



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Centaurea urvillei'nin *Toxoplasma gondii* üzerindeki etkisi

HAZIRLAYAN: ELİF POLAT
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ PARAZİTOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. KOR YERELİ

MANİSA-2022



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Centaurea urvillei'nin Toxoplasma gondii üzerindeki etkisi

HAZIRLAYAN: ELİF POLAT
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ PARAZİTOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. KOR YERELİ

TEZ SAVUNMA SINAVI JÜRİ ÜYELERİ

PROF. DR. KOR YERELİ	(DANIŞMAN)
PROF. DR. İ. CÜNEYT BALCIOĞLU	(JÜRİ ÜYESİ)
PROF. DR. YUSUF ÖZBEL	(JÜRİ ÜYESİ)

MANİSA-2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara da kaynaklar listesinde yer verdiğimi, ayrıca bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Elif Polat

TEŞEKKÜR

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı'na, Tıp Fakültesi Parazit Bankası'na, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne, Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına, tez çalışmam süresince tecrübelerini ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren danışman hocam sayın Prof. Dr. Kor YERELİ'ye, araştırmam boyunca gerekli olanakları sağlayan Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı başkanı sayın Prof. Dr. İ. Cüneyt BALCIOĞLU'na ve tüm öğretim üyelerine, çalışmamda büyük katkıları bulunan arkadaşlarım Ahmet Yıldırım, Tülay AKSOY ve Sahra Şirin'e, hayat boyu desteklerini üzerimden hiç eksik etmeyen ve hayatta bir yerlere gelmemi sağlayan güzel annem ve sevgili babama , son olarak hayatımı daha güzel bir hale getiren yol arkadaşım, en büyük destekçim eşim Hüseyin Yiğit Şahin'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından BAP 2019-039 ve 2019-082 numaralı projeleri ile desteklenmiştir.

Elif POLAT

KISALTMALAR VE SİMGELER

BAL:	Bronko alveolar lavaj
BOS:	Beyin omurilik sıvısı
<i>C.urvillei</i> :	<i>Centaurea urvillei</i>
CMV:	Sitomegalovirüs
CU:	<i>Centaurea urvillei</i>
CUK:	<i>Centaurea urvillei</i> kloroformda
CUM:	<i>Centaurea urvillei</i> metanolde
CUN:	<i>Centaurea urvillei</i> n-hekzanda
DMEM:	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO:	Dimetil sülfoksit
ELISA:	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FBS:	Fetal Bovin Serum
IFA:	Indirect Floresan Antikor
IHAT:	Indirect Hemaglutinasyon Testi
IL-10:	İnterlökin 10
LAP:	Lenfadenopati
MAT:	Modifiye Aglutinasyon Yöntemi
MSS:	Merkezi Sinir Sistemi

NK: Natural Killer

PBS: Phosphate Buffered Saline

PYR: Pirimetamin

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

SFDT: Sabin-Feldman Dye Testi

SI: Seçicilik İndeksi

T.gondii: *Toxoplasma gondii*

TE: Toksoplazmik ensefalit

Th1: T helper

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	v
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. <i>TOXOPLASMA GONDII</i>	7
4.1.1. Sınıflandırma	7
4.1.2. Morfoloji	8
4.1.2.1. Takizoit form	8
4.1.2.2. Bradizoit form	8
4.1.2.3. Ookist form (Sporozoit)	9
4.1.2.4. Evrimi	9
4.2. <i>TOXOPLASMA GONDII</i> 'NİN EPİDEMİYOLOJİSİ	11
4.3. BULAŞ YOLLARI	11
4.3.1. Konjenital yolla bulaşma	12
4.3.2. Oral yolla bulaşma	12
4.4. PATOGENEZ	13
4.4.1. Konjenital toksoplazmosis	13
4.4.2. Sonradan kazanılmış toksoplazmosis	13
4.4.3. Lenfatik toksoplazmosis	14
4.4.4. Serebral toksoplazmosis	14
4.4.5. Göz tutulumu	14
4.4.6. İskelet ve kalp kası tutulumu	14
4.4.7. İmmün yetmezlikli hastalarda patojenite	15
4.5. KLİNİK	15
4.5.1. İmmünitesi sağlam hastalarda Toksoplazmosis	15
4.5.2. İmmün Yetmezliklerde Kazanılmış veya Reaktif Toksoplazmosis	15
4.5.3. Oküler Toksoplazmosis	16
4.5.4. Gebelikte Toksoplazmosis	16
4.5.5. Konjenital Toksoplazmosis	16
4.6. TANI	17
4.6.1. Direkt Tanı Yöntemleri	17
4.6.1.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR veya PZR)	18
4.6.1.2. Histolojik Yöntemler	18
4.6.2. İndirekt Tanı Yöntemleri	18
4.6.2.1. Sabin-Feldman Boya Testi (Dye-Test, SFDT)	18
4.6.2.2. İndirekt İmmünoflorasan Antikor (IFA) Testi	19
4.6.2.3. İndirekt Hemagltinasyon Testi (IHAT)	19
4.6.2.4. Kompleman Fiksasyon Testi	19
4.6.2.5. Modifiye Agltinasyon Yöntemi (MAT)	19
4.6.2.6. İmmünosorbent Agltinasyon Testi (ISAGA)	20
4.6.2.7. ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)	20
4.7. TOKSOPLAZMOSİSDE İMMÜNİTE	21
4.8. TEDAVİ	22

4.8.1. İlaçlar	23
4.8.1.1. Primetamin	23
4.8.1.2. Sülfadiazin	23
4.8.1.3. Klindamisin	24
4.8.1.4. Dapson	24
4.8.1.5. TMP-SMX	24
4.8.1.6. Spiramisin	25
4.8.1.7. Azitromisin	25
4.8.1.8. <i>Centaurea urvillei</i>	25
4.9. KORUNMA	28
5. GEREÇ VE YÖNTEM	29
5.1. MATERYALLER	29
5.1.1. CİHAZLAR	29
5.1.2. Sarf Malzemeler	30
5.2. YÖNTEMLER	31
5.2.1. <i>Centaurea urvillei</i> Bitkisinin Toplanması	31
5.2.2. <i>Centaurea urvillei</i> Bitki Ekstrelerinin Çıkarılması	31
5.2.3. Hücre Hatları	31
5.2.3.1. Hücre Hatlarının Temin Edilmesi	31
5.2.3.2. Hücrelerin Çözdürülmesi	32
5.2.3.3. Hücrelerin pasajlanması	32
5.2.3.4. Hücrelerin dondurulması	32
5.2.3.5. Tripan mavisi ile hücrelerin canlılık kontrolü ve hücre sayımı	33
5.2.4. Parazit suşu	34
5.2.4.1. <i>Toxoplasma gondii</i> izolatının temin edilmesi	34
5.2.4.2. <i>Toxoplasma gondii</i> izolatının çözdürülmesi	34
5.2.4.3. <i>Toxoplasma gondii</i> 'nin dondurulması	34
5.2.4.4. Tripan mavisi ile parazit suşunun canlılık kontrolü ve sayımı	35
5.2.5. <i>Toxoplasma gondii</i> 'nin <i>ex vivo</i> kültürasyonu	35
5.2.6. <i>Centaurea urvillei</i> bitki ekstrelerinin L929 hücreleri üzerine in-vitro sitotoksik aktivitesinin değerlendirilmesi	36
5.2.6.1. <i>Centaurea urvillei</i> bitki ekstrelerinin <i>T.gondii</i> üzerine <i>ex-vivo</i> aktivitesinin değerlendirilmesi	37
5.2.6.2. <i>Centaurea urvillei</i> bitki ekstrelerinin Seçicilik indekslerinin belirlenmesi	38
5.3. İstatiksel analiz	38
6. BULGULAR	39
7. TARTIŞMA	42
8. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
9. KAYNAKLAR	47
10. EKLER	53
10.1. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÖNETİM KURULU KARARI	53
10.2. ETİK KURUL KARARI	54
10.3. BENZERLİK RAPORU	55
11. ÖZGEÇMİŞ	56

TABLÖLÖR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Toxoplasma gondii</i> 'nin sınıflandırılması	7
Tablo 2. <i>Centaurea urvillei</i> bitkisinin sınıflandırılması	27
Tablo 3. Hücre sayısını thoma lamında belirleme formülü	33
Tablo 4. Anti-takizoit aktivitesinin yüzdesini belirleme formülü	38
Tablo 5. <i>Centaurea urvillei</i> bitki ekstraktlarının <i>Toxoplasma gondii</i> üzerine ex-vivo aktivitesi	41



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Toxoplasma gondii</i> 'nin hayat döngüsü	10
Şekil 2. <i>Centaurea urvillei</i> bitkisinin ülkemizde yetiştiği şehirlerin haritası	26
Şekil 3. <i>Centaurea urvillei</i> bitkisinin sitotoksik aktivitesi	40
Şekil 4. <i>Centaurea urvillei</i> bitkisinin inhibisyon yüzdesi	40



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. <i>Centaurea urvillei</i> bitkisi	27
Resim 2. MTT sonrası 96 kuyucuklu pleytin görüntüsü	39
Resim 3. <i>Centaurea urvillei</i> bitkisinin, pirimetaminin, ilaçsız hücrenin ve parazit kontrolün IC50 değerlerinin vero hücresindeki görünümü	41



Tezin Başlığı : *Centaurea urvillei*'nin *Toxoplasma gondii* üzerindeki etkisi

Öğrencinin Adı : Elif POLAT

Danışmanı : Prof. Dr. Kor YERELİ

Anabilim Dalı : Tıbbi Parazitoloji

1. ÖZET

Amaç: Çalışmamızda; Türkiye'de *ex vivo* kültür yöntemiyle üretilen *T.gondii* parazitinin, Vero hücrelerinde *ex vivo* kültürasyonu yöntemiyle virulans özelliklerini yitirmeden üremesini sağlamak ve bu parazit üzerine *Centaurea urvillei* bitkisinin anti paraziter ilaç etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: *Centaurea urvillei* bitkisi Eskişehir ilinden toplandı, kurutuldu ve ekstraksiyon için kullanılabilir kısımları alınarak metanol, n-hekzan ve kloroform çözeltilerinde çözdürülerek ekstratlar hazır hale getirildi. Ardından Vero ve L929 hücreleri pasajlanmak üzere çözdürülmüştür. Tripan mavisiyle boyanarak hücre sayımı gerçekleştirildi. Diğer yandan *Toxoplasma gondii* bulunduğu sıvı azot tankından çıkarılıp çözdürülmüştür. Tripan mavisiyle boyanıp parazit sayımı yapılmıştır.

Bulgular: *Centaurea urvillei* bitkisinin L929 hücreleri üzerinde in-vitro sitotoksik değerlendirme yapılmıştır. CC50 değerleri n-hekzan, metanol, kloroform ve primetaminin sırasıyla 110,4 µg/ml, 99,6 µg/ml, 157,7 µg/ml ve 189,8 µg/ml olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak *Centaurea urvillei* bitkisinin sitotoksik aktivite göstermediği belirlenmiştir.

Sonuçlar: Ardından *T.gondii*'nin *ex-vivo* kültürasyonu yapılmıştır. Vero hücresine *T.gondii* izolatının ekimi yapılmıştır ve 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. 72 saat sonunda enfeksiyon gerçekleşmiş olup *C.urvillei* bitkisinin *T.gondii* üzerindeki etkisine bakmak üzere farklı konsantrasyonlarda değerlendirme yapılmıştır. Enfeksiyon gerçekleşmiş olan Vero hücrelerine kontrol ilacının ve ekstrenin eklenmesinden sonra 48 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında Giemsa ile boyanmış ve ışık mikroskopuyla her kuyucuk içindeki takizoit sayısı belirlenip, %anti-takizoit(inhibüsyon) aktivitesi hesaplanmıştır. IC50 değeri de belirlendikten

sonra anti paraziter etkinliğinin olup olmadığını belirlemek için seçicilik indeksi (SI) bulunmuştur ve *Centaurea urvillei* bitkisinin *T.gondii* üzerinde anti paraziter aktivite gösterdiği istatikselsel olarak anlamlı bulunmuş olup, *T.gondii* üzerindeki etkisi ileride yapılacak olan ilaç çalışmalarında bir basamak olarak görülebilir.

Anahtar Sözcükler: *Toxoplasma gondii*, *Ex vivo* kültivasyon, *Centaurea Urvillei*



Project Title **Effect of *Centaurea urvillei* on *Toxoplasma gondii***
Student Elif Polat
Name
Advisor Prof. Kor YERELİ
Master of Medical Parasitology
Science

2. ABSTRACT

Objective: In our study; It was aimed to ensure the reproduction of *T.gondii* parasite, which is produced by ex vivo culture method in Turkey, without losing its virulence properties by ex vivo cultivation method in Vero cells, and to investigate the antiparasitic drug activity of *Centaurea urvillei* plant on this parasite.

Materials and Methods: *Centaurea urvillei* plant was collected from Afyon province, dried and extracts were prepared by taking the parts that can be used for extraction and dissolving them in methanol, n-hexane and chloroform solutions. Vero and L929 cells were then thawed for passage. Cell count was performed by staining with trypan blue. On the other hand, *Toxoplasma gondii* was removed from the liquid nitrogen tank and thawed. Parasite count was done by staining with trypan blue.

Results: In vitro cytotoxicity evaluation was performed on L929 cells of *Centaurea urvillei* plant. The CC50 values of n-hexane, methanol, chloroform and pyrimethamine were determined as 110.4 µg/ml, 99.6 µg/ml, 157.7 µg/ml and 189.8 µg/ml, respectively. As a result, it was determined that *Centaurea urvillei* plant did not show cytotoxic activity.

Conclusions: Then, ex-vivo cultivation of *T.gondii* was carried out. *T.gondii* isolate was cultivated in Vero cell and left for 72 incubations. At the end of 72 hours, infection occurred and the evaluation of the *C.urvillei* plant at different concentrations was made to look at the effect on *T.gondii*. The infected Vero cells were incubated for 48 hours after the addition of the control drug and the extract.

Afterwards, it was stained with Giemsa and the number of tachyzoites in each well was determined with a light microscope, and the % anti-tachyzoite (inhibition) activity was calculated. After determining the IC50 value, the selectivity index (SI) was found to determine whether it has antiparasitic activity and it was found that *Centaurea urvillei* plant showed antiparasitic activity on *T.gondii*, and it was found that it was statistically significant, and its effect on *T.gondii* can be seen as a step in future drug studies.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, *Ex vivo* cultivation, *Centaurea urvillei*



3. GİRİŞ ve AMAÇ

Toksoplazmosis, *Toxoplasma gondii*' nin neden olduğu parazitik bir hastalıktır. Zorunlu hücre içi apikompleks protozoan olan *Toxoplasma gondii*, tüm memeli hücrelerini ve dünyadaki insan nüfusunun yaklaşık üçte birini enfekte edebilmektedir (Dubey J, Lindsay D. 2004.).

İmmün yetmezliği olan bireylerde, *T. gondii* enfeksiyonu belirgin morbidite oluşturmaz. Bununla birlikte bağışıklığı baskılanmış kişilerde, immünsüpresif tedavi gören hastalarda veya hamilelik sırasında *T. gondii* enfeksiyonu ciddi klinik sonuçlara ve hatta ölüme neden olabilmektedir (Innes EA. 1997; Nath A, Sinai AP. 2003). Pirimetamin ve sülfadiazinin birlikte kullanılması Toksoplazmosis tedavisinde önerilmektedir. Ancak enfeksiyonu geçirmekte olan gebe kadınlarda bebeğe geçişi engellemek için kullanıldıklarında veya bağışıklığı baskılanmışlarda kullanımını sınırlayacak düzeyde ciddi yan etkiler gelişebildiği gösterilmiştir. Bu tür durumlarda bu olgular spiramisin, atovaquon ve klindamisin ile tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Kanser tedavisi, organ transplantasyonları ve HIV enfeksiyonu gibi bağışıklığı baskılanan olgu sayılarındaki artış ve bu olgularda bu fırsatçı enfeksiyonun ağır seyretmesi nedeniyle, *T. gondii*'ye yönelik yeni ilaçların geliştirilmesi ayrı bir önem taşımaktadır (Norrby R, Eilard T, Svedhem A, Lycke E.,1975; Petersen E, Schmidt DR, 2003; Davis, P.H, 1970).

Çalışmamızda, bilinen yerli endemik bir tür olan *Centaurea urvillei* bitkisinin metanol, n-hekzan ve kloroform bitki ekstresi çıkartılarak, *T. gondii* suşları üzerindeki etkisi değerlendirilecektir. L929 hücre hattına uygulanan bitki ekstresinin sitotoksiteleri MTT yöntemiyle araştırılacaktır. Vero hücreleri 25 cm²'lik flasklardan oluşan 3 gruba ekimi gerçekleştirilecek ve 5 ml taze besiyeri ile 37°C de 8 saat %5 CO₂ ile inkübe edilecek. Her bir flaskta Vero hücreleri tek tabaka (konfluent) olduğunda, büyüme ortamı %2 FBS içeren taze besiyeri ile değiştirilecek ve 16 saat inkübe edilecek. Daha sonra önceden enfekte olan BALB/c farelerinin peritonlarından hasat edilen canlı *T.gondii* RH Ankara suşu trofozoiti, her bir flaskta enfeksiyon gerçekleştirilecek ve %5 CO₂ ile 37°C de 3 gün süreyle inkübe edilecektir. Hücreler hemositometre ile sayılacak ve canlılık %0,4 tripan mavisi ile

belirlenecektir. Pozitif kontrol, negatif kontrol ve etken madde grubu olmak üzere üç gruba ayrılacaktır. Pozitif kontrol grubunda primetamin ve *T. gondii* paraziti uygulanacaktır. Negatif kontrol grubunda ise *T.gondii* paraziti uygulanacaktır. Etken madde grubunda ise *T. gondii* ile enfekte olmuş Vero hücreleri *C. urvillei* bitki ekstresi farklı konantrasyonlarda uygulanacaktır. Yedinci günün sonunda *C.urvillei* ekstresindeki takizoit sayısını kontrol grubundaki takizoit sayısı ile karşılaştırıldığında belirgin bir azalma beklenmektedir. Bu azalma antiparazitik etkisi bilinen pozitif kontrol ile yüzde olarak karşılaştırılacaktır. Sonuç olarak; *C. urvillei* bitki ekstresinin *Toxoplasma gondii* üzerindeki etkisini ex-vivo şartlarda araştırılacaktır.

Bu çalışma ile; bilinen ve halen kullanılan ilaçların teratojenik etkisinden uzak kalarak, Türkiye’de yetişen bir bitki olan *C. urvillei* ile hastalığın tedavisini mümkün olduğunca yan etkisiz olarak sağlayabilmek amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. TOXOPLASMA GONDII

Toxoplasma gondii, dünyada en yaygın hayvandan insana bulaşan bir zoonotik hastalık etkenidir. Dünya’da *Toxoplasma gondii* ile enfekte olan nüfusun %25-30 ‘unu kapsayabilecek insanlar vardır. *T. gondii*, ABD’ de “Category B pathogen” olarak sınıflandırılır (Miman,Saygı;2018).

1908 yılında Kuzey Afrika’da *Ctenodactylus gundi* isimli kemirgende *Toxoplasma gondii*’yi ilk kez Nicolle ve Manceaux isimli bilim insanları görmüş ve tanımlamıştır. İnsanda oluşturduğu hastalığa toksoplazmosis denmektedir. Ülkemizde ilk olgu Unat ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (Miman,Saygı;2018).

4.1.1. Sınıflandırma

Tablo 1. *Toxoplasma gondii*’nin sınıflandırılması

Regnum	<i>Protista</i>
Subregnum	<i>Protoza</i>
Phylum	<i>Apicomplexa</i>
Classis	<i>Coccidea</i>
Ordo	<i>Eimeriida</i>
Familia	<i>Sarcocystidae</i>
Genus	<i>Toxoplasma</i>
Species	<i>T.gondii</i>

4.1.2. Morfoloji

T. gondii; kamçı, kirpik, yalancı ayakları bulunmayan 4-8 µm boyunda ve 3-4 µm eninde bir protozoon olup takizoitlerinin hareketleri; kayma ve burkulma şeklindedir. Hilal veya badem biçimli olmakla birlikte oval veya yuvarlak olarak da görülebilir (Mete M. *Toxoplasma gondii* 1999). Giemsa veya Wright boyasıyla boyandığında periferal yerleşimli nükleus pembe-kırmızı boyanırken, sitoplazma mavi boyanır. *Toxoplasma gondii*'nin üç yaşam formu vardır (Düzgün Barış, 2012) ;

4.1.2.1. Takizoit form

Takizoit formu hilal şeklinde veya ovaldir, yaklaşık 3'e 7 µm ölçülerindedir ve enfeksiyonun akut aşamasında görülür. Wright veya Giemsa boyası ile iyi boyanır. Ultra yapısal özellikler arasında apikal mikrotübül ve halkalar kompleksi, rhoptry adı verilen salgı organelleri, mikronemler ve yoğun granüller ve kendi benzersiz DNA'sına sahip apikoplast adı verilen kloroplast benzeri bir yapı bulunur. Takizoitler, muhtemelen çekirdeksiz kırmızı kan hücreleri dışında tüm memeli hücrelerini istila edebilir. Donmaya ve çözülmeye, kurumaya veya mide, duodenal sindirim sıvılarına kısa süre maruz kalmaya dayanamazlar. Penetrasyondan sonra takizoit endodiyogenetik olarak füzojenik olmayan bir vakuolde çoğalır ve sonuçta hücre bozulmasına ve hücre ölümüne neden olur. Takizoitlerin plasentaya ikincil olarak fetüse yayılmasıyla hematojen yayılması, insanlarda konjenital toksoplazmosis ve diğer duyarlı hayvanlarda fetal enfeksiyon ve düşükle sonuçlanır (Morrison & Höglund, 2005).

4.1.2.2. Bradizoit form

Bradizoit tüm dokularda kesik halde kalabilir ve enfekte konağın ömrü boyunca kronik enfeksiyona neden olabilir. Dokuda enfeksiyonun ilk haftasında kistler tespit edilebilir ve boyutları yaklaşık 10 ile 100 µm arasında değişir. Bir arjirofilik duvarları vardır, ancak periyodik bir asit-Schiff boyası ile boyandıklarında çevreleyen dokudan en net şekilde ayrılırlar. Genellikle kistlerin çevresinde enflamatuvar reaksiyon oluşmaz. Bu form klinik olarak normal çocuk ve yetişkinlerin dokularında uzun yıllar devam edebileceğinden, histolojik bölümlerdeki kanıtları

yeni enfeksiyonu göstermez. Peptik veya triptik sindirim sıvıları hemen kist duvarını bozar, ancak salınan bradizoitler (apikal çekirdeklere sahip olan ancak ışık mikroskopu altında takizoit formuna benzeyen) bu sıvılarda birkaç saat hayatta kalabilir ve bu da yerel hücrelerin istilasına izin verir. Kistler 66°C'ye (150 °F) kadar ısıtılarak, dondurularak (-20°C [-4°F] altında) ve çözündürülerek ve kuruma ile yok edilebilir. Doku içindeyse, soğutma sıcaklıklarında (4°C [39°F]) birkaç ay yaşayabilirler. İnsanlarda enfeksiyon, kist içeren çiğ veya az pişmiş et yenilerek elde edilebilir. Etçil hayvanlarda enfeksiyon, çiğ et veya içinde kistlenmiş organizmalar içeren avlarla kapılabilir (Morrison & Höglund, 2005).

4.1.2.3. Ookist form (Sporozoit)

Ookist formu sadece kedi ailesi üyelerinin (evcil kedilerden dağ aslanlarına kadar) dışkılarında, *Toksoplazmanın* kesin konakçılarında bulunur ve seksüel üreme (gametogony ve şizogoni) sonucu, bağırsak epitelinde oluşur. Ookistler ovaldir ve yaklaşık 10 ile 12 µm'dir. Enfekte kediler, her gün 10 milyon ookisti dökülebilir ve bu, birincil (akut) enfeksiyondan sonra 3 hafta boyunca, ancak daha sonra nadiren dökülebilir. Atılan ookistler, sporlanmadan sonrasına kadar bulaşıcı hale gelmez (her ookistte sekiz sporozoit oluşur); Sporlanma, sıcaklığa ve oksijen mevcudiyetine bağlı olarak, boşaltımdan 1 ila 21 gün sonra (çoğunlukla 2 ila 8 gün) meydana gelir. Ookist, diğer yaşam döngüsü formlarından çok daha dayanıklıdır ve suda aylarca ve nemli toprakta 1 yıl veya daha uzun süre yaşayabilir. Sporlanmış ookistlerin yutulması enfeksiyonu iletir. Ookistler, hayvan rezervuarlarında fekal-oral geçişte ve insanlarda kazara yutmada önemli bir rol oynar (Morrison & Höglund, 2005).

4.1.2.4. Evrimi

Felidae ailesinin üyeleri *Toxoplasma gondii*'nin tek kesin konağı olarak bilinir. Sporsuz ookistler kedinin dışkısından atılır. (1) Ookistler genellikle sadece 1-3 hafta boyunca salınsa da çok sayıda salınabilir. Ookistlerin ortamda sporlanması ve enfektif hale gelmesi 1-5 gün sürer. Doğadaki ara konaklar (kuşlar ve kemirgenler dahil) ookistlerle kontamine olmuş toprak, su veya bitki materyalini yedikten sonra enfekte olurlar. (2) Ara konaktaki ookistler, yutulduktan kısa bir süre sonra takizoitlere dönüşür. Bu takizoitler sinir ve kas dokusunda yerleşir ve doku kisti

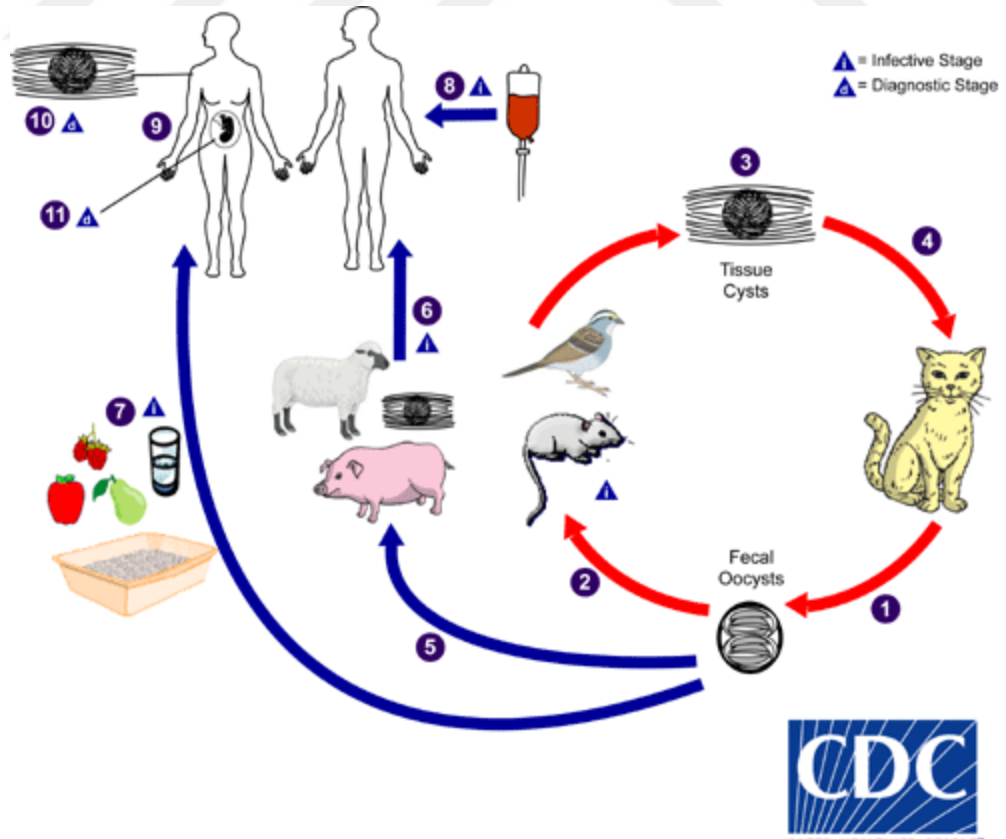
bradizoitlerine dönüşür. (3) Kediler, doku kistlerini barındıran ara konakları yedikten sonra enfekte olurlar. (4) Kediler ayrıca sporlu ookistlerin yutulması ile doğrudan enfekte olabilir. İnsan tüketimi ve vahşi av hayvanları için yetiştirilen hayvanlar (koyun, domuz gibi), çevrede sporlu ookistlerin yutulmasından sonra doku kistleri ile enfekte olabilir. (5) İnsanlar çeşitli yollardan herhangi biriyle enfekte olabilir:

- Doku kistleri olan hayvanların az pişirilmiş etlerini tüketmek (6)
- Kedi dışkısı ile ya da kontamine örneklerle kirlenmiş su ve yiyecek tüketmek (7)
- Kan transfüzyonu ya da organ nakli (8)
- Anneden fetüse geçiş (9)

İnsan konakçıda parazitler, en yaygın olarak iskelet kası, miyokard, beyin ve gözlerde doku kistlerini oluşturur; bu kistler konağın hayatı boyunca kalabilir. Lekeli biyopsi örneklerinde doku kistleri gözlenebilse de tanı genellikle seroloji ile konulur. (10) PCR ile amniyotik sıvıda *T.gondii* DNA'sının saptanmasıyla konjenital enfeksiyonların teşhisi konulabilir (11)

(<https://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/biology.html>, Erişim tarihi

:08.12.2021).



Şekil 1. *Toxoplasma gondii*'nin hayat döngüsü

4.2. TOXOPLASMA GONDII'NİN EPİDEMİYOLOJİSİ

Toksoplazmosis, *Toxoplasma gondii*'den kaynaklanır. ABD'de 6 yaş ve üzeri insanların %11'inin Toksoplazma ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir (<https://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/biology.html>, Erişim tarihi: 7.12.2021). Dünyanın çeşitli yerlerinde, bazı popülasyonların %60'ından fazlasının Toksoplazma ile enfekte olduğu gösterilmiştir. Genellikle dünyanın alçak rakımlara sahip bölgelerinde ve sıcak, nemli iklimlere sahip bölgelerinde enfeksiyon en yüksektir, çünkü ookistler bu tür ortamlarda daha iyi hayatta kalır. Toksoplazmosis, anneden çocuğa (doğuştan) bulaşma ve kan nakli veya organ nakli durumları dışında insandan insana geçmez. İnsanlar tipik olarak üç ana bulaşma yolu ile enfekte olurlar:

- Gıda kaynaklı
- Hayvandan insana (zoonotik)
- Anneden çocuğa (doğuştan)

Serokonversiyon oranları Avrupa'da büyük farklılıklar göstermekte olup, Norveç ve Birleşik Krallık'ta %7'den %10'a, Fransa ve Almanya'da sırasıyla %44 ve %50'ye kadar değişmektedir (Wilking et al., 2016).

Türkiye'de de çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Marmara bölgesinde yapılan bir çalışmada 10.295 hastanın %28,8'inde *T. gondii* IgG antikorları ve %1,9'unda IgM antikorları bulunmuştur (Alver ve ark., 2014). Karadeniz bölgesinde yapılan bir çalışmada ise Bolu ilinde 4.048 hastanın %21,3 'ünde *T. gondii* IgG antikorları ve 13.605 hastanın %1,2'sinde IgM antikorları bildirilmiştir (Aydın Türkoğlu ve ark., 2018). Türkiye'nin Orta bölgesinden 7051 hastane hastasının %29,5'inde IgG antikorları ve %2,4'ünde IgM antikorları bulunmuştur (Macin ve ark., 2018).

4.3. BULAŞ YOLLARI

İnsan toksoplazmosisi için bulaş yolları şunlardır:

1. Dışkıları ookist ile atan kediler,
2. *T.gondii*'nin takizoit ve bradizoitlerini içeren enfekte etlerle,
3. Ookist içeren kedi dışkısı bulaşmış sebze, meyve, su ve toprak,
4. Pastörize edilmemiş süt,
5. Vücudunda *T.gondi*'yi barındıran anne,

6. Enfekte kişiden nakledilen kan ve doku,
7. Diyaliz,
8. Vücut sıvıları

İnsanlara bulaşın iki ana yolu; konjenital ve oral yolla olduğunu görüyoruz (Miman,Saygı;2018).

4.3.1. Konjenital yolla bulaşma

Konjenital bulaşmada, anne adayının gebelik esnasında akut toksoplasmosise yakalandığını kabul edilmektedir. Bulaşmanın hangi ayda gerçekleştiği önemlidir; çünkü hamilelik ona göre ölü doğum, belirtili ya da belirtisiz toksoplasmosis şeklinde sonlandırılır. Böyle bir bulaşmanın sonunda, doğum gerçekleşirse, bebekte hidrosefali, ensefalit, sarılık, strabismus, körlük, epilepsi, psikomotor ve mental retardasyon, trombositopeni ve anemiye bağlı kanamalar, deride döküntüler, lenfadenopati, hepatosplenomegali, korioretinit gibi durumların bir veya birkaçı birlikte gözükür. Korioretinit, hidrosefali ve serebral kalsifikasyonlar konjenital toxoplasmosisin klasik tiradıdır.

Bulaşma hamileliğin ilk 3 ayı ve 2. Trimestrinde olursa fetustaki hasar ciddi olmakta ve bebeğin normal şartlarda büyümemesinden kaynaklanan ölüm ile spontan abortuslara sık rastlanmaktadır. Hamilelik esnasında toxoplasmosise yakalanan anne adaylarının doğurduğu çocukların %40'ının enfekte olduğu, bunların da %15'inin ciddi şekilde etkilendikleri belirlenmiştir.

Hamileliğin 6-9. ayları arasında bulaşma gerçekleşirse semptom gözlenmez ve normal görünümlü bebekler dünyaya gelmektedir. Ancak 3.trimesterde *T. gondii* bulaşma riski, ilk 3 aya göre daha yüksektir (Miman,Saygı;2018).

4.3.2. Oral yolla bulaşma

İki temel bulaşma yolu vardır;

1. Ara konakların vücudunda bulunan parazitin çeşitli hayat dönemlerinin, çiğ ya da iyi pişmemiş etlerle alınması ile olur.
2. Enfekte kedilerin dışkıları ile dışarı atılan ve toprakta olgunlaşan ookistlerin, bulaşlı yiyecek ve içeceklerle ağızdan alınması ile bulaşır.

Asemptomatik olguların çoğu bu şekilde enfekte olan olgulardır. Semptomatik olgularda ise belirtiler, hafif soğuk algınlığından enfeksiyöz mononükleoza benzeyen tablolara kadar uzanan geniş bir spektrum gösterir.

4.4. PATOGENEZ

Toksoplazmosis doğuştan veya sonradan kazanılmış olabilir. *Toxoplasma gondii* vücuda girdiğinde hemen her tür hücreyi enfekte edebilir ve hücre içinde çoğalabilir. Enfekte olan hücrenin parçalanmasıyla açığa çıkan parazit, komşu hücrelere bulaşır ve kan yoluyla diğer organlara taşınır. Patolojik bulgular hastalığın akut, subakut veya kronik olmasına göre değişir. Akut vakalarda kalp, beyin ve akciğerler başta olmak üzere hemen hemen tüm organlarda nekrozlu küçük veya büyük lezyonlar vardır. Subakut vakalarda ana lezyonlar göz ve beyindedir. Beyinde kılcal damarlar çevresinde monosit birikimi, tıkanıklık ve ödemli fokal lezyonlar, nekroz odakları, daha sonra kalsifiye olan küçük granülomlar. Gözde korioretinit ve retina tabakalarında ödem, monosit infiltrasyonu vardır. Kronik vakalarda kistler ağırlıklı olarak organlarda, özellikle beyinde, gözlerde, iskelet kaslarında ve adrenallerde görülür (Çetin, Anđ, Töreci, 1979).

4.4.1. Konjenital toksoplazmosis

Hamilelik sırasında parazitemi enfekte annelerden doğan çocukların yaklaşık %20'sinde görülür. Belirtiler; korioretinit, hidrosefali veya mikrosefali, mikroftalmi, konvülsiyonlar, serebral kalsifikasyon, papüler veya purpurik döküntüler, sarılık, genişlemiş karaciğer ve dalak. Beyin omurilik sıvısında ksantektomi görülür. Hücre ve protein miktarı artış olur. Bilateral korioretiniti ve serebral kalsifikasyonu olan hastalarda mutlaka toksoplazmosis düşünölmelidir (Çetin, Anđ, Töreci; 1979).

4.4.2. Sonradan kazanılmış toksoplazmosis

Akut, subakut veya asemptomatik olabilir. Semptomatik vakalar, vücut direncini ciddi şekilde bozan başka bir hastalığı olan veya immünosupresif ilaçlar alan hastalarda daha yaygındır. Bu hastalarda toksoplazmosisden ölüm oranı da daha yüksektir. Akut vakalarda deri döküntüleri ve atipik pnömoniye benzer pulmoner bulgular gözlenir. Subakut vakalarda sinir sistemi ve göz semptomları baskındır.

Edinilmiş toksoplasmosisu ana semptomlara göre lenfatik, serebral ve hacimli toksoplasmosisa ayırabiliriz (Çetin, Anđ, Töreci; 1979).

4.4.3. Lenfatik toksoplasmosis

Genellikle boyun, koltuk altı ve kasıkta daha belirgindir;

- Lenf düğümlerinde genel bir genişleme vardır.
- Ateş olabilir.
- Kanda monositoz tespit edilebilir.
- Karaciğer ve dalak bazen büyür.
- Tamamen ateşsiz seyreden lenfatik toksoplasmosis vakaları da görülür.

4.4.4. Serebral toksoplasmosis

- Meningoensefalit
- Ateş, baş ağrısı, kusma
- Zihinsel bozukluklar,
- Beyin omurilik sıvısında ksantokromi,
- Protein ve hücre artması,
- Çocuklarda konvülsiyonlar sık görülür.

4.4.5. Göz tutulumu

Önceleri göz toksoplasmosisisi tüberkülozla karıştırılmaktaydı. İmmün sistemi sağlam bireylerde göz tutulumu en fazla görülebilen şekillerdedir. Lezyonlar üveit ile başlamakta olup multifokalde olabilir.(C E Pavesio, 1996) Göz toksoplasmosisisinde esas patojenite retinokorioditis olup tek taraflı olmaya meyillidir. Kan damarları kenarında lezyonların görülmesi hematojen olarak yayıldığını göstermektedir.(Medical, 2015) Yaşlı olgularda makula retinadan ayrışabilmektedir.

4.4.6. İskelet ve kalp kası tutulumu

Miyozit AIDS olgularının %4 ünde saptanabilen bir belirtidir. İskelet kas biyopsi örneklerinin başarılı izolasyonları bildirilmiştir. İyi bir mikroskopik analiz değişken

bir iltihabi reaksiyon ile nekrotik kas lifleri ortaya koyar. Kalp tutulumu sıklıkla AIDS olgularında izlenebilir ve bu tip vakalarda MSS tutulumu oldukça belirgindir.(Düzgün Barış, n.d.)

4.4.7. İmmün yetmezlikli hastalarda patojenite

Bu hastalarda sıklıkla doku kisti bulunmakta olup reaktivasyonlar öncelikle ilgili organda veya kistin çevresinde kendini göstermektedir. Ensefalit, orşit, pankreatit, pnömonitis, myokardit, gastroenteritkolit, sistit şeklinde olabilmekte ve ardından yayılım göstermektedir. Ensefalit en sık rastlanılan şeklidir. Pulmoner tutulumlar interstisyel pnömoni, nekrotizan vasıflı, konsolide halde olabilir. Plevra sıvısında, alveolar makrofajlarda vs. takizoitler bulunabilirken BAL (bronko alveoler lavaj) 'dan PCR ile izole edilebilir. (Düzgün Barış, n.d.)

4.5. KLİNİK

Klinik bulgular genelde beş başlık altında derlenebilir. (Düzgün Barış, n.d.)

- 1.İmmünitesi sağlam hastalarda Toksoplazmosis
- 2.İmmün yetmezliklerde kazanılmış veya reaktif Toksoplazmosis
- 3.Oküler Toksoplazmosis
- 4.Gebelikte Toksoplazmosis
5. Konjenital Toksoplazmosis

4.5.1. İmmünitesi sağlam hastalarda Toksoplazmosis

Yetişkinlerde ve çocuklarda *Toxoplasma gondii* enfeksiyonu vakalarının sadece %10 ile %20 si semptomatiktir. (Krick & Remington, 1978) Ateş, halsizlik, kas ağrısı, boğaz ağrısı, makülopapüler döküntü, hepatosplenomegali ve atipik lenfositler (<%10) az sayıda olabilir. Klinik tablo enfeksiyöz mononükleoz veya CMV enfeksiyonuna benzeyebilir ancak toksoplazma muhtemelen mononükleoz sendromlarının en fazla %1 'ine sebep olur.(Remington,1974)

4.5.2. İmmün Yetmezliklerde Kazanılmış veya Reaktif Toksoplazmosis

İmmünitesi baskılanan hastalarda ölümcül sonuçlanabilmektedir. Baskılayıcı sebepler AIDS ve AIDS dışı diye gruplandırılabilir. (Israelski DM, Remington JS;1993.) AIDS hastalarında gelişen en yaygın toksoplasmosis şekli ensefalittir ve tüm fokal SSS lezyonları arasında ilk sırada yer alır. Toksoplazmik ensefalit (TE); mental durum değişiklikleri, kas güçsüzlüğü, felç, kranial sinir tutulumu bulguları, duyu kusurları, serebellar bulgular, meningizm, hareket bozuklukları, nöropsikiyatrik bozukluklar saptanabilen bulgular arasındadır. Bu vakaların %60-90'ında hastalık subakut başlangıçlıdır ve %15-25'inde kanama ve serebral palsy görülebilir.

Pulmoner tutulum AIDS olgularında daha sık rastlanmaktadır. Pulmoner toksoplasmosisde CD4 hücre sayısı 40\ml olanlarda risk artmaktadır.

4.5.3. Oküler Toksoplasmosis

İmmün sağlam bireylerde sıklıkla oküler sorunlarla birlikte ve genelde üveitle ilgili tanılar olabilmektedir.(Holland G.N, 1992)

4.5.4. Gebelikte Toksoplasmosis

Gebelerde akut toksoplasmosis diğer immün sağlam bireylerdeki gibi asemptomatik olabilse de klinik belirtiler çok fazla ve değişiktir. Sıklıkla ilk tanımla regional LAP'ye bağlı yakınmalarla olmaktadır. Birincil önem fetusa bulaştır. Enfeksiyonu yakın zamanda geçirip hemen gebe kalan hastalarda fetusa geçiş olabilir ve ayrıca ikinci bir mekanizma ise gebeliğin ilk üç ayı içerisinde akut enfeksiyon geçirilmesidir (Gavinet et al., 1997)Hennequin, Christophe M.D.; Dureau, Pascal M.D.; N'Guyen, Laurence M.D.; Thulliez, Philippe M.D.; Gagelin, Béatrice M.D.; Dufier, n.d.)

4.5.5. Konjenital Toksoplasmosis

Konjenital enfeksiyonlar genellikle dört formda meydana gelmektedir.

1) Neonetal hastalık

- 2) İlk birinci ayda meydana gelen form
- 3) Çocukluk çağı ya da adolesan dönemde reaktivasyonla oluşan
- 4) Subklinik enfeksiyon (Mandell ed. 2005)

Bebekte görülen klinik belirtiler özellikle hamilelik döneminin ilk 3 ayında alınmışsa oldukça ağır seyirli olmaktadır. Fetüs ciddi şekilde etkilenip; spontan abortus, ölü doğum görülmekte ya da hamileliğin sonlandırılması gerekebilmektedir. 2. ve 3. Trimesterde alınması halindeyse; bebeğin toksoplazmazisli bulaşlı doğması yüksek olasılıklı olup doğumdan sonra da hastalanabilir. Hastalığın şiddetine göre; hidrosefali, mikrosefali, beyinde kalsifikasyonlar, hepatomegali, ikterik görünüm gibi bulgular izlenebilir.

Gebeliğin 10 ile 24 haftaları arasında geçirilmesi durumunda konjenital toksoplazmosis oldukça ağır seyretmektedir.26-40. Haftalarda düşük risk profili taşırlar. (Sandvik et al., 1993)

4.6. TANI

4.6.1. Direkt Tanı Yöntemleri

Tanı, beyin omurilik sıvısı (BOS), lenf düğümleri, cilt lezyonu materyali, kemik iliği veya otopsi materyali gibi örneklerde parazitin çeşitli formlarından birine bakılarak yapılır. Şüpheli numuneden smear veya sürüntü preparatları hazırlanır, boyanır ve ardından değerlendirilir. Hazırlanan preparatlar Giemsa ile boyanır. Mikroskopide *T. gondii* esas olarak hücre içinde ve bazen hücre dışında serbest halde gözlenir. İncelenen preparatlarda parazit görülürse de kesin tanı konulur ancak yokluğu asla toksoplazmosis olmayacağı anlamına gelmez. Histopatolojik tanı için şüpheli doku kesitleri yapılır ve incelenir.(De Jong et al., 2013).

Akut enfeksiyon tanısı kan veya diğer vücut sıvılarında *T. gondii*'nin saptanması ile konulur. Parazitin saptanması, BOS'dan, lenf bezlerinden, kandan, derideki lezyondan, beyin ve kemik iliğinin ponksiyonu ile gerçekleşmektedir CD4/CD8 oranının belirlenmesi de akut veya konjenital enfeksiyonda tanıya yardımcı olmaktadır. Hastalığın akut olduğunu belirlemek için hastanın kanından ve damar dışı sıvılarından *T.gondii* izole edilmelidir. Hastalığın kronik evrede olup olmadığını belirlemek için kas, akciğer, beyin ve göz gibi dokulardan biyopsi veya otopsi

yapıldıktan sonra izole olarak doku kistlerinin varlığı incelenir. (Durmaz R, Durmaz B, Tas I, Rafiq M. Seropositivity of toxoplasmosis among reproductive-age women in Malatya, Turkey. J Egypt Soc Parasitol. 1995 Dec;25(3):693-8. PMID: 8586864.)

4.6.1.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR veya PZR)

PCR moleküler bir yöntemdir ve Oküler, serebral, dissemine ve konjenital toksoplazmosis tanısında kullanılan, duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça yüksektir. B1 geni, AF146527 geni ve Rep529 geni bu testlerde sıklıkla kullanılmaktadır..(Wei et al., 2013)

4.6.1.2. Histolojik Yöntemler

Vücut sıvılarından yapılan yayma preparatlarında takizoitlerin veya doku kesitlerindeki bradizoitlerin tespiti için histopatolojik inceleme yapılmaktadır. Akut enfeksiyonun tanısı bu yöntemle konur. Yangısal nekrotik lezyonların çevresinde ve dokuların histopatolojik incelemesinde kistlerin görülmesi ile kesin tanı koyulmaktadır. (Montoya JG, Remington JS. Chapter 268, *Toxoplasma gondii*, In: Mandell: Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th Ed, Churchill Livingstone, 2000.)

4.6.2. İndirekt Tanı Yöntemleri

4.6.2.1. Sabin-Feldman Boya Testi (Dye-Test, SFDT)

Toksoplazmosis tanısında referans yöntem olarak görülür; fakat canlı parazitlerle çalışılması gerektiğinden ve yardımcı unsurlara gereksinim duyulduğundan her laboratuvarında uygulanamaz. (Kobilka, 2012) SFDT deneyinde, parazit şüphesi olan materyaller farelere enjekte edilir. Hayvanların beyin dokularında ve periton sıvılarında parazitin üreyip üremediğine bakılır. (Kobilka, 2012)

Canlı takizoitler ve hasta serumuna muamele edebilmek için bu yöntem antikor içeren serum ile yapılmalıdır. Sonrasında inkübasyon başlatılır ve biraz beklendikten sonra metilen mavisi eklenir. Takizoitlere bağlanan bu antikorlar paraziti lizise

uğratar. Metilen mavisi ile boyama sonucunda ise ölen parazitler boyanmazken, canlı parazitler boyanır ve mikroskopta mavi renkte görünürler. (Dürdal Us,2016. Temel İmmünoloji ve Seroloji. Birinci baskı, Hipokrat Kitabevi, s.161-167.)

4.6.2.2. İndirekt İmmünoflorasan Antikor (IFA) Testi

IFA testinde pozitif sonuca yol açan antikorlar Sabin-Feldman deneyindekilerle aynıdır ve bu deneyde enfeksiyondan 1-2 hafta sonra pozitif olmaya başlar. En yüksek titreye 1,5-2 ayda çıkar ve sonra yavaş yavaş düşmesine rağmen 1:64 titrelere kadar pozitif bulunabilir. (Tali Çetin, 1973)

4.6.2.3. İndirekt Hemagltinasyon Testi (IHAT)

IHAT ise farklı antikorları ölçer, daha geç pozitif olmaya başlar. Konjenital toksoplasmosisda yanlış sonuç verebilir çünkü pozitiflik yıllar boyu sürer. Bu testin temeli, antijenik proteinlerin kimyasallar yardımıyla kırmızı kan hücrelerinin yüzeyine yapışması ve antikorlarla reaksiyona girmesine dayanır. Şüpheli hastalardan alınan kırmızı kan hücrelerini tannik asitle muamele ettikten sonra, parazitin çözünür antijeni onlara bağlanır. Bu, *T. gondii*'nin serumla muamele sonrası kırmızı kan hücrelerinin birikmesine dayanan önemli bir yöntemdir. (Tali Çetin, 1973; Altıntaş,2002)

4.6.2.4. Kompleman Fiksasyon Testi

Testin esası, serum antikorları parazitin eriyen antijenleriyle birleştiği zaman ortamda bulunan komplemanı kullanmasına dayanır. (Kuman ve Altıntaş,2002)

4.6.2.5. Modifiye Aglütinasyon Yöntemi (MAT)

Bu testte *T. gondii*'nin takizoitlerinin formalinle sabitlenip, U şeklindeki mikro titre plakalarına konması ve daha sonra seyreltilmiş test serumlarının eklenmesiyle IgG antikorları tespit edilmektedir. İnce bir aglütinasyon tabakası oluştuğunda pozitif olduğunu gösterir, kuyucuğun dibinde düzgün noktasal bir presipitasyon oluştuğunda ise negatif olduğunu gösterir.(Liu et al., 2015)(Desmots & Remington, 2011)

4.6.2.6. İmmünosorbent Aglütinasyon Testi (ISAGA)

Yeni doğanda konjenital enfeksiyon tanısı için IgM-ISAGA kullanılır. Romatoid faktör, antinükleer antikor veya her ikisinin varlığında yanlış pozitif sonuçlar vermez. ISAGA yöntemiyle IgA, IgE, IgM antikorları tespit edilir. (Miman Ö. Saygı G. *Toxoplasma gondii* ve *Toxoplazmoz*. Temel Tıbbi Parazitoloji. İstanbul: Karakış Basım Matbaacılık; 2002.p.117.) (Korkmaz M. Ok ÜZ. *Toxoplasmosis.Parazitolojide Laboratuvar*. İzmir: Meta Basım; 2011 p.429-52)

4.6.2.7. ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)

Bu teknikte eriyik *T. gondii* antijenleri kullanılır. Katı materyal üzerinde oluşturulan antijen-antikor kompleksine enzim işaretli konjugenin eklenmesi ile substratın konması sonucu renk değişikliği olduğu takdirde pozitif olduğunu gösteren bir yöntemdir. (Korkmaz M. Ok ÜZ. *Toxoplasmosis.Parazitolojide Laboratuvar*.İzmir: Meta Basım; 2011.p.219.)

IgM Antikor Testi

Yalnızca IgM antikorlarının tespiti, akut enfeksiyonun tanımı için yeterli değildir çünkü *toksoplazma* IgM antikorları enfeksiyondan bir hafta sonrasında tespit edilip birkaç ay boyunca yüksek kalabilmektedir.(Liu et al., 2015) Enfeksiyonun çok erken dönemlerinde bile IgM antikorları tespit edilebilir ; edilemediği takdirde birkaç gün sonra bakmak yeterli olacaktır. Bu antikorların tespiti ile konjenital ve edinilmiş akut toksoplazma enfeksiyonu tanısı konulabilir.

IgG Antikor Testi

Toksoplazma IgG antikorları enfeksiyonla karşılaştıktan 1-2 hafta sonra tespit edilir. Birkaç ay içerisinde en yüksek seviyeye çıkar ve ömür boyu belli bir seviyede kalır. Üç hafta ara ile alınan iki serum örneğinde IgG düzeyinin 4 kat artması akut enfeksiyonda anlamlı kabul edilir.(Calderaro et al., 2009)

IgA Antikor Testi

Enfeksiyonun akut döneminde IgM antikorlarından önce yükselir ve birkaç ay yüksek seyreder. IgM antikoruna göre duyarlılığı fazla olduğu için yetişkinlerden çok konjenital toksoplazmosisin yenidoğan ve fetüsteki tanısında kullanılmaktadır. Akut oküler toksoplazmosisde de sekretuar IgA antikorları önemli niteliktedir.(Liu et al., 2015)(Calderaro et al., 2009)

IgE Antikor Testi

Toksoplazma IgE antikor seropozitifliğinin süresi IgA ve IgM den çok daha kısadır. Bu yüzden mevcut enfeksiyon bilgisini daha iyi vermektedir.(Calderaro et al., 2009)(Liu et al., 2015)

IgG Avidite Testi

Enfeksiyonun başlangıç zamanını tespit etmek amacıyla, immünojenik olarak aktif bölgenin bağlanma günü derecelendirir (Korkmaz M. Ok ÜZ. Toxoplasmosis.Parazitolojide Laboratuvar. İzmir: Meta Basım; 2011 p.429-52.). Üre ya da başka bir protein denature edici ajan, antijen-antikor kompleksini ayrıştırmak için kullanılır. Elde edilen titreye, üre dirençli ve toplam IgG yi yansıtır ve bunların optik yoğunluk oranlarına bakılır(Remington et al., 2004). İmmün sistemi normal bireylerde düşük avidite yakın bir enfeksiyona işaret edebilir; fakat yüksek avidite son 3-5 aydan çok daha önce geçirmiş olduğunu gösterir.(Curdt et al., 2009)

4.7. TOKSOPLASMOSİSDE İMMÜNİTE

Enfeksiyon hem hücresel hem de humoral olarak immün yanıt oluşumuna sebep olmaktadır. Takizoitler, immün sistemin aktifleşmesiyle akut dönemde periferik dolaşımda temizlenirken, hastalığın belirti ve bulguları da hafiflemektedir. Ömür boyu immünite devam etmektedir, reenfeksiyon durumunda klinik durumları engellenmektedir. Parazitin tamamen temizlenmesi mümkün değildir, doku kisti haline dönüşenler yaşamlarını sürdürmektedir. NK ve Th1 tip CD₄⁺ T hücreleri direnci sağlamakta önemlidir. IL-10, *T. gondii* enfeksiyonu tarafından üretimi

indüklenen bir sitokindir. IL-10 indüklendiği için *T. gondii* çoğalmasını destekler. Ayrıca IL-10, IFN-g ile aktive olmuş makrofajlar tarafından üretilen nitrojen oksidi ve paraziti öldürücü etkiyi inhibe etmektedir (Il- et al., 2012).

4.8. TEDAVİ

Elisa testleri sonucunda;

IgM (+), IgG (-): Akut Enfeksiyon

IgM (-), IgG (+): Geçirilmiş Enfeksiyon

IgM (+), IgG (+), Avidite Düşük: Muhtemel Akut Enfeksiyon

IgM (+), IgG (+), Avidite Yüksek: Geçirilmiş Enfeksiyon (yaklaşık 3-4 ay önce) olarak değerlendirmek gerekir.

Gebede IgM (+) veya şüpheli bulunduğu en kısa zamanda Spiramisin (Rovamycine 3MÜ tb) 3x1 gr başlanır ve gebelik boyunca kullanmaya devam edilir. Spiramisin, akut maternal enfeksiyonda fetal bulaşı engellemek için kullanılır; konjenital toksoplazmosis tedavisinde etkisizdir.

Düşük veya orta düzey avidite indeksli gebelerde 18. haftadan sonra amniyosentez yapılarak PCR ile Toxo DNA araştırılır. Toxo DNA negatif ise yeni geçirilmiş enfeksiyon, ancak fetus etkilenmemiştir. Fetus enfekte olmasın diye spiramisin önleyici tedavi olarak doğuma kadar devam ettirilir.

Amniyosentez sonucunda Toxo DNA pozitif ise akut maternal enfeksiyon mevcuttur ve fetus da etkilenmiştir. Bu durumda gebelik sonlandırımı düşünülebilir veya:

18. haftaya gelmemiş gebelikte akut maternal enfeksiyon var ise Sprimasin 3x1 gr başlanır ve 18. Haftaya kadar verilir. 18. haftadan sonra Primetamin + Sülfadiazin + Folinik asit tedavisine geçilir. Primetamin 2x50 mg/gün PO, ilk 2 gün. Sonrasında 1x50 mg/gün PO + Sülfadiazin 75 mg/kg PO ilk doz, sonrasında 2x50 mg/kg/gün PO (maksimum 4 gr/gün) + Folinik asit 10-20 mg/gün.

Gebelikte primetamin-sülfadiazin'e cevapsızlık veya temin edilememe durumunda alternatif olarak; Klindamisin 3x300 mg/gün PO veya Azitromisin 1x500 mg/gün PO tedavisi verilebilir. Bu tedaviler en az 4 hafta veya USG'de fetal sıkıntı varsa gebelik süresince devam ettirilir.

Gebe dışındaki immünkompetan hastalarda şiddetli hastalık bulguları ve uzamış ateş söz konusu değil ise toksoplazmosis tedavisi vermeğe gerek yoktur. (<https://gunider.org/wp-content/uploads/2022/03/Enfeksiyon-Hastaliklari-1-1.pdf>)

4.8.1. İlaçlar

4.8.1.1. Primetamin

Pirimetamin, dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe eder ve tetrahidrofolat sentezini engellenmektedir. Böylece duyarlı bakterilerin ve protozoa grubundaki DNA, RNA ve bazı aminoasitlerin sentezleri bozulmaktadır. Sülfonamidlerle beraber alındığında sinerjistik etki gösterir. Gastrointestinal sistemden kolayca emilim gösterir ve serumda yarılanma ömrü 1-5 gündür (Akısü Ç ve ark.,2005).

Kemik iliği üzerine inhibisyon olmakla beraber tedaviye sülfonamid eklendiğinde yan etkileri daha da artmaktadır. Haftada iki defa kan hücrelerinin sayımının yapılması Lökopeni, megaloblastik anemi, trombositopeni takip etmek için önerilmektedir. Bu yan etkiler folinik asit 5-10 mg/gün verilerek azaltılabilir. Özellikle TE olan AIDS hastalarında 50 mg/gün folinik asit verilmelidir çünkü bu yan etkiler bu hastalarda daha fazla görülür. Kusma, taşikardi, sık soluma, titreme ve siyanoz gibi yan etkilerde ilaç dozlarının azaltılması veya tedaviye bir süre ara verilmesi önerilmektedir (Özcel MA., 2007).

Hamilelerde 17. Haftadan sonra kullanımı toksik etkisinden dolayı sülfadiazin de dahil olmak üzere önerilmemektedir, ancak bebekte amniosentez ile fetal enfeksiyon onaylanırsa tercih edilebilir. (Montaya J.G, O.Liesenfeld 2004; Remington J.S vd. 2001)

4.8.1.2. Sülfadiazin

Sülfonamidler, folik asit prekürsörlerinden olan para-amino benzoik asit analogu olduğu için anti paraziter olarak etkilidir. Bu benzerlik yoluyla dihidropteroat sentez enzimini bloke etmekte ce folik asit yapımını azaltıp durdurmaktadır. (Özcel M. Ali ed 2007)

BOS'a en iyi emilen sülfonamid türevidir. Uzun süreli kullanımlarda akut böbrek yetmezliği ve böbrek taşı gibi böbrek şikayetlerine uzun süreli kullanımlarda yol açabilir. (Kayaalp SO.1998)

Lyell's sendromu ya da muko-kutanöz eritem gibi yan etkiler uzun süreli kullanımlarda ortaya çıkabilir (Cohn J, McMeeking A. Vd. 1989). Bu şekilde uzun süreli kullanımlardaki yan etkileri azaltabilmek için tedaviye düşük dozlarla başlayıp gün geçtikçe doz arttırılabilir. (Garrad LP, Lambert MR 1981; Leong GS, Stanford JF vd 2001; Soffritti s, Ricci G vd. 2003).

4.8.1.3. Klindamisin

Klindamisin, protein sentezinin durmasına neden olan linkozamid grubundan en aktif olandır ve spiramisine benzemektedir. Göz gibi organlarda dahil olmak üzere dağılımı iyidir, yağlı yapılarda çözünürlüğü yüksektir. Yüksek oranda plazma proteinlerine bağlanır. (Dutton GP. 1989) En sık görülen yan etkisi diareidir. Nadiren mukoza ülserleri, bulantı, şiddetli karın ağrısı, deride kızarıklık görülür. Hamilelikte kullanımı ile ilgili olumsuz bir bildirim yoktur fakat oluşabilecek yan etkilerden kaynaklı kullanımından kaçınılması önerilmektedir. (Garrad LP, Lambert MR vd. 1981; Horatio B, Fung RP vd 1996). Oküler toksoplazmosis dışında diğer olgularda sekonder ilaç olarak verilir.

4.8.1.4. Dapson

Toksoplasmik ensefalitli hastalarda primetaminle verilebilir. Yan etkileri, hematolojik bozukluklar, ateş, deride döküntü vb gibidir. Özellikle AIDS olgularında primer tedavi primetamin ile kombine halde olabilir. (Özcel M.Ali ed. 2007)

4.8.1.5. TMP-SMX

Trimethoprim, diaminopirimidindir ve primetamine benzemektedir. 5/1 oranında sulfamethoxzole ile kombine edilir. İlk tercih edilen bir ilaç değildir, ikinci veya üçüncü derece ilaç olarak verilir.

4.8.1.6. Spiramisin

İn vitroda protein sentezinin etkisinin (kendisi gibi makrolit grubundan antibiyotik olan) eritromisinden daha az olarak tanımlanmıştır. (Chang Hernan R. Pechtre Jean-Claude F 1988). Tercih edilmesinin sebebi dokularda kalış süresinin diğer antibiyotiklere göre daha fazla olmasıdır. Enfekte hamilelerde tercih edilir çünkü plasentada birikim gösterir. Doku kistlerinde serbestleşen parazitlerin çoğalmasını engelleyerek tedavi etmektedir. Yüksek doz kullanımlarında mide bulantısı, ağız kuruluğu vb gibi yan etkileri vardır.

4.8.1.7. Azitromisin

Makrolid türevi bir antibiyotiktir. Hücre içi konsantrasyonunda yüksek seviyelere ulaşmasının sebebi dokulara geçişin yüksek olmasından kaynaklıdır. İntraselülere özelliği yüksek konsantrasyonlarda anlamlıdır ve parazite karşı etkinliği iyidir (Winn WC, Allen SD 2006).

4.8.1.8. Centaurea urvillei

Çok yıllık, 5-30 cm boyunda otsu bir bitkidir. Gövdesi basit ve tabana yakın dallanması mevcuttur. Yaprakları hafif tüylü; lirat; uca yakın dilimle eşkenar dörtgen, üçgen veya dikdörtgen biçimli olabilir. Çiçek açma zamanı Haziran-Temmuzdur. Yetiştirme ortamı kayalık yamaçlar, çam ormanları ve 300-2000m yüksekliğindedir. Ortam sıcaklığı -15 °C üzerindeki bölgelerde yaşar. Türkçe ismi Alakötürüm veya Peygamber çiçeği olarak geçer. (Özcan A., 1990)

Cins adı Yunanca **sentor** (κένταυρος) kelimesinden gelmektedir ve adını Sentor Chiron'dan (Χείρων) almıştır. Antik çağ kaynaklarında üst tarafı insan alt tarafı at olan yaratıklara çok sayıda atıf vardır ve bunların en meşhuru Chiron'dur. Chiron, insanoğluna tıp tanrısı Aesculapius üzerinden şifalı bitkileri öğretmiş ayrıca Hercules'in zehirli oku ile alınan bir yarayı da peygamber çiçeği ile tedavi etmiştir. Homeros, ünlü Akalı savaşçı Achilleus'un de hocası olan Chiron'u eczacılığın babası olarak niteler ve onun şifalı bitkileri kullandığını kaydeder. Plinius ise eczacılık ve botanik bilimlerinin Chiron'a atfedildiğini yazmaktadır. Plutarkhos, Hellas'ın Magnezya şehrinde yaşayanların eczacılık konusunda hünerli olmalarını, onların

Chiron'un soyundan gelmeleri ile açıklar. Tür adı Latince "Jules Dumont d'Urville'a" anlamına gelir. (<https://kocaelibitkileri.com/centaurea-urvillei/>)

Centaurea (Asteraceae) bitki sınıfı Akdeniz iklim kuşağında ve Asya'da yayılım gösterir. Ülkemizdeki 170 türden biri olan *Centaurea urvillei* ssp. *stepposa*, ise Türkiye'ye endemiktir(- Davis, P.H., *Flora of Turkey*, University of Edinburgh, Edinburgh, **1970**, pp.550). Bu sınıfa ait bazı türler çeşitli hastalıkların tedavisinde halk ilacı olarak kullanılırken, bazılarının antimikrobiyal, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antifungal ve immunolojik aktivite gösterdikleri de bilimsel olarak bulunmuştur (- Flamini, G.; Pardini, M.; Morelli, I.; Ertuğrul, K.; Dural, H.; Bağci, Y.; Kargioglu, M.; *Phytochemistry*, 2002, 61, 433; Flamini, G.; Bulleri, C.; Morelli, I.; Manunta, A., *Journal of Natural Products*, **2000**, 63, 662.) .. Bu familya bitkilerine ait kimyasal çalışmalarda; seskiterpen laktonlar, kumarinler, indol alkaloidler, flavanoidler, antosiyaninler ve bunların glikozitleri elde edilmiştir (Fernandez, I.; Garcia, B.; Grancha, F. J.; Pedro, J. R., *Phytochemistry*, **1989**, 28, 2405.).

Ülkemizde yetiştiği şehirler aşağıdaki haritada verilmiştir.



(194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=5498)

Şekil 2. *Centaurea urvillei*'nin ülkemizde yetiştiği şehirlerin haritası

Tablo 2. *Centaurea urvillei* bitkisinin sınıflandırması

Kingdom	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classis	<i>Magnoliopsida</i>
Subclassis	<i>Asteridae</i>
Order	<i>Asterales</i>
Family	<i>Asteraceae</i>
Genus	<i>Centaurea</i>
Species	<i>Centaurea urvillei</i>



Resim 1. *Centaurea urvillei* bitkisi

4.9. KORUNMA

Özellikle hamilelik döneminde ookistlerle kontamine olmuş gıdalarla ilgili hijyen koşullarına çok dikkat edilmeli, çiğ ya da az pişmiş etler tüketilmemelidir. Çiğ etle temas eden bıçak vb. aletler temizlenmeli eller iyice yıkanmalıdır. Etler pişirililirken en az 66 derecede her yeri pişecek şekilde pişirilmelidir. Çiğ olarak tüketilen sebze ve meyveler, çiğ süt, yumurta tüketimine de dikkat edilmelidir. Hamileliğin ilk trimestrında IgM negatif IgG pozitif bulunan hastalarda tedavi önerilmeyip sadece takip yapılır.



5. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Gerekli sarf malzeme, besiyeri ve kimyasallar Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2020-097 numaralı araştırma projesi kapsamında sağlanan kaynak ile temin edilmiştir, çalışmanın gerçekleştirildiği laboratuvar ve cihazlar Tıbbi Parazitoloji Ana Bilim Dalı Başkanlığı'ndan alınan izinler doğrultusunda kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan canlı materyaller, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde bulunan Parazit Bankası tarafından sağlanmıştır.

5.1. MATERYALLER

5.1.1. CİHAZLAR

- Işık mikroskobu (Olympus[®], Almanya)
- Inverted mikroskop (Olympus[®], Almanya)
- Biyogüvenlik kabini (Thermo Fisher Scientific[®], ABD)
- Luminoskan ascent (Thermo Fisher Scientific[®], ABD)
- Santrifüj (Eppendorf[®], Almanya)
- Vorteks (Heidolph[®], Almanya)
- Sıcak su banyosu (NÜVE[®], Türkiye)
- Sıvı nitrojen tankı (Taylor Wharton[®], ABD)
- Otomatik pipet (HTL Lab Solutions[®], Polonya)
- Soğutmalı inkübatör (Panasonic[®], Japonya)
- CO₂'li inkübatör (Thermo Fisher Scientific[®], ABD)
- +4 / -20 °C'lik soğutucu (Vestel[®], Türkiye)
- -80 °C'lik soğutucu (B Medical Systems[®], Lüksemburg)
- Spektrofotometre cihazı (Biotek Instruments[®], ABD)
- Hassas terazi (Radwag[®], Polonya)

5.1.2. Sarf Malzemeler

- MTT Cell Viability Assay (Abbkine, ABD)
- 25 cm² Hücre Kültür Flaskı (Sarstedst, Almanya)
- Cell Scraper (Sarstedst, Almanya)
- Cam Pastör Pipeti (ISOLAB[®], Almanya)
- Filtreli Pipet Ucu (1–10 µl), 96, steril (M.Plastic, Çin)
- Filtreli Pipet Ucu (10–100 µl), 96, steril (M.Plastic, Çin)
- Filtreli Pipet Ucu (100–1000 µl), 96, steril (M.Plastic, Çin)
- Filtresiz Pipet ucu (10000 µl), 25 adet (Sarstedst, Almanya)
- Steril serolojik pipet 5 ml (Sarstedst, Almanya)
- Steril serolojik pipet 10 ml (Sarstedst, Almanya)
- Steril 24 kuyucuklu plate (Sarstedst, Almanya)
- Steril 96 kuyucuklu plate (Sarstedst, Almanya)
- Steril 6 kuyucuklu plate (Sarstedst, Almanya)
- 2 ml içten kapaklı cryo tüp, 50 adet\ Paket (M.Plastic, Çin)
- 15 ml Santrifüj Tüpü, 50 adet (Sarstedst, Almanya)
- 50 ml Santrifüj Tüpü, 50 adet (Sarstedst, Almanya)
- Penicillin Streptomycin Solution 100X/100 ml (Hyclone, ABD)
- Gentamicin solution 10 mg/ml 100 ml (Biosera,
- Fetal Bovine Serum 500 ml (Hyclone, ABD)
- RPMI 1640 Liquid, with (Biosera,
- DMSO cell culture grade 250 ml (Biofroxx, Almanya)
- Yuvarlak lamel (12 mm) (VWR, ABD)
- Lamel (ISOLAB[®], Almanya)
- Rodajlı lam (ISOLAB[®], Almanya)
- 10 ml enjektör (Set Medikal[®], Türkiye)
- Balon
- Huni
- Mikropipet (Corning, ABD)
- Eldiven (small) NİTRİL (Myglove, ABD)

- Eldiven (large) NİTRİL (Myglove, ABD)
- Vero hücre hattı [Vero/An10-African green monkey kidney/maymun, (HÜKÜK, TR)]
- *Toxoplasma gondii* (RH)

5.2. YÖNTEMLER

5.2.1. *Centaurea urvillei* Bitkisinin Toplanması

Çalışmamızda kullandığımız *C.urvillei* bitkisinin çiçekleri Eskişehir ili Bozan ilçesi 39° 46' 14.6928" enlemi ve 30° 57' 53.9028 boylamı koordinatlarına ait bölgeden toplanmıştır. Bitki Haziran ayında toplanmıştır.

5.2.2. *Centaurea urvillei* Bitki Ekstrelerinin Çıkarılması

Uygun şartlarda kurutulmuş bitki makinada öğütülerek toz hale getirilir. Toz edilmiş materyalden bir gram tartılarak falkon tüp içerisine konulur. Daha sonra tüp içerisine 25 ml metanol eklenir ve falkon tüp rotatorda bir saat süreyle çalkalama işlemine bırakılır. Ardından katı partikülleri uzaklaştırmak amacıyla tüp santrifüje edilir ve elde edilen sıvı kısım rotavaporda distillenir. Bu işlem 3 kez tekrarlanır ve 30 mg metanol, 20 mg n-hekzan ve 35 mg kloroform ekstreleri elde edilir.

5.2.3. Hücre Hatları

5.2.3.1. Hücre Hatlarının Temin Edilmesi

Bu çalışmada, M.C.B.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda bulunan Parazit Bankası'nda sıvı azot içerisinde muhafaza edilen L929 (American Type Culture Collection, ABD) ve Vero [Vero/An10-African green monkey kidney/maymun, (HÜKÜK, TR)] hücre serileri kullanılmıştır.

5.2.3.2. Hücrelerin Çözdürülmesi

Vero ve L929 hücre serilerinin çözdürülmesi sırasında; RPMI-1640 besiyeri oda sıcaklığında olup, hücre hattı sıvı azot içerisinde çıkarılıp, sıcaklığı 37°C 'ye getirilmiş olan su banyosunda çözdürülmüştür. Homojenizasyonunu sağlamak amacıyla çözdürülen hücre süspansiyonundan 1 ml alınıp, 9 ml RPMI-1640 besiyeri içerisine eklenip karıştırılmıştır. Ardından 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra süpernatant atılmış ve pellet üzerine 4 ml RPMI-1640 besiyerini ekleyip karıştırılmıştır. Bu süspansiyondan 1'er ml alınıp, 9 ml taze besiyeri içeren flaslara ekim yapılmıştır. %5 CO₂ içeren 37°C'lik etüvde ekimi yapılan hücre kültürü flaskları inkübasyona bırakılmıştır.

5.2.3.3. Hücrelerin pasajlanması

%5 CO₂ içeren 37°C 'lik etüve kaldırılan Vero ve L929 hücre serileri, düzenli olarak invert mikroskopta hücrelerin morfolojisi ve sayısı kontrol edilmiştir. Hücrelerin üremesinde göre gınaşırı besiyeri değiştirilmiş ve haftada bir pasajı yapılmıştır. RPMI-1640 besiyeri, hücre kültürü flakı içerisinde dökülerek PBS ile 2 defa yıkanmıştır. 10 ml RPMI-1640 besiyeri hücre kültürü flakına eklenip, tabanındaki hücre tabakasını hücre kazıyıcısıyla yüzeyden ayrılması sağlanmıştır. 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmek üzere 15 ml'lik flakona aktarılmıştır. Üzerindeki süpernatant dökülerek dipte kalan hücre pelleti üzerine 4 ml RPMI-1640 besiyeri eklenerek pastör pipeti yardımıyla karışması sağlanmıştır. 9 ml taze besiyeri içeren hücre kültür flakına 1 ml bu süspansiyondan eklenmiştir. Hücreler invert mikroskop ile kontrol edilmiştir. %5 CO₂ içeren 37°C'lik etüvde inkübasyona bırakmadan önce hücre kültür flaskları üzerine hücre serisinin adı, tarih ve pasaj sayısı yazılmıştır.

5.2.3.4. Hücrelerin dondurulması

RPMI-1640 besiyeri, hücre kültürü flakına dökülmüştür ve 2 defa PBS ile yıkanmıştır. 10 ml taze RPMI-1640 besiyeri hücre kültürü flakına eklenerek, hücre tabakası hücre kazıyıcısı yardımıyla yüzeyden ayrılması sağlanmıştır. 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmek üzere 15 ml flakona aktarılmıştır. Santrifüjden sonra

süpernatant dökülüp 4 ml taze RPMI-1640 besiyeri eklenip son konsantrasyonun %15 i ve DMSO eklenmesiyle karıştırılıp homojenize edilmiştir. 1'er ml kriyo tüplere aktarılıp, tüplerin üzerine hücre serisini, adı, tarih, pasaj sayısı ve canlılık oranı yazılarak özel dondurma kapları içerisine -80 °C soğutucuya aktarılmıştır. 1 gece bekletip sıvı azot tankında (-196 °C) muhafaza edilmek üzere kaldırılmıştır.

5.2.3.5. Tripan mavisi ile hücrelerin canlılık kontrolü ve hücre sayımı

Tripan mavisi, ölü hücreleri boyayıp, canlı hücreleri boyamamaktadır. Bu yüzde canlı hücre sayısı belirlemede kullanılır. Hücreler 3 kat seyreltme yapılarak uygulanmıştır. RPMI-1640 besiyeri hücre kültürü flaskına dökülerek yıkanmıştır. 10 ml RPMI-1640 besiyeri hücre kültürü flaskına dökülerek hücre tabakası yüzeyden hücre kazıyıcı yardımıyla ayrılmıştır. 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmek üzere 15 ml'lik flakona aktarılmıştır. Süpernatant dökülerek dipteki hücre pelletinden ml'deki hücre sayımı yapılmıştır. Süspansiyondan 20 µL alınarak 1.5 ml ile steril eppendorf tüpü içine konulmuştur. Üzerine 40 µL tripan mavisi solüsyonu eklenerek iyice karışması sağlanmıştır. Thoma lamının her iki bölümüne de lam ile lamel arasına olacak şekilde 10'ar µL hücre süspansiyonundan eklenmiştir. Tripan mavisiyle maviye boyanmış ve boyanmamış olan hücreler ışık mikroskopundan sayılarak canlılık yüzdesi hesaplanmıştır. Hücrelerin Thoma lamındaki aşağıdaki formülle yapılmıştır;

Tablo 3. Hücre sayısını Thoma lamında belirleme formülü

Hücre sayısı = Ortalama hücre sayısı x Sulandırma katsayısı x Thoma lamı sabiti	
Hücre sayısı	1 mL'deki hücre (Vero ve L929) sayısı
Ortalama hücre sayısı	Thoma lamının alt ve üst kısmında bulunan 16 karedeki hücrelerin aritmetik ortalaması
Sulandırma katsayısı	Sayım için yapılan sulandırma katsayısı
Thoma lamı sabiti	10.000

5.2.4. Parazit suşu

5.2.4.1. *Toxoplasma gondii* izolatının temin edilmesi

Bu çalışmada, M.C.B.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda bulunan Parazit Bankası'nda sıvı azot tankında saklanan *T. gondii* (RH) izolatları kullanılmıştır.

5.2.4.2. *Toxoplasma gondii* izolatının çözündürülmesi

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalında bulunan parazit bankasındaki sıvı azot tankının içinde saklanan *Toxoplasma gondii* takizoitlerini içeren parazit izolatlarını çözdürmek için RPMI-1640 besiyeri oda sıcaklığında hazır bulundurulmuştur. *T.gondii* izolatı -196 °C'lik sıvı azot tankından çıkarılarak, sıcaklığı 37°C'ye ayarlı olan su banyosuna konup, hızlıca çözündürülmüştür. Parazitlerin canlılığı tripan mavisi ile kontrol edilmiştir. 9 ml taze besiyeri RPMI-1640'ın üzerine çözdürülen parazitin izolatından 1 ml konularak homojenizasyonu sağlanana kadar karıştırılmıştır. Karıştırma işi bittikten sonra 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Sonrasında direkt ex vivo kültür çalışmalarında kullanılmıştır.

5.2.4.3. *Toxoplasma gondii*'nin dondurulması

Santrifüj edilmek üzere (5 dk 1500 rpm'de) parazit süspansiyonu 15 ml'lik flakona aktarılmıştır. Sonrasında RPMI-1640 besiyeri ile 2 defa yıkanmıştır. 4 ml taze besiyeri süpernatant döküldükten sonra eklenmiştir. Son konsantrasyonun %15 oranında DMSO eklenmesiyle iyice karıştırılmıştır. Homojenize hale gelince 1'er ml'lik kriyo tüplere konulmuştur. Bu tüplerin üzerine tarih, parazit suşunun adı ve canlılık oranı yazılarak -80 °C soğutucuya kaldırılmıştır.

5.2.4.4. Tripan mavisi ile parazit süşunun canlılık kontrolü ve sayımı

Tripan mavisi vital bir boyadır, canlı parazitleri boyamaz, ölü parazitleri boyar. Bu sayede canlı parazit sayısının belirlenmesinde kullanılır. Parazitlere 3 kat seyreltme yapılarak uygulanmıştır. RPMI-1640 besiyeri hücre kültürü flaskına dökülerek yıkanmıştır. 10 ml RPMI-1640 besiyeri hücre kültürü flaskına dökülerek hücre tabakası yüzeyden hücre kazıyıcı yardımıyla ayrılmıştır. 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmek üzere 15 ml'lik flakona aktarılmıştır. Süpernatant dökülerek dipteki hücre pelletinden ml'deki hücre sayımı yapılmıştır. Süspansiyondan 20 µL alınarak 1.5 ml ile steril eppendorf tüpü içine konulmuştur. Üzerine 40 µL tripan mavisi solüsyonu eklenerek iyice karışması sağlanmıştır. Thoma lamının her iki bölümüne de lam ile lamel arasına olacak şekilde 10'ar µL hücre süspansiyonundan eklenmiştir. Tripan mavisıyla maviye boyanmış ve boyanmamış olan hücreler ışık mikroskopundan sayılarak canlılık yüzdesi hesaplanmıştır. Hücrelerin Thoma lamındaki aşağıdaki formülle yapılmıştır;

Parazit sayısı = Ortalama parazit sayısı x Sulandırma katsayısı x Thoma lamı sabiti

Parazit sayısı : 1 mL'deki parazit (takizoit) sayısı

Ortalama parazit sayısı : Thoma lamının alt ve üst kısmında bulunan 16 karedeki parazitlerin aritmetik ortalaması

Sulandırma katsayısı : Sayım için yapılan sulandırma katsayısı

Thoma lamı sabiti : 10.000

5.2.5. *Toxoplasma gondii*'nin *ex vivo* kültivasyonu

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında 25 cm²'lik hücre kültürü flaskları içine %5 CO₂ içeren 37°C'lik etüve kaldırılmak üzere 9 ml RPMI-1640 besiyerine 1 ml Vero hücresi ekilmiştir. Tüm flask yüzeyini tek tabaka bir şekilde hücrelerin kaplanmasıyla 1:10 (hücre:parazit) oranında *T.gondii* takizoitlerinin ekimi gerçekleştirilmiş ve 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Her gün taze RPMI-1640 besiyeri ile değiştirilmiştir. 72 saat sonunda enfekte olan hücreler

hücre kazıyıcı ile flask tabanından kazınmıştır. 5 dk 1500 rpm'de santrifüjlenmiştir. Santrifüjden sonra süpernatant atılıp dipte kalan takizoitler taze RPMI-1640 besiyerine ekilmiştir. Bu besiyeri içinde hücreler tek tabaka halinde tüm flask yüzeyini kaplayınca Vero hücresine ekimi gerçekleştirilerek birinci pasajını bitirip ikinci pasaja geçilmiştir. İkinci pasaj ve üçüncü pasajda da aynı işlemler tekrarlanmıştır.

5.2.6. *Centaurea urvillei* bitki ekstralarının L929 hücreleri üzerine in-vitro sitotoksik aktivitesinin değerlendirilmesi

Öncelikle MTT stok solüsyonu hazırlanmak üzere 10 ml distile suyun içine 50 mg MTT tozu sulandırılmıştır. Steril etmek için 0,45 µm por çaplı steril şırınga filtre kullanılmıştır. 10 ml MTT solüsyonu vortekslenip toplam 10 ependorfa 1'er ml şeklinde dağıtılmıştır. MTT çalışma solüsyonu hazırlanırken 1 ependorf(1 ml) MTT stok solüsyonu üzerine 9 ml PBS ile sulandırılıp vortekslenmiştir.

Centaurea urvillei ve kontrol ilacı olan PYR ilacının memeli hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmek için RPMI-1640 besiyeri içerisinde hazırlanan L929 fibroblast hücre süspansiyonundan (1×10^4 hücre/mL) 96 kuyucuklu pleytlerin her bir kuyucuğuna 100 µL eklenmiştir ve %5 CO₂ içeren 37°C' lik etüvde 24 saat inkübe edilmiştir. Ardından zemine tutunamayan hücreler RPMI-1640 ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır ve kalan hücreler 100'er µL bitki ekstresi ve kontrol ilacı olan PYR nin farklı (500 µM – 2 µM) konsantrasyonlarını içeren RPMI-1640 besiyeri ve ilaç içermeyen RPMI-1640 besiyeri içerisinde 48 saat daha inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında hücreler, MTT (Biomatik®, ABD) kolorimetrik testine tabi tutulmuştur. Bu yöntemle, 48 saat inkübasyondan sonra 96 kuyucuklu pleyt etüvden çıkartılmıştır. L929 hücrelerin bulunduğu düz tabanlı 96 kuyucuklu pleyt içerisindeki süpernatant boşaltılmıştır. Üst kısım boşaltıldıktan sonra her bir kuyucuğa 100'er µl steril PBS eklenerek 1 dakika çalkalayıcı etüvde inkübe edilerek yıkama işlemi yapılmıştır. Ardından laminar flow kabin içerisinde PBS uzaklaştırılmıştır. PBS uzaklaştırıldıktan sonra önceden hazırladığımız MTT çalışma solüsyonu (1 ml MTT+ 9 ml RPMI-1640 besiyeri) düz tabanlı 96'lık hücre kültür pleytinin tüm kuyucuklarına 100'er µl dağıtılmıştır. 4 saat, 37°C, CO₂'li etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra etüvden çıkarılan plak 45°lik açı ile bir eğim oluşturularak laminar flow kabine yerleştirilmiştir ve içerisindeki MTT

solüsyonu dikkatli bir şekilde otomatik çoklu pipet yardımıyla boşaltılmıştır. Her bir kuyucuğa 100'er µl steril DMSO otomatik çoklu pipet yardımıyla dağıtılmıştır ve alüminyum folyoya sarılmıştır. DMSO eklenen plak 15 dakika süreyle 150 rpm'de ve 37°C'de çalkalayıcı etüvde folyoya sarılarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda zaman kaybetmeden pleyt 570 nm dalga boyunda ELISA reader cihazında okuma yapılarak OD değerleri elde edilmiştir. Daha sonra elde edilen OD değerlerinden *C.urvillei* ve kontrol ilacı PYR ilaçlarının seçicilik indekslerinin (SI=CC₅₀/IC₅₀) hesaplanmasında kullanılan CC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Bu işlem farklı zamanlarda 3 kez tekrarlanmıştır.

5.2.6.1. *Centaurea urvillei* bitki ekstralarının *T.gondii* üzerine *ex-vivo* aktivitesinin değerlendirilmesi

Vero hücre süspansiyonundan 5x10³ hücre/kuyucuk yoğunluğunda olacak şekilde ve her bir kuyucuğuna 20x20 mm ebatlarında steril lamel yerleştirilen 6 kuyucuklu pleytlerin her bir kuyucuğuna 300 µl eklenerek hücrelerin kuyucuk tabanına yapışmasını sağlamak için %5 CO₂ içeren 37°C'lik etüvde 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonrasında etüvden çıkarılarak 6 kuyucuklu pleytlerin içerisindeki RPMI-1640 boşaltılmış ve her bir odacık 1 ml PBS eklenerek yıkanmıştır. 6 kuyucuklu pleytlerin her bir kuyucuğuna RPMI-1640 besiyeri içerisindeki 1:10(hücre:takizoit) oranında 1 ml takizoit süspansiyonu eklenmiştir ve enfeksiyonun gerçekleşebilmesi için %5 CO₂ içeren 37°C'lik etüvde 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonrasında 1 ml PBS ile yıkama gerçekleşmiştir. Yıkama sonrasında her bir kuyucuğa 400µl taze RPMI-1640 eklenmiştir. Konsantrasyon aralığı CU (400 µg- 25 µg) ve PYR (40µg-5µg) (kontrol ilacı) ekstrat ve ilaç için ayrılmış olan 6 kuyucuklu pleytte seri dilüsyon hazırlanmıştır. İlk kuyucuktaki ilaç ve ekstrat RPMI-1640 besiyeri ile homojen bir şekilde karıştırılmış, seri sulandırmalar hazırlanmıştır. İlaç ve ekstratın eklenmesinin ardından %5 CO₂ içeren 37°C'lik etüvde 48 saat inkübe edilmiştir. Ardından 6 kuyucuklu pleytler PBS ile yıkanmıştır, giemsa ile boyanmıştır ve ışık mikroskopunda her kuyucuk içerisindeki 100 vero hücresi için takizoit sayısı belirlenmiştir. Takizoit sayısı ve ilaçsız kontrol kuyucuğundaki 100 vero hücresindeki takizoit sayısı belirlendikten sonra her konsantrasyon için % anti-takizoit(inhibüsyon) aktivitesi hesaplanmıştır. Formül aşağıdaki gibidir.

Tablo 4. Anti-takizoit aktivitesinin yüzdesini belirleme formülü

$$\% \text{İNHİBİSYON} = [1 - (\text{takizoit sayısı} / 100 \text{ hücre})_{\text{ilaç uygulanan}} / (\text{takizoit sayısı} / 100 \text{ hücre})_{\text{kontrol}}] \times 100$$

Elde edilen verilere göre, *Centaurea urvillei*'nin metanol, kloroform ve n-hekzan konsantrasyonlarında IC50_{takizoit} değeri belirlenmiştir. Toxoplasmosis tedavisinde kullanılan PYR (kontrol ilacı) ile bitki ekstrat konsantrasyonları ışık mikroskopuyla takizot incelemesi sonucunda karşılaştırılmıştır.

5.2.6.2. *Centaurea urvillei* bitki ekstralarının Seçicilik indekslerinin belirlenmesi

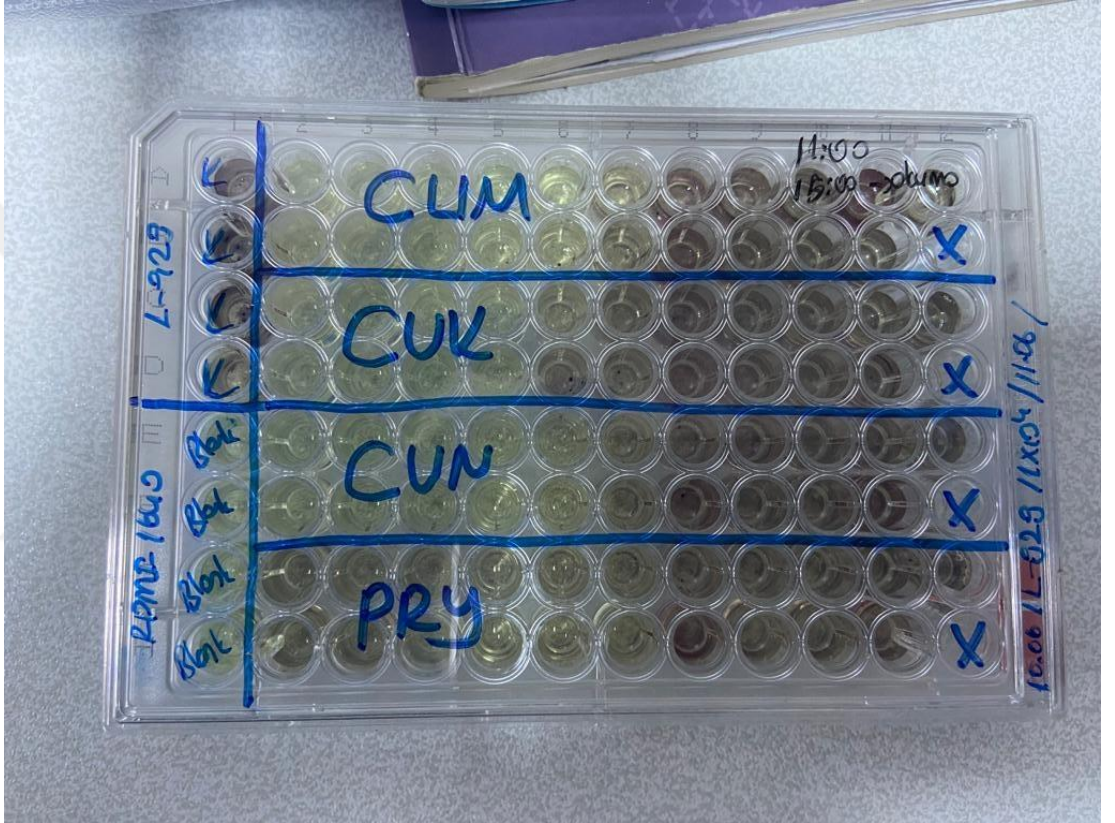
Bir ilaç ya da bileşiğin parazit üreme inhibisyonu üzerindeki etkinliğini belirlemek için kullanılan parametreye seçicilik indeksi (SI) denir. Sitotoksik aktivite değerinin (CC50), anti paraziter aktivite değerine (IC50) oranı seçicilik indeksini verir. *Centaurea urvillei*'nin *T.gondii* üzerindeki etkinliğini değerlendirmek için SI değerleri belirlenmiştir.

5.3. İstatiksel analiz

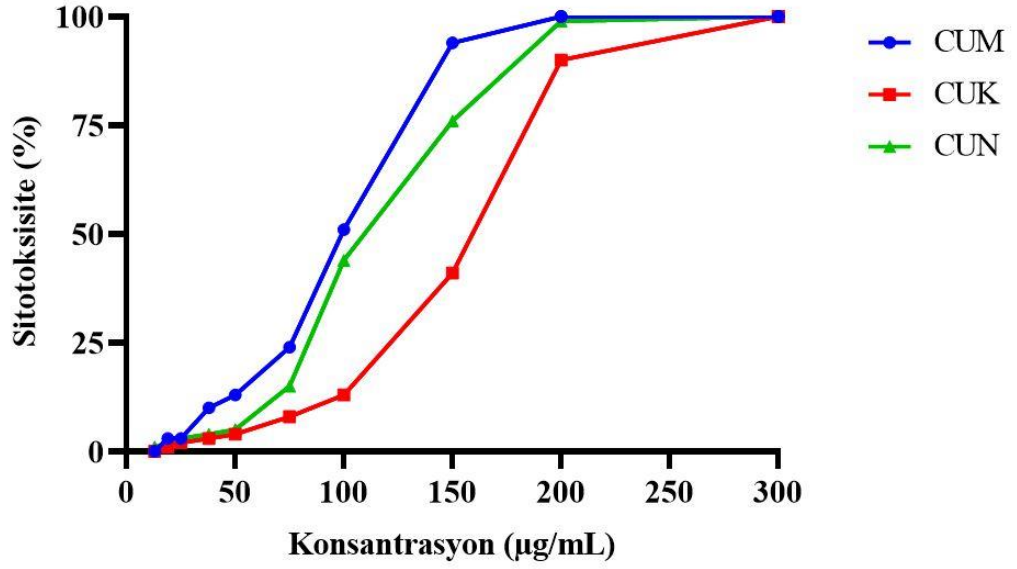
Centaurea urvillei bitki ekstralarının *T.gondii* üzerindeki anti paraziter ilaç etkinliği Sidak's multiple comparisons testi uygulanarak elde edilen verilerin istatiksel analizi GraphPad Prism 8 yazılımı (GraphPad Software Inc., San Diego, CA) kullanılarak istatiksel olarak değerlendirilmiştir.

6. BULGULAR

Centaurea urvillei bitki ekstralarının (CUN, CUM ve CUK) CC₅₀ değerleri L929 hücre hattında MTT yöntemi kullanılarak sırasıyla; 110,4 µg/ml, 99,6 µg/ml ve 157,7 µg/ml olarak değerlendirilmiştir. Bitki ekstralarının sitotoksik aktivitesinin bulunmadığı belirlenmiştir. Kontrol ilacı olan PYR'in CC₅₀ değeri ise 189,8 µg/ml olarak saptanmıştır.

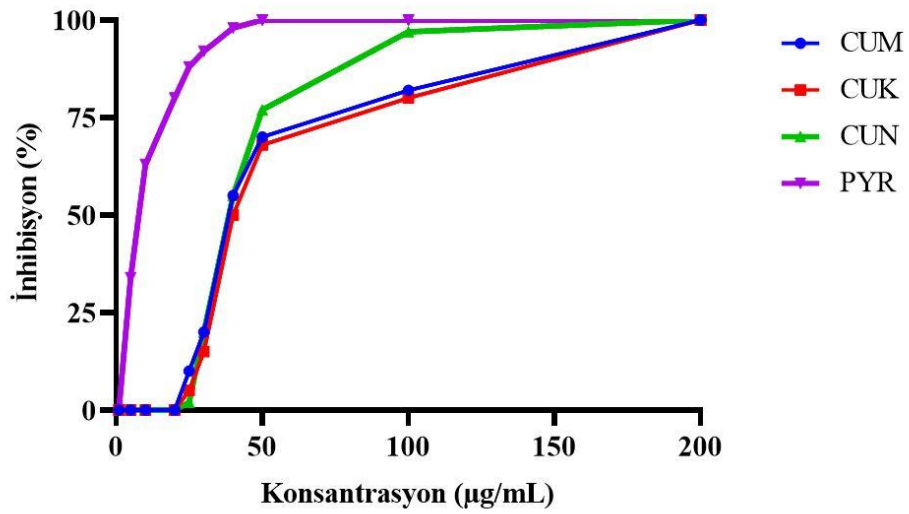


Resim 2. MTT sonrasında 96 kuyucuklu pleytin görüntüsü



Şekil 3. *Centaurea urvillei* bitkisinin sitotoksik aktivitesi

Yirmi dört kuyucuklu pleytlerde 48 saatlik inkübasyon sonrasında hazırlanan Giemsa boyalı preparatların 1000x büyütmede ışık mikroskobu ile incelenmesiyle *C. urvillei* bitki ekstralarının (n-hekzan çözeltili, metanol çözeltili ve kloroform çözeltili) *T. gondii*'ye karşı *ex vivo* anti paraziter aktivitesi değerlendirildiğinde $IC_{50}^{(takizoit)}$ değerleri sırasıyla 28,9 µg/ml, 17,5 µg/ml ve 9,8 µg/ml olarak belirlenmiştir. *Centaurea urvillei* bitki ekstralarının *ex vivo* anti paraziter aktivitesinin araştırılmasında kontrol ilacı olarak kullanılan PYR'in $IC_{50}^{(takizoit)}$ değeri 6,1 µg/ml olarak değerlendirilmiştir.

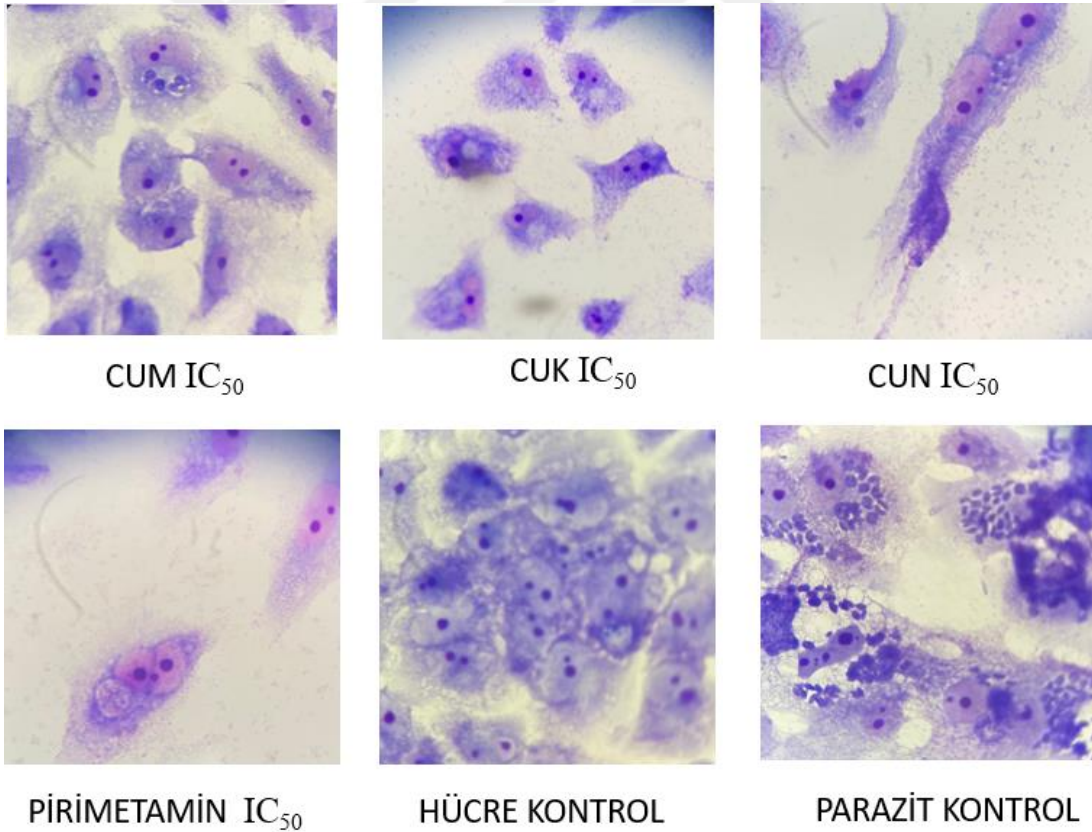


Şekil 4. *Centaurea urvillei* bitkisinin inhibisyon yüzdesi

Centaurea urvillei bitki ekstralarının (CUN, CUM ve CUK) *ex vivo* aktivite değerleri, ilaçsız kontrol grubu değeri ile karşılaştırıldığında antitokoplasmaa aktivite sergilediği ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$, *Sidak*). SI değerleri ise sırasıyla; 3,8, 5,7 ve 16,1 olarak belirlenmiştir. Kontrol ilacı olan PYR'in SI değeri ise 31,1 ile karşılaştırılarak sonuç değerlendirilmiştir.

Tablo 5. *Centaurea urvillei* bitki ekstralarının *Toxoplasma gondii* üzerine *ex vivo* aktivitesi

İlaçlar	IC ₅₀ (μg/ml)	CC ₅₀ (μg/ml)	SI
CUN	28,9	110,4	3,8
CUM	17,5	99,6	5,7
CUK	9,8	157,7	16,1
PYR (Kontrol ilacı)	6,1	189,8	31,1



Resim 3. *Centaurea urvillei* bitkisinin, pirimetaminin, ilaçsız hücrenin ve parazit kontrolün IC₅₀ değerlerinin vero hücreindeki görünümü

7. TARTIŞMA

Toksoplazmosis, *Toxoplasma gondii*' nin neden olduğu parazitik bir hastalıktır. Zorunlu hücre içi apikompleks protozoan olan *Toxoplasma gondii*, tüm memeli hücrelerini ve dünyadaki insan nüfusunun yaklaşık üçte birini enfekte edebilmektedir (Dubey J, Lindsay D. 2004.) Dünyanın çeşitli yerlerinde, belirli popülasyonların %60'ından fazlasının *Toksoplazma* ile enfekte olduğu bulunmuştur. Ookistler bu tür ortamlarda daha iyi hayatta kaldıklarından, enfeksiyon genellikle dünyanın sıcak, nemli iklimi ve alçak rakımlı bölgelerinde en yüksektir. Serokonversiyon oranları Avrupa'da büyük farklılıklar göstermekte olup, Norveç ve Birleşik Krallık'ta %7'den %10'a, Fransa ve Almanya'da sırasıyla %44 ve %50'ye kadar değişmektedir (Wilking et al., 2016) Türkiye'de de çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Marmara bölgesinde yapılan bir çalışmada 10.295 hastanın %28,8'inde *T. gondii* IgG antikorları ve %1,9'unda IgM antikorları bulunmuştur (Alver ve ark., 2014). Karadeniz bölgesinde yapılan bir çalışmada ise Bolu ilinde 4.048 hastanın %21,3'ünde *T. gondii* IgG antikorları ve 13.605 hastanın %1,2'sinde IgM antikorları bildirilmiştir (Aydın Türkoğlu ve ark., 2018). Türkiye'nin Orta bölgesinden 7051 hastane hastasının %29,5'inde IgG antikorları ve %2,4'ünde IgM antikorları bulunmuştur (Macin ve ark., 2018).

Acosta-Davila ve ark. tarafından 2020 yılında yapılan ve *Toxoplasma gondii*'de konakçı parazit etkileşimini incelemek için bir *ex vivo* model olarak insan periferik kan mononükleer hücrelerini inceleyen çalışma, antibiyotikler ve kriyoprezervasyon işlemi uygulanmış hücreler, kültür takviyeleri kullanılmadan insana ait olan periferik kan mononükleer hücreleri ile *ex vivo* model (EXMOWS) oluşturulmuştur. Üç deney kurulmuştur. İnsana ait periferik kan mononükleer hücrelerinin kültür plağında canlılığını ve yapışmasını değerlendirmek için 5 kişiden 20 ml insan kanı alındı: 3'ü kronik asemptomatik toksoplazmosisli (Toxo IgG+) ve 2'si IgG ve IgM anti-*Toksoplazma* antikorları (Toxo IgG-) için seronegatif. İkinci deney grubunda ise *T. gondii* için iki seronegatif ve üç seropozitif insandan alınan kan örnekleri insan periferik kan mononükleer hücrelerini belirlemek için kullanılmıştır. Parazitler ile enfeksiyon oranları, 1:1, 1:3 ve 1:5 olmuştur. Farklı zamanlarda (1 saat, 6 saat ve 24 saat) kontrolü sağlanmıştır. Üçüncü bir deney grubu olarak, EXMOWS için enfeksiyonun immünomodülatör olabilesi, *T. gondii* ile HFF hücrelerinin enfekte edildiği ve anti-*Toxoplasma* IgG (-) ve IgG (+) olan insanlardan periferik kan

mononükleer hücreleri ile kùltivasyonu değerlendirilmiştir. *T. gondii* 'nin İnsan periferik kan mononükleer hücrelerinin enfekte edebilmesi için bir saat yeterlidir fakat, herhangi bir enfeksiyon gerçekteşirmeden önce yüzeye tutunduğundan emin olmak için minimum inkübasyon süresinin 2 saat olarak belirlenmiştir. *T. gondii* RH-GFP ile 1:3 enfeksiyon oranının sağlanmasıyla enfeksiyon gerçekteştirilebileceği belirlenmiştir. (Acosta-Dávila ve ark., 2020). Bizim çalışmamızda ise Vero hücre serileri kullanılarak ex vivo kùltivasyonu yapılan *T. gondii* suşlarının ardışık pasajlar uygulandığında virulans özelliklerini kaybetmediği ve enfeksiyon oranlarının arttığı gözlemlenmiştir.

Sivrikaya ve ark. Tarafından 2011 yılında yapılan ve Vero hücre kùltüründe *Toxoplasma gondii* üretiminin amaçlandığı bir çalışmada farenin periton sıvısından alınan takizoitler DMEM besiyerinde Vero hücresine aktarılmıştır. Takizoit büyüme süresi ve konak hücre canlılığı, takizoit grubu ve parazitsiz Vero hücre kontrol grubu karşılaştırılarak belirlendi. Üretilen takizoitler daha fazla araştırma için serileştirildi (Sivrikaya ve ark,2011).

Çalışmamızda ise 25 cm²'lik hücre kùltürü flaskları içine %5 CO₂ içeren 37°C'lik etüve kaldırılmak üzere 9 ml RPMI-1640 besiyerine 1 ml Vero hücresi ekilmiştir. Tüm flask yüzeyini tek tabaka bir şekilde hücrelerin kaplanmasıyla 1:10 (hücre:parazit) oranında *T.gondii* takizoitlerinin ekimi gerçekteştirilmiş ve 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Her gün taze RPMI-1640 besiyeri ile değiştirilmiştir. 72 saat sonunda enfekte olan hücreler hücre kazıyıcı ile flask tabanından kazınmıştır

Petersen ve ark. ise Konjenital toksoplazmosisun doğum sonrası tedavisinde sülfadiazin ve pirimetamini araştırmış ve başka seçenek ne olabilir diye bir çalışma yürütmüş ve Toksoplazmosis tedavisinde ilk tercih olarak pirimetamin ve sülfadiazinin birlikte kullanılması önerildiğini ancak enfeksiyonu geçirmekte olan gebe kadınlarda bebeğe geçişi engellemek için kullanıldıklarında veya bağışıklığı baskılanmışlarda kullanımlarını sınırlandıracak düzeyde ciddi yan etkiler gelişebildiğini görmüşlerdir ve *T. gondii*'ye yönelik yeni ilaçların geliştirilmesi ayrı bir önem taşımakta olduğunu söylemişlerdir. (Norrby R, Eilard T, Svedhem A, Lycke E.,1975; Petersen E, Schmidt DR, 2003; Davis, P.H, 1970)

Norrby R. Ve ark. İse Trimetoprim Sülfametoksazol ile Toksoplazmosis Tedavisi çalışmasında sülfonamidlerle kombinasyon halinde pirimetamin, genellikle ciddi yan etkilerle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Biz de çalışmamızda ilerde başka bir ilaç opsiyonu oluşturmak adına *Centaurea urvillei* bitkisinin ekstraktını *Toxoplasma gondii* üzerinde ex-vivo olarak inceledik.

Ereçevit Sönmez ve ark., Türkiye’de Yetişen *Centaurea urvillei* DC. subsp. *urvillei*’ nin Antibakteriyel ve Antifungal Özelliği adlı çalışmasında, *C. urvillei* DC. subsp. *urvillei*’ nin toprak üstü olan yaprak, çiçek gibi kısımlarını metanoldeki çözeltilisini insanlarda bulaşıcı hastalığa sebep olan bakteri, maya, dermatofitler üzerinde oyuk agar ve mikrodilisyon yöntemi ile bu mikroorganizmaların gelişimini araştırmış ve *C. urvillei* DC. subsp. *urvillei*’nin 40 mg’lık dozu hastalık yapan tüm test mikroorganizmalarının çoğalmasını engelleyecek antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahip olduğunu görmüştür(Ereçevit Sönmez P. Ve ark, 2021).

Doğan Şığva ve arkadaşları 2017 yılında *Centaurea lydia* (Peygamber Çiçeği) ve *Phlomis nissolii* (Çalba) endemik bitkilerinin *Toxoplasma gondii* üzerine etkisi adlı çalışmasında *C. Lydia* ekstresi metanol, kloroform ve n-hekzan çözeltilerinde 55 µg/mL konsantrasyonu *T. gondii* takizoitlerine karşı belirgin bir aktivite göstermiştir. Takizoit sayısında ekstre verilmeyen grupta 47,5 katlık bir artış olurken, *C. lydia* ekstresi verilen grupta ise 84 katlık bir azalma belirlenmiştir (Doğan Şığva, Z. Ve ark, 2017).

Çalışmamızda *Centaurea urvillei* bitkisinin metanol, kloroform ve n-hekzandaki çözeltilerinin *Toxoplasma gondii* üzerindeki etkisine baktığımızda 100 µg’lık dozun *T.gondii* üremesinin engellendiği ve kontrol grubuna bakıldığında bu dozda öldürücülüğün de olduğu gözlemlenmiştir.

Anti paraziter aktiviteye sahip yeni bileşiklerin tanımlanması için ana kriterlerden biri, memeli hücrelerine karşı düşük toksisiteleri ve düşük dozlarda antiparazitik aktivite sergileme yetenekleridir. (da Silva ve ark., 2017) Çalışmamızda, *Centaurea urvillei* bitki ekstraktlarının L929 hücreleri üzerine in-vitro sitotoksik aktivitesinin değerlendirilmesini incelerken MTT yöntemi kullanılarak L929 hücrelerinde CUM CC50 değeri 99,6 µg/ml, CUN CC50 Değeri 110,4 µg/ml, CUK CC50 değeri 157,7 µg/ml ve kontrol ilacı olan pirimetaminin CC50 değeri 189,8 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre *Centaurea urvillei* bitkisinin sitotoksik aktivite göstermediği belirlenmiştir.

Ereçevit Sönmez ve ark., Türkiye’de Yetişen *Centaurea urvillei* DC. subsp. *urvillei*’ nin Antibakteriyel ve Antifungal Özelliği adlı çalışmasında, *C. urvillei* DC. subsp. *Urvillei* bitkisini analize hazırlarken örneğin 10 gram uygun kısımlarından alıp blender ile homojenize etmişler ve steril cam erlenlere bırakılıp 50 ml metanol

eklemişler sonrasında evaporatörde uzaklaştırarak ekstraktlar hazırlanmıştır. (Gupta ve ark., 2008)

Çalışmamızda ise uygun şartlarda kurutulmuş *Centaurea urvillei* makinada öğütülerek toz hale getirilir. Toz edilmiş materyalden bir gram tartılarak falkon tüp içerisine konulur. Daha sonra tüp içerisine 25 ml metanol eklenir ve falkon tüp rotatorda bir saat çalkalama işlemine bırakılır. Ardından katı partikülleri uzaklaştırmak amacıyla tüp santrifüje edilir ve elde edilen sıvı kısım rotavaporda distillenir. Bu işlem 3 kez tekrarlanır ve metanol ekstresi elde edilir.

Bir bileşik ya da ilacın anti paraziter etkinliğinin olup olmadığını anlamak için Seçicilik indeksi (SI) önemli bir değerdir. Parazit üremesini inhibe eden bileşiklerin *in vitro* ve *ex vivo* etkinlik çalışmalarında da seçicilik indeksi kullanılmaktadır ve kapsamlı olarak kabul edilen bir parametredir. Bu aşamada, SI değerini hesaplamak için sitotoksik aktivitenin göstergesi olan CC₅₀ değerinin anti paraziter aktivitesinin hesaplanan IC₅₀ değerine oranı olarak ifade edilmektedir (Badirzadeh ve ark., 2020)

Çalışmamızda *Centaurea urvillei* bitkisinin sırasıyla n-hekzan, metanol ve kloroform da çözdürülmüş ekstratlarının ve kontrol ilacı olan pirimetaminin IC₅₀ değerleri 28,9 µg/ml, 17,5 µg/ml, 9,8 µg/ml ve 6,1 µg/ml. CC₅₀ değerleri ise 110,4 µg/ml, 99,6 µg/ml, 157,7 µg/ml ve 189,8 µg/ml bulunmuştur. Sitotoksik aktivitenin göstergesi olan CC₅₀ değerinin anti paraziter aktivitesinin hesaplanan IC₅₀ değerine oranı ile belirlenen seçicilik indeksi (SI) ise sırasıyla 3,8, 5,7, 16,1 ve 31,1 bulunmuştur. *Centaurea urvillei* bitkisinin SI değerleri 1'den büyük olduğu için *T. gondii* takizoitleri üzerine anti paraziter aktivite göstermesi ile projenin amacı olan aktif olarak kullanılan ilaçlara ek olarak farklı kullanım alanlarında başka bir ilacın belirlenmesinde önemli bir gelişme olarak yorumlanmıştır.

8. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda kullandığımız *C urvillei* bitki ekstraları (CUN, CUM ve CUK) sitotoksik aktivite göstermemiştir. *Centaurea urvillei* bitki ekstralarının *T.gondii* takizoitleri üzerine *ex-vivo* anti paraziter aktivitesi değerlendirildiğinde IC₅₀ değerleri sırasıyla 28,9 µg/ml, 17,5 µg/ml ve 9,8 µg/ml olarak belirlenmiştir. Anti paraziter etkinliğe sahip olan ekstralar içerisinde CUK ekstresinin en yüksek inhibisyon derecesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. *Centaurea urvillei* bitki ekstralarının SI değerleri incelendiğinde tüm ekstraların SI değerlerinin 3 den büyük olması nedeniyle bu ekstraların *T.gondii* takizoitleri üzerine anti paraziter aktivite gösterdiği öngörülmektedir. Çalışmamızın sonucunda *C.urvillei* bitkisinin çiçek ekstralarının (CUN,CUM ve CUK) IC₅₀,CC₅₀ ve SI verilerine göre sitotoksik aktivitesinin bulunmaması ve *T.gondii* takizoitleri üzerine anti paraziter etkisinin görülmesi anti paraziter etken maddelerin saptanması konusunda oldukça önemli ve umut vadeden bir gelişme olduğu düşünülmektedir.

9. KAYNAKLAR

Acosta-Dávila A, Acosta-Espinel A, Hernández-de-Los-Ríos A, Gómez-Marín JE. Human peripheral blood mononuclear cells as an ex vivo model to study the host parasite interaction in *Toxoplasma gondii*. *Exp Parasitol*. 2020 Dec;219:108020. doi: 10.1016/j.exppara.2020.108020. Epub 2020 Oct 12. PMID: 33058858.

Acquired immunodeficiency syndrome and ophthalmology: the first decade. *Am J Ophthalmol*. 1992 Jul 15;114(1):86-95. doi: 10.1016/s0002-9394(14)77417-3. PMID: 1320330.

Akısü Ç, Korkmaz M (eds). *Tıbbi Parazitolojide Tedavi*” kitabında s. 305-28, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 20, İzmir (2005)

Alver, O., Atici, E., & Güher Göral. (2014). The epidemiology of malaria in bursa - 2009 - 2012. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 38(2), 81-84. doi:https://doi.org/10.5152/tpd.2014.3425

Aydın Türkoğlu Ş, Karabörk Ş, Çakmak M, Orallar H, Yaman K, Ayaz E. Investigation of 6-Year Seropositivity of *Toxoplasma gondii* in Abant İzzet Baysal University Educational Research Hospital. *Turkiye Parazitol Derg* 2018; 42: 106-12

Badirzadeh A, M Heidari-Kharaji, V Fallah-Omrani ve ark. (2020) Antileishmanial activity of *urtica dioica* extract against zoonotic cutaneous leishmaniasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, doi:10.1371/journal.pntd.0007843

Bağrıaçık E, Sivrikaya G ,Vero hücre kültüründe *Toxoplasma gondii* üretimi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2011; 35(2): 61 - 64.

Calderaro A, Peruzzi S, Piccolo G, Gorrini C, Montecchini S, Rossi S, Chezzi C, Dettori G. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection. *Int J Med Sci*. 2009;6(3):135-6. doi: 10.7150/ijms.6.135. Epub 2009 Mar 19. PMID: 19319234; PMCID: PMC2659488.

Chang HR, Pechère JC. In vitro effects of four macrolides (roxithromycin, spiramycin, azithromycin [CP-62,993], and A-56268) on *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988 Apr;32(4):524-9. doi: 10.1128/AAC.32.4.524. PMID: 2837140; PMCID: PMC172214.

Cohn JA, McMeeking A, Cohen W, Jacobs J, Holzman RS. Evaluation of the policy of empiric treatment of suspected *Toxoplasma* encephalitis in patients with the

acquired immunodeficiency syndrome. Am J Med. 1989 May;86(5):521-7. doi: 10.1016/0002-9343(89)90378-1. PMID: 2712059.

Curdt I, Praast G, Sickinger E, Schultess J, Herold I, Braun HB, Bernhardt S, Maine GT, Smith DD, Hsu S, Christ HM, Pucci D, Hausmann M, Herzogenrath J. Development of fully automated determination of marker-specific immunoglobulin G (IgG) avidity based on the avidity competition assay format: application for Abbott Architect cytomegalovirus and Toxo IgG Avidity assays. J Clin Microbiol. 2009 Mar;47(3):603-13. doi: 10.1128/JCM.01076-08. Epub 2009 Jan 7. PMID: 19129411; PMCID: PMC2650902.

Çeşitli bitkisel özütlerin (*Zingiber officinale*, *Urtica dioica*, *Nigella sativa*) *Toxoplasma gondii*' ye etkinliklerinin in vitro ortamda primetamin-sulfadiazin ile karşılaştırması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı. Tıpta uzmanlık tezi (Danışman: PROF. DR. MURAT HÖKELEK) Samsun 2012

Çetin E.T., Anđ Ö., TÖRECİ, K. (1979). Tıbbi Parazitoloji. İst. Üniv. Tıp Fak. Fakülte No: 117. İstanbul.

Da Silva AC, TAR dos Santos, IVB da Silva ve ark. (2017) Aryl thiosemicarbazones: In vitro and immunomodulatory activities against *L. amazonensis*. Experimental Parasitology c. 177 Haziran, Academic Press Inc. ss. 57-65., doi:10.1016/j.exppara.2017.04.003.

Daffos F, Forestier F, Capella-Pavlovsky M, Thulliez P, Aufrant C, Valenti D, Cox WL. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. N Engl J Med. 1988 Feb 4;318(5):271-5. doi: 10.1056/NEJM198802043180502. PMID: 3336419.

De Jong et al., 2013,

DM, Remington JS. Toxoplasmosis in the non-AIDS immunocompromised host. Curr Clin Top Infect Dis. 1993;13:322-56. PMID: 8397917

Doğan Şığva, Z. Ö., Hasvatan, E. E., Gülen, G., Uslu, R, Eryıldız, B., Durmuşkaya, C., Kayalar, H., Özbilgin, A., Korkmaz, M. ve Gündüz, C. (2017). Effect of extracts of the endemic plants *Centaurea lydia* and *Phlomis nissolii* on *Toxoplasma gondii*. Turkish Journal of Parasitology, 41, 164-8. doi: 10.5152/tpd.2017.5451

Dubey J, Lindsay D. Biology of Toxoplasma gondii in Cats and Other Animals in World Class Parasites: Volume 9. Opportunistic Infections: Toxoplasma, Sarcocystis, and Microsporidia. Kluwer Academic Publisher; 2004.

Durmaz R, Durmaz B, Tas I, Rafiq M. Seropositivity of toxoplasmosis among reproductive-age women in Malatya, Turkey. J Egypt Soc Parasitol. 1995 Dec;25(3):693-8. PMID: 8586864

Dutton GP. 1989

Dürdal Us,2016. Temel İmmünoloji ve Seroloji. Birinci baskı, Hipokrat Kitabevi, s.161-167.)

Erecevit Sönmez P., Çakılcıoğlu U., Türkiye’de Yetişen Centaurea urvillei DC. subsp. urvillei’ nin Antibakteriyel ve Antifungal Özelliği; 2021. Doi: 10.29132/ijpas.988385

Fernandez, I.; Garcia, B.; Grancha, F. J.; Pedro, J. R., Phytochemistry, 1989, 28, 2405

Flamini, G.; Pardini, M.; Morelli, I.; Ertuğrul, K.; Dural, H.; Bağci, Y.; Kargioğlu, M.; Phytochemistry, 2002, 61, 433; Flamini, G.; Bulleri, C.; Morelli, I.; Manunta, A., *Journal of Natural Products*, **2000**, 63, 662

Garrad LP, Lambert MR 1981; Leong GS, Stanford JF vd 2001; Soffritti s, Ricci G vd. 2003

Gupta, C., Garg, A. P., Uniyal, R. C. ve Kumari, A. (2008). Comparative analysis of the antimicrobial activity of cinnamon oil and cinnamon extract on some food-borne microbes. *African Journal of Microbiology Research*, 2, 247-251. doi:10.5897/AJMR.9000180

Hennequin, Christophe M.D.; Dureau, Pascal M.D.; N’Guyen, Laurence M.D.; Thulliez, Philippe M.D.; Gagelin, Béatrice M.D.; Dufier, n.d.), Gavinet MF, Robert F, Firtion G, et al. Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy J Clin Microbiol. 1997; 35: 1276-1277

Holland GN. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. Am J Ophthalmol. 2003 Dec;136(6):973-88. doi: 10.1016/j.ajo.2003.09.040. PMID: 14644206.

Kayaalp, S.O., 1998. Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 1(8): 1007-1072.

Kobilka, 2012

Korkmaz M. Ok ÜZ. Toxoplasmosis.Parazitolojide Laboratuvar. İzmir: Meta Basım; 2011 p.429-52

Krick JA, Remington JS. Toxoplasmosis in the adult--an overview. N Engl J Med. 1978 Mar 9;298(10):550-3. doi: 10.1056/NEJM197803092981006. PMID: 342953.

Kuman A, Altıntaş N. Protozoon Hastalıkları. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1996: 60-68. 14. Pereira SJ,Ramirez NE, Xiao L, Ward LA. Pathogenesis of human and bovine Cryptosporidium parvum in gnotobiotic pigs. J Infect Dis, 2002; 186: 715-718.

L'Ollivier C, Wallon M, Faucher B, Piarroux R, Peyron F, Franck J. Comparison of mother and child antibodies that target high-molecular-mass Toxoplasma gondii antigens by immunoblotting improves neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. Clin Vaccine Immunol. 2012 Aug;19(8):1326-8. doi: 10.1128/CVI.00060-12. Epub 2012 Jun 13. PMID: 22695159; PMCID: PMC3416078.

Macin ve ark., 2018,

Mete M. Toxoplasma gondii, Temel ve klinik Mikrobiyoloji, Editör: Şemsettin Ustaçelebi, Güneş Güneş kitabevi, Ankara 1999: 1231-1235.

Miman Ö. SG (2018) Temel Tıbbi Parazitolojied. Gülendame Saygı Özlem Miman, 1. b., İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık.

Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet. 2004 Jun 12;363(9425):1965-76. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16412-X. PMID: 15194258.

Montoya JG, Remington JS. Chapter 268, *Toxoplasma gondii*, In: Mandell: Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th Ed, Churchill Livingstone, 2000.)

Morrison DA, Höglund J. Testing the hypothesis of recent population expansions in nematode parasites of human-associated hosts. Heredity (Edinb). 2005 Apr;94(4):426-34. doi: 10.1038/sj.hdy.6800623. PMID: 15674388.

Nath A, Sinai AP. 2003 Innes, E.A. 1997. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 20, 131- 138. ;Nath, A.; Sinai, A.P., (2003). Cerebral toxoplasmosis. Curro Treat. Options NeuroL. 5(1): 3-12.;

Norrby R, Eilard T, Svedhem A, Lycke E. Treatment of toxoplasmosis with trimethoprim-sulphamethoxazole. Scand J Infect Dis. 1975;7(1):72-5. doi: 10.3109/inf.1975.7.issue-1.13. PMID: 1145137.

Norrby R, Eilard T, Svedhem A, Lycke E.,1975; Petersen E, Schmidt DR, 2003; Davis, P.H, 1970). Norrby R, Eilard T, Svedhem A, Lycke E. Treatment of toxoplasmosis with trimethoprim-sulphamethoxazole. *Scand J Infect Dis.* 1975;7(1):72-5. doi: 10.3109/inf.1975.7.issue-1.13. PMID: 1145137.; Petersen E, Schmidt DR. Sulfadiazine and pyrimethamine in the postnatal treatment of congenital toxoplasmosis: what are the options? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2003 Jun;1(1):175-82. doi: 10.1586/14787210.1.1.175. PMID: 15482110.; Davis, P.H., *Flora of Turkey*, University of Edinburgh, Edinburgh, 1970, pp.550. 2

Özcan A., 1990, (Fen Bilimleri Enstitüsü, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir)

Özcel MA., 2007, *Tıbbi Parazit Hastalıkları, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları*, İzmir

Pavesio CE, Lightman S. *Toxoplasma gondii* and ocular toxoplasmosis: pathogenesis. *Br J Ophthalmol.* 1996 Dec;80(12):1099-107. doi: 10.1136/bjo.80.12.1099. PMID: 9059278; PMCID: PMC505711.

Petersen, E.; Schmidt, D. R. *Exp. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2003, 1, 175–182.

Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G 2001. Toxoplasmosis. In JS Remington, JO Klein (eds), *Infectious Diseases of Fetus and Newborn Infant*, 5th ed., WB Saunders, Philadelphia, p. 205-346.

Remington JS, McLeod R, Wilson CB, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, 7th ed, Remington, JS, Klein, JO, Wilson, CB, et al (Eds), Elsevier Saunders, Philadelphia 2011. p.918.

Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2004 Mar;42(3):941-5. doi: 10.1128/JCM.42.3.941-945.2004. PMID: 15004036; PMCID: PMC356902.

Remington JS. Toxoplasmosis in the adult. *Bull N Y Acad Med.* 1974 Feb;50(2):211-27. PMID: 4592097; PMCID: PMC1749356.

Tali Çetin, 1973, *Genel ve Pratik Mikrobiyoloji İstanbul*

Wei et al., 2013)

Wiling H, Thamm M, Stark K, Aebischer T, Seeber F. Prevalence, incidence estimations, and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in Germany: a representative, cross-sectional, serological study. *Sci Rep.* 2016 Mar 3;6:22551. doi: 10.1038/srep22551. PMID: 26936108; PMCID: PMC4776094.

Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL. 2006. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th, Wolters Kluwer Company; 1306-1311.



10. EKLER

10.1. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ YÖNETİM KURULU KARARI

Evrak Tarih ve Sayısı: 16/07/2020-E.53599



T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



Sayı : 28233352-302.14.01-
Konu : Elif POLAT Tez Konusu Hk.

SBE TIBBİ PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Enstitümüzün 14.07.2020 tarih ve 23/17 sayılı Yönetim Kurulu Toplantısında, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Elif POLAT'ın tez konusunun, etik kurul onayı ile birlikte (etik kurul gerekli ise) "Centaurea Urvillei'nin Toxoplasma Gondii Üzerine Etkisi" olarak belirlenmesine OY BİRLİĞİ ile karar verildi.
Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

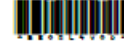
e-İmzalıdır
Dr. Öğr. Üyesi Süheyla RAHMAN
Enstitü Müdürü V.

16/07/2020 Bilgisayar İşletmeni
16/07/2020 Şef
16/07/2020 Enstitü Sekreteri V.

Nuray ENGİN
Birsen KARAN
Ayşe ERTİK

Adres: Tıp Fakültesi Dikmenliği Zemin Kat Üncubeköy Kampüsü Manisa
Telefon: (0 236) 2360989 Faks: (0 236) 2382158
E-Posta: saglik.sekretelik@cbu.edu.tr Elektronik Ağ: saglik@cbu.edu.tr

Bilgi İçin: Nuray Engin
Unvanı: Bilgisayar İşletmeni



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

10.2. ETİK KURUL KARARI

T.C.
Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu
Karar Formu

KARAR TARİHİ / NO	02/09/2020 / 20.478.486					
ARAŞTIRMANIN ADI	Centaurea urvillei'nin Toxoplasma gondii üzerindeki etkisi					
SORUMLU ARAŞTIRMACI	Prof. Dr. Kor YERELİ - Tıp Fakültesi					
ARAŞTIRMA EKİBİ	Bis. Elif POLAT					
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	UZMANLIK TEZİ <input type="checkbox"/>		YÜKSEK LİSANS-DOKTORA-TEZİ <input checked="" type="checkbox"/>		AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	17/08/2020 / Tarih ve 26404 Sayılı; araştırma dosyası					
KARAR BİLGİLERİ	Araştırma dosyası incelenmiş, bilimsel ve etik açıdan UYGUN olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.					
Unvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlgili Olan Üye	Toplantıya Katılmayan Üye	Unvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlgili Olan Üye	Toplantıya Katılmayan Üye	
Prof. Dr. Murat DEMET Psikiyatri AD	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Doç. Dr. Selhan ÖZBEY Spor Bilimleri Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Özge YILMAZ Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dr. Öğr. Üyesi Selim ALTAN Tıp Tarihi ve Etik AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Beyhan Cengiz ÖZYURT Halk Sağlığı AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Doç. Dr. Nurgül Güngör TAŞANLI Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Pınar ÇELİK Göğüs Hastalıkları A.D.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Mukadder YILMAZER Avukat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Tuğba ÇAVUŞOĞLU Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Sivil Üye Hüseyin TUNÇAY	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hüseyin Serhat YERCAN Ortopedi AD.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<p>Etik Kurulumuzun kararı yukarıda belirtilmiştir. <u>Araştırmanız Her Hangi Bir Aşamada Etik Kurulumuzun "İzleme - Denetleme" Görevi Gereği Çözümü Halinde Haberli / Habersiz Olarak Denetlenebilir.</u> Araştırma Başvuru Formunun Taahhütname - Bölüm E kısmında belirtilmiş olan hususların dikkate alınarak istenilen bilgilerin Etik Kurulumuza zamanında iletilmesi konusunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.</p>						

Prof. Dr. Murat DEMET
BAŞKAN

10.3.BENZERLİK RAPORU

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

TIBBİ PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tez Adı: Centaurea urvillei'nin Toxoplasma gondii üzerindeki etkisi

Tezime ilişkin...14/09/2022 tarihinde yapılan Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % ...3.....'tür.

Belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı : Elif POLAT
Öğrenci No :191356001
Anabilim Dalı : Tıbbi Parazitoloji
Programı : Tıbbi Parazitoloji

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR.
(Unvan, Ad Soyad, İmza)
Prof.Dr. KÖR YERELİ

Açıklamalar

- 1-Tez Çalışması Orijinallik Raporu (TÇOR), TURNITIN İntihal Tespit Programı kullanımı için kişisel hesap alma hakkı bulunan tez danışmanları, Enstitülerde görevlendirilen personeller, Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı'nda görevlendirilen kütüphaneciler tarafından alınır.
- 2-Sayfa sayısı 400'den az olan tezler için tez savunmasından önce ve başarılı olması durumunda düzeltmelerden sonra olmak üzere 2 kez TÇOR alınır.(400 sayfadan fazla olan tezler 400 ve katları şeklinde bölünerek Turnitin veri tabanına yüklenmesi gerekmektedir. Bu gibi durumlarda benzerlik oranının hesaplanmasına ilişkin detaylı forma, kütüphane web sayfasında bulunan Turnitin kullanım kılavuzlarının altından erişilebilir.)
- 3-TÇOR, tezin yalnızca Kapak Sayfası, Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan kısmının tek bir dosya olarak intihal tespit programına yüklenmesi ile alınır.
- Programa yükleme yapılırken Dosya Başlığı (document title) olarak tez başlığının tamamı, Yazar Adı (author's first name) olarak öğrencinin adı, Yazar Soyadı (author's last name) olarak öğrencinin soyadı bilgisi yazılır.
- 4- TURNITIN İntihal tespit programına yüklenen dosyanın sürecekleme sırasında, ilgili programdaki filtreleme seçenekleri aşağıdaki şekilde ayarlanır: - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - 5 kelimededen daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 5 words)
- 5-İsteğe bağlı ayarlar kısmından; "Ödevleri şuraya gönder?" seçeneği mutlaka DEPO YOK şeklinde işaretlenmesi gerekmektedir; aksi durumda aynı tezin ikinci kez yüklenmesi durumunda benzerlik %100 çıkacaktır ve depodan tezi silmek çok uzun süre gerektirecektir.
- 6- Raporlama işlemi tamamlandıktan sonra, kaydedilmiş olan ekranın görüntüsünü sağ üst köşesinde yüzdelik oranı olarak belirtilen "benzerlik oranı," raporlamaya tabi tutulmuş olan dosyanın "toplam sayfa sayısı" ve raporlama işleminin yapıldığı "tarih" bilgisi, "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu" formuna işlenir.
- 7- Benzerlik oranında tüm sorumluluk öğrenciye aittir.
- 8-Tez savunma sınavı sonrasında başarılı bulunan öğrenci, tez savunma sınavı tarihi sonrasında tezde yapılmış muhtemel değişiklikleri içeren dosya kullanılarak alınmış ikinci bir İntihal raporundaki bilgiler kullanılarak hazırlanmış ve tez danışmanı tarafından onaylanarak imzalanmış ikinci bir "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu"nu Enstitüye teslim etmekle yükümlüdür.
- 9-Turnitin Hakkında Bilgiler: <http://kutuphane.cbu.edu.tr/turnitin.9370.tr.html>

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Elif	Soyadı	POLAT
------------	------	---------------	-------

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek lisans	Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi	2022
Lisans	Ege Üniversitesi Fen Fakültesi/ Biyoloji Bölümü	2014
Lise	Çağrıbey Lisesi	2011

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre
Klinik araştırma koordinatörü	CRM CRO	2021-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu

YDS
42,5

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	62,47	62,02	59,21

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi
Graph pad	İyi