olup tedavi edilmeyen olguların % 99'unun ölümlerle sonuçlandığı bildirilmiştir (Özcel MA., 2007).

Toksoplazmik korioretinit AIDS hastalarında % 1-3 oranında görülmektedir ve % 63 oranında TE ile birlikte ortaya çıkar. En sık bulgular gözde ağrı ve görme keskinliğinin kaybıdır. Şiddetli vitreal inflamasyon vardır. Nekrotizan lezyonlar bilateral veya multifokaldir (Kuman HA ve ark., 1996).

2.4.1.3. İmmün Sistemi Sağlam Hastalarda Oküler Toksoplazmoz

Oküler toksoplazmozis, genç erişkinde ciddi görme kaybının en sık nedenidir. Çoğunlukla konjenital enfeksiyona bağlı gelişmektedir. (Ertabaklar H ve ark., 2005). Avrupa ve Amerika'daki korioretinitli olguların % 35'inde *T.gondii*'nin etken olduğu bildirilmektedir. Konjenital ve edinsel toksoplazmozda karakteristik lezyon fokal nekrotizan retinittir (Çelebi S ve ark., 2004). Konjenital toksoplazmozise bağlı gelişen korioretinit, genellikle 20-30'lu yaşlarda ortaya çıkmakta olup lezyonlar bilateral ve makulayı tutmaktadır. Akkiz korioretinit ise 40-60'lı yaşlarda klinik bulgu vermekte, lezyonların ise unilateral ve makulayı tutmadığı belirtilmektedir (Özcel MA., 2007).

2.4.2. Konjenital Toksoplazmozis

Gebelik esnasında annenin enfekte olması çoğunlukla konjenital toksoplazmoza neden olmaktadır. Konjenital toksoplazmoza hamilelik öncesi 6-8 hafta içinde annenin enfekte olması da neden olabilir. Kronik toksoplazmozlu gebe kadınlarda immün sistemin baskılanması sonucu da konjenital toksoplazmoz görülmektedir. Akut konjenital enfeksiyonda gebelik spontan abortus, prematüre doğum veya ölüm ile sonuçlanabilmektedir (Montoya JG ve ark., 2009; Kuman HA ve ark., 1996). Konjenital toksoplazmoz saptanmış yeni doğanların % 39'unun asemptomatik olduğu, % 41'i subklinik, % 14'ü hafif hasta, % 5'i ağır hasta ve % 6'sında da abortus veya perinatal ölüm geliştiği bildirilmiştir (Baysal B., 1998).

Hamilelikteki bulaşma zamanına göre klinik belirtiler değişmekte olup hamileliğin ilk 3 ayında bulaştığında spontan abortus, ölü doğum görülmekte veya hamileliğin sonlandırılması gerekmektedir. İkinci veya üçüncü trimestirde bulaştığında bebeğin toksoplazmozlu doğması yüksek olasılıktadır ve doğumdan sonra da hastalanma riski vardır. Konjenital toksoplazmoz bulunan fetus veya bebeklerde hastalığın şiddetine göre hidrosefali, mikrosefali, beyinde kalsifikasyonlar, ikter ve hepatomegali görülmektedir (Özcel MA., 2007).

2.5. TANI

Toksoplazmozda görülen klinik belirtiler, toksoplazmoza özgü olmayıp birçok hastalıkla karıştırılma olasılığı bulunduğundan, ayırıcı tanısı dikkatlice yapılmalıdır (Montoya JG ve ark., 2009; Topçu AW ve ark., 2008).

2.5.1. Direkt Tanı Yöntemleri

2.5.1.1. *Toxoplasma gondii* İzolasyonu ve Üretilmesi

T. gondii izolasyonu için hücre kültürlerine ekim veya deney hayvanına inokülasyonu yapılabilir. Deney hayvanı olarak genellikle fareler kullanılmaktadır. Hücre kültürlerine ekim daha pratiktir ve fare inokülasyonuna göre daha hızlı sonuç alınabilir. Buna karşın fare inokülasyonu daha duyarlıdır (Montoya JG ve ark., 2009). Vücut sıvıları örneklerinin fareye inokülasyonundan 6-10 gün sonra fare periton sıvısında takizoitler araştırılır. Etkene rastlanılmadığı takdirde, farenin karaciğer, dalak ve beyninden elde edilen süspansiyonlar sağlam farelere inoküle edilmekte ve 6 hafta sonra serumda antikor bakılmaktadır (Özcel MA., 2007; Topçu AW ve ark., 2008).

T. gondii, ilk olarak Levaditi ve ark. tarafından 1929 yılında tavuk embriyosunda ve hücre kültüründe üretilmiştir. *T. gondii*, primer hücre kültürlerinde ayrıca diploid ve devamlı hücre kültürlerinde üretilebilmektedir (Akısü Ç ve ark., 1998).

Konjenital toksoplazmozda tanı amaçlı olarak amnion sıvısı, gebeliğin 18-20. haftasında amniosentez ile alınmakta ve hücre kültürlerine ekilmektedir. Hücre kültürlerine beyin, karaciğer, dalak, doku biyopsi örnekleri, kemik iliği aspirasyon materyali, BOS, amnion sıvısı ve buffy coat sıvı örneklerinin ekimleri yapılabilmektedir. İmmün yetmezlikli hastaların toksoplazmoz tanısında da hücre kültürleri kullanılabilir (Özcel MA ve ark., 1997; Mcleod R ve ark., 2000).

2.5.1.2. Histopatolojik Tanı

Steril vücut sıvılarının (BOS, BAL, amniotik sıvı vb.) sürüntüleri ve doku kesitlerinde takizoitlerin gösterilmesi akut enfeksiyonu gösterir. Enflamatuvar nekrotik lezyonun çevresinde birçok doku kisti tanı koydurucudur. Takizoitleri boyanmış doku kesitlerinde göstermek oldukça zordur. Teknik olarak immünoperoksidaz boyama yöntemi duyarlı ve spesifiktir. BOS sedimenti ve doku biopsi örneklerinde Wrigth ve Giemsa boyama yapılabilir (Montoya JG ve ark., 2009).

2.5.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Konjenital, oküler, serebral ve dissemine toksoplazmozda, PZR; dokularda ve vücut sıvılarında *T. gondii* DNA'sının saptanması esasına dayanan yöntemdir (Topçu

AW ve ark., 2008). İntrauterin toksoplazmozis tanısında PZR yöntemi, altın standarttır ve duyarlılığı % 100'dür. Gebeliğin 18. haftasında amniyon sıvı örneği ile yapılan PZR'nin daha güvenilir olduğu bildirilmektedir (Montaya JG ve ark., 2004). PZR'nin özgüllüğü BOS örneklerinde % 100'e yakın iken duyarlılığı % 11-77 arasında değişmektedir. Ancak ilk hafta içinde ve tedaviden önce duyarlılık daha yüksektir. Aynı örneklerde PZR, yalancı pozitiflerden kaçınmak ve şüpheli sonuçları doğrulamak için en az iki kez tekrarlanmalıdır (Montoya JG ve ark., 2009; Kuman HA ve ark., 1996).

PZR yöntemi ile *T. gondii*'nin B1, p30, TGR1, 18S rDNA veya AF146527 gibi spesifik nükleik asit dizilerinin amplifikasyonu hedeflenmektedir (Montaya JG ve ark., 2004).

2.5.2. İndirekt Tanı Yöntemleri

T. gondii'ye karşı oluşan özgün antikoları tespit etmek için kullanılan serolojik testler indirekt tanı yöntemleridir (Montoya JG ve ark., 2009). Çok sayıda insanda bu antikolar pozitif bulunmakta ve sağlıklı insanlarda yıllarca pozitif olarak kalmaktadır. Tek bir serolojik test ile *T.gondii* enfeksiyonunun akut veya kronik olduğu anlaşılamaz (Topçu AW ve ark., 2008). Enfeksiyonu tanımlamada *T. gondii* serolojik profili (TSP) olarak adlandırılan ve SFDT (IgG), IgM-, IgA- ve IgE-ELISA, IgE-ISAGA, diferansiyel aglutinasyon test (IgG) yöntemlerinden oluşan bir panel kullanılmaktadır (Özcel MA ve ark., 1997).

2.5.2.1. IgM, IgG, IgA ve IgE Antikorları

IgG hastalığın bulaşmasından 1-2 hafta sonra oluşmaya başlar, 1-2 ayda en yüksek düzeye çıkar ve yaşam boyunca değişik düzeylerde bulunur (Özcel MA ve ark., 1997). IgG antikorları; Sabin-Feldman boya testi, indirekt fluoresan antikor testi (IFAT), ELISA, IgG avidite testi ve modifiye direkt aglutinasyon testleri ile saptanmaktadır (Topçu AW ve ark., 2008; Kuman HA ve ark., 1996).

IgM antikorları ise erken dönemde ortaya çıkar ve IgG oluşumundan sonra hızlı bir şekilde azalır. IgM antikor testleri, akut enfeksiyon ve hamile bir kadının gebeliği esnasında veya gebelikten önce enfekte olup olmadığını tespit etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Özcel MA., 2007).

IgA ve IgE antikorları ise akut enfekte erişkinlerde ve konjenital toksoplazmozlu yeni doğanlarda ELISA ve ISAGA yöntemleri ile serumda saptanmaktadır (Montaya JG ve ark., 2004).

2.5.2.2. Sabin-Feldman Dye Test (SFDT)

SFDT, *T. gondii*'ye özgün antikorların saptanmasında ve toksoplazmozis tanısında kullanılan diğer testlere göre altın standart veya referans tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Şüpheli hasta serumunda antikor ve kompleman varlığında organizmaları parçalayan duyarlı ve özgül bir nötralizan antikor testidir. Bu test ile IgG antikorları tespit edilmektedir.

SFDT'de canlı trofozoitler, şüpheli serum ve kompleman (aktivatör serum) ile karıştırılmakta, bir saat 37°C'de inkübe edildikten sonra ortama boya maddesi olarak metilen mavisi ilave edilmektedir. Karışımda özgün antikor bulunduğunda, kompleman ile aktive olarak parazit membranını eritmekte olduğundan *Toxoplasma* trofozoitleri boyanmamakta ve sonuç pozitif olarak kabul edilmektedir. Eğer ortamda özgün antikor yoksa membranı erimeyen trofozoitler metilen mavisiyle boyanmakta ve sonuç negatif olarak değerlendirilmektedir (Wilson M ve ark., 2007; Özcel MA., 2007).

2.5.2.3. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Günümüzde bu test IgG, IgM ve IgA antikorlarını saptamada yaygın olarak kullanılmaktadır ve ticari kitlerin özgülüğü ile duyarlılığı oldukça yüksektir. Ancak sadece ELISA (IgG, IgM ve IgA) sonucu ile hastalık değerlendirilmemelidir. Şüpheli serumda romatoid faktör veya antinükleer antikorların (ANA) bulunması, ELISA yöntemi ile IgM belirlenmesinde yanlış pozitifliğe neden olmaktadır (Özcel MA., 2007).

ELISA testlerinde bir standardizasyonun olmamasından dolayı spesifik IgM tespit edilen toksoplazmoz şüpheli hastaların, SFDT veya PZR çalışılan referans merkezlere gönderilmesi gerekmektedir (Roman E ve ark., 2006).

2.5.2.4. İndirekt Floresans Antikor Testi (IFAT)

IFAT için canlı *Toxoplasma* parazitlerinin kullanılması gerekmediğinden bunun yerine IgG ve IgM'ye karşı hazırlanan floresans antiserumlar kullanılan bu test daha güvenli, daha kolay, ekonomik olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Topçu AW ve ark., 2008). IFAT ile saptanan IgG antikor titreleri, SFDT titreleri ile paralellik

göstermektedir. Ancak bu testte ANA ve RF içeren serumlarla yalancı pozitiflik, düşük IgG içeren serumlarla yalancı negatiflik oluşabilmektedir (Montoya JG ve ark., 2009; Özcel MA ve ark., 1997).

IgM-IFAT antikoru, ilk hafta içinde görülmekle beraber titreler hızla yükselir ve daha sonra titreler düşmeye başlar. Birkaç ay içinde kaybolmakta, bazen de düşük titrede bir yıl kalabilmektedir (Montoya JG ve ark., 2009).

2.5.2.5. Direkt Aglutinasyon Testi (DA)

Bu testte formalin ile muamele edilmiş takizoitler kullanılır ve sadece IgG antikoru saptanmaktadır. Serumda bulunabilen doğal IgM antikoru karşı çok duyarlı bir yöntem olduğundan yanlış pozitif sonuç verebilmektedir. Test öncesinde serumların 2-merkaptotanol ile muamele edilmesi ile bu problem ortadan kaldırılabilmektedir (Özcel MA., 2007).

Son olarak geliştirilen diferansiyel aglutinasyon testinin (AC/HS test), özellikle hamile bayanlarda, akut ve kronik enfeksiyonun ayırımında yararlı olmasına rağmen TSP ile birlikte kullanılması önerilmektedir (Montoya JG ve ark., 2004).

2.5.2.6. IgG Avidite Testi

T. gondii'ye bağlanan antikorun aviditesinden yola çıkarak enfeksiyonun süresini saptamada kullanılan bir yöntemdir. Enfeksiyonun erken döneminde saptanan düşük aviditeli antikorlar, enfeksiyonun ileri dönemlerinde yerlerini yüksek aviditeli antikorlara bıraktıklarından, antijenin bağlanma gücü ELISA avidite testleri ile tespit edilir

Bu test, enfeksiyonun başlangıç tarihinin bilinmesi açısından, ELISA ve ISAGA IgM testleri pozitif olan hastalara, konjenital olarak enfekte bebeklere, reaktivasyon gelişen AIDS'li hastalara ve transplantasyon alıcılarına ait örneklerin incelenmesinde önerilmektedir (Özcel MA., 2007; Özcel MA ve ark., 1997).

Yüksek IgG avidite titresi, enfeksiyonun en az dört ay önce geçirildiğini, düşük avidite titresi ise enfeksiyonun akut olabileceğini göstermektedir (Beghetto E ve ark., 2003).

2.5.2.7. IgM Double Sandwich ELISA (IgM-DS-ELISA)

IgM-ELISA ve IFA testlerine göre daha hassas ve daha spesifik bir test olmasıyla beraber RF ve ANA'nın neden olduğu yalancı pozitiflik bu testte görülmemektedir (Kuman HA ve ark., 1996).

2.5.2.8. IgM Immunosorbent Agglutination Assay (IgM-ISAGA)

Bu test daha çok yenidoğanlarda konjenital enfeksiyon tanısında kullanılmaktadır. Şüpheli serumda bulunan anti-toxoplasma IgM antikollarının, U tabanlı olan aglutinasyon plakları içine kaplanmış anti-insan IgM monoklonal antikolları tarafından immünolojik olarak bağlanması esasına dayanmaktadır. Plak çukurları içinde düğme şeklinde tam bir sedimentasyon görülürse sonuç negatif, bulutumsu bir görüntü oluşursa sonuç pozitif olarak değerlendirilmektedir (Özcel MA., 2007).

Bu test ile, IgE ve IgA antikolları da tespit edilebilmektedir, ayrıca RF ve ANA varlığında sonuç etkilenmemektedir. Özgüllüğü ve duyarlılığı IgM-ISAGA; DS-ELISA, ELISA ve IFA yöntemlerinden daha yüksektir (Montaya JG ve ark., 2004).

2.5.2.9. Diğer İndirekt Tanı Yöntemleri

Bahsedilen tanı yöntemlerine ek olarak, Kompleman Fiksasyon Testi (CF) İndirekt Hemaglütinasyon Testi (IHA), Enzyme Linked Immunofiltration Assay (ELIFA) ve Western Blot yöntemleri de toksoplazmoz tanısında kullanılmaktadır (Özcel MA., 2007; Özcel MA ve ark., 1997).

2.6. İMMÜNİTE

Toksoplazmoz, immün sistemi sağlam kişilerde genellikle önemli klinik belirtiler vermeksizin seyreder. Ancak farklı organlara yayılma sonucu kronik veya latent enfeksiyon şeklinde kalır. İmmün yetmezliği olan kişilerde ise akut enfeksiyon veya daha sık olarak bir latent enfeksiyonun nüksetmesi şeklinde oluşur (Montoya JG ve ark., 2009).

T.gondii' ye karşı konak için doğal ve kazanılmış bağışıklık söz konusudur. Doğal bağışıklık patojenleri tanır ve konağın savunma mekanizmalarını hızla aktive eder (Iwasaki A ve ark., 2004). Toll-like reseptörler (TLR) ve C tipi lektinler doğal

immünitede rol alır ve özellikle TLR11 reseptörlerinin *T. gondii*'nin tanınmasında önemli rolünün olduğunu düşünülmektedir (Yarovinsky F ve ark., 2006).

T. gondii enfeksiyonu konakta hem hücresel hem de humoral immün yanıt oluşmasına neden olmaktadır (Özcel MA., 2007; Kasper LH ve ark., 1998). Oluşan humoral bağışıklıkta; parazitin çeşitli antijenlerine karşı oluşan immünglobulin G (IgG), IgM, IgA ve IgE yapısında antikolar, hücre dışında bulunan takizoitleri komplemanla birlikte parçalarken, hücre içine yerleşmiş olan parazitlere karşı etkisizdirler. Humoral bağışıklık geliştikten sonra antikor ile kaplı takizoitler, immünglobulin Fc reseptörleri aracılığı ile makrofajların içine alınır. Sonrasında fagozom-lizozom füzyonunun oluşması ile parazit öldürülmektedir. Hücre içindeki parazitlerle mücadelede hücresel bağışıklık ön plandadır. Parazite karşı koruyucu mekanizmaları CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositler; makrofajlar, doğal katil (NK) ve lenfokinle aktive olmuş katil (LAK) hücrelerle birlikte hareket ederek oluştururlar (Montoya JG ve ark., 2009; Töre O ve ark., 1996; Zhou XW ve ark., 2005).

T. gondii ile enfekte hücreleri, CD8⁺ T lenfositler, hem direkt toksisite hem de sitokin (IFN- γ) sekresyonu ile ortadan kaldırırlar. Bunun için parazit antijeni, CD4⁺ T lenfositler ve IL-2 gerekmektedir. CD8⁺ T lenfositler; enfekte hedef hücelere doğru MHC-I ile sınırlı sitolitik aktivite göstermekle beraber parazit uyarımına cevap olarak yüksek seviyede interferon gama (IFN- γ) salgılayarak makrofajların öldürücü fonksiyonlarını aktive ederler (Denkers EY ve ark., 1998). Bunun yanında *T. gondii* ile enfekte hücrelerin apopitozunun, CD8⁺ sitotoksik T lenfositler ile uyarılmasının hücre içi canlı parazit sayısında azalmaya yol açmadığı da kaydedilmektedir (Yamashita K ve ark., 1998).

Hücresel ve humoral immünitenin oluşması için CD4⁺ T lenfositler gereklidir ve antimikrobiyal tedavinin etkin olmasına yardımcı olurlar (Töre O ve ark., 1996). İnsan CD4⁺ T lenfositlerin spesifik antijeni, *T. gondii*'nin roptri-2 proteini ve bu IFN- γ salgılanmasını sağlar. Seropozitif kişilerden izole edilen T hücrelerinde, IFN- γ üretimi ile Th1, IL-4 üretimi ile Th2 ilişkisi gösterilmiştir (Denkers EY ve ark., 1998).

T. gondii'ye karşı konak savunmasında en önemli role sahip sitokin IFN- γ 'dır. Bu etkinlik, fare modellerinde ve toksoplazmik ensefalitli AIDS hastalarında yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. T hücrelerden bağımsız olarak NK hücreleri ve T hücelere bağımlı olarak Th0, Th1 ve CD8⁺ lenfositler, IFN- γ 'nın en önemli kaynaklarıdır

(Denkers EY ve ark., 1998). Ratlarda yapılan çalışmalarda, IFN- γ sekrete edemeyen ratlar enfeksiyonun akut döneminde yaşamlarını kaybetmişlerdir. IFN- γ hem yaşam süresini uzatmakta, hem de spesifik efektör molekül üretimini uyararak antimikrobiyal aktivite sağlamaktadır. Bu moleküller; indolamin 2,3-deoksijenaz ve GTP-bağlayıcı protein gibi metabolik enzimlerle birlikte reaktif nitrojen ara ürünleri (RNI)'dir (Denkers E Y ve ark., 2004) .

TNF- α , IFN- γ aracılığıyla makrofajları aktive eder. Bunun yanında nitrik oksit (NO) üretimini ve reaktif nitrojen ara ürünlerinin (RNI) üretimini uyarır (Denkers EY ve ark., 1998). IgG düzeyi yüksek pozitif olan hastalarda, sağlıklı bireylere göre NO'nun çok arttığı saptanmıştır (Baskın H ve ark., 2000).

IL-12 de *T.gondii*'ye karşı güçlü ve etkin bir hücrel immüitenin başlamasında önemli bir sitokindir. Dendritik hücreler, nötrofiller ve makrofajlardan salınan IL-12, özellikle NK hücrelerden IFN- γ salınmasına ve Th0 hücrelerinin Th1 hücrelerine dönüşmesini sağlar. NK hücrelerden IFN- γ üretiminde TNF- α , IL1- β , IL-15'in de rol alması gereklidir (Yarovinsky F ve ark.,2006; Denkers EY ve ark., 1998).

Temel kaynağı Th2 hücreler olan, B lenfositler ve makrofajlar tarafından da üretilen IL-10; NK ve Th1 hücrelerden üretilen IFN- γ ve makrofajlardan salınan inflamatuvar monokinlerin sentezini inhibe eder. Bundan dolayı IL-10 *T. gondii*'ye karşı makrofaj fonksiyonlarının önemli bir düzenleyicisidir. IL-4 ise hem makrofaj fonksiyonlarını inhibe ederek hem de IL-10'un etkisini güçlendirerek etki eder (Denkers EY ve ark., 1998). IL-6 ise takizoitlerin replikasyonunu hızlandırarak ve IFN- γ 'nın makrofaj aktivasyonu etkisini kaldırarak etki gösterir. Sonuçta; IL-4, IL-6 ve IL-10 hücre içi parazitlerin öldürülmesini yavaşlatarak olumsuz etki gösterirler (Montoya JG ve ark., 2009; Töre O ve ark., 1996).

Toksoplazmoz'un kronik döneminde fare beyninde enflamatuvar sitokinlerden IFN- γ TNF- α , IL-1 ve IL-6 düzeylerinde düşme belirlenmiş, buna karşın anti-enflamatuvar sitokin olan IL-10 düzeyinde artma saptanmıştır. Kronik dönemde *T.gondii* enfeksiyonunun reaktivasyonunu önlemek için hem CD4⁺ hem de CD8⁺ T lenfositler ihtiyaç vardır (Denkers EY ve ark., 1998).

HIV ile enfekte hastalarda, toksoplazmozda hem humoral hem de hücrel immün yanıtta sorun vardır. CD4⁺ T lenfositlerdeki ciddi azalmadan dolayı enfeksiyon

ağırlaştığında, antikor titrelerinde artış saptanmaz. Ayrıca T hücrelerinden, IFN- γ ve IL-2 sekresyonu yetersizdir. AIDS'in seyrinde T hücrelerine bağlı koruyucu mekanizmaların kaybından dolayı, toksoplazmoz sıklıkla geç dönemde gelişir (Kasper LH ve ark., 1998). Kronik toksoplazmozun HIV enfeksiyonuna etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, *T. gondii*'nin rezerv konak hücreler içinde HIV-1 virusunun replikasyonunu arttırdığı, aynı zamanda HIV-1 virusunun kronik toksoplazmoz reaktivasyonunu kolaylaştırdığı ve parazite karşı kazanılan immüniteyi yıktığı sonucuna varılmıştır (Denkers EY ve ark., 1998).

2.7. TEDAVİ

Günümüzde *T. gondii*'ye karşı önerilen ilaçlar, temel olarak takizoitlere etkili olurken doku kistini (bradizoit) yok etmediği bildirilmektedir. Hamilelerde akut enfeksiyon, infantlarda konjenital enfeksiyon, immün sistemi baskılanmış hastalarda reaktivasyon ile akut ve rekürren oküler hastalık durumunda *T. gondii* enfeksiyonu tedavi edilmelidir. Tedavide kullanılan ilaçlar içerisinde ilk ve en etkili seçenek; pirimetamin (PYR) ile sülfadiazin (SDZ) veya klindamisin kombinasyonudur (Montaya JG ve ark., 2004). Pirimetamin'in kemik iliğini baskılamasını önlemek için folinik asit ile birlikte uygulanması önerilmektedir (Montoya JG ve ark., 2009). Folinik asit, konjenital enfeksiyonda tedavi süresince haftada üç defa 10 mg, hamilelerde 5-20 mg/gün, erişkin korioretinitte haftada üç defa 10 mg, AIDS hastalarında 10-20 mg/gün (50 mg verilebilir) olarak önerilmektedir (Montaya JG ve ark., 2004). Azitromisin, klaritromisin, atavakuon, dapson ve Trimetoprim – Sulfametoksazol (TMP-SMX) gibi diğer ilaçların rolü daha az olmakla birlikte; ya tek başına ya da pirimetamin ile kombine edilerek kullanılması gerekmektedir (Montoya JG ve ark., 2009). Akut enfekte gebe annenin fetusuna enfeksiyonun bulaşmasını önlemek ve konjenital toksoplazmozun tedavisinde ise spiramisin kullanılmaktadır (McLeod R ve ark., 2000).

Güncel tedavi protokollerinin hastalar tarafından tolere edilememesi ve çok sayıda yan etkilerinin görülmesinden dolayı yeni tedavi protokollerine ihtiyaç vardır (Petersen E., 2007).

2.7.1. Özgün Klinik Şekillerde Tedavi Yaklaşımı

2.7.1.1. İmmün Sistemi Sağlam Hastalarda Toksoplazmoz

Beyin, kalp, karaciğer gibi yaşamsal organlar etkilenmedikçe tedavi önerilmemektedir. Lenfadenopati (LAP) gibi klinik bulgu veren hastaların özgün tedavi almasının iyileşmeyi sağladığı gösterilmiştir (Özcel MA., 2007).

2.7.1.2. İmmün Yetmezlikli Hastalarda Toksoplazmoz

Primer veya reaktif enfeksiyon geçiren immün yetmezlikli hastaların tedavi edilmesi önerilmektedir (Mcleod R ve ark., 2000). Sıklıkla 6 ay kadar süren belirti ve bulguların azalmasından sonraki 4-6 hafta süresince tedaviye devam edilmesi; tedavi edilmediği durumlarda, bu hastalarda toksoplazmozun sıklıkla ölümcül seyrettiği bildirilmektedir. AIDS hastalarındaki toksoplazmoz tedavisinde, PYR ile SDZ veya klindamisin kombinasyonu ve folinik asit standart tedavi rejiminin uygulanması önerilmektedir. Alternatif tedavide tek başına TMP-SMX kullanılabilir. Ayrıca standart tedavideki PYR ile kombine olarak klaritromisin, azitromisin, atovakuon ya da dapsondan biri tercih edilebilmektedir (Montoya JG ve ark., 2009).

İmmün yetmezliği olan hastalarda toksoplazmoz tedavisinden sonra % 80'den fazla relaps geliştiğinden hayat boyu idame (sekonder profilaksi) tedavisi uygulanmalıdır (Akısü Ç ve ark.,2005).

2.7.1.3. Oküler Toksoplazmoz

Oftalmolojik değerlendirme ayrıntılı olarak yapıldıktan sonra aktif toksoplazmik korioretinit tedavisi önerilmektedir. Görme keskinliğinde azalma, maküler ve peripapiller lezyonlar, bir optik sinir çapından daha büyük lezyonlar veya vitreusda inflamatuvar reaksiyon varlığında ve aktif hastalığın bir aydan daha uzun sürmesi durumunda tedavi endikasyonu olduğu vurgulanmaktadır. PYR ile SDZ kombinasyonun klinik cevaba bağlı olarak 4-6 hafta verilmesi önerilmektedir. Alternatifler arasında klindamisin tedavisi ön plana çıkmaktadır (Özcel MA., 2007). Lezyonlar; makula, optik sinir başı veya perimaküler alanı içerdiğinde ise tedaviye sistemik kortikosteroid eklenmesi önerilmektedir (Montoya JG ve ark., 2009).

2.7.1.4. Hamile Kadınlarda Akut Toksoplazmoz

Gebelik öncesi enfeksiyonu kazanmış olan immün sistemi sağlam hamile kadınlarda, konjenital enfeksiyonu önlemek için tedaviye gerek olmadığı gebelik esnasında enfekte olan hamile kadınlara erken dönemde başlanan spiramisin tedavisi (3g/gün) ile fetal geçiş riskinin % 60 kadar azaldığı bildirilmiştir. Hamilelikte plasental enfeksiyon oluşumu ile fetal enfeksiyon arasında genellikle bir gecikme olduğu için acil tanı konularak tedavinin başlanması önemlidir. Pirimetamin, sülfadiazin ve spiramisin kombine tedavisinin tek başına spiramisin kullanımına üstünlük göstermektedir (Akısü Ç ve ark.,2005).

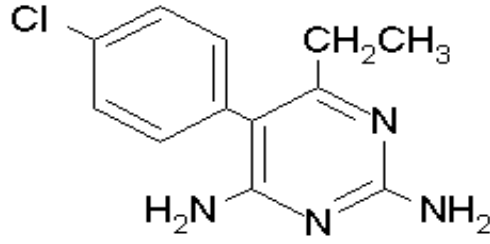
2.7.1.5. Konjenital Toksoplazmoz

Enfeksiyonun klinik belirti ve bulguları olsun veya olmasın, bütün enfekte yeni doğanlar tedavi edilmelidir. Konjenital toksoplazmozda, tedaviye erken başlanması sonucu aktif korioretinit, menenjit, ensefalit, hepatit, splenomegali ve trombositopeni gibi belirtilerde genellikle düzelme görülürken bu durum hayati organlara zarar veren akut hastalığı durdurmada etkili olabilmektedir. Tedavi edilmeyenlerde ise korioretinitin nüksettiği gözlenmektedir. Tanı ve tedavideki gecikme, doğumda hipoglisemi, hipoksi, hipotansiyon ve ciddi görme bozukluğunun olması kötü prognoza neden olmaktadır (Mcleod R ve ark., 2000). Konjenital toksoplazmozisli çocuklarda en az 1 yıl süreyle pirimetamin, sulfadiazin ve folinik asit kombinasyonu kullanılmaktadır (Özcel MA., 2007) .

2.7.2. İlaçlar

En etkili mevcut tedavi protokolü; PYR ile SDZ veya klindamisin kombinasyonu olup takizoitlere karşı aktif ve sinerjistik etki göstermektedirler (Sonda S ve ark.,2005).

2.7.2.1. Pirimetamin (Daraprim)



Şekil 3: Pirimetaminin kimyasal yapısı (Akısü Ç ve ark.,2005).

Pirimetamin [2, 4-diamino-5-(*p*-chlorophenyl)-6-ethylpyrimidine], dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek tetrahidrofolat sentezini engellemektedir. Böylece duyarlı bakterilerin ve protozoonların DNA, RNA ve bazı aminoasitlerin sentezleri bozulmaktadır. Sülfonamidlerle kombine edildiğinde sinerjistik etki gösterir. Gastrointestinal sistemden kolayca absorbe olur ve serumda yarılanma ömrü 1-5 gündür (Akısü Ç ve ark.,2005).

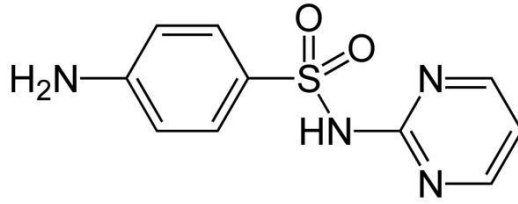
En önemli yan etkisi ise kemik iliği üzerine inhibisyon olmakla beraber tedaviye sülfonamid eklendiğinde bu yan etkiler daha da artmaktadır. Lökopeni, megaloblastik anemi, trombositopeni açısından haftada iki defa kan hücrelerinin sayımının yapılması önerilmektedir. Bu yan etkiler 5-10 mg/gün folinik asit verilerek azaltılabilir. Özellikle TE olan AIDS hastalarında bu yan etkiler daha fazla görüldüğünden bu hastalarda 50 mg/gün folinik asit verilmelidir. Kusma, taşikardi, sık soluma, titreme ve siyanoz gibi yan etkilerde bildirilmektedir, bu durumda ilaç dozlarının azaltılması veya tedaviye bir süre ara verilmesi önerilmektedir (Özcel MA., 2007).

Erişkinde korioretinit'te ve serebral toksoplazmoziste 1. gün 50-100 mg/gün, sonrasında 25 mg/gün PYR ile birlikte 1-1,5 gr/gün SDZ 1-2 hafta süreyle önerilmektedir. Bu kombinasyona ek olarak 10 mg/gün dozunda folinik asit tedaviye eklenmektedir (Akısü Ç ve ark.,2005). Konjenital toksoplazmozis'te yükleme dozu 2 mg/kg 2 gün, idame dozu 1 mg/kg 2-6 ay, daha sonra haftada 3 gün ile 1 yıl devam edilmektedir (Montaya JG ve ark., 2004). Hamilelerde PYR ve SDZ'nin yan etkilerinden dolayı 17. haftadan sonra kullanılması önerilmektedir. Ancak

amniyosentez veya kordosentez ile fetal enfeksiyon tespit edilirse spiramisin yerine 18. haftadan sonra kombinasyon verilmektedir (Wilson M ve ark., 2007).

Primetamine karşı aşırı duyarlılığı olanlarda ve folik asit eksikliğine bağlı megaloblastik anemisi olanlarda kontrendikedir. Gebelikte C kategorisinde bulunmaktadır ve kullanım zorunluluğu varsa mutlaka yarar-zarar göz önüne alınmalı ve folinik asit ile birlikte verilmelidir (Akısü Ç ve ark.,2005).

2.7.2.2. Sülfadiazin



Şekil 4: Sülfadiazinin kimyasal yapısı (Akısü Ç ve ark.,2005).

Sülfadiazin, PABA analogu olup dihidropteroat sentetaz enzimini inhibe ederek folik asit sentezini önler. Sonuçta RNA ve DNA sentezi bozulur. PYR ile kombine edildiğinde 10 kat daha sinerjistik etki gösterir. Bütün vücuda dağılır (Kayaalp O., 2009). Sülfadiazin'in yan etkileri olan kristalüri, hematüri ve deri döküntüsünü önlemek için hastaların bol bol su içmesi ve oral bikarbonat alması tavsiye edilir. Özellikle AIDS'li hastalarda bu yan etkilerden dolayı nefrotoksiteye daha sık rastlanmaktadır (Montoya JG ve ark., 2009). Oral dozu takiben % 70-100'ü GİS'ten emilir, yarılanma ömrü 10-12 saattir, maksimum serum konsantrasyonu alınan doza göre değişmekle birlikte ortalama 50-100 µg/ml arasında tespit edilmektedir (Meneceuri P ve ark.,2008).

SDZ, toksoplazmozis'in tüm formlarında PYR ve folinik asit ile kombine olarak önerilmektedir. Erişkin yükleme dozu 75 mg/kg/gün, idame dozu altı saatte bir 1-1,5 gr'dır. Erişkin korioretinitte semptomlar geriledikten sonra 1-2 haftaya kadar oral 1-1,5 g/gün, AIDS'li hastada PYR ile aynı sürede altı saatte bir 1-1,5 gr verilmektedir. Konjenital enfeksiyonda 3 ay-1 yıl süreyle 100 mg/kg/gün ikiye bölünerek verilmesi önerilmektedir (Schmidt DR ve ark.,2006). Hamilelerde 18. haftadan sonra, yükleme dozu 75 mg/kg ikiye bölünerek 2 gün, idame dozun 100 mg/kg/gün doğum zamanına kadar verilmesi önerilmektedir (Montaya JG ve ark., 2004).

Gebeliğin son trimestrinde kullanılırsa kern ikterus riskini arttırlar. Bu nedenle yeni doğanlarda ve emziren annelerde kullanılması önerilmemektedir (Akısü Ç ve ark.,2005).

2.7.2.3. Klindamisin

Linkosamid antibiyotik grubundan olan klindamisin bakterilerde 50S ribozomal alt birimine bağlanarak protein sentezini bozarak etki göstermektedir (Leblebicioğlu H ve ark.,2008). Parazit hücrelerine etkisi henüz anlaşılamamıştır (Özcel MA., 2007). Yan etkilerinin; deri döküntüsü, bulantı, kusma, ishal, elektromiyelografide anormal görünüm ile miyopati ve yüksek serum fosfokinaz seviyesi olduğu bildirilmiştir. Erişkinde tavsiye edilen oral veya iv. doz her 6 saatte 600 mg olup TE'de ise İV dozu 1200 mg/6 saat olarak önerilmektedir (Montoya JG ve ark., 2009; Kuman HA ve ark.,1996; Montaya JG ve ark.,2004). Koroidde yoğunlaştığından oküler toksoplazmozda, alternatif olarak her 6 saatte bir 600 mg en az 3 hafta önerilmektedir (Trierney LM ve ark.,2001).

2.7.2.4. Spiramisin

Spiramisin, makrolid grubu bir antibiyotik olup bakterilerde 50S ribozomal alt birime bağlanıp protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterir. Parazitolojide özellikle gebelikte oluşan toksoplazmozis tedavisinde kullanılabilmesi nedeniyle önemli bir yer tutmaktadır (Akısü Ç ve ark.,2005). Akut enfekte gebeden fetusa bulaşın önlenmesi için spiramisin kullanılması önerilmektedir. Ancak yapılan çalışmaların bir çoğunda gebelerde spiramisin tedavisinin fetusa bulaşı önlemediği bildirilmektedir. Bu durum ise fetusa bulaşın enfeksiyondan sonra iki hafta içerisinde gerçekleştiğinden dolayı bu sürede tanı konulamadığından tedavinin gecikmesi olarak açıklanmaktadır (Petersen E., 2007).

Spiramisin'in toksoplazmozisin akut ve idame tedavisinde veya AIDS hastalarında TE'nin primer profilaksisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Spiramisinin terotojenik olduğu gösterilmemiştir (Montoya JG ve ark.,2008). Hamilelerde fetal enfeksiyon tespit edilene kadar, 3 g/gün üç eşit dozda kullanılması önerilmektedir (Montaya JG ve ark.,2004).

2.7.2.5. Azitromisin

Eritromisinin lakton halkasına metillenmiş azot sokulmak suretiyle türetilen, 15 üyeli lakton halkası içeren, yarı-sentetik makrolid türevi bir azalid antibiyotiktir (Kayaalp O., 2009). Fare modellerinde toksoplazmozun tedavisinde, parazitin hem takizoit hemde doku kisti formlarına karşı aktivitesi olduğu gösterilmiştir (Huskinson M J ve ark.,1991). Yüksek konsantrasyonlarda hızlı bir şekilde nötrofil ve makrofajların içerisine girdiğinden intrasellüler patojenlere karşı etkilidirler (Winn WC ve ark.,2006).

AIDS hastalarında TE'li bazı vakaların tedavisinde, azitromisin (1200-1500 mg/gün) ile PYR (50-75 mg/gün) kombinasyonunun etkili olduğu bildirilmektedir (Ertabaklar H ve ark., 2005). Deneysel akut toksoplazmoz modellerinde azitromisinin, SDZ veya PYR ile birlikte verilmesinin belirgin bir sinerjistik etki sağladığı gösterilmiştir (Pfefferkorn ER ve ark.,1994).

2.7.2.6. Atovakuon

Atovakuon, mitokondriyal elektron transportunda önemli rol oynayan ubikinonun antimetaboliti ve hidroksinaftikinin türevi bir alternatif ilaçtır. Duyarlı protozoonlarda mitokondriyal elektron transportunu inhibe ederek ATP ve pirimidin sentezini engellemektedir (Pfefferkorn ER ve ark.,1994). Atovakuon'un, hem takizoitlere hem de doku kistlerine karşı güçlü *in vivo* ve *in vitro* aktivitesi olduğu gösterilmiştir (Romand S ve ark.,1993; Meneceuri P ve ark.,2008). Atovakuon ile fare modellerinde PYR, SDZ, klindamisin veya klaritromisin ile kombine edildiğinde daha iyi sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Akısü Ç ve ark.,2005).

2.7.2.7. Trimetoprim – Sulfametoksazol (TMP-SMX)

T. gondii'ye etkinliğinin pirimetaminden az olduğu için toksoplazmozis tedavisinde ikinci veya üçüncü ilaç olarak tercih edilmektedir. Trimetoprim'in etki mekanizması pirimetamine benzemektedir. AIDS hastalarında TE tedavisinde ve profilakside oral veya iv 5mg/kg/gün 12 saat arayla TMP-SMX kullanılmaktadır (Montoya JG ve ark., 2009).

2.7.2.8. Diğer Antimikrobiyal Ajanlar

Klaritromisin uzun etkili makrolid türevi bir antibiyotiktir (Özcel MA., 2007). TE'li hastalarda PYR ile kombine kullanılmış ancak fazla yan etki ve toksisite görülmüştür. Bu hastaların primer profilaksisinde tek başına etkisiz olduğu bildirilmektedir (Fernandez MJ ve ark.,1991). Dağcı ve ark. (Dağcı H ve ark.,2002). klaritromisinin *T. gondii*'ye karşı *in vivo* ve *in vitro* etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında bu antibiyotiğin *T. gondii*'nin üremesini inhibe ettiğini göstermişlerdir

Roksitromisin, eritromisinden daha lipofilik olan ve 14 üyeli lakton halkası içeren ester oksim türevidir (Kayaalp O., 2009). İmmün sistemi baskılanmış TE'li farelerin tedavisinde yüksek derecede etkin bulunmuştur (Pfefferkorn ER ve ark.,1994). TE'li AIDS hastalarının primer profilaksisinde 900 mg dozunda haftada bir kez veya üçe bölünerek uygulandığında etkili olduğu rapor edilmiştir (Montoya JG ve ark., 2009).

Pirimetamin-sülfadoksin (Fansidar), AIDS'li hastalarda ve transplasental olarak enfekte hastalarda toksoplazmozun önlenmesi ve tedavisinde oral formda kullanılmaktadır. Deri döküntüsü, GIS bozuklukları, kan tablosunda değişiklikler ve Stevens Johnson sendromu yan etki olarak görülmüştür (Montoya JG ve ark., 2009).

Ketolidler, semi-sentetik makrolit grubu antibiyotiktir. 50S ribozomal alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Ketolidlerden HMR 3647, HMR 3004 ve ABT-773'ün *T. gondii*'ye etkinliği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda gösterilmiştir (Khan AA ve ark.,2000).

Dapson, bir sülfonamid türevi olup PYR ile kombine edildiğinde özellikle AIDS hastalarında primer profilaksinin yanısıra primer tedavi ve sekonder profilaksi için önerilmektedir (Özcel MA., 2007).

Ayrıca yapılan birçok *in vitro* veya *in vivo* çalışmada, tek başına veya PYR ile kombine olarak trovafloksasin (Khan AA ve ark.,1999), telitromisin (Kılıç M.,2002), quinopristin-dalfopristin (Khan AA ve ark.,1999), 6-benziltiyoinozin analogları (Rais RH ve ark.,2005), rifapentin (Araujo FG ve ark.,1996), azasteroller (Leite LD ve ark.,2004), artemisin ve aerobasidin (Sonda S ve ark.,2005) *T. gondii*'ye karşı etkili oldukları gösterilmiştir.

İmmün sistemin baskılandığı hastalıklarda özgün tedaviye immünoterapinin eklenmesi önerilmektedir. Bu amaçla IFN- γ 'nın; roksitromisin, PYR, azitromisin ve klindamisin ile kombine edilmiş olarak, fare modellerinde de IL-12'nin atavokun ve

klindamisin ile kombine uygulandığında olumlu sonuçlar alındığı bildirilmektedir (Özcel MA.,2007). Bugüne kadar, GRA4, ROP2, SAG1 ve SAG1/2 gibi rekombinant antijenler kullanılarak yapılan aşı çalışmalarının, fare modellerinde *T. gondii*'ye karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Toxoplasma lizat antijeninin (TLA) adjuvan olarak CpG-ODN ile kombine kullanıldığı aşılama çalışmalarında ise, hücresel ve humoral immün sistemi uyararak *T. gondii*'ye daha fazla etkili olduğu gösterilmiştir (El-Malky M ve ark.,2005).

2.7.2.9. Zencefil (*Zingiber officinale*)

Zencefil (*Zingiber officinale*), zencefilgiller familyasından bir metreye kadar boylanabilen, ince-uzun yapraklı, sarı-kırmızı renklerde çiçekler açan bir bitkidir. Başta Çin olmak üzere, Hindistan, Endonezya, Vietnam, Japonya gibi tropik ya da yarı tropik iklimlerde yetişir. Şifalı bir bitki türüdür. Baharat olarak kullanılır. Dünyanın birçok mutfağında genelde kök olarak kullanılır. Güney Çin'den gelen Zencefil, önce Hindistan'a; ardından Güneydoğu Asya'ya, Batı Afrika'ya ve Karayipler'e yayılmıştır. Zencefil bitkisinin şekilsiz, parçalar halinde bulunan soyulmuş ya da soyulmamış haldeki kurutulmuş kökleri ya da bunların öğütülmüş halinden üretilen çay, ekstrakt, kapsül, krem şeklindeki formları kullanılmaktadır.

Zencefil (*Zingiber officinale*) geleneksel Çin tıbbında soğuk algınlığında, mide rahatsızlıklarında ve diğer birçok rahatsızlıklarda kullanılmıştır. Orta çağda Avrupalılar, zencefil Arap tüccarlar aracılığı ile alıp kullanmışlar.

Zencefil öncelikle bulantı tedavisinde kullanılmış olup aynı zamanda bir anti-inflamatuar, ağrı kesici, ısıtıcı ve kolesterol düşürücü olarak kullanılmıştır. Randomize kontrollü çalışmalar bulantı önlenmesinde kullanımı desteklemektedir. Olgu sunuları romatoid artrit ve migrende etkinliğini göstermekte olup, kullanımı önerilmektedir. Tromboksan sentezini azaltarak antikoagülan etki gösterdiği bildirilmektedir. Zencefil kökünün bileşiminde önemli etken maddeler bulunmaktadır. Taze zencefil kökü % 80 su, % 2 protein, % 1 yağ, % 12 nişasta, kalsiyum, fosfor, demir, B ve C vitaminleri içerir. Kuru zencefilde ise su oranı % 10'dur.

Bileşimindeki potansiyel aktif maddeler; shogaoller ve gingeroller, bisapolene, zingiberene, zingiberol, sesquiphellandrene, curcurnene, 6-dehydrogingerdione, galanolactone, gingesulfonik asit, zingerone, geraniol, neral, monoacyl digalactosylglyceroller, gingerglycolipidler olup % 1-3 oranında bulunmaktadır (Kemper K J., 1999; Zick S M ve ark., 2008).

Jagetia ve ark. yapmış oldukları *in vivo* çalışmada zencefil ekstraktının radyasyona karşı koruyucu olduğu, *S. aureus*, birçok enterik bakteri ve *C. albicans* üzerinde doza bağımlı olarak antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdiği, aynı zamanda antioksidan etkileri, bu ve birçok çalışmada bildirmektedir (Jagetia ve ark.,2003; Stoilova I ve ark., 2007; Wattanathorn J ve ark., 2011). Hayvanlar üzerinde *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda karsinojen veya mutajen etkisi görülmemiştir. İlaç etkileşimi bildirilmemiştir. (Kemper K J., 1999).



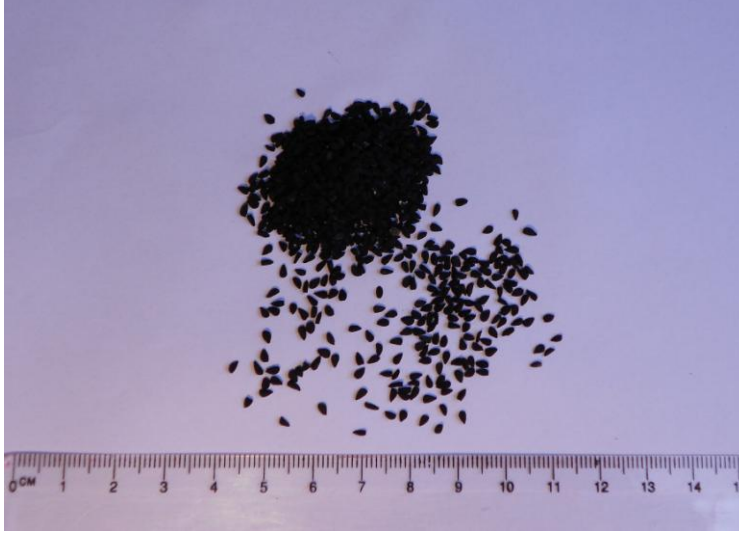
Resim 4: Zencefil (*Zingiber officinale*) bitkisinin kök bölümü (©)

2.7.2.10. Çörek Otu (*Nigella sativa*)

Çörek otu (*Nigella*), düğün çiçeğigiller (Ranunculaceae) familyasından yaklaşık 15 türü kapsayan bir yıllık bitki cinsidir. *Nigella* cinsinin en çok kullanılan türleri *N. sativa* ve *N. damascena*'dır. Tohumlarından çoğalır. Kumlu gevşek toprakları sever, çiçeklenme dönemine kadar su ister daha sonra sulanmaz. Tohumları haşhaş bitkisinde olduğu gibi kozalak (Kapsül) içerisinde olgunlaşır. Tohumları 2–3 mm boyunda, üç yüzeyle, mat olmayan siyah renklidir.

Nigella Sativa yağı; A, B1, B2 vitaminleri dahil olmak üzere, 100 farklı bileşen içermektedir. Dokuz esansiyel amino asit, proteinler, çinko, selenyum, omega 3, 6, 9 ve thymoquinone dahil 15 amino asit içermektedir. Thymoquinone, çörek otu (*Nigella sativa*) bitkisinde bulunan bir fitokimyasaldır. Antioksidan etkilidir. Kalp, karaciğer ve böbrek hasarı üzerine koruyucu etkisi hayvan deneylerinde gösterilmiştir (Badary OA ve ark., 1997). Ayrıca kansere karşı koruyucu, analjezik, antiepileptik etkileri hayvan

modellerinde gösterilmiştir (Al-Shabanah OA ve ark., 1998). Thymoquinone kolon kanserine karşı umut verici bir moleküldür. Tümör invazyonunu azalttığı ve büyümesini engellediği gösterilmiştir. Stres reseptörü CHEK1' etkilemesinin, kolon kanserini önleyici etkisine katkı sağladığı düşünülmektedir (Gali-Muhtasib H., 2008).



Resim 5: Çörek otu (*Nigella sativa*) bitkisinin tohumları (©)

2.8. KORUNMA

Korunma, serolojik olarak negatif hamile kadınlarda ve immün yetmezliği olan veya immün sistemi baskılanmış hastalarda çok büyük önem taşımaktadır. Çiğ veya az pişmiş et ve çiğ etten yapılmış ürünlerin yenmemesi önerilmektedir. Etlerin 65 °C'de pişirilmesi veya -20 °C'de 24 saat dondurulması ile *T. gondii* doku kistleri ölmektedir (Topçu AW ve ark., 2008).

Konjenital toksoplazmoz, önlenebilir bir hastalıktır. Bu sebepten dolayı ilgili hamile kadınların enfeksiyondan korunması için hekimleri tarafından eğitilmeleri gerekmektedir. Tüm hamile kadınlara gebeliğin 10-12. haftasında serolojik testler uygulanmalı, seronegatif olanlar gebelik süresince her ay kontrol edilmelidir. Doğum öncesi tanı yöntemlerinin uygun kullanımının, klinik olarak belirgin konjenital toksoplazmoz insidansını önemli derecede azalttığı bildirilmektedir (Özcel MA., 2007).

Kedilerin bulaşmada primer olarak rol oynadığı için kedilerle yakın temastan kaçınılmalı, kedi çıkartıları 5 dakika kaynar suda bekletilmelidir. Kedi dışkısı ile su ve sebzelerin, kasaplık hayvan yemlerinin kirlenmesi önlenmek için gerekli hassasiyet gösterilmelidir. Çiğ etlerle temasta eldiven giyilmeli veya eldivensiz temastan sonra

eller hemen iyice yıkanmalıdır. Enfekte insan ve hayvanların her türlü vücut salgı ve çıkartılarının etrafa dağılmasını önlemek için tedbirler alınmalıdır. Kan ve kan ürünleri naklinde seropozitif kişiler verici olarak kabul edilmemelidir (Topçu AW ve ark., 2008,Özcel MA., 2007).

Çiğ yenen sebze ve meyvelerin temizliğine dikkat edilmeli ve bunlarla temastan sonra eller iyice yıkanmalıdır. Çiğ yumurta yemekten ve çiğ süt içmekten sakınılmalıdır (Montaya JG ve ark., 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. *Toxoplasma gondii*: Çalışmada Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Parazitoloji Laboratuvarı ulusal tip kültür koleksiyonu parazit suşlarından temin edilen standart RH suşu takizoitleri kullanıldı.

3.2. Fareler: Çalışma için OMU HADYEK 2010/30 no'lu Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu kararı ile onay alınmıştır. Çalışmada, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan, 18-22 gr. ağırlığında ve 5-6 haftalık erkek Balb/c fareler kullanıldı. Fareler, araştırma laboratuvarı şartlarına uygun ortam ve ısıda, eurostandart tip 3 şeffaf polikarbon kafeslerde, hazır satın alınan yemler ile beslenerek ve su ihtiyaçları sağlanarak barındırıldı.



Resim 6: Çalışmada kullanılan Balb/c fareler (©)

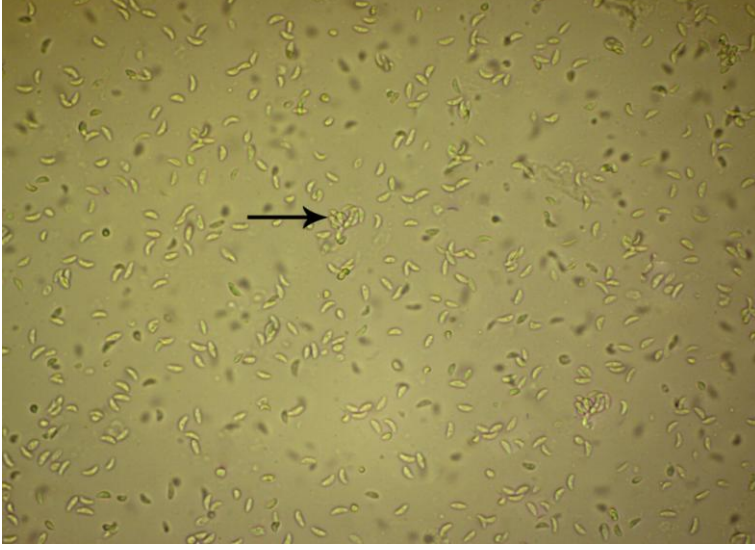
3.3. İlaçlar: Çalışmada Sülfadiazin (Sulphadiazine, S8626 Sigma-Aldrich, USA), Pirimetamin (Pyrimethamine, Fluka Analytical Vetranal, USA), Zencefil (*Zingiber officinale* ekstraktı), Çörek otu yağı (*Nigella sativa* oil, Bristol Botanicals UK) kullanıldı.

3.4. Farelerde *T. gondii* Takizoitlerinin Üretilmesi ve İzolasyonu

Toxoplasma gondii RH suşu, Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Parazitoloji Laboratuvarı ulusal tip kültür koleksiyonu parazit suşlarından temin edilen standart RH suşu takizoitleri inoküle edilmiş fareden temin edildi. RH suşunun devamlılığı, her üç - dört günde bir Balb/c farelere intraperitoneal olarak pasajlanarak sürdürüldü. Takizoitler, farenin peritonundan alınarak steril serum fizyolojik (SF) (pH: 7,0) (Baxter-Eczacıbaşı, Türkiye) ile seyreltilip Thoma lamında sayılarak 5×10^5 takizoit/ml içeren takizoit süspansiyonu hazırlandı. Bu takizoit süspansiyonundan intraperitoneal olarak 0,2 ml farelere verildikten 48-72 saat sonra periton eksudası alındı ve 1-2 ml SF ile süspansiyon edildi. Işık mikroskopunda, takizoitlerin sayısı, makrofaj ve diğer hücrelerin varlığı, kontaminasyon açısından incelenerek değerlendirildi. Takizoit sayısı yeterli, makrofaj içermiyor ve kontaminasyon yok ise SF ile süspansiyon edilerek pasaj işleminde kullanıldı. Bu şekilde *T. gondii* 3-4 günde bir farelere pasajlanarak suşun devamı sağlandı. Çalışma için, bu yöntemle enfekte edilmiş farelerin peritonlarından dördüncü gün pastör pipeti ile alınan eksuda içerisine 2 cc. steril serum fizyolojik (SF) (pH: 7,0) (Baxter-Eczacıbaşı, Türkiye) konulmuş cam tüpe aktararak karıştırıldı. Elde edilen karışım Thoma sayma lamında ışık mikroskopunda 40'lık büyütmede sayıldı. Bulunan takizoit sayısına göre yeterli miktarda SF ile sulandırılarak $10^3/\text{mm}^3$ takizoit olacak şekilde yeni bir tüpe alındı. Bu karışım tekrar tekrar sayıldı ve milimetreküpte 1000 takizoit olduğu kesin olarak belirlenince 1cc.'lik steril insülin enjektörüne çekildi.



Resim 7: *T. gondii* intraperitoneal izolasyonunda pasaj için kullanılan fareler(©)



Resim 8: *T. gondii* RH suşu ile enfekte edilen farenin periton eksudasyndaki takizoitlerin ışık mikroskobunda görünümü (x400) (©)

3.5. Farelerin Takizoitlerle Enfekte Edilmesi

Milimetreküpte 10^3 takizoit içeren serum fizyolojik, insülin enjektörü ile her fareye 0,1 cc. yani 100 µl olmak üzere intraperitoneal (ip) olarak enjekte edildi. Böylece her fare 10^5 (100.000) *T.gondii* takizoit ile enfekte edildi. Bu işlem yapılmadan önce enjeksiyon bölgesi kontaminasyon olasılığına karşı etil alkol ile temizlendi. Tek tek enfekte edilen fareler 9 adet fareden oluşan gruplara ayrılarak, ayrı ayrı kafeslere konuldu.



Resim 9: Farelerin intraperitoneal olarak enfekte edilmesi (©)

3.6. Farelerin Gruplandırılması

Çalışmada kullanılan toplam 135 adet erkek Balb/c fareler her biri 9 adet hayvan içeren 15 gruba ayrıldı (n=9);

Grup 1; Enfekte, tam doz PYR (12,5 mg/kg/gün) + SDZ (200 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 2; Enfekte, yarı doz PYR (6,25 mg/kg/gün) + SDZ (100 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 3; Enfekte, tam doz PYR (12,5 mg/kg/gün) + SDZ (200 mg/kg/gün) ve tam doz *Nigella sativa* oil (1700 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 4; Enfekte, tam doz PYR (12,5 mg/kg/gün) + SDZ (200 mg/kg/gün) ve yarı doz *Nigella sativa* oil (850 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 5; Enfekte, yarı doz PYR (6,25 mg/kg/gün) + SDZ (100 mg/kg/gün) ve tam doz *Nigella sativa* oil (1700 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 6; Enfekte, yarı doz PYR (6,25 mg/kg/gün) + SDZ (100 mg/kg/gün) ve yarı doz *Nigella sativa* oil (850 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 7; Enfekte, tam doz PYR (12,5 mg/kg/gün) + SDZ (200 mg/kg/gün) ve tam doz *Zingiber officinale* metanolik ekstraktı (400 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 8; Enfekte, tam doz PYR (12,5 mg/kg/gün) + SDZ (200 mg/kg/gün) ve yarı doz *Zingiber officinale* metanolik ekstraktı (200 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 9; Enfekte, yarı doz PYR (6,25 mg/kg/gün) + SDZ (100 mg/kg/gün) ve tam doz *Zingiber officinale* metanolik ekstraktı (400 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 10; Enfekte, yarı doz PYR (6,25 mg/kg/gün) + SDZ (100 mg/kg/gün) ve yarı doz *Zingiber officinale* metanolik ekstraktı (200 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 11; Enfekte, tam doz *Nigella sativa* oil (1700 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 12; Enfekte, yarı doz *Nigella sativa* oil (850 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 13; Enfekte, tam doz *Zingiber officinale* metanolik ekstraktı (400 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 14; Enfekte, yarı doz *Zingiber officinale* metanolik ekstraktı (200 mg/kg/gün) verilen tedavi grubu

Grup 15; Enfekte, tedavi verilmeyen kontrol grubu

Primetamin 12,5 mg/kg/gün + Sülfadiazin 200 mg/kg/gün etkin tedavi dozu tek doz oral verilmiştir. Primetamin 6,25 mg/kg/gün + Sülfadiazin 100 mg/kg/gün etkin tedavi dozunun yarısı tek doz oral verilmiştir.

Nigella sativa oil tam doz 1700 mg/kg/gün, yarı doz 850 mg/kg/gün olarak oral verilmiştir.

Zingiber officinale ekstraktı tam doz 400 mg/kg/gün, yarı doz 200 mg/kg/gün olarak oral verilmiştir.



Resim 10: Her biri dokuz adet fareden oluşan bir grup (©)

3.7. Zencefil (*Zingiber officinale*) Ekstraktı Elde Edilmesi

3.7.1 Zencefil (*Zingiber officinale*) Ekstraktının Buhar Distilasyon Yöntemi ile Elde Edilmesi:

Yumru halinde 1 kg zencefil kökü alınarak on gün süre ile 40 °C'a ayarlı etüvde kurumaya bırakıldı. Sonrasında elle küçük parçalara bölünüp bitki değirmeni ile toz haline getirildi. Hassas terazide 50 gram zencefil tozu tartılarak buhar distilasyon sisteminin ısıtıcı bölümündeki balonuna alındı ve 200 ml distile su eklendi. Maksimum 300 °C'da, 5'lik manyetik balık ile karıştırılıp kaynatıldı. Buhar distilasyon sisteminde 5 saat süre ile uçucu maddelerin su buharına geçmesi sağlanarak, dik soğutucu bölüm yardımı ile yoğunlaştırıldı. Distilasyon işlemi sırasında ısıtıcı bölümdeki balonda su azaldıkça eklendi. Süre sonunda 250 ml distilat elde edildi. Distilat üzerine 200 ml n-

hekzan ilave edilerek ayırma hunisine alınıp sallama hareketleri ile 2-3 dk süre ile karıştırıldı. Kısa bir süre bekledikten sonra ayırma hunisinin musluğu açılarak alt kısımdaki su uzaklaştırıldı. N-hekzan fazı, susuz sodyum sulfat içeren süzgeç kağıdından geçirilerek rotary evaporatör balonuna aktarıldı. Burada 40 °C'da 330 mbar azaltılmış basınç altında n-hekzan'ın uçması sağlandı. Balondaki organik çözücü karışımı yaklaşık 10 ml kalınca bir tüpe alındı. Yoğunlaştırma işlemine oda sıcaklığında, azot gazı altında, tüpte n-hekzan kokusu kalmayınca kadar devam edildi. İşlem sonunda 50 gram kuru zencefil tozundan 0,368 gram uçucu yağ elde edildi.



Resim 11: Buhar Distilasyon Sistemi (©)

Buhar distilasyon yöntemi ile elde edilmiş uçucu yağ formunda olan *Zingiber officinale* ekstraktı 200 mg/kg/gün dozunda oral kullanılarak yapılan ön çalışmada yaşam süreleri açısından kontrol grubu ile aralarında fark saptanmadı. Bunun üzerine yapılan literatür incelemesinde bitkisel ekstraktlar elde edilirken yüksek ısı kullanılmasının antibakteriyel ve antiviral etkinlikte azalmaya neden olabileceğine dair verilere rastlanmıştır (Kathi J. Kemper,1999). OMÜ Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji AD. nın önerisiyle, kullanılacak *Zingiber officinale* ekstraktının buhar distilasyon yöntemi yerine daha az ısı kullanılan metanolik ekstrakt yöntemi ile elde edilmesinin daha uygun olacağı düşünülmüştür. Bu amaçla elde edilen *Zingiber officinale* metanolik ekstraktı tam doz 400 mg/kg/gün, yarı doz 200 mg/kg/gün dozlarında kullanılarak çalışmalara devam edilmiştir.

3.7.2 Zencefil (*Zingiber officinale*) Metanolik Ekstraktın Elde Edilmesi:

Yumru halinde 1 kg zencefil kökü alınarak on gün süre ile 40 °C'a ayarlı etüvde kurumaya bırakıldı. Sonrasında elle küçük parçalara bölünüp bitki değirmeni ile toz haline getirildi. Hassas terazide 20 gram kuru zencefil tozu tartılarak 1 litrelik cam balonda, içerisine 400 ml metanol (Methanol, 24229 Sigma-Aldrich USA) eklenip, 24 saat süre ile 100 RPM' de çalkalayıcıda karıştırıldı. Sonrasında filtre kağıdından (Whatman No:1) süzülüp rotary evaporatör balonuna aktarıldı. Burada 40 °C'da 250 mbar azaltılmış basınç altında evaporasyon görüldü. Metanol tamamen uçana kadar evaporasyona devam edildi. İşlem sonunda 20 gram kuru zencefil tozundan 2,5 gram metanolik ekstrakt elde edildi. DMSO ile çözülerek stok solüsyonu 500 mg/ml zencefil olacak şekilde hazırlandı.

3.8. İlaçların Hazırlanması

İlaç dozları fareler için ağırlıklarına göre hesaplandı ve günlük olarak hazırlandı. Orjinal molekül olarak temin edilen PYR hesaplanan miktarda hassas terazide tartıldıktan sonra cam tüpe aktarıldı. Üzerine süspansiyondaki oranı % 3 olacak şekilde dimetil sülfoksit (DMSO, D1435 Sigma-Aldrich USA) eklendi, 5 dakika vorteks (VELP, scientifica) ile karıştırılarak çözüldü. Kalan hacim distile su ile hazırlanmış % 0,25'lik sodyum karboksimetil selüloz (Danisco Grindsted che) süspansiyonu ile tamamlandı (Araujo FG ve ark., 1992). İki dakika vortekslendikten sonra ilacın homojen dağılması için 10 dakika 30 °C'de ultrasonik karıştırıcıda bekletildi. Sonra ilaç 3 dakika vortekslenerek farelere vermeye hazır duruma getirildi.

Orjinal molekül olarak temin edilen SDZ hesaplanan miktarda hassas terazide tartıldıktan sonra cam tüpe aktarıldı. Üzerine süspansiyondaki oranı % 3 olacak şekilde DMSO eklendi. Daha sonra 5 dakika vortekslenerek çözüldü. Kalan hacim distile su ile hazırlanmış % 0,25'lik sodyum karboksimetil selüloz süspansiyonu ile tamamlandı. Bu karışım 2 dakika vortekslendikten sonra ilacın homojen dağılması için 10 dakika 30 °C'de ultrasonik karıştırıcıda bekletildi. Son olarak 3 dakika vortekslenerek farelere vermeye hazır duruma getirildi.

Metanolik ekstrakt yöntemi ile elde edilen *Zingiber officinale* ekstraktı hesaplanan miktarda cam tüpe aktarıldıktan sonra süspansiyondaki oranı %3 olacak şekilde DMSO eklendi. Beş dakika vorteks ile karıştırılarak çözüldü. Kalan hacim distile su ile hazırlanmış % 0,25'lik sodyum karboksimetil selüloz süspansiyonu ile

tamamlandı. Bu karışım 2 dakika vortekslendikten sonra ilacın homojen dağılması için 10 dakika 30 °C'de ultrasonik karıştırıcıda bekletildi. Son olarak 3 dakika vortekslenerek farelere verilmeye hazır duruma getirildi.

Soğuk pres yöntemi ile elde edilmiş olarak temin edilen *Nigella sativa* oil hesaplanan miktarda cam tüpe aktarıldı. Kalan hacim distile su ile hazırlanmış % 0,25'lik sodyum karboksimetil selüloz süspansiyonu ile tamamlandı. Bu karışım 2 dakika vortekslendikten sonra ilacın homojen dağılması için 10 dakika 30 °C'de ultrasonik karıştırıcıda bekletildi. Son olarak 3 dakika vortekslenerek farelere verilmeye hazır duruma getirildi.

3.9. İlaçların Farelere Verilmesi

T.gondii takizoitleri farelere ip olarak 10^5 (100.000) miktarında verilerek enfekte edildikten 24 saat sonra tedaviye başlandı. İlaçlar farelerin gastrik kapasitesine uygun olarak, 0.2 ml son hacimde ve her gün aynı saatte verilerek tedaviye 10 gün devam edildi (McConnell EL ve ark 2008). Literatürdeki benzer çalışmalara göre tedavi dozları gruplara göre belirlendi, oral yoldan gavaj (F.S.T, Barrel tip) kullanılarak tek doz şeklinde farelere verildi (Beverley JKA ve Fry BA, 1957; Derouin F ve ark., 1992; Romand S ve ark., 1993; Khan AA ve ark., 2001; A. Zaoui ve ark., 2002; Kyung-Min Choi ve ark., 2008). Fareler enfekte edildikten sonra 30 gün gözlemlenerek yaşam süreleri değerlendirildi.



Resim 12: Farelere ilaçların gavaj ile verilmesi (©)

3.10. Tedavi Etkinliğinin Belirlenmesi

İntraperitoneal olarak 10^5 *T.gondii* takizoiti enfekte edilen fareler 30 gün boyunca her gün gözlemlenerek yaşam süreleri değerlendirildi. Yaşam yüzdeleri 0, 5, 10, 15, 20, 25 ve 30. günlerde değerlendirildi.

3.11. İstatistiksel Yöntem

Veriler, network lisanslı IBM SPSS Statistics (IBM, New York, USA) 20.0 paket programına kaydedildi. Kaplan-Meier yaşam analizi ile yaşam olasılıkları hesaplandı. Gruplar arası yaşam olasılıkları Log Rank testi ile karşılaştırıldı.

4. BULGULAR

4.1. Yaşam Süresi Değerlendirme Bulguları

Yaşam süresi gözlemi 30 gün boyunca yapıldı (Araujo FG ve ark.,1992).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra tam doz (PYR 12,5 mg/kg/gün + SDZ 200/mg/kg/gün) başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 1) 7. gün tüylerde hafif kabarmalar gözlemlendi. Bu grupta ilk fare 8. günde öldü. Sonra 12. günde iki, 15, 22 ve 28. günlerde birer fare öldü. Böylece 30 gün gözlem süresinin sonunda üç fare hayatta kaldı (30 günlük yaşam yüzdesi % 33,3).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra yarı doz (PYR 6,25 mg/kg/gün + SDZ 100/mg/kg/gün) başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 2) 7. gün tüylerde hafif kabarmalar gözlemlendi. Bu grupta ilk fare 8. günde öldü. Daha sonra 9. günde üç, 12, 13, 16, 18 ve 20. günlerde birer fare öldü. Böylece bu gruptaki 9 farenin tümünün yaşamları enfeksiyonun 20. gününde sona erdi (30 günlük yaşam yüzdesi % 0).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra PYR 12,5 mg/kg/gün + SDZ 200/mg/kg/gün + *Nigella sativa* oil 1700 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen gruptaki (Grup 3) farelerden ilki 12. gün öldü. Daha sonra 29 ve 30. gün birer fare ölümü sonucu bu gruptaki 30 gün gözlem süresinin sonunda 6 fare hayatta kaldı (30 günlük yaşam yüzdesi % 66,6).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra PYR 12,5 mg/kg/gün + SDZ 200/mg/kg/gün + *Nigella sativa* oil 850 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 4). Bu grupta ilk fare 9.günde öldü. Daha sonra 15. gün bir fare ölümü görüldü. 27.gün iki fare ölümü daha görülmesi sonucu bu grupta, 30 gün gözlem süresinin sonunda 5 fare hayatta kaldı (30 günlük yaşam yüzdesi % 55,5).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra PYR 6,25 mg/kg/gün + SDZ 100/mg/kg/gün + *Nigella sativa* oil 1700 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 5) 7. gün tüylerde hafif kabarmalar gözlemlendi. Bu grupta ilk fare 8.günde öldü. Sonra 21 ve 26. günlerde iki'şer fare öldü. Böylece 30 gün gözlem süresinin sonunda 4 fare hayatta kaldı (30 günlük yaşam yüzdesi % 44,4).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra PYR 6,25 mg/kg/gün + SDZ 100/mg/kg/gün + *Nigella sativa* oil 850 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 6) 8.gün tüylerde hafif kabarmalar gözlemlendi. Bu grupta ilk fare 9.günde öldü. Sonra 20.günde üç ve 24.günde bir fare öldü. Böylece 30 gün gözlem süresinin sonunda 4 fare hayatta kaldı (30 günlük yaşam yüzdesi % 44,4).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra PYR 12,5 mg/kg/gün + SDZ 200/mg/kg/gün + *Zingiber officinale* ekstraktı 400 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 7), ilk fare ölümü 23.günde gözlemlendi. Böylece 30 gün gözlem süresinin sonunda 8 fare hayatta kaldı (30 günlük yaşam yüzdesi % 88,8).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra PYR 12,5 mg/kg/gün + SDZ 200/mg/kg/gün + *Zingiber officinale* ekstraktı 200 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 8) 9. gün tüylerde hafif kabarmalar gözlemlendi. Bu grupta ilk fare 10.günde öldü. Daha sonra 11 ve 27. günlerde birer fare öldü. Böylece 30 gün gözlem süresinin sonunda 6 fare hayatta kaldı (30 günlük yaşam yüzdesi % 66,6).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra PYR 6,25 mg/kg/gün + SDZ 100/mg/kg/gün + *Zingiber officinale* ekstraktı 400 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 9), ilk fare 20.günde öldü. Daha sonra 22.günde iki ve 26.günde bir fare öldü. Böylece 30 gün gözlem süresinin sonunda 5 fare hayatta kaldı (30 günlük yaşam yüzdesi % 55,5).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra PYR 6,25 mg/kg/gün + SDZ 100/mg/kg/gün + *Zingiber officinale* ekstraktı 200 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 10), ilk fare 9.günde öldü. Daha sonra 24.günde üç ve 26.günde bir fare öldü. Böylece 30 gün gözlem süresinin sonunda 4 fare hayatta kaldı (30 günlük yaşam yüzdesi % 44,4).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra *Nigella sativa* oil 1700 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 11) 5. gün tüylerde hafif kabarmalar gözlemlendi. Bu grupta 6.günde dört fare, 7 ve 8. günlerde iki'şer fare öldü. Daha sonra son fare 9.gün öldü. Böylece bu gruptaki 9 farenin tümünün yaşamları enfeksiyonun 9. gününde sona erdi (30 günlük yaşam yüzdesi % 0).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra *Nigella sativa* oil 850 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 12) 4. gün tüylerde hafif kabarmalar gözlemlendi. Bu grupta 5.günde bir fare, 6 ve 7. günlerde üç'er fare öldü. Daha sonra 8 ve 9. günlerde birer fare öldü. Böylece bu gruptaki 9 farenin tümünün yaşamları enfeksiyonun 9. gününde sona erdi (30 günlük yaşam yüzdesi % 0).

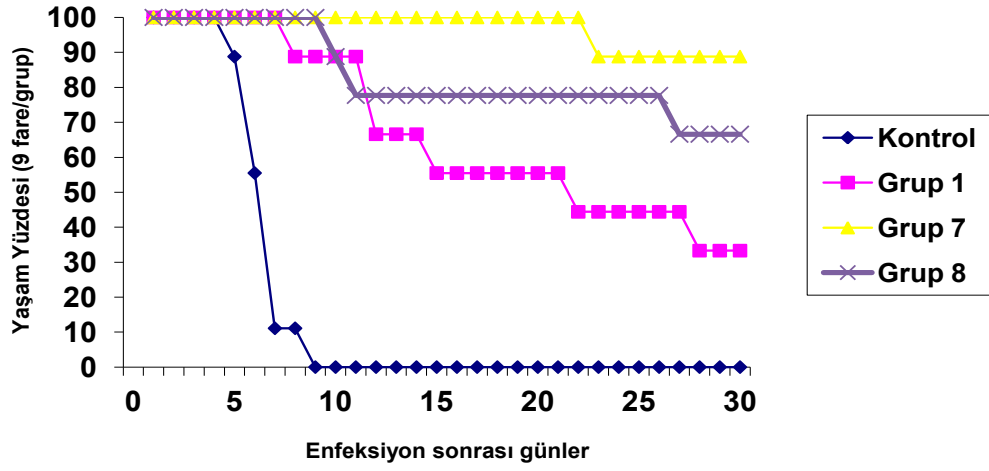
10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra *Zingiber officinale* ekstraktı 400 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 13) 5. gün tüylerde hafif kabarmalar gözlemlendi. Bu grupta, 6.gün dört, 7.gün iki fare öldü. Daha sonra 9.gün bir ve 10 gün iki fare öldü. Böylece bu gruptaki 9 farenin tümünün yaşamları enfeksiyonun 10. gününde sona erdi (30 günlük yaşam yüzdesi % 0).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edildikten 24 saat sonra *Zingiber officinale* ekstraktı 200 mg/kg/gün başlanan ve toplam 10 gün süreyle oral olarak verilen grupta (Grup 14) 5. gün tüylerde hafif kabarmalar gözlemlendi. Bu grupta 6.gün dört, 7.gün üç fare öldü. Daha sonra 9 ve 10.gün bir'er fare öldü. Böylece bu gruptaki 9 farenin tümünün yaşamları enfeksiyonun 10. gününde sona erdi (30 günlük yaşam yüzdesi % 0).

10^5 *T.gondii* takizoiti ile ip olarak enfekte edilen ancak tedavi uygulanmayan kontrol grubu (Grup 15) gözlemlendi. 4. gün tüylerde hafif kabarmalar oluştu. 5. gün tüylerindeki kabarıklıklar yaygın hale geldi ve 5. gün bir tanesi öldü. 6. gün genel durumları iyice bozuldu ve farelerden üç tanesi öldü. Kalan fareler 7. günde dört tane ve 9. gün bir tane olmak üzere öldüler. Böylece bu gruptaki 9 farenin tümünün yaşamları enfeksiyonun 9. gününde sona erdi (30 günlük yaşam yüzdesi % 0).

Tablo 1: Grupların yaşam yüzdeleri.

Grup / Gün	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün	20.gün	25. gün	30. gün
Grup 1	100	100	88,8	55,5	55,5	44,4	33,3
Grup 2	100	100	55,5	33,3	0	0	0
Grup 3	100	100	100	88,8	88,8	88,8	66,6
Grup 4	100	100	88,8	77,7	77,7	77,7	55,5
Grup 5	100	100	88,8	88,8	88,8	66,6	44,4
Grup 6	100	100	88,8	88,8	55,5	44,4	44,4
Grup 7	100	100	100	100	100	88,8	88,8
Grup 8	100	100	88,8	77,7	77,7	77,7	66,6
Grup 9	100	100	100	100	88,8	66,6	55,5
Grup10	100	100	88,8	88,8	88,8	55,5	44,4
Grup11	100	100	0	0	0	0	0
Grup12	100	88,8	0	0	0	0	0
Grup13	100	100	0	0	0	0	0
Grup14	100	100	0	0	0	0	0
Grup15	100	88,8	0	0	0	0	0



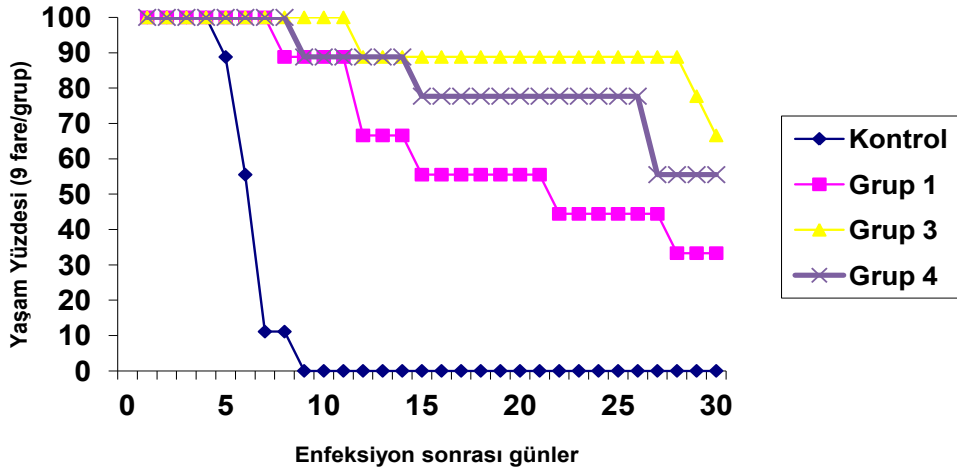
Grafik 1. Enfeksiyon sonrasında farelerin yaşam yüzdesi

Kontrol: Enfekte sağaltılmayan yaşam süresi grubu

Grup 1 : Tam doz PYR + SDZ

Grup 7 : Tam doz PYR + SDZ + *Zingiber officinale* (400mg/kg/gün)

Grup 8 : Tam doz PYR + SDZ + *Zingiber officinale* (200mg/kg/gün)



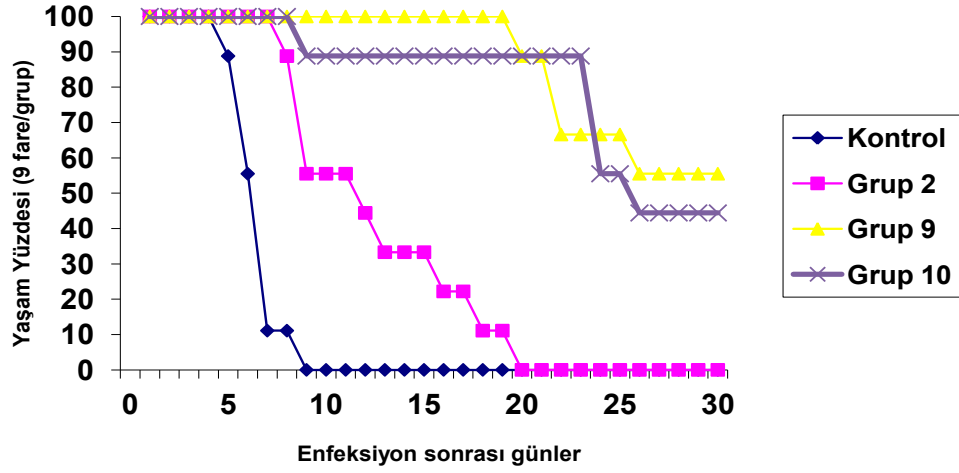
Grafik 2. Enfeksiyon sonrasında farelerin yaşam yüzdesi

Kontrol: Enfekte sağaltılmayan yaşam süresi grubu

Grup 1 : Tam doz PYR + SDZ

Grup 3 : Tam doz PYR + SDZ + *Nigella sativa* (1700 mg/kg/gün)

Grup 4 : Tam doz PYR + SDZ + *Nigella sativa* (850 mg/kg/gün)



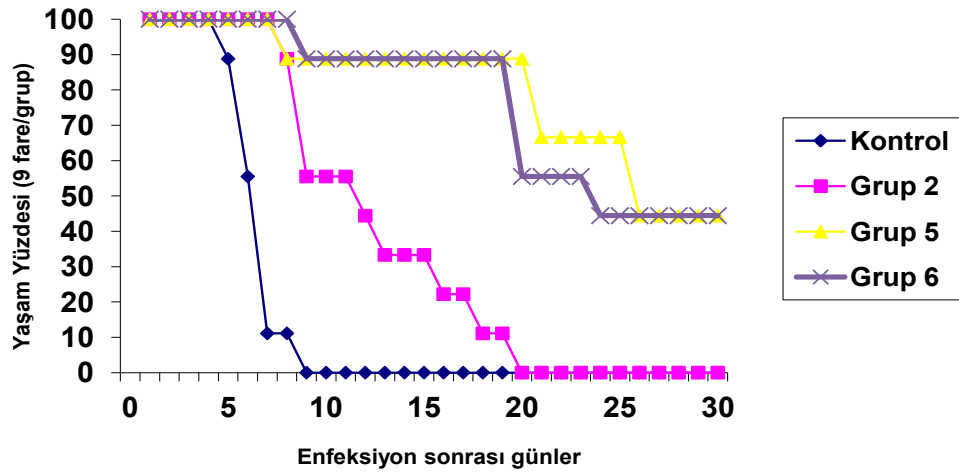
Grafik 3. Enfeksiyon sonrasında farelerin yaşam yüzdesi

Kontrol : Enfekte sağaltılmayan yaşam süresi grubu

Grup 2 : Yarı doz PYR + SDZ

Grup 9 : Yarı doz PYR + SDZ + *Zingiber officinale* (400mg/kg/gün)

Grup 10 : Yarı doz PYR + SDZ + *Zingiber officinale* (200mg/kg/gün)



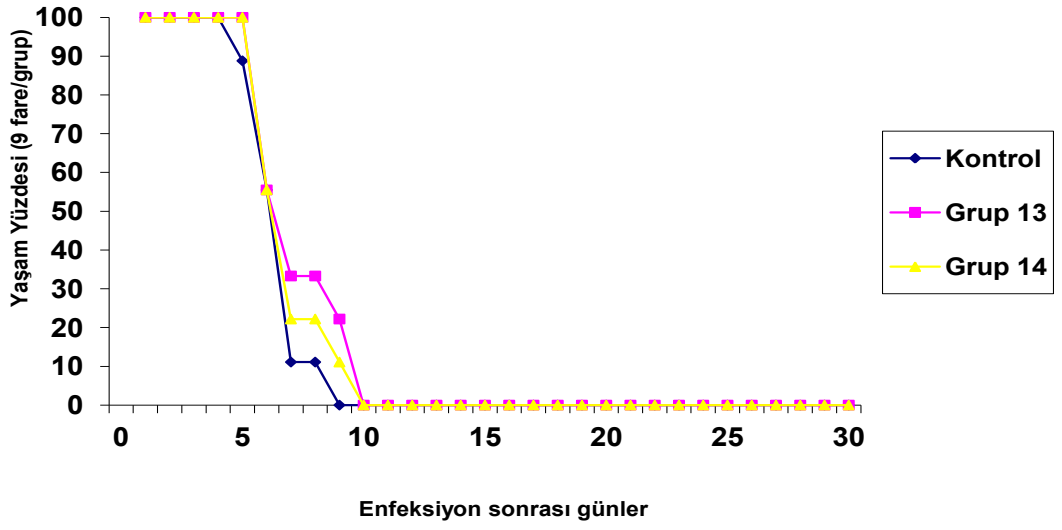
Grafik 4. Enfeksiyon sonrasında farelerin yaşam yüzdesi

Kontrol: Enfekte sağaltılmayan yaşam süresi grubu

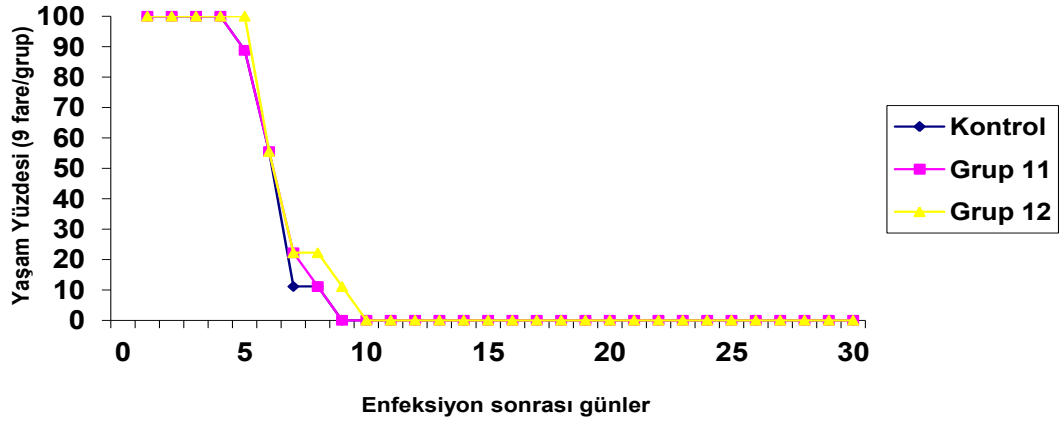
Grup 2 : Yarı doz PYR + SDZ

Grup 5 : Yarı doz PYR + SDZ + *Nigella sativa* (1700 mg/kg/gün)

Grup 6 : Yarı doz PYR + SDZ + *Nigella sativa* (850 mg/kg/gün)



Grafik 5. Enfeksiyon sonrasında farelerin yaşam yüzdesi
 Kontrol : Enfekte sağaltılmayan yaşam süresi grubu
 Grup 13 : *Zingiber officinale* (400mg/kg/gün)
 Grup 14 : *Zingiber officinale* (200mg/kg/gün)



Grafik 6. Enfeksiyon sonrasında farelerin yaşam yüzdesi
 Kontrol : Enfekte sağaltılmayan yaşam süresi grubu
 Grup 11 : *Nigella sativa* (1700 mg/kg/gün)
 Grup 12 : *Nigella sativa* (850 mg/kg/gün)

4.2. İstatistiksel Analiz

IBM SPSS Statistics (IBM, New York, USA) 20.0 paket programına kaydedilen veriler, Kaplan-Meier yaşam analizi ile yaşam olasılıkları açısından değerlendirildi. Gruplar arası yaşam olasılıkları Log Rank testi ile karşılaştırıldı. Grup 11, 12, 13, 14 ve 15 arasında yaşam olasılıkları açısından anlamlı bir fark ortaya çıkmadı ($P > 0,05$) . Grup 1 ve 7, grup 1 ve 2, grup 2 ve 5, grup 2 ve 6, grup 2 ve 9, grup 2 ve 10, arasında yaşam olasılıkları açısından anlamlı bir fark vardı ($P < 0,05$). Grup 1 ve 3, grup 1 ve 4, grup 1 ve 8 arasında yaşam olasılıkları açısından anlamlı bir fark ortaya çıkmadı ($P > 0,05$) .

5. TARTIŞMA

Toksoplazmoz zorunlu hücre içi paraziti olan *T. gondii*'nin etkeni olduğu, yaklaşık olarak yüz yıldan beri bilinen bir hastalık olmasına rağmen, genellikle asemptomatik enfeksiyon veya halsizlik, ateş ve lenfadenopati gibi nispeten selim seyirli hastalık tablosu oluşturması ve daha ciddi seyreden konjenital enfeksiyon prevalansının düşük olması nedeniyle yeterince ciddiye alınmayan, zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır (Desmonts G ve ark., 1985; Ajioka JW ve ark., 2007).

Son yıllarda dünyada AIDS'in yaygınlaşması, lösemi, lenfoma ve diğer kötü huylu tümör tedavilerinde kullanılan kemoterapi ilaçları, organ nakli ameliyatları ve immün supresif ilaç kullanımının artması sonucunda, toksoplazmaya bağlı ölümcül olabilen değişik klinik tabloların gelişmesi toksoplazmozun önemini artırmıştır (Topçu AW ve ark., 2008).

Toksoplazmoz tedavisi için, yan etkileri az, tüm hasta gruplarında güvenli ve etkin bir antimikrobiyal ilaç yoktur. Enfekte kişilerde doku kistlerine karşı tam etkili bir tedavi bulunmamakta, doku kistlerinin aktivasyonu ile serbest kalan takizoitlere karşı tedaviler önerilmektedir. Günümüzde kullanılan ilaçlar takizoitlere etkili olup bradizoitlere karşı etkisizdir (Özcel MA. 2007). Tedavide önerilen ilaçlar içerisinde ilk ve en etkili seçenek; PYR ile SDZ kombinasyonudur. Bu ilaçların kombine kullanıldığında takizoitlere karşı aktif ve sinerjistik etkili olduğu gösterilmiştir. PYR'nin kemik iliği inhibisyonu yapması ve potansiyel olarak teratojenik olması, SDZ'nin ise toksik yan etkileri nedeniyle alternatif tedavide azitromisin, klaritromisin, doksisisiklin ve atovakuon gibi ilaçların tek başına veya kombine kullanımı önerilmektedir (Montoya JG ve ark., 2009). PYR + SDZ kombinasyonu parazitin folik asit sentezini inhibe ederek nükleik asit sentezini önlemektedir (Kasper LH ve ark., 1998). Akut infekte gebe annenin fetusuna enfeksiyonun bulaşmasını önlemede ve konjenital toksoplazmozun tedavisinde spiramisin kullanılmaktadır (McLeod R ve ark.,2000). Günümüzde TE, koryoretinit ve konjenital toksoplazmozis tedavisinde kullanılan antimikrobiyallerin yetersiz olduğu bildirilmektedir. Bu yetersizliğin sebebi; ilaç intoleransı, malabsorbsiyon gibi konağa ait faktörler veya ilaçlara dirençli *T. gondii* mutantlarının gelişmiş olmasına bağlanmaktadır (Meneceuri P ve ark., 2008). Bu nedenlerden dolayı toksoplazmoz tedavisinde toksisitesi daha az ve daha etkili yeni ilaçlara ihtiyaç vardır.

Bugüne kadar yapılan birçok *in vivo* çalışmada *T. gondii* 'ye karşı çok sayıda antimikrobiyal ajanın etkinliği değerlendirilmiştir. Ancak *Nigella sativa* ve *Zingiber officinale* bitkisel ekstraktlarının *T. gondii* 'ye karşı etkinliğini değerlendirmeye yönelik bir çalışma yapılmamıştır.

Beverley JKA ve Fry BA, sulphadimidine, primetamin ve dapson'un Toxoplazmozis tedavisinde tek başına ve kombine kullanımda etkinliğini inceledikleri çalışmalarında, fareleri 2×10^4 RH suşu takizoiti ile ip olarak enfekte etmişlerdir. Çalışma sonucunda tek başına dapson'u diğer iki ilaçtan daha az etkili bulmuşlar, ancak en iyi kombinasyonun sulphadimidine ve primetamin olduğunu bildirmektedirler (Beverley JKA ve Fry BA, 1957).

Romand ve ark. atovakuon'un *T.gondii* 'ye karşı *in vivo* etkinliğini tek başına ve PYR, SDZ, klaritromisin, minosiklin ile kombine ederek değerlendirmişler. Fareleri 10^4 RH suşu takizoiti ile ip olarak enfekte ettikten 24 saat sonra tedaviye başlamışlar ve fareleri 30 gün gözlemleyerek yaşam sürelerini değerlendirmişlerdir. Sadece 50 mg/kg/gün atovakuon ile tedavi edilenlerin % 18'i, 200 mg/kg/gün SDZ ile tedavi edilenlerin % 89'u, 12,5 mg/kg/gün pirimetamin ile tedavi edilenlerin % 45'i 30 gün sonra hayatta kaldı. Atovakuon, SDZ ile kombine edildiğinde yaşam yüzdesi % 93 iken, 12,5 mg/kg/gün PYR ile kombine edildiğinde ise yaşam yüzdesini % 69 olarak bulmuşlardır. Sonuç olarak atovakuon ile kombine tedavinin, her ikisinin ayrı ayrı uygulanmasına oranla yaşam süresini uzattığını gözlemlemişlerdir. (Romand S ve ark., 1993)

Khan ve ark. kinolon grubu bir antibiyotik olan trovafloksasin'in *T.gondii* 'ye karşı etkinliğini *in vivo* değerlendirmişler. Fareleri 10^3 RH suşu takizoiti ile ip olarak enfekte ettikten 24 saat sonra tedaviye başlamışlar ve tedaviye 10 gün devam etmişlerdir. Fareleri enfekte ettikten sonra 30 gün gözlemlemişler ve yaşam sürelerini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak sadece 100 ve 200 mg/kg/gün trovafloksasin ile tedavi edilen tüm farelerin 30 gün sonunda hayatta kaldıklarını bildirmişlerdir (yaşam yüzdesi % 100). Sadece 50 mg/kg/gün trovafloksasin ile tedavi edilen grupta yaşam yüzdesini % 90 olarak bulmuşlardır. Sadece 25 mg/kg/gün trovafloksasin ile tedavi edilen grubun yaşam süresinde anlamlı uzama tespit etmemişlerdir (Khan AA ve ark., 1996).

Araujo ve ark. *in vivo* olarak atovakuon, rifapentin ve rifabutin'in *T.gondii*'ye karşı etkinliğini değerlendirmişlerdir. Fareler $2,5 \times 10^3$ RH suşu takizoiti ile ip olarak enfekte ettikten 24 saat sonra tedaviye başlamışlar ve tedaviye 10 gün devam etmişlerdir. Fareleri enfekte ettikten sonra 30 gün gözlemlemişler ve yaşam sürelerini değerlendirmişlerdir (Araujo FG ve ark.,1996).

Derouin ve ark. folat sentezini inhibe eden dapson'u tek başına ve PYR ile kombine ederek *T.gondii*'ye karşı etkinliğini *in vivo* değerlendirmişlerdir. Fareleri 10^4 RH suşu takizoiti ile ip olarak enfekte etmişlerdir. On gün süreyle tedavi vermişlerdir. Fareleri enfekte ettikten sonra 30 gün gözlemlemişler ve yaşam sürelerini değerlendirmişlerdir. Sadece 100 mg/kg/gün dapson ile enfekte ettikten 24 saat sonra tedaviye başlanan grupta 30. günde 2 fare hayatta kalmış. Ölümler 10 ve 20. günler arasında olmuştur. Kontrol grubunda farelerin hepsi 9. günden önce ölmüş, 18,5 mg/kg/gün PYR ile kombine edilen ve enfekte ettikten 24 saat sonra tedaviye başlanan grupta 30. günde tüm fareler hayatta kalmıştır (yaşam yüzdesi % 100). Enfekte ettikten 4 gün sonra tedavi edilen grubun ise 30. günde yarısı hayatta kalmıştır (yaşam yüzdesi % 50) (Derouin F ve ark., 1991).

Araujo ve ark. makrolit antibiyotiklerden olan azitromisin, roksitromisin ve spiramisin'in *T. gondii*'ye karşı etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında fareleri 10^5 RH suşu takizoiti ile enfekte etmişlerdir (Araujo FG ve ark.,1991).

Çalışmamızda biz de literatürdeki bir çok çalışmada olduğu gibi fareleri 10^5 *T.gondii* RH suşu takizoiti ile ip olarak enfekte ederek, periton sıvısından dolaşımsal yolla tüm organlara takizoitlerin yayılmasını sağladık ve akut enfeksiyon tablosu oluşturduk. Fareler enfekte edildikten 24 saat sonra tedaviye başladık ve tedaviye 10 gün devam ettik. Enfekte ettikten sonra 30 gün boyunca fareleri gözlemleyerek yaşam sürelerini değerlendirdik.

Romand ve ark. roksitromisin'i 50 mg/kg/gün ve 200 mg/kg/gün dozlarda, 12,5 mg/kg/gün PYR ve 100 mg/kg/gün SDZ ile kombine ederek *T.gondii*'ye karşı etkinliğini *in vivo* değerlendirmişlerdir. Fareleri 10^4 RH suşu takizoiti ile ip olarak enfekte ettikten 24 saat sonra tedaviye başlamışlardır ve tedaviye 10 gün devam etmişlerdir. Sonuç olarak kombine tedavinin *T. gondii*'ye karşı sinerjik etki gösterdiğini bulmuşlardır (Romand S ve ark., 1995).

Derouin ve ark. azitromisin ve PYR veya SDZ kombinasyonunun sinerjik aktivitesini araştırmışlardır. Fareleri 10^4 RH suşu takizoiti ile ip olarak enfekte ettikten 24 saat sonra tedaviye başlamışlardır ve tedaviye 10 gün devam etmişlerdir. 150 mg/kg/gün azitromisinin 12,5 mg/kg/gün PYR ile kombine edildiği grupta 30 gün sonra yaşam yüzdesi % 93 iken, 200mg/kg SDZ ile kombine edilen grupta yaşam yüzdesini % 100 olarak bulmuşlardır. Böylece kombine tedavi ile yaşam sürelerinin anlamlı olarak arttığını tespit etmişlerdir (Derouin F ve ark.,1992).

Biz de çalışmamızda fareleri enfekte ettikten 24 saat sonra PYR 12,5 mg/kg/gün + SDZ 200/mg/kg/gün etkin tedavi dozu ve PYR 6,25 mg/kg/gün + SDZ 100/mg/kg/gün etkin tedavi dozunun yarısı ile *Zingiber officinale* ekstraktını (Ginger) (400 mg/kg/gün ve 200 mg/kg/gün) ve *Nigella sativa* oil (1700 mg/kg/gün ve 850 mg/kg/gün) dozlarda kombine ederek farelere 10 gün boyunca oral yoldan verdik. Fareleri enfekte ettikten sonra 30 gün süre ile gzlemleyek yaşam sürelerini değerlendirdik. Etkin tedavi dozunda PYR + SDZ ile *Zingiber officinale* ekstraktı (Ginger) kombine edildiğinde yaşam yüzdesinin % 33,3'den % 88,8'ye yükseldiğini, gözlemledik. Etkin tedavi dozunun yarısında PYR + SDZ ile tam doz *Zingiber officinale* ekstraktı kombine edildiğinde yaşam yüzdesinin % 0'dan % 55,5'e yükseldiğini, benzer şekilde etkin tedavi dozunun yarısında PYR + SDZ ile yarı doz *Zingiber officinale* ekstraktı kombine edildiğinde yaşam yüzdesinin % 0'dan % 44,4'e yükseldiğini ve istatistiksel olarak anlamlı arttığını gözlemledik. Etkin tedavi dozunda PYR + SDZ ile *Nigella sativa* oil kombine edildiğinde yaşam yüzdesinin % 33,3'den % 66,6'ya yükseldiğini, gözlemledik. Ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Etkin tedavi dozunun yarısında PYR + SDZ ile tam veya yarı doz *Nigella sativa* oil kombine edildiğinde yaşam yüzdesinin % 0'dan % 44,4'e yükseldiğini, istatistiksel olarak anlamlı arttığını gözlemledik.

Kyung-Min Choi ve ark.'nın yaptıkları, bazı bitkisel ekstraktların *T. gondii* RH suşuna etkinliğini belirlemeye yönelik *in vitro* alışmada, *Zingiber officinale* için $EC_{50} = 0.18$ mg/mL saptanmış ve etkin olarak değerlendirilmiştir (Kyung-Min Choi ve ark., 2008).

Zingiber officinale kökleri, potansiyel olarak aktif shogaoller ve gingeroller gibi birçok komponent içermektedir. İçeriğinde en çok bulunan gingerol 6'dır. (Kathi J. Kemper,1999; Jagetia G C ve ark., 2003)

Zencefil (*Zingiber officinale*) ekstraktı ile yapılan çalışmalarda antiviral, antibakteriyel, antifungal, immün modölatör etkinliği bildirilmektedir (Kemper K J., 1999; Black CD ve ark., 2010).

Nigella sativa oil'de bulunan ana yağ asitleri linoleik asit, oleik ve palmitik asittir. Farmakolojik etkilerden daha çok sabit ve uçucu yağlar sorumlu olduğu için çalışmalar bu iki etken madde grubu üzerinde yoğunlaşmıştır. Tohumlarda bulunan sabit yağın özellikle çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengin olması antioksidan (Burits M ve ark., 2000), antialerjik, immünmodölatör, antitümör, antiviral (Salem ML, 2005), antienflamatuar (Kalus U, 2003), antibakteriyel (Hanafy MS ve ark., 1991), antidiyabetik, hepatoprotektif, kardiyovasküler sistem (Ibraheim ZZ, 2002) ve gastrointestinal sistem üzerine etkilerine katkıda bulunmaktadır (Uras ŞS, 2009).

Nigella sativa'nın immünmodölatör ve antimikrobiyal etkisi ile ilgili çalışmalar mevcuttur (Haqa A ve ark., 1999). Zaoui A ve ark. ratlar için *Nigella sativa* için LD₅₀: 28.8 ± 1 ml/kg/gün olarak tespit etmiş olup, güvenlik aralığı geniştir (Zaoui A ve ark., 2002).

Hücre içi parazitlerle mücadelede asıl etkinlik hücresel immüniteye aittir. *T. gondii* ile mücadelede hem humoral hem de hücresel immünite birlikte rol oynamaktadır. AIDS'li hastalarda, *T. gondii*'ye hem humoral hem de hücresel immün yanıtta değişiklik vardır. CD4⁺ T lenfositlerde ciddi azalma nedeniyle enfeksiyonun ağırlaşması durumunda, antikor titrelerinde sıklıkla artış gözlenmez. Ayrıca T hücrelerinden, IFN- γ ve IL-2 sekresyonu yetersizdir. AIDS'in seyrinde T hücrelerine bağlı koruyucu mekanizmaların kaybindan dolayı toksoplazmoz gelişir (Kasper LH ve ark., 1998).

T. gondii vücuda girdiğinde makrofajlar, T lenfositler, NK hücreler, T sitotoksik hücreler aktive olur ve çeşitli sitokinler salınarak (IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-12) immün sistem paraziti kontrol altına alır. *T. gondii*'ye karşı konak savunmasında major role sahip sitokin IFN- γ 'dır. Ayrıca IFN- γ , toksik oksijen radikallerini salgılanması ve nitrik oksit salgılanmasını sağlayarak da antiparazitik etki gösterir (Özcel MA., 2007). Biz de çalışmamızda immünstimölan ajanlarla mevcut etkin ilaçları kombine ederek *T. gondii*'ye karşı immün sistemi desteklemeyi amaçladık. Özellikle hafif düzeyde

immünsüpresif hastalarda bu kombinasyonun tedavide yarar sağlayabileceğini düşündük.

Suzuki ve ark. çalışmalarında IFN- γ 'nın aktif toksoplazmik ensefalit'li farelerde enflamatuvar cevabı ve takizoit sayısını belirgin olarak azalttığını göstermişlerdir. İmmün süpresif hastalarda gelişen TE tedavisinde IFN- γ 'nın kullanılabilirliğini belirtmişlerdir. Suzuki ve ark. diğer çalışmalarında IL-12'nin, T hücrelerinden yoksun farelerde NK hücrelerinden IFN- γ salınımını arttırarak farelerde TE gelişmesini engellediğini bildirmişlerdir (Suzuki Y ve ark., 1989-1990).

Bizim çalışmamızda, tam doz PYR + SDZ ile *Zingiber officinale* veya *Nigella sativa* kombinasyonlarında ekstraktların immunmodülatör ve antioksidan etkilerinden dolayı yaşam yüzdesini artırdığını saptadık. PYR ve SDZ kombine olarak toksoplazmozun birçok klinik şekillerinde özellikle AIDS'li hastalarda görülen toksoplazmik ensefalitin tedavisinde kullanılmaktadır. PYR ve SDZ kombine edildiğinde yan etkiler daha da artmaktadır. Bu ilaçların doza bağlı yan etkileri göz önüne alındığında mümkün olduğu kadar düşük dozlarda kullanılması gerekmektedir (Özcel MA., 2007). Çalışmamızda ayrıca yan etkilerin daha az görüleceği yarı doz PYR + SDZ ile *Zingiber officinale* veya *Nigella sativa* ekstraktlarının kombinasyonlarında yaşam yüzdesini artırdığını saptadık.

Çalışmalarda, *in vivo* veya *in vitro* ortamda *T. gondii*'ye karşı etkinliği gösterilen antimikrobiyal ajanların, toksoplazmozun tedavisinde etkili olabileceği belirtilmektedir. Ancak uygulanmakta olan tedavi protokollerinin yetersiz kaldığı veya yan etkilerinden dolayı ilaçların tolere edilemediği, doku kistlerine etkili olabilecek bir ilacın bulunmaması ile görülen toksoplazmoz olguları nedeniyle araştırmalar devam etmektedir.

6. SONUÇLAR

1. Enfekte sağaltılmayan kontrol grubunda (Grup 15) yaşam yüzdesi 9. günde % 0 olarak belirlendi.

2. Tam doz PYR + SDZ ile tedavi edilen grupta (Grup 1) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 33,3 olarak belirlendi.

3. Yarı doz PYR + SDZ ile tedavi edilen grupta (Grup 2) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 0 olarak belirlendi.

4. Tam doz PYR + SDZ ile tam doz *Nigella sativa* oil kombine edildiği grupta (Grup 3) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 33,3'ten % 66,6'ya yükselmiştir. Ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P > 0,05$).

5. Tam doz PYR + SDZ ile yarı doz *Nigella sativa* oil kombine edildiği grupta (Grup 4) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 33,3'ten % 55,5'e yükselmiştir. Ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P > 0,05$).

6. Yarı doz PYR + SDZ ile tam doz *Nigella sativa* oil kombine edildiği grupta (Grup 5) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 0'dan % 44,4'e yükselmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0,05$).

7. Yarı doz PYR + SDZ ile yarı doz *Nigella sativa* oil kombine edildiği grupta (Grup 6) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 0'dan % 44,4'e yükselmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0,05$).

8. Tam doz PYR + SDZ ile tam doz *Zingiber officinale* ekstraktının kombine edildiği grupta (Grup 7) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 33,3'ten % 88,8'ye yükselmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0,05$).

9. Tam doz PYR + SDZ ile yarı doz *Zingiber officinale* ekstraktının kombine edildiği grupta (Grup 8) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 33,3'den % 66,6'ya yükselmiştir. Ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P > 0,05$).

10. Yarı doz PYR + SDZ ile tam doz *Zingiber officinale* ekstraktının kombine edildiği grupta (Grup 9) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 0 'dan % 55,5'e yükselmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0,05$).

11. Yarı doz PYR + SDZ ile yarı doz *Zingiber officinale* ekstraktının kombine edildiği grupta (Grup 10) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 0 'dan % 44,4'e yükselmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0,05$).

12. Sadece tam doz *Nigella sativa* oil verilen grupta (Grup 11) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 0 olarak saptandı. Kontrol grubu (Grup 15) ile aralarında anlamlı fark çıkmamıştır ($P > 0,05$).

13. Sadece yarı doz *Nigella sativa* oil verilen grupta (Grup 12) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 0 olarak saptandı. Kontrol grubu (Grup 15) ile aralarında anlamlı fark çıkmamıştır ($P > 0,05$).

14. Sadece tam doz *Zingiber officinale* ekstraktı verilen grupta (Grup 13) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 0 olarak saptandı. Kontrol grubu (Grup 15) ile aralarında anlamlı fark çıkmamıştır ($P > 0,05$).

15. Sadece yarı doz *Zingiber officinale* ekstraktı verilen grupta (Grup 14) 30 günlük gözlem sonunda yaşam yüzdesi % 0 olarak saptandı. Kontrol grubu (Grup 15) ile aralarında anlamlı fark çıkmamıştır ($P > 0,05$).

- Sonuç olarak; günümüze kadar *in vivo* anti-toksoplazma aktivitesi çalışılmamış *Zingiber officinale* ve *Nigella sativa*'nın *T. gondii* tedavisinde kullanılan PYR ve SDZ ile kombine edilmesi sonucu farelerin yaşam yüzdelerini artırdığı belirlenmiştir. Özellikle istatistiksel olarak anlamlı bulunan yarı doz PYR + SDZ ile *Zingiber officinale* veya *Nigella sativa* ekstraktlarının kombinasyonları tedavide bir seçenek olarak düşünülebilir. Bitkisel ekstraktların *T. gondii*'ye karşı etkinliğinin daha net olarak ortaya koyulabilmesi için, ileri çalışmalarla bitkisel ekstraktların hangi aktif maddelerinin, etkilerinden sorumlu olduğu araştırılarak, farklı dozlarda ve etkin olan farklı ilaçlarla kombine edilerek daha ileri *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- Ajioka JW, Soldati D. 2007 *Toxoplasma* Molecular and Cellular Biology. UK Horizon Bioscience Scientific Press; 3-8.
- Akısü Ç, Budak S. 1998. *Toxoplasma gondii*'nin HEP-2 hücre zincirinde üretilmesi. *Türkiye Parazitoloj Derg*; 22:366-370
- Akısü Ç, Korkmaz M. 2005. Tıbbi parazitolojide tedavi. *Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın no:20*;51-64.
- Al-Ghamdi M.S. 2001. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella Sativa* *Journal of Ethnopharmacology*. 76; 45–48
- Al-Shabanah OA, Badary OA, Nagi MN, Al-Gharably NM, Al-Rikabi AC, Al-Bekairi AM. 1998. Thymoquinone protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity without compromising its antitumor activity. *Journal of experimental & clinical cancer research*. CR 17:2: 193–8.
- Altıntaş N, Kuman HA, Akisu C, Aksoy U, Atambay M. 1997. Toxoplasmosis in last four years in Aegean region Turkey. *J Egypt Soc Parsitol.*; 27(2): 439-443.
- Altıntaş K. 1997. Tıbbi Genel Parazitoloji ve protozooloji. Ankara, Medikal Network & Nobel,171-192.
- Araujo FG, Shepard RM, Remington JS. 1991. In vivo activity of the macrolide antibiotics Azithromycin, roxithromycin and spiramycin against *Toxoplasma gondii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* ;10:519-29.
- Araujo FG, Prokocimer P, Lin T, Remington JS. 1992 Activity of clarithromycin alone or in combination with other drugs for treatment of murine toxoplasmosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 36(11):2454-7.
- Araujo FG, Khan AA, Remington JS. 1996. Rifapentine is active in vitro and in vivo against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob Agents Chemother.*; 40:1335-1337.
- Araujo FG, Khan AA, Slifer TL, Bryskier A, Remington JS. 1997. The ketolide antibiotics HMR 3647 and HMR 3004 are active against *Toxoplasma gondii* in vitro and in murine models of infection. *Antimicrob Agents Chemother*; 41:2137-2140.
- Assayed M E. 2010. Radioprotective effects of black seed (*Nigella sativa*) oil against hemopoietic damage and immunosuppression in gamma-irradiated rats. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2010; 32(2): 284–296
- Atasü T, Unat EK(Ed.ler). 1985. Toksoplazmoz ve gebelik. Başkent Ofset, İstanbul; 11-20.

- Bachmeyer C, Mouchnino G, Thulliez P, Blum L. 2006. Congenital toxoplasmosis from an HIV infected woman as a result of reactivation. *Journal of Infection* ; 52 : 55-57.
- Badary OA, Nagi MN, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA, Al-Sohaibani MO, Al-Bekairi AM. 1997. Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 75:12: 1356–61
- Baskın H, Kırdar S, Bahar H, Yuluğ N. 2000. Toksoplazma infeksiyonlarında nitrik oksidin etkisi. XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Program ve Özet Kitabı. Poster: P15-02. Antalya; 404.
- Baysal B. 1998. Föetal ve neonatal paraziter, mikotik infeksiyonlar. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı. Antalya, 63-69.
- Beghetto E, Buffalono W, Spadoni A, Del Pezzo M, Christina M, Minenkova O, Petersen E, Felici F, Gargano N. 2003. Use of an Immunoglobulin G Avidity Assay Based on Recombinant Antigens for Diagnosis of Primary *Toxoplasma gondii* Infection during Pregnancy. *Journal of Clinical Microbiology.*; 41(12): 5414-5418.
- Beverley JKA ve Fry BA. 1957. Sulphadimidine, Pyrimethamine and Dapsone in The Treatment of Toxoplasmosis in Mice. *Brit. J. Pharmacol*, 12, 189.
- Bhandari U, Kanojia R, K.K. Pillai. 2005. Effect of ethanolic extract of *Zingiber officinale* on dyslipidaemia in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 97, 227–230
- Black CD, Herring MP, Hurley DJ, O'Connor PJ. 2010. Ginger (*Zingiber officinale*) Reduces Muscle Pain Caused by Eccentric Exercise. *The Journal of Pain*; Vol 11, No 9: pp 894-903
- Burg JL, Grover CM, Pouletty P, and Boothroyd JC. Direct and sensitized detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1989; 27: 1787-1792.
- Burits M, Bucar F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* Volume 14, Issue 5, pages 323–328
- Çelebi S, Öcal M. 2004. Toksoplazmozis. *Güncel Pediatri.* 2: 152-156.
- Çiçek H, Babür C ve Karaer Z. 2004. Afyon yöresinde Sabin-Feldman boya testi ile koyunlarda *T.gondii* seroprevalansı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* ; 51(3) : 229-231.
- Dağcı H, Akısü Ç, Üner A, Aksoy Ü, Üstün Ş. 2002. In vivo and in vitro effect of clarithromycin on *Toxoplasma gondii*. *Turkish Journal of Infection.*; 17(3):325-8.

- Demirci M, Cicioğlu AB, Can R ve Kaya S. 2001. Isparta'da Değişik gruplarda Toxoplasmosis Seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* ; 25(2) : 107-109.
- Denkers EY, Gazzinelli RT. 1998. Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection. *Clin Microbiol Reviews*; 11:569-588.
- Denkers E Y, Butcher B A, Rio L, Bennouna S. 2004. Neutrophils, dendritic cells and *Toxoplasma*. *International Journal for Parasitology*; 34 : 411-421.
- Derouin F, Piketty C, Chastang C, Chau F, Rouveix B, Pocidaló JJ. 1991. Anti-*Toxoplasma* effects of Dapson alone and combined with pyrimethamine. *Antimicrob Agents Chemother*.Feb;35(2):252-5.
- Derouin F, Almadany R, Chau F, Rouveix B, Pocidaló JJ. 1992. Synergistic activity of azithromycin and Pyrimethamine or sulfadiazine in acute experimental toxoplasmosis. *Antimicrob Agents Chemother*; 36:997-1001.
- Desmonts G, Thulliez P. 1985. The toxoplasma agglutination antigen as tool for routine screening and diagnosis of toxoplasma infection in mother and infant. *Develop. Biol. Standard*; 62: 31-36.
- Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Reviews*; 11:267-299.
- Dubey JP, Webb DM, Sundar N, Velmurugan GV, Bandini LA, Kwok OC, Su C. 2007. "Endemic avian toxoplasmosis on a farm in Illinois: clinical disease, diagnosis, biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*), and a goose (*Anser anser*)". *Vet Parasitol*. 148 (3-4): 207-12.
- Ekmen H, Altıntaş K. 1973. Bir köpekten *Toxoplasma gondii* izolmanı, *Türk Hijyen ve Tecrübe Biyoloji Dergisi*; 33: 17-19.
- El-Malky M, Shaohong L, Kumagali T, Yabu Y, Noureldin MS, Saady N, Maruyama H, Ohta N. 2005. Protective effect of vaccination with *Toxoplasma* Lysate Antigen and CpG as an Adjuvant against *Toxoplasma gondii* in susceptible C57BL/6 Mice. *Microbiol. Immunol.*; 49(7): 639-646.
- Ertabaklar H, Dünder S, Aktunç T, Ertuğ S. 2005. Oküler Toxoplasmosis: Olgu Sunumu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*; 29(2): 73-75.
- Fernandez-Martin J, Lepert C, Molart P, et al. 1991. Pyrimethamine-clarithromycin combination for therapy of acute *Toxoplasma* encephalitis in patients with AIDS. *Antimicrob Agents Chemoter*;35:2049-2052.

- Ferreira RA, Oliveira AB, Ribeiro MF, Tafuri WL, Vitor RW. 2006. *Toxoplasma gondii*: in vitro and in vivo activities of the hydroxynaphthoquinone 2-hydroxy-3-(1'-propen-3-phenyl)-1,4-naphthoquinone alone or combined with sulfadiazine. *Exp Parasitol.*;113(2):125-9.
- Freiland JS, Hiccups T. 1994. Toxoplasmosis and AIDS. *Clin Inf Dis*; 18: 835.
- Frenkel JK, Dubey JP, Miller NL. 1970. *Toxoplasma gondii*: Fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science.*; 167: 893.
- Gali-Muhtasib H, Kuester D, Mawrin C, Bajbouj K, Diestel A, Ocker M, Habold C, Foltzer-Jourdainne C, Schoenfeld P, Peters B, Diab-Assaf M, Pommrich U, Itani W, Lippert H, Roessner A, Schneider-Stock R. 2008. Thymoquinone triggers inactivation of the stress response pathway sensor CHEK1 and contributes to apoptosis in colorectal cancer cells. *Cancer Research* 68:14: 5609-18.
- Hanafy MS, Hatem M.E. 1991. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin) *Journal of Ethnopharmacology* Vol. 34, Is 2-3,P275-278
- Haqa A. 1999. Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion Exchange chromatography;(21); 283-295
- Holliman RE. 1988. Toxoplasmosis and AIDS. *J Infect*; 16: 121-128.
- Hökelek M. 1996. Deneysel toksoplazmoziste azitromisin ve trimetoprim-sulfametoksazolün sağaltımdaki etkinliğinin karşılaştırılması ve patolojik olarak değerlendirilmesi. A. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Bilim Dalı. Doktora tezi, Ankara.
- Hökelek M. Toxoplasmosis. *eMedicine Journal*. Updated: Jan 27, 2009. <http://emedicine.medscape.com/article/229969-media>
- Hökelek M, Kılınç M, Ertürk M, Uyar Y. 2001. İnsan amnion hücre kültürlerinde *Toxoplasma gondii* üretilmesi. *Türkiye Parasitol Derg.*; 25: 323-325.
- Huskinson-Mark J, Araujo FG, Remington JS. 1991. Evaluation of the effect of drug on the cyst form of *Toxoplasma gondii*. *J Infect Dis*; 164:170.
- Ibraheim ZZ. 2002. Effect of *Nigella sativa* seeds and total oil on some blood parameters in female doxorubicin volunteers. *Saudi Pharmaceutical Journal.*; 10: 54-59.
- Iwasaki A, Medzhitov R. 2004. Toll like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat. Immunol.* ; 5 : 987-995
- Jagetia G C, Baliga, M S Venkatesha P and Ulloorb J N. 2003. Influence of Ginger Rhizome (*Zingiber officinale* Rosc) on Survival, Glutathione and Lipid Peroxidation in Mice after Whole-Body Exposure to Gamma Radiatio. *Radiation Research* 160, 584-592

- John DT, William A. P. 2006. Markell and Voge's Medical Parasitology 9th Edition. Saunders Company;139-148.
- Jones J, Lopez A and Wilson M. 2003. Congenital Toxoplasmosis. American Family Physician 67(10) : 2131-2138.
- Joshua K Ko and Leung C C. 2010. Ginger extract and polaprezinc exert gastroprotective actions by anti-oxidant and growth factor modulating effects in rats. Gastroenterology and hepatology. doi:10.1111/j.1440-1746..06347
- Kalus U, Pruss A, Bystron J, Jurecka M, Smekalova A, Lichius JJ. 2003. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Phytother. Res.*; 17: 1209– 1214.
- Kasper LH. 1998. *Toxoplasma* infection. In: Brounwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jamesson JL (eds.) *Harrison's principles of internal medicine*, 14 th Ed. New York, McGraw-Hill, 1197-1202.
- Katiyar K S, Agarwal R and Mukhtar H. 1996 Inhibition of Tumor Promotion in Sencar Mouse Skin by Ethanol Extract of *Zingiber officinale* Rhizome. *Cancer Research* 56. 1023-1030.
- Kayaalp O. 2009. Rasyonel Tedavi yönünden Tıbbi farmakoloji. 12. Baskı. Ankara. Haccettepe-Taş, 344-354.
- Kemper K J. 1999. Ginger. <http://www.mcp.edu/herbal/Default.htm>. page 1-18.
- Khan AA, Slifer T, Araujo FG, Remington JS. 1996. Trovafloxacin is active against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob Agents Chemother*; 40. 1855-1859.
- Khan AA, Slifer T, Araujo FG, Remington JS. 1999. Quinupristin-Dalfopristin is active against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob Agents Chemother*; 43: 2043-2045.
- Khan AA, Araujo FG, Craft JC, Remington JS. 2000. Ketolide ABT-773 is active against *Toxoplasma gondii*. *J Antimicrob Chemother.*; 46: 489-492.
- Khan AA, Slifer TR, Araujo FG, Remington JS. 2001. Activity of Gatifloxacin Alone or in Combination with Pyrimethamine or Gamma Interferon against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob Agents Chemother*;1:48-51.
- Kılıç M. 2002. Telitromisin (HMR 3647) ve pirimetaminin *Toxoplasma gondii*'ye Etkinliklerinin Hücre Kültür Tabanlı ELISA Yöntemi ile Araştırılması. OMÜ Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Uzmanlık Tezi Samsun.
- Kılıçturğay K. 1996. *Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji*. 2. Baskı. İstanbul.Güneş & Nobel Kitabevleri, 295-299.

- Kuman H A, Altıntaş N. 1996. Protozoon Hastalıkları. Ege Üniversitesi Basımevi Bornova- İzmir. 112.
- Kursat M, Erecevit P. 2009. The Antimicrobial Activities of Methanolic Extracts of Some Lamiaceae Members Collected from Turkey. Turkish Journal of Science & Technology Volume 4, No 1, 81- 85
- Kyung-Min Choi, Jingu Gang, Jisoo Yun. 2008. Anti-Toxoplasma gondii RH strain activity of herbal extracts used in traditional medicine. International Journal of Antimicrobial Agents 32, 360–362
- Lebech M, Andersen O, Christensen NC, Nielsen HE, Peitersen B, Rechnitzer C, et al. 1999. Feasibility of neonatal screening for toxoplasma infection in the absence of prenatal treatment. Lancet. 353: 1834-1837.
- Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. 2008. Güncel bilgiler ışığında antibiyotikler;397-413.
- Leite LD, Urbina JA, De Souza W, Vommaro RC. 2004. Selective anti- Toxoplasma gondii activities of azasterols. International Journal of Antimicrobial Agents; 23: 620-626.
- Lopes FMR, Gonçalves DD, Bregano RM, Freire RL ve Navarro IT. 2007. Toxoplasma gondii Infection in Pregnancy. The Brazilian Journal of Infection Diseases; 11(5): 496-506.
- McLeod R, Remington JS. 2000. Toxoplasmosis (Toxoplasma gondii). Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. (Eds) Nelson Textbook of Pediatrics. 16th ed. Philadelphia, W. B. Saunders Company; 1054-1062.
- McConnell EL, Basit AW, Murdan S. 2008. Measurements of rat and mouse gastrointestinal pH, fluid and lymphoid tissue, and implications for in-vivo experiments. J Pharm Pharmacol; 60(1):63-70.
- Meneceuri P, Bouldouyre MA, Aubert D, Villena I, Menotti J, Sauvage V, Garin JF, Derouin F. 2008. Toxoplasma gondii: In vitro Susceptibility of Various Genotypic Strains to Pyrimethamine, Sulfadiazine and Atovaquone. Antimicrobial Agents Chemotherapy; 1269-1277.
- Mete M. 1999. Toxoplasma gondii. Ustaçelebi Ş. (ed.) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara. Güneş Kitabevi,; 1231-1235.
- Montaya JG, Liesenfeld O. 2004. Toxoplasmosis. The Lancet.; 363 : 1965-1976.
- Montoya JG, Boothroyd J C, Kovacs J A. 2009. Toxoplasma gondii. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). 7th Ed. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Elsevier; 3495-3526

- Özcel MA, Altıntaş N. 1997. Parazit hastalıklarında tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın no:15. İzmir,Ege Üniversitesi Basımevi,175-176, 222-224, 295-316.
- Özcel MA. 2007. Tıbbi parazit hastalıkları. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını. No:22 İzmir; 141-189.
- Petersen E. 2007. Toxoplasmosis. *Seminars in Fetal & Neonatal medicine*;12(3): 214-223.
- Pfefferkorn ER, Borotz SE. 1994. Comparison of mutants of *Toxoplasma gondii* selected for resistant to azithromycin, spiramycin, or clindamycin. *Antimicrob Agents Chemother*; 38:31-37.
- Rais RH, Al Safarjalani ON, Yadav V, Guarcello V, Kirk M, Chu CK, Naguib FNM, EL Kouni MH. 2005. 6- Benzylthioinosine analogues as subversive substrate of *Toxoplasma gondii* adenosine kinase: Activities and selective toxicities. *Biochemical Pharmacology*; 69: 1409-1419.
- Reynolds MG, Oh J, Roos DS. 2001. In vitro generation of novel pyrimethamine resistance mutations in the *Toxoplasma gondii* dihydrofolate reductase. *Antimicrob Agents Chemother*; 45: 1271- 1277.
- Romand S, Pudney M, Derouin F. 1993. In vitro and in vivo activities of the hydroxynaphthoquinone atovaquone alone or combined with pyrimethamine, sulfadiazine, clarithromycin or minocycline against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*;37(11): 2371-2378.
- Roman E, Zamir CS, Rilkis I, David HB. 2006. Congenital toxoplasmosis-prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection.*Reproductive Toxicology*;21(4): 458-472
- Romand S, Bryskier A, Moutot M, Derouin F. 1995. In vitro and in vivo activities of roxithromycin in combination with pyrimethamine or sulfadiazine against *Toxoplasma gondii*. *J Antimicrob Chemother*; 35:821-832.
- Ryan KJ; Ray CG (editors). 2004. *Sherris Medical Microbiology* 4th ed. McGraw Hill. pp. 723-7.
- Salem ML. 2005. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. *Seed Int. Immunopharm*; 5: 1749-1770.
- Schmidt DR, Hogh B, Andersen O, Hansen SH, Dalhoff K, Petersen E. 2006. Treatments of infants with congenital toxoplasmosis: tolerability and plasma concentrations of sulfadiazine and pyrimethamine.*Eur. Journal of Pediatrics*; 165: 19-25.
- Shanmugam K R, Mallikarjuna K , Kesireddy N, Reddy K S. 2011. Neuroprotective effect of ginger on anti-oxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*

- Singh S, Pandit AJ. 2004. Incidence and prevalence of toxoplasmosis in Indian pregnant women: a prospective study. *Am J Reprod Immunol*.52: 276-283.
- Sonda S, Sala G, Ghidoni R, Hemphill A, Pieters J. 2005. Inhibitory effect of Aerobasidin A on *Toxoplasma gondii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; 49(5):1794-1801
- Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P, Gargova S. 2007. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chemistry*; 102: 764–770
- Suzuki Y, Conley FK, Remington JS. 1990. Treatment of toxoplasmic encephalitis in mice with Recombinant gamma interferon. *Infect Immun*;58(9):3050-5.
- Suzanna M. Zick ve ark. 2008. Pharmacokinetics of 6-Gingerol, 8-Gingerol, 10-Gingerol, and 6-Shogaol and Conjugate Metabolites in Healthy Human Subjects. *American Association for Cancer Research*. doi:10.1158/1055-9965.EPI-07-2934
- Suzuki Y, Conley FK, Remington JS. 1989. Importance of endogenous IFN-gamma for prevention of toxoplasmic encephalitis in mice. *J Immunol*. 143:2045-2050
- Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. 2008. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Nobel Tıp Kitabevleri 3. baskı İstanbul; 2534-2550.
- Töre O. Toksoplazmoz. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, (Eds.). 1996. *İnfeksiyon Hastalıkları*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri;525-532.
- Trierney LM, McPhee SJ, Papadakis MA. 2001. *Current Medical diagnosis & treatment*, 40th ed. New York, Lange medical books/ Mc Graw-Hill,; 1444-1447.
- Unat EK, Yücel A, Atlas K, Samasti M. 1991. *Unat'ın Tıp Parazitolojisi*. İst. Univ. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yay. No:162. S: 601-622.
- Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samasti M. 1995. *Unat'ın Tıp Parazitolojisi*. 5. Baskı. İstanbul; 601-620
- Uras ŞS. 2009. *Nigella Sativa L. (Ranunculaceae) Bitkisi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar*. Yüksek Lisans Tezi. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Mersin
- Wattanathorn J, Jittiwat J, Tongun T, Muchimapura S and Ingkaninan K. 2011. *Zingiber officinale Mitigates Brain Damage and Improves Memory Impairment in Focal Cerebral Ischemic Rat*. Hindawi Publishing Corporation. doi:10.1155/2011/429505
- Webster JP. 2001. Rats, Cats, People and Parasites. The Impact of Latent Toxoplasmosis on Behaviour. *Microbes and Infection*; 3: 1037-1045.

- Wilson M, Jones JL, McAuley JB. 2007. *Toxoplasma*. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology 9th Ed. Washington ASM Pres,2070-2081.
- Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL. 2006. Color Atlas and Textbook of Diagnostiic Microbiology.6th, Wolters Kluwer Company; 1306-1311.
- Wong S-Y, Remington JS. 1994. Toxoplasmosis in Pregnancy. Clin Infect Dis; 18: 853-862.
- Yamashita K, Yui K, Ueda M, Yano A. 1998. Cytotoxic T-lymphocyte-Mediated lysis of *Toxoplasma gondii*-infected target cells does not lead to death of intracellular parasites. Infect Immunity; 66: 4651-465.
- Yarovinsky F, Sher A. 2006. Toll-like receptor recognition of *Toxoplasma gondii*. International Journal for Parasitology; 36 : 255-259 .
- Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoui K, Amarouch H and Hassar M. 2002a. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. Phytomedicine 9: 69–74
- Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N, Alaoui K, Amarouch H and Hassar M. 2002b. Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. Journal of Ethnopharmacology 79; 23–26
- Zhou XW, Kafsack BFC, Cole RN ; Beckett P, Shen RF and Carruthers VB. 2005. The opportunistic pathogen *toxoplasma gondii* deploys a diverse legion of invasion and survival proteins. The Journal of Biological Chemistry ; 280(40) : 34233-34244.
- Zick S M, Djuric Z, Ruffin M T, Litzinger AJ, Normolle DP, Alrawi S, Feng M R and Brenner D E. 2008. Pharmacokinetics of 6-Gingerol, 8-Gingerol, 10-Gingerol, and 6- Shogaol and Conjugate Metabolites in HealthyHuman Subjects. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev;17:1930-1936.