

**T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ORDU ve GİRESUN İLLERİNDEN ALINAN SU
ÖRNEKLERİNDE *Toxoplasma gondii*'nin MOLEKÜLER
TEKNİKLER KULLANILARAK TESPİT EDİLMESİ**

ELİF DEMİREL

**Bu tez,
Biyoloji Anabilim Dalında
Yüksek Lisans
derecesi için hazırlanmıştır.**

ORDU 2014

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi ELİF DEMİREL tarafından hazırlanan ve DOÇ. DR. ZEYNEP KOLÖREN danışmanlığında yürütülen“Ordu ve Giresun İllerinden Alınan Su Örneklerinde *Toxoplasma gondii*'nin Moleküler Teknikler Kullanılarak Tespit Edilmesi ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 28/ 04/ 2014 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN

Başkan : Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN
Biyoloji Anabilim dalı, Ordu Üniversitesi

İmza : 

Üye : Doç. Dr. Beyhan TAŞ
Biyoloji Anabilim dalı, Ordu Üniversitesi

İmza : 

Üye : Yard. Doç. Dr. Ülkü KARAMAN
Parazitoloji Anabilim dalı, Ordu Üniversitesi

İmza : 

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 30.05.14 tarih ve 2014/224 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

30.05.2014..


Enstitü Müdürü
Prof. Dr. M. Fikret BALTA

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

İmza

ELİF DEMİREL



Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Ordu ve Giresun İllerinden Alınan Su Örneklerinde *Toxoplasma gondii*'nin Moleküler Teknikler Kullanılarak Tespit Edilmesi

Elif DEMİREL

Ordu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, 2014

Yüksek Lisans, 138s.

Danışman: Doç Dr. Zeynep KOLÖREN

Bu araştırmada, Ordu il merkezi ve ilçelerinden 2011 Haziran ve Ağustos aylarında toplam 31 çevresel su ve 25 içme suyu örneği, Giresun il merkezi ve ilçelerinden 2012 yılında toplam 76 çevresel su ve 20 içme suyu örneği alınmıştır. Alınan su örneklerinden DNA izole edilerek *Toxoplasma gondii*'nin 18S rRNA ve B1 hedef geni Standart Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), Nested PZR ve İlmiğe Dayalı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) metotları kullanılarak testlenmiştir. Kullanılan üç metotla, Ordu ve Giresun illerinden alınan içme suyu örneklerinin hiç birinde *Toxoplasma* DNA'sına rastlanılmamıştır.

Ordu ilinden alınan 31 çevresel su örneğinde LAMP yöntemiyle 20'si (%64.51), Nested PZR tekniğiyle 16'sı (%51.61) ve Standart PZR ile 12'si (%38.7) pozitif olarak bulunmuştur. Ordu ilinden alınan çevresel su örneklerinden elde edilen Nested PZR ürünleri sekans analizine gönderilmiştir. 16 Nested PZR ürününden 13'ünün sekansı alınmıştır. Giresun ilinden alınan 76 çevresel su örneğinin 10'unda (%13.15) LAMP, Standart PZR ve Nested PZR tekniğiyle *Toxoplasma* DNA'sı tespit edilmiştir.

Karadeniz Bölgesinde su kökenli protozoonlarla ilgili çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu tez çalışmasıyla araştırma alanında su kirliliğine neden olan su kökenli protozoon *T. gondii*'nin tespiti uluslararası kabul görmüş tekniklerle sağlanmıştır. Gerek bölgedeki halk sağlığı için tehlikeli protozoonun varlığının tespitiyle halk sağlığını korumaya yönelik temel bir çalışma olması gerekse ileride yapılması planlanan çalışmalar için kaynak veri oluşturması bu çalışmanın önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, Moleküler metotlar, Ordu, Giresun, Su kaynakları

ABSTRACT

Detection of *Toxoplasma gondii* in the Water Samples of Ordu and Giresun Provinces by Molecular Techniques

Elif DEMİREL

University of Ordu

Institute of Science

Department of Biology, 2014

Graduate, 138p.

Adviser: Assoc. Prof. Dr. Zeynep KOLÖREN

Thirty-one environmental water and 25 drinking water samples were collected from Ordu Province and its boroughs in the period between June and August 2011. A total of 76 environmental water and 20 drinking water samples were taken from Giresun Province and its boroughs during 2012. After DNA isolation from water samples, the 18S rRNA target gene and B1 gene of *T. gondii* were amplified by conventional PZR, nested PZR and loop-mediated isothermal amplification (LAMP).

All drinking water samples collected from Ordu and Giresun were negative for *Toxoplasma* DNA by all three methods. Twenty of 31 environmental water samples (64.51%) taken from Ordu Province were *Toxoplasma* positive by LAMP. The conventional PZR and nested PZR confirmed that 12 and 16 of 31 environmental water samples (51.61% and 38.7%) were positive for *Toxoplasma*, respectively. Thirteen of 16 Nested PZR products obtained from environmental water samples of Ordu Province were successfully sequenced. Ten of 76 environmental water samples (%13.15) collected from Giresun Province were *Toxoplasma* positive by the conventional PZR, nested PZR and LAMP.

There is a few previous report about waterborne protozoan in the Black Sea area. In this thesis, the water pollution causes of waterborne protozoan *T. gondii* in the investigated region were determined by the internationally accepted techniques. The present study will not only contribute to determination of the presence of dangerous protozoan for public health but also create the data source for further studies in the Black Sea area.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, Molecular methods, Ordu, Giresun, Water resources

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve çalışmanın yürütülmesinde her türlü bilgi ve deneyimlerini aktaran başta danışman hocam Sayın Doç Dr. Zeynep KOLÖREN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Parazitoloji konusunda benden bilgilerini esirgemeyen Sayın Yard. Doç. Dr. Ülkü Karaman'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazım aşamasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, varlığıyla güç vererek destek olan anne ve babam Meliha ve Aydın Demirel'e kuzenim Burhan Koç ve kardeşim Muhammed Emir Demirel'e teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvardaki ilk yılımda yanımda olan Derya Kaya ve Burak Delioğlu'na, çıktığımız arazilerin vazgeçilmezi kaptan Fatih Karahasan'a, tezimin laboratuvar aşamasından yazım aşamasına kadar her anımda yanımda olup nazımı çeken 'Ben rokoma rakamını bilmiyorum IV' e kadar yazarım gerisini sen tamamla' diyen Emine Ayaz'a ve 'Paint programında Yamuk ok yok dik ok olsun Sayın Elif Demirel' diyen Başak Gülabi' ye, 'Ney canım gelip alayım seni sıkıntı yapma hallederiz diyen' Onuralp Seferoğlu'na, tüm yüksek lisans arkadaşlarıma ve Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nün tüm hocalarına teşekkür ederim.

Bu tezin Ordu ilini kapsayan kısmı TÜBİTAK 210T141 nolu proje, Giresun ilini kapsayan kısmı ise BAP TF1203 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
ÇİZELGELER LİSTESİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
EKLER LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Su Kirliliği.....	2
1.2. Su Kalite Standartları.....	4
1.3. Su Kirliliği ve Halk Sağlığı.....	7
2. GENEL BİLGİLER	11
2.1. <i>Toxoplasma gondii</i> 'nin Tarihçesi.....	11
2.2. <i>T. gondii</i> 'nin Taksonomisi	12
2.3. <i>T. gondii</i> 'nin Morfolojisi	12
2.4. <i>T. gondii</i> 'nin Yaşam Döngüsü	17
2.4.1. <i>T. gondii</i> 'nin Ara Konaktaki Gelişimi.....	17
2.4.2. <i>T. gondii</i> 'nin Son Konaktaki Gelişimi	18

2.4.3.	<i>T. gondii</i> 'nin Konak Dışındaki Gelişimi	18
2.5.	Toxoplasmosis.....	21
2.5.1.	İmmun Sistemi Sağlam Kişilerde Oluşan Toxoplasmosis	23
2.5.2.	İmmun Yetmezlikli Kişilerde Oluşan Toxoplasmosis.....	24
2.5.3.	Oküler Toxoplasmosis (korioretinitis).....	25
2.5.4.	Konjenital toxoplasmosis.....	25
2.6.	Epidemiyolojisi.....	26
2.7.	İmmünoloji.....	29
2.7.1.	Doğal Bağışıklık.....	29
2.7.2.	Kazanılmış Bağışıklık.....	29
2.8.	Tanı.....	30
2.8.1.	Direk Tanı Yöntemleri.....	30
2.8.1.1.	<i>T. gondii</i> İzolasyonu.....	30
2.8.1.2.	Histolojik Tanı.....	31
2.8.2.	İndirek Tanı Yöntemleri.....	31
2.8.3.	Moleküler Tanı Yöntemleri.....	33
2.8.3.1.	İlmiğe Dayalı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) Tekniği.....	33
2.8.3.2.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tekniği.....	34
2.9.	Tedavi.....	35
2.10.	Korunma yolları.....	37
3.	ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	40
3.1.	Yurtdışında Yapılan Çalışmalar.....	40
3.1.1.	Yurtdışında Yapılan Su Kökenli Çalışmalar.....	43

3.2.	Ülkemizde Yapılan Çalışmalar.....	45
3.2.1.	Ülkemizde Yapılan Su Kökenli Çalışmalar.....	51
4.	MATERYAL VE YÖNTEM.....	53
4.1.	MATERYAL	
4.1.1.	Araştırma Bölgelerinin Tanıtım.....	53
4.1.1.1.	Ordu.....	53
4.1.1.2.	Giresun.....	57
4.1.2.	Parazit İçeren Örnekler Ait İstasyonlar.....	61
4.2.	YÖNTEM	
4.2.1.	Örneklerin Toplanması ve Alüminyum Sülfat ile Çöktürme.....	71
4.2.2.	Örneklerin Saflaştırılması (Sükroz Gradient Yöntemi).....	72
4.2.3.	DNA İzolasyonu.....	72
4.2.4.	LAMP Tekniği (İlmiğe Dayalı İzotermal Amplifikasyon Tekniği).....	73
4.2.5.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tekniği.....	74
4.2.6.	Nested PZR Tekniği.....	75
4.2.7.	Sekans Analizi.....	76
5.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	77
5.1.	<i>T. gondii</i> 'nin Moleküler Yöntemlerle Tespit Edilmesi.....	77
5.1.2.	Kullanılan Moleküler Metotların Hassasiyeti ve Özgünlüğü.....	77
5.1.2.1.	LAMP Metodunun Hassasiyeti ve Özgünlüğü.....	77
5.1.2.2.	PZR ve Nested PZR Metotlarının Hassasiyeti ve Özgünlüğü.....	79
5.1.3.	İstasyonlarımıza Ait Örneklerin LAMP, PZR ve Nested PZR Sonuçları.....	83

5.1.3.1.	Ordu İl ve İlçelerinden Alınan Su Örneklerinin LAMP, Standart PZR, Nestec PZR ve Sekans Analiz Sonuçları.....	83
5.1.3.2.	Giresun İl ve İlçelerinden Alınan Su Örneklerinin LAMP,Standart PZR ve Nested PZR Sonuçları.....	89
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	98
7.	KAYNAKLAR.....	102
	EKLER.....	117
	ÖZGEÇMİŞ.....	120

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	<i>T. gondii</i> 'nin üç biyolojik formunun birbirine dönüşmesi.....	12
Şekil 2.2.	A. Giemsa ile boyalı <i>T.gondii</i> trofozoiti B. <i>T. gondii</i> trofozotinin genel görüntüsü.....	14
Şekil 2.3.	<i>T. gondii</i> doku kistinin genel görüntüsü.....	15
Şekil 2.4.	A. Sporlanmamış <i>T. gondii</i> ookisti, B. Sporlanmış <i>T.gondii</i> ookisti.....	16
Şekil 2.5.	<i>T. gondii</i> 'nin yaşam döngüsü.....	20
Şekil 4.1.	Araştırma alanını oluşturan Ordu ilindeki istasyonlarının haritası.....	54
Şekil 4.2.	Ordu ili baraj ve su rezervuarlarının mevcut durumu.....	55
Şekil 4.3.	Ordu il ve ilçelerinde arazi varlığının durumu.....	56
Şekil 4.4.	Araştırma alanını oluşturan Giresun ilindeki istasyonlarının haritası.....	57
Şekil 4.5.	Giresun ilinin arazi kullanım şekli.....	60
Şekil 4.6.	Ordu il merkezinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	62
Şekil 4.7.	Perşembe ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	63
Şekil 4.8.	Fatsa ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	64
Şekil 4.9.	Ünye ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	65
Şekil 4.10.	Mesudiye ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	66
Şekil 4.11.	Giresun il merkezinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	67
Şekil 4.12.	Piraziz ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	68
Şekil 4.13.	Bulancak ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	69
Şekil 4.14.	Espiye ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	70
Şekil 4.15.	Keşap ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	71
Şekil 5.1.	A.LAMP tekniğiyle çoğaltılan seri sulandırılmış <i>Toxoplasma</i> RH (takizoit) DNA'sı kullanılarak yapılan hassasiyet deneyinin agaroz jeldeki görüntüsü B.LAMP tekniğinin özgünlüğünün agaroz jeldeki görüntüsü.....	78

Şekil 5.2.	A.18S rRNA <i>Toxoplasma</i> geninin PZR tekniği ile özgünlüğünün agaroz jeldeki görüntüsü B.18S rRNA <i>Toxoplasma</i> geninin PZR tekniğiyle çoğaltılan seri sulandırılmış <i>Toxoplasma</i> RH DNA'sı kullanılarak yapılan hassasiyet deneyinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	80
Şekil 5.3.	A.18S rRNA <i>Toxoplasma</i> geninin Nested PZR tekniği ile özgünlüğünün agaroz jeldeki görüntüsü B. 18S rRNA <i>Toxoplasma</i> geninin Nested PZR tekniğiyle çoğaltılan seri sulandırılmış <i>Toxoplasma</i> RH DNA'sı kullanılarak yapılan hassasiyet deneyinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	81
Şekil 5.4.	LAMP yöntemiyle çalışılan Ordu ili araştırma alanından toplanan su örneklerine ait LAMP ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	86
Şekil 5.5.	Standart PZR yöntemiyle çalışılan Ordu ilinden alınan su örneklerine ait PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	87
Şekil 5.6.	Nested PZR yöntemiyle çalışılan Ordu ilinden alınan su örneklerine ait Nested PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	87
Şekil 5.7.	LAMP yöntemiyle çalışılan Giresun İllerinden alınan su örneklerine ait LAMP ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	91
Şekil 5.8.	Nested PZR yöntemiyle çalışılan Giresun il ve ilçelerinden alınan su örneklerine ait Nested PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	91
Şekil 5.9.	Standart PZR yöntemiyle çalışılan Giresun il ve ilçelerinden alınan su örneklerine ait PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	92

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1.	İçme suyu örneklerinde bulunan ve suyla taşınan patojenler.....	5
Çizege 1.2.	İTASHY'e Esaslarına Göre İçme ve Kullanma Sularında Aranılan Mikrobiyolojik Parametreler.....	6
Çizelge 1.3.	Kıta İçi Su Kaynaklarının Sınıflarına Göre Kalite Kriterleri.....	6
Çizelge 4.1.	<i>T. gondii</i> amplifikasyonunda kullanılan LAMP primerleri.....	74
Çizege 5.1.	Ordu il Merkezi ve ilçelerinden alınan su örneklerinde <i>T. gondii</i> 'nin LAMP, PZR ve Nested PZR yöntemlerinin karşılaştırılması.....	83
Çizege 5.2.	Yüzeysel ve içme sularına uygulanan LAMP, Standart PZR ve Nested PZR sonuçları ve Nested PZR ürünlerinin sekans sonuçları.....	88
Çizege 5.3.	Giresun il merkezi ve ilçelerinden alınan su örneklerinde <i>T. gondii</i> 'nin LAMP, PZR ve Nested PZR yöntemlerinin karşılaştırılması.....	89

SİMGELER VE KISALTMALAR

İTASHY	: İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki Yönetmelik
SKKY	: Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği
YSKYY	: Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği
ORKAP	: Ordu Kaynakta Ayrıştırma Projesi
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
LAMP	: İlmiğe Dayalı İzotermal Amplifikasyon Tekniği
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
EMS	: En Muhtemel Sayı
ELISA	: Enzim Linked İmmunosorbent Assay
MEIA	: Mikropartikül Enzim Immunoassay
IHA	: İndirekt Hemaglutinasyon Testi
IFAT	: İndirekt Floresans Antikor Testi
KFT	: Kompleman Fiksasyon Testi
LAT	: Latex Aglutinasyon Testi
MAT	: Modifiye Aglutinasyon Testi
ISAGA	: Immunsorbent Agglutination Assay
PAS	: Periyodik Asit Schiff7
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
SFT	: Sabin Fieldman Testi
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı

RES	: Retikuloendotelial sistem
CMV	: Sitomegalovirüs
BSA	: Bowin Serum Albümin
TE	: Tris-EDTA
TAE	: Tris-asetad-EDTA
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
RNA	: Ribonükleik Asit
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
İFT	: İmmüno Floresan Test
UV	: Ultra Viyole
Ig	: İmmüoglobulin
mg	: Miligram
L	: Litre
TS	: Türkiye Standardı
ml	: Mililitre
µm	: Mikrometre
km	: Kilometre
dk	: Dakika
g	: Gram

EKLER LİSTESİ

<u>Ek No</u>		<u>Sayfa</u>
EK 1.	Kıyı ve Geçiş Su Kütlelerinin İzleme Tablosu.....	117
EK 2.	Kıtaçi Yüzeysel Su Kaynaklarının Sınıflarına Göre Kalite Kriterleri.....	118
EK 3.	Rekreasyon Maksadıyla Kullanılan Kıyı ve Geçiş Sularının Sağlaması Gereken Standart Değerleri.....	119

1.GİRİŞ

Su, en küçük canlı organizmadan, en büyük canlı varlığa kadar, bütün biyolojik hayatı ve insan faaliyetlerini ayakta tutar. Hayatımızı idame ettirebilmemiz için en önemli besin kaynağımız olan su, dolaşım ve sindirim sistemlerinin çalışmasında temel unsur olduğu gibi, vücudumuzdan artık ve zehirli maddelerin de atılmasını sağlar (Anonim 2013a).

Doğada daima bir devir halinde bulunan su, denizlerden, göllerden ve benzeri yüzeylerden güneş ısı ile buharlaşarak havaya karışır. Daha sonra değişik meteorolojik şekillerde tekrar toprağa düşer buna hidrolojik devir denir. Dünya suyunun %97'si denizlerde, %2'si kutuplarda donmuş halde, %1'i de karada yani toprak parçasında bulunmaktadır. Yeryüzündeki su zaman zaman buharlaşarak atmosferdeki soğuk tabakalara ulaşır ve yere yağmur veya kar halinde tekrar düşer. Toprak yüzeyine yağmur, kar, dolu şeklinde düşen su damlacıkları tekrar buharlaşarak atmosfere döner (Anonim 2013b).

Bölgenin coğrafik konumu, alt yapı tesisleri, atık maddelerin gördüğü işlem, toplumun sosyo-ekonomik yapısı gibi birçok faktöre bağlı olarak, patojen bakteriler ve diğer mikroorganizmalar dışkı ve benzeri yollarla sulara ulaşmaktadır. Çevre kirliliği sonucunda su kaynakları gün geçtikçe kirlenmekte ve uygun kalitede su kaynaklarının bulunması zor hale gelmektedir. Elverişli su kaynaklarının bulunduğu durumlarda ise, suların arıtımındaki ve dağıtımındaki aksaklıklar ile su temin kaynaklarının gereğince korunamaması gibi nedenlerle içme suyu kalitesinde problemler yaşanmaktadır (Öner ve Öztürk 2009). İçme suyu kullanımı oral-fekal enfeksiyon zincirinin en önemli halkasıdır. Suyla bulaşan enfeksiyonların önüne geçilmesi büyük ölçüde suyun bakteriyel kirliliğinin önlenmesi, suyun dezenfekte edilmesi ile sağlanmalıdır (Anonim 2013b).

1.1. Su Kirliliği

Yeryüzünün $\frac{3}{4}$ 'ünün sularla kaplı olması, dünyada su bolluğu olduğu görünümü veriyorsa da, içilebilir nitelikteki su oranı yaklaşık %0.74'dür. Sanayi Devrimi başlangıcı olan 18. yüzyılın sonlarında 1 milyar olan dünya nüfusu, 1950 yılında 2.5 milyar, 2005 sonunda ise yaklaşık 6.5 milyara ulaşmıştır. Dünya nüfusunun çok hızlı artışı, sanayi ve teknolojinin aşırı gelişmesi, ayrıca çevre bilincinin yeterince yerleşmemesi veya yaygınlaşmaması gibi nedenler dünyada içilebilir su miktarının giderek azalmasına neden olmaktadır. Bunların yanı sıra, içilebilir su kaynaklarının sorumsuzca kirlenmesi, geri dönüşümü olmayacak sorunların yaşanmasına zemin hazırlamaktadır (Akın ve Akın 2007).

Sıcaklığın zaman zaman 40°C'nin üstüne çıktığı Afrika ülkelerinde kişi başına günlük sadece 3 bardak su düşmekte ve her 8 saniyede 1 çocuk temiz su bulamadığı için hayatını kaybetmektedir. Yapılan tahminlere göre 2040 yılında dünyanın büyük kısmı çöl haline gelecek 2032 yılında dünya nüfusunun yaklaşık %50'si susuz kalacak 2015'e kadar 2.5 milyar bebek temiz su bulamadığı için yakalandığı hastalıklardan dolayı ölecektir (Anonim 2013c).

Su kaynakları hem hızla kirlenmekte hem de kullanılabilir tatlı su kaynakları yetersiz kalmaktadır. En önemli tatlı su rezervlerinden olan göller; doğal güzellikleri, içerdiği biyolojik çeşitlilik, rekreasyonel kullanımları, hidrolojik döngüdeki rolü gibi birçok özellikleriyle önemli doğa alanlarıdır. Bu ortamda yaşayan canlıların beslenme, büyüme, üreme gibi yaşamsal işlevleri sucul ekosistemin fiziko-kimyasal özellikleri yani su kalitesi ile yakından ilişkilidir. Su kalitesi, suyun faydalı bir şekilde kullanılmasını etkileyen bütün fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörleri içine alan bir ifadedir. Suyun kalitesini değiştiren çeşitli faktörlerin bilinmesi, kullanım amacına uygunluğunun değerlendirilebilmesi açısından önemlidir (Akyurt 1993, Taş ve ark. 2010). Son zamanlarda büyük şehirlerimizdeki şebeke suları, mikrobiyolojik kalitelerinin yanı sıra fizikokimyasal özellikleri yönünden de değerlendirilmiştir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre; ülke genelinde il merkezlerinden alınan şebeke sularının %17'si, kaynak sularının %31.4'ü; ilçelerden alınan şebeke sularının %36.6'sı, kaynak sularının ise %36.3'ü standartlara uygunluk göstermemiştir (Alemdar ve ark. 2009).

İçme-kullanma suyu; genel olarak içme, yemek yapma, temizlik ve diğer evsel amaçlar ile gıda maddelerinin ve diğer insani tüketim amaçlı ürünlerin hazırlanması, işlenmesi, saklanması ve pazarlanması amacıyla kullanılan, orijinine bakılmaksızın, orijinal haliyle ya da arıtılmış olarak ister kaynağından isterse dağıtım ağından temin edilen ve İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki Yönetmelik (İTASHY)'e uygun değerleri sağlayan ve ticari amaçlı satışa arz edilmeyen sulardır. İçme-kullanma sularına dezenfeksiyon işleminin uygulanması halinde, dezenfeksiyon işleminin etkinliği doğrulanır. Dezenfeksiyon dozu düşük tutularak yan ürünlerden kaynaklanan kirlenmenin önlenmesi sağlanır. İçme-kullanma sularının dezenfeksiyonunda klor kullanılması halinde uç noktalardan alınan numunelerde serbest klor miktarı 0.5 mg/L'den fazla olmamalıdır (Anonim 2005).

İnsanlar, yaşamsal ve ekonomik gereksinimleri için suyu hidrolojik çevrimden alırlar ve kullandıktan sonra tekrar aynı döngüye iade ederler. Bu işlemler sırasında suya karışan maddeler suların fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirerek, "su kirliliği" olarak adlandırılan olguyu ortaya çıkarırlar. Nüfus artışı ve endüstrinin hızla gelişmesi, su kirliliğini hızlandıran etkenlerdir (Alkan ve ark. 1999).

Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği'ne (2004) göre su kirliliği; su kaynağının kimyasal, fiziksel, bakteriyolojik, radyoaktif ve ekolojik özelliklerinin olumsuz yönde değişmesi şeklinde gözlenen ve doğrudan veya dolaylı yoldan biyolojik kaynaklarda, insan sağlığında, balıkçılıkta, su kalitesinde ve suyun diğer amaçlarla kullanılmasında engelleyici bozulmalar yaratacak madde veya enerji atıklarının boşaltılmasını ifade eder (Anonim 2004).

Alıcı su ortamlarında evsel, endüstriyel, tarımsal, deniz trafiği ve benzeri kaynaklardan dolayı kirlenmeye neden olan başlıca etkenler ve problemler şunlardır:

- a) Fekal atıklar
- b) Organik atıklar
- c) Kimyasal Atıklar
- d) Aşırı üretim artışına neden olan besin maddelerinin, gereğinden fazla boşaltımı
- e) Atık ısı
- f) Radyoaktif atıklar

- g) Deniz dibi tarama malzemesi, çamur, çöp ve hafriyat artıklarının ve benzeri atıkların boşaltımından oluşan bulanıklık artışı, sığlaşma ve kıyı çizgisi değişimi
- h) Deniz araçlarından kaynaklanan sintine, balast, slop, slaç ve benzeri atıklardır (Anonim 2004).

Sulara özellikle insan ve hayvan dışkılarıyla karışan patojen mikroorganizma ve virüsler önemli bir sağlık riski oluşturur. Suların hijyenik açıdan kirlenmesine bakteriler, virüsler ve diğer hastalık yapıcı canlılar ile genellikle hastalıklı veya portör (hastalık taşıyıcı) olan hayvan ve insanların dışkılarından kaynaklanmaktadır. Bulaşıcı etki, ya bu atıklarla doğrudan temasla veya bu atıkların karıştığı sulardan dolaylı olarak gerçekleşmektedir. İçme suyu temini ve rekreasyonel kullanıma açık sularda mikrobiyolojik kirlenme önemli bir sorun oluşturmaktadır. İnsan ve hayvan dışkıları içeren ve önemli bir sağlık riski oluşturan atıksuların akarsu, göl veya seyreltme potansiyeli düşük olan koy ve körfezler gibi alıcı ortamlara verilmesinden önce uygun bir dezenfeksiyon işlemi yapılmalıdır (Uslu ve Türkman 1987, Alkan ve ark. 1999).

1.2. Su Kalite Standartları

Su kaynağının korunması için içme ve kullanma sularında güvenilirliğin temininin sağlanması amacıyla alt ve üst limitlerin saptanarak su ortamında çeşitli kirletici unsurların derişimlerini belirlemek gerekmektedir (Delioğlu 2012).

Toplum sağlığı açısından, içme suları hastalık yapıcı mikroorganizmaları ve zararlı kimyasal maddeleri içermemelidir. Sularda bu şartların sağlanabilmesi ve suda bulunması istenmeyen maddelerin belirli bir seviyenin altında tutulması için Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından oluşturulan içme suyu standartları yaygın olarak kullanılmaktadır (Anonim 1996). Bunun yanı sıra her ülkenin kendine ait içme suyu standardı vardır. Ülkemiz için kabul edilen ve kullanımda olan içme ve kullanma suları standardı TS 266'dır (Anonim 1997).

Fekal kirlilik insan ve insan dışı çeşitli kaynaklardan meydana gelmektedir. İnsan kaynaklı fekal indikatörlerin kontaminasyonu insan sağlığı için büyük risk oluşturmaktadır (Scott ve ark. 2003). Protozoonlar ve bazı enterovirüsler klor içeren birçok dezenfektana çok dayanıklıdır. Bu nedenle doğrulama testlerinde, intestinal enterokoklar, *Clostridium perfringens* ve bakteriyofajlar gibi organizmalar için bir

seri analiz yapılması gerekmektedir. Çizelge 1.1’de içme suyunda bulunan ve suyla taşınan protozoonlar gösterilmiştir (Anonim 2008).

Çizelge 1.1. İçme suyu örneklerinde bulunan ve suyla taşınan patojenler (Anonim 2008)

Patojen (protozoon)	Sağlığa etkisi (salgınlar)	Su ortamında (20°C) hayatta kalma süresi	pH:7-8 iken Standart dozda klora dayanıklılığı	Nispi bulaşıcı doz	Önemli hayvansal kaynak
<i>Acanthamoeba</i> spp.	Yüksek	Değişken olabilir	< 1 dk.	> 10 ⁴	Yok
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Yüksek	1 aydan fazla	> 30 dk.	> 10 ⁴	Var
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Yüksek	1 aydan fazla	> 30 dk.	> 10 ⁴	Yok
<i>Entamoeba histolytica</i>	Yüksek	1 hafta ile 1 ay arası	> 30 dk.	> 10 ⁴	Yok
<i>Giardia intestinalis</i>	Yüksek	1 hafta ile bir ay arası	> 30 dk.	> 10 ⁴	Var
<i>Naegleria fowleri</i>	Yüksek	Değişken olabilir	Genellikle < 1 dk.	10 ² -10 ⁴	Yok
<i>Toxoplasma gondii</i>	Yüksek	1 aydan fazla	> 30 dk.	> 10⁴	Var

2005 yılında yürürlüğe giren İTASHY’te değişiklik yapılmasına dair yönetmelik Sağlık Bakanlığı (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu)’nın 7 Mart 2013 Perşembe tarih ve 28580 sayılı Resmi Gazetede yayınlanmıştır. Yeni yönetmeliğe göre içme ve içme-kullanma sularında aranan mikrobiyolojik parametreler ise Çizelge 1.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. İTASHY’ e Esaslarına Göre İçme ve Kullanma Sularında Aranılan Mikrobiyolojik Parametreler (Anonim 2013)

Parametre	Parametrik değer sayı/ml
<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	0/250 ml
Enterokok	0/250 ml
Koliform bakteri	0/250 ml
<i>P. aeruginosa</i>	0/250 ml
Anaerob sporlu sülfite redükte eden bakteriler	0/50 ml
Patojen Stafilokoklar	0/100 ml
Kaynaktan alınan numunede maksimum:	
22 °C’de koloni sayımı	20/ml
37 °C’de koloni sayımı	5/ml
İmlâhanede ambalajlandıktan sonra alınan numunede;	100/ml
22 °C’de koloni sayımı	20/ml
37 °C’de koloni sayımı	
Piyasada satılan ambalajlı sulardan alınan numunede maksimum:	İmlâhane için belirlenen sınır değerinin on katını geçemez.
22 °C’de koloni sayımı	
37 °C’de koloni sayımı	
Parazitler	0/5L

Ülkemizde kullanılan diğer bir standart SKKY kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre su kalite kriterleri Çizelge 1.3’te verilmiştir (Anonim 2004).

Çizelge 1.3. Kıta İçi Su Kaynaklarının Sınıflarına Göre Kalite Kriterleri (Anonim 2004)

Bakteriyolojik	Su Kalite Sınıfları			
	I	II	III	IV
Su Kalite Parametreleri				
Fekal koliform (EMS/100ml)	10	200	2000	>2000
Toplam koliform (EMS/100ml)	100	20000	100000	>100000

Ayrıca Orman ve Su İşleri Bakanlığı’nın 30 Kasım 2012 tarih ve 28483 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe giren açık deniz haricindeki bütün yüzeysel sular ile kıyı ve geçiş sularını kapsayan Yüzeysel Su Kalite Yönetimi Yönetmeliği (YSKYY) esaslarına göre “atık suların alıcı ortama deşarj standartlarının alıcı

ortamdaki çevresel kalite standartları dikkate alınarak belirlenmesi esastır'' ibaresi yer almaktadır.

YSKYY'nin tanımına göre kıyı suları Türkiye kıyılarının en dış uç noktalarından çizilen düz esas hattan itibaren deniz tarafına doğru bir deniz mili (1.852m) mesafeye kadar uzanan suları ve bunların deniz tabanı ve altını, geçiş suları ise nehir ağızları civarındaki, kıyı sularına yakın olmaları ancak aynı zamanda tatlı su akıntularından önemli ölçüde etkilenmeleri neticesinde kısmen tuzlu olma özelliğine sahip yüzeysel su kütlelerini ifade etmektedir.

YSKYY'ye göre yüzeysel suların sınıflandırılması ekolojik ve kimyasal durumun ortak değerlendirilmesiyle yapılır. Değerlendirmede ele alınan konular EK 1.' de gösterilmiştir. (Anonim 2012).

YSKYY'ye göre Kıtaıçi Yüzeysel Su Kaynaklarının Sınıflarına Göre Kalite Kriterleri EK 2.' de, Rekreasyon Maksadıyla Kullanılan Kıyı ve Geçiş Sularının Sağlaması Gereken Standart Değerleri EK 3' te gösterilmiştir (Anonim 2012).

Türkiye içme suyu standartlarında ve İTASHY'nin hükümlerine göre, içme sularında parazitlerin sıfır olması istenmektedir; ancak kıtaıçi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterlerinde ve YSKYY esaslarında, su kökenli mikroorganizmalardan bahsedilmesine rağmen, su kökenli parazitlerin varlığı hakkında herhangi bir bilgi mevcut değildir.

1.3. Su Kirliliği ve Halk Sağlığı

Hayatımızın vazgeçilmezi olan su, taşıyabildiği çözünmüş veya çözünmemiş inorganik tuzlar, bakteriler, parazitler, virüsler ve bitkisel maddelerle birçok hastalığa neden olurlar. Buna bağlı olarak dünyadaki tüm hastalıkların %50'si sularla ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır (Ardıç 2007).

İnsan vücudunun %50'den fazlası sudur. İnsanın günlük su ihtiyacı 1.5-2 litre olup diğer ihtiyaçları için kullandıkları su ile birlikte kişi başına düşen ortalama olarak günlük su tüketimi ise yaklaşık 200 litredir (Gülmezoğlu 1980, Birol 1981). Suyun bu kadar geniş bir şekilde kullanımı bazı hastalıkların ortaya çıkmasına ve yayılmasına neden olmaktadır (Yücel 1979).

Su, mikropları sindirim sistemi yoluyla vücuda giren hastalıklarda ve birçok enfeksiyonlarda önemli bir bulaş yoludur. Ancak suyun bulaştırma özelliği olabilmesi için patojen etkenlerin su içinde yaşamlarını devam ettirebilecekleri az veya çok miktarda bulunması gerekir (Yumuturuğ 1988).

İnsanlarda gerçekleşen sindirim enfeksiyonlarının %35'inin patojenlerle kontamine sular nedeniyle meydana geldiği belirtilmiştir (MacKenzie ve ark. 1995).

Su kökenli protozoonlar *Cryptosporidium. parvum*, *Giardia intestinalis* ve *T. gondii* insan sağlığını tehdit eden hastalıklara neden olmaktadır. *C. parvum* kriptosporidiosis, *G. intestinalis* giardiasis ve *T. gondii* toxoplasmosis hastalıklarına sebep olmaktadır (Usluer 2004)

Dünyadaki mevcut su salgınları incelendiğinde; 1920'den 1936'ya kadar 16 sene içinde Amerika Birleşik Devletlerinde 412 su epidemisi olmuş 116.000 şahıs hastalanmış 955'i ölmüş; 1938 de 21'i gastroenterit, 17'si tifo, 8'i basilli dizanteri olmak üzere 46 su epidemisi olmuş ve 5.600 kişi hastalanmıştır. 1956 da Mısır'da aşağı Nil vadisinde meydana gelen kolera su epidemisi ise 20 462 kişinin ölümüne sebep olmuştur. Kanada'da 183.000 nüfusu olan Edmonton, Alberto'da 1952'de 95 ve 1853'te haftada 10-38 vaka olmak üzere 322 polio vakası bildirilmiştir. Bu epidemiler 1927'den beri görülen en yüksek polio su epidemisidir (Yumuturuğ 1988).

1987'de Carrollton Batı Georgia'da yaklaşık 13.000 kişinin *Cryptosporidium* spp. salgınından etkilendiği belirtilmiştir İçme suyu kriterleri o günün standart değerler arasında gözükmesine rağmen; gaitası incelenen 489 kişinin %61'inde pozitiflik saptandığını, alternatif içme suyu kullanan 322 kişinin ise %20'sinde *Cryptosporidium* spp. 'nin tespit edildiği belirtilmiştir (Dietz ve ark. 2000).

1993 yılında Amerika Milwaukee şehrinde yaşayan insanlarda akut ishalin 403.000 vakayı kapsadığı bildirilmiştir. Bu vakaların nedeni su arıtma tesisindeki *Cryptosporidium* spp. kontaminasyonuna bağlanmıştır. Bu salgının filtrasyon işleminin yetersiz kalmasından meydana geldiği bildirilmiştir (Fayer ve ark. 2000).

2001 yılında İrlanda Cumhuriyeti'nde Midland Sağlık Kurulu Halk Sağlığı ve Planlama Bölümünün laboratuvarı tarafından bildirilen *Cryptosporidium* vaka sayısında artış olmuştur. Bölgenin ağırlıklı tarım arazileri ile çevrili olması, su dağıtım sisteminden ve kirli göl suyundan alınan numuneler laboratuvarında değerlendirilmiştir. Buna bağlı olarak Kriptosporidiosis salgınının su ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Jennings ve Rhatigan 2002).

Mons ve ark. (2009) tarafından Paris ve çevresinde içme suyu kaynağı olarak kullanılmakta olan Seine ve Marne ırmak sularının protozoonlar ile kontamine olduğu bulunmuştur. Bu kontaminasyonun *Cryptosporidium* ookistiyle %45.7 *Giardia* kistleriyle %93.8 oranında olduğu belirlenmiştir.

Türkiye'de de su epidemileri meydana gelmektedir. 1956'da görülen Manisa köylerinde 96, Polatlı'da 87 tifo vakası su epidemilerine örnektir (Yumuturuğ 1988).

Ülkemizdeki su salgınlarının tespiti için yapılan çalışmalara bakıldığında; Aysal (2004), Isparta'da çeşitli su kaynakları üzerinde yaptığı çalışmada %15 *C. parvum*, %20 *G. intestinalis* tespit etmiştir. Çeber ve ark. (2005) tarafından Mersin ilinde içme suyu, kullanma suyu, atık su ve deniz sularındaki *Cryptosporidium* spp. ookistlerinin varlığı tespit edilmiştir. İçme suyunun kontaminasyon oranı %11.36, atık suların %21 ve deniz suyu örneklerinin %2.85 inde *Cryptosporidium* ookistine rastlanmıştır. Yine Mersin ilinde Otağ ve ark. (2007) tarafından içme sularında yapılan bir çalışma ile suları kirli olan okuldaki 4 öğrencide enfeksiyona rastlanırken, suları temiz olan okullardaki çocuklarda enfeksiyon belirlenmemiştir.

Son yıllarda *Cryptosporidium* türleri üzerinde yapılan çalışmalarda; Ordu ilinden alınan çevresel su örneklerinin %25.7'sinde (Kolören ve ark. 2011), Amasya'da %78 oranında (Kolören ve Delioğlu 2011), Sinopta %79.31 oranında (Kolören ve ark. 2013), Ordu ili Melet ırmağı'ndan alınan su örneklerinde (Kolören ve Demirel 2013a) ve Erzurum ilindeki çalışmasında ise içme sularında %15 oranında *Cryptosporidium* spp. saptanmıştır (Yılmaz ve ark. 2013).

Benzer olarak suda yapılan çalışmalarda Ordu ili Melet ırmağı'ndan alınan su örneklerinde (Seferoğlu ve Kolören 2012), Yeşilırmak nehri ve Tersakan çayında (Kolören ve ark. 2012) ve Giresun ilinde *G. İntestinalis* yaygınlığını tespit edilmiştir (Seferoğlu ve ark. 2013).

Karaman ve ark. (2013a, 2013b), tarafından Giresun ve Samsun illerinden alınan su örneklerinde su kökenli parazitlerin genel dağılımına bakıldığında bu iki bölgede *Cryptosporidium* spp. *Cyclospora* spp. *Strongyloides*, *Microsporidia*, *Blastocystis*, kancalı kurt ve *Giardia* spp. türlerine rastlanılmıştır

Demirel ve Kolören (2012), Ordu ili Melet ırmağı'nda, Kolören ve Demirel (2013b), Amasya ilinde %40 oranında *T.gondii*'nin varlığını göstermişlerdir. Bu tezin ön çalışmalarında da Demirel ve ark. (2013), Giresun ilinden alınan çevresel sularda %10.41 oranında, Kolören ve Demirel (2013c) Ordu ilinde %35.7 oranında *T.gondii* tespit etmişlerdir.

Suyun hayatımızdaki önemi, su kirliliği ve bu kirliliğin önlenmesi gibi nedenler dikkate alınarak; Ordu ve Giresun il ve ilçelerinden alınan yüzeysel ve içme suyu örneklerinde *T. gondii*'nin İlmiğe Dayalı İzotermal Amplifikasyon (LAMP), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Nested PZR kullanılarak tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Ulaşılan kaynak bilgilerde araştırma bölgesinde ki sularda *T. gondii*'nin varlığı hakkında Kolören ve Demirel (2013c) ile Demirel ve ark. (2013) dışında herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma Karadeniz Bölgesinde su kökenli protozoon *T. gondii*'nin tespitinde yapılan çalışmalardan biri olması nedeniyle önemlidir. Aynı zamanda hem halk sağlığını koruma hem de bu alanda daha sonra yapılması planlanan çalışmalar için temel oluşturması da çalışmanın önemini arttırmaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. *Toxoplasma gondii*'nin Tarihçesi

T. gondii ilk defa bir kuzey Afrika kemirgeni olan *Ctenodactylus gundi*'den, Nicole ve Manceaux tarafından 1908'te izole edilmiştir (Ashburn ve ark. 1992, Garcia ve Bruckner 1993).

Merdivenci (1981) ve Montaya ve ark (2000)'nin bildirdiğine göre; 1923 yılında Prag'da Janku tarafından 11 aylık bir bebekte ilk insan vakası (oküler toxoplasmosis), 1937'de ise intrauterin bulaş ve yeni doğanda ensefalit yaptığı Wolf ve Cowen tarafından bildirilmiştir. 1939 yılında A.B. Sabin tarafından hayvanlarda saptanan *Toxoplasma* enfeksiyonlarının yalnız tek tür olan *T. gondii* ile meydana geldiği, 1940'da Pinkerton ve Weinmann tarafından erişkinde ölümcül seyredildiği gösterilmiştir. 1945'de Kean ve Grocott tarafından asemptomatik kişilerde *T. gondii* kistleri, 1949'da, A. B. Sabin ve H. A. Feldman tarafından toxoplasmosis erken tanısı için, duyarlı ve spesifik olan bir immünolojik testin (dye-test) uygulamaya başlandığını belirtilmişlerdir. 1953'de Eyles ve Summers, sülfodiazine ile pyrimethamine'nin birlikte alındığında toxoplasmosis tedavisinde etkili olduğunu bulmuştur. 1959'da Beverley, farelerde tekrarlayan konjenital bulaşı tespit etmiştir. 1960'da Jacobs, Remington ve Melton enfekte hayvan etinin, toxoplasmosis de bulaşma kaynağı olabileceğini, 1970'de Frenkel ve arkadaşları son konağın kedigiller olduğunu bildirmişlerdir.

Hökelek'in (2006) bildirdiğine göre; Ülkemizde ilk kez 1950'de Akçay ve arkadaşları tarafından bir köpekte, 1953 yılında Unat ve arkadaşları tarafından insanda gösterilmiştir. Bu parazit Türkiye'de 1973 yılında Ekmen ve Altıntaş tarafından Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında bir köpekten izole edilmiştir.

2.2. *T. gondii*'nin Taksonomisi

Sınıflandırma yönünden birçok değişikliğe uğrayan *T.gondii*'nin son sınıflandırmadaki yeri aşağıdaki gibidir (Hökelek 2006).

Subregnum: Protozoa

Phylum: Apicomplexa

Subclassis: Coccidia

Ordo: Eucoccidia

Subordo: Eimerida

Family: Sarcocystidae

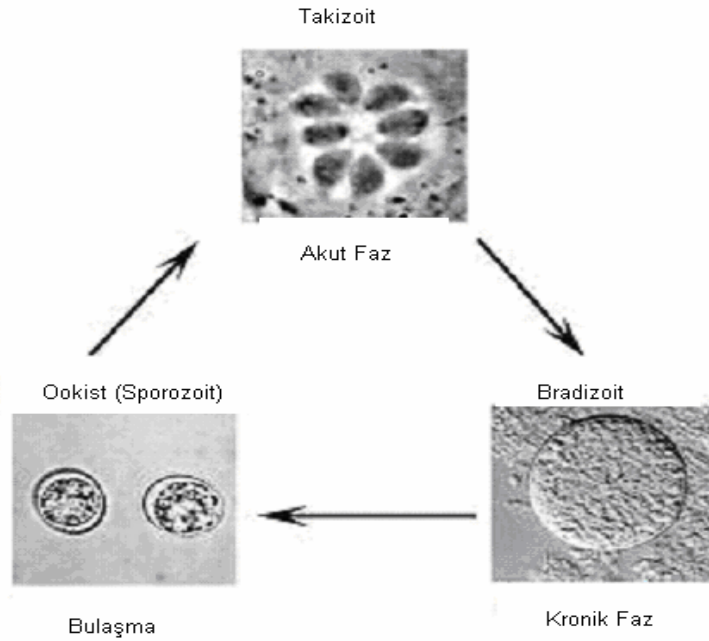
Subfamily: Toxoplasmatidae

Genus: *Toxoplasma*

Species: *Toxoplasma gondii*

2.3. *T. gondii*'nin Morfolojisi

Parazitin konak türüne ve enfeksiyon dönemine göre değişen 3 ayrı yaşam formu vardır: trofozoid, bradizoid ve ookist (Töre ve ark. 2002). Bu formlar parazitin çeşitli yaşam dönemlerinde birbirlerine dönüşerek döngüyü tamamlamaktadırlar (Beaman ve ark. 1995, Yaman 2007). *T. gondii*'nin 3 formu ve bu formların birbirine dönüşümü Şekil 2.1'de gösterilmektedir.

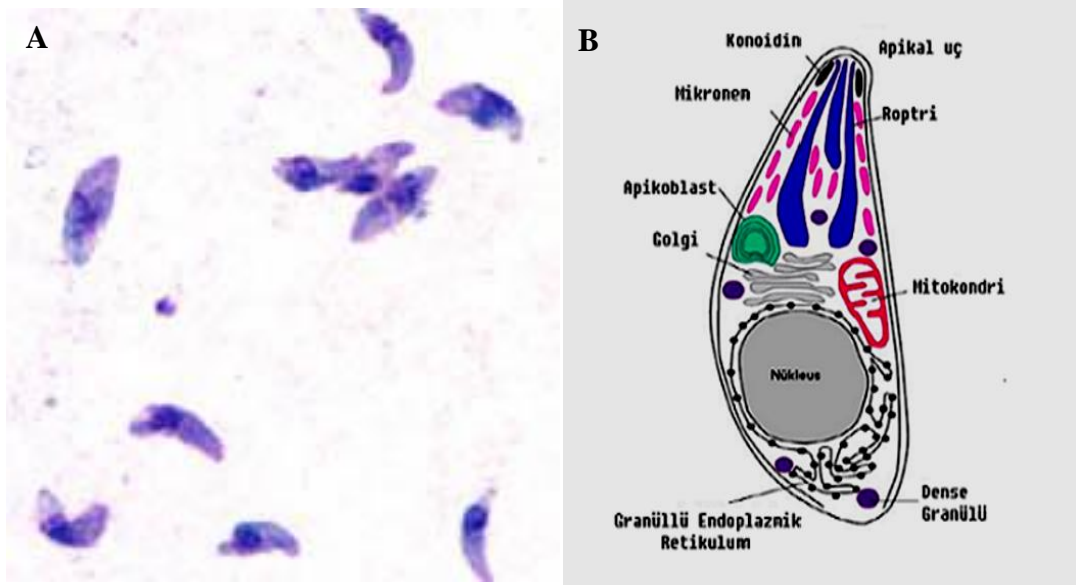


Şekil 2.1. *T. gondii*'nin üç biyolojik formunun birbirine dönüşmesi (Yaman 2007)

Trofozoit (Endozoit): Takizoit form, parazitin hızlı çoğalma gösteren invaziv formudur. Boyu 4-8 µm ve eni 2-4 µm büyüklüğündedir. Direkt mikroskopide ve boyamalarda karakteristik muz ya da portakal dilimi şeklinde görülmektedir. Hareketini kayma ve burkulma ile sağlamaktadır (Nichols ve Chippinno 1987). Başta nöronlar olmak üzere mikroglia, endotel hücreler, karaciğer ve parankima hücreleri, akciğer ve bez epitelyum hücreleri, kalp ve iskelet kası hücreleri, lökositler gibi pek çok hücrede bulunan ve çoğalan ve enfeksiyonun başlangıcında görülen formdur (Canpolat 2005). Takizoit ara konakların hücrelerinde bulunur ve bu form endodiyogeni ile çoğalmaktadır. Endodiyogeni ile çoğalmada, etken hücreye girdikten sonra 90 saniye kadar hareketsiz kalmakta, ardından hücre çekirdeğine yakın bir noktaya yerleşmektedir. Parazitofor vakuol yapısı içinde önce sivrilğini kaybedip yuvarlaklaşmakta ve boyutları büyümektedir. Bir süre sonra orta hattan dikine ikiye bölünerek endodiyogeni tamamlanmaktadır. Takizoit çifti uzun bir süre karakteristik V şeklinde yapışık kalmakta ancak çekirdek bölünmesini takiben tamamen ayrılmaktadır. Tüm bu işlemler 45 dakika kadar sürmektedir. Bir hücreyi invaze eden birden fazla takizoit bölünerek hücre içinde yelpaze ya da rozet formasyonu biçiminde dizilim göstermektedirler (Akısü ve Budak 1998).

Takizoit formu, hastalığın akut döneminde görülmekte olup hızla üreme yeteneğindedir. Hücre içine girdikten sonra bir vakuole yerleşir ve endodiyogeni adı verilen ikiye bölünme ile çoğalarak, konak hücreyi doldurur, eritir ve ortama dökülerek yeni hücreleri enfekte eder veya doku kisti oluşturur (Kılıçturgay ve ark. 1996). Parazitin çoğalması sonucunda konak hücre takizoitlerle dolar; bu döneme yalancı kist denir. Çünkü parazitlerin etrafı konak tarafından bir vakuolle çevrilmiştir. Yalancı kist içindeki takizoitler periyodik asit schiff (PAS) boyası ile zayıf pozitif reaksiyon verirler (Saygı 2002). Kedigillerde yapılan araştırmalarda, bunların dışkılarında bulunan ve ayrımı kolay olmayan başka ookistlerle *T. gondii* ookistleri karıştırılmamalıdır (Unat 1995).

T. gondii trofozoitleri Giemsa veya Wright boyası ile iyi boyanmaktadır. Giemsa yöntemiyle boyanan preparatlarda sitoplazma soluk mavi, kromatin koyu kırmızı menekşe renginde gözükür. Çekirdek yuvarlak veya söbemsidir. Parazit, içinde iki yavru şekil geliştikçe eni artar ve yuvarlak bir hal alır (Taşan 2008) (Şekil 2.2. A).



Şekil 2.2. A. Giemsa ile boyalı *T. gondii* trofozoiti (Anonim 2013d)
B. *T. gondii* trofozotinin genel görüntüsü (Doğan 2006)

Apicomplexa şubesi parazitleri elektron mikroskobu ile görülebilen apikal kompleksinin varlığı ile karakteristiktir. Apikal kompleksinde dışta bir zar (pelikül), golgi aygıtı, endoplazmik retikulum, mitokondri, mikropor, çekirdek, en önde konoid halkası, sarmal halka, tepe halkası roptri ve mikronemler bulunmaktadır (Şekil 2.2. B). Apikal kompleks kesin kanıtlanmış olmamakla beraber parazitin konak hücreyi tanınmasında, ona tutunmasında, konak hücreye girişinde ve hücre içinde parazitofor vakuolun organizasyonunda görev aldığı kabul edilmektedir (Hökelek 2006). *T. gondii* trofozoiti hemen her tip çekirdekli hücreyi istila edip, yaşamını sürdürebilir (Saygı 2002).

İnsanda süt, tükürük, idrar, seminal ve vaginal sıvılar ile gözyaşından izole edilmiştir. Trofozoitlerin bu sıvılarda 4–7 gün boyunca canlı kaldığı ve bulaş için 10 tane trofozoitin mukozayı geçmesinin yeterli olduğu gösterilmiştir (Unat 1979). Trofozoitler kuruluk, aşırı soğuk ve sığağa, mide asidine son derece dayanıksızdır. Fare periton eksudasında 40°C’de 48 saatte enfeksiyon yapma kabiliyetini yitirir (Kuman ve ark. 2002).

Bradizoit (Kistozoit, Doku Kisti): Takizoitlere karşı konak immunitesinin gelişmeye başlaması ile şekillenirler. Gerek çoğalmaları, gerekse yapıları bakımından takizoitlere benzerler. Ancak onlardan farkları, bölünmelerinin

(endodiyogeni) yavaş olması, çekirdeklerinin arka uca daha yakın olması ve sitoplazmalarında glikojen taneciklerinin takizoitlere göre daha çok bulunmasıdır. Bradizoitler 7x1.5 µm ebatlarındadır ve oluşturdukları doku kistleri içerisinde yer alırlar (Dumanlı 2002, Montaya ve Liesefeld 2004). Proteolitik enzimlere takizoitlerden daha dirençlidirler (Topçu ve ark. 1993). Bradizoitler konak vücudunda kistler içinde bulunurlar, bunlara doku kistleri adı da verilir. Bunlar toparlağımsıdır; 20-120 µm çapında ve duvarları esnektir (Taşan 2008) (Şekil 2.3.) Doku kistleri oluşumu bizzat parazit tarafından başlatılır, fakat bağışıklığın gelişmesi ile bu süreç hızlanır (Töre ve ark. 2002).

Doku kistleri enfeksiyonun seyri ve süresine bağlı olarak çok farklı büyüklüklerde oluşabilmektedir. En çok 100-200 µm büyüklüğü ulaşarak hücreyi şişirip, parçalar ve serbestleşen bradizoitler kan ve lenf yoluyla yayılıp yeni hücreleri enfekte ederler. Büyüklükleri değişik olan bu kistler içindeki bradizoit sayısı birkaç adet ile 10.000 adet arası değişebilmektedir. Bradizoitler Periyodik Asid-Schiff boyası (PAS), Wright-Giemsa, Gomori'nin methenammine silver ve immunoperoksidaz boyaları ile çok iyi boyanır. Doku kistleri hayvanlarda enfeksiyonun 8. günü gibi erken bir dönemde oluşabilir ve büyük olasılıkla konağın ömrü boyunca canlı kalır. Bradizoitlerin oluşturdukları doku kistlerine karşı bağışıklık gelişmez. Her organda yerleşebildikleri, ancak genellikle beyin, iskelet ve kalp kasını tercih ettikleri bildirilmektedir (Dumanlı 2002, Montaya ve Liesefeld 2004).



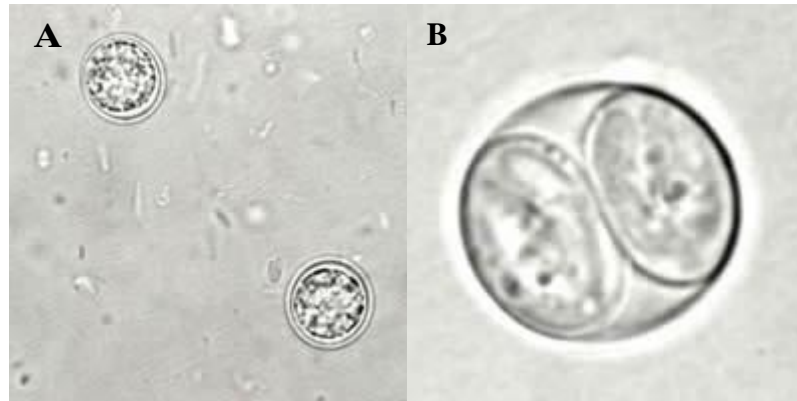
Şekil 2. 3. *T. gondii* doku kistinin genel görüntüsü (Anonim 2013e, Yaman 2007)

Ookistler: Bradizoit ve takizoitler son konak olan kedi de dahil, bu parazitte enfekte olabilen bütün canlılarda bulunur. Parazitin yalnızca kedigillerde bulunan bu formu

10×12 µm boyutlarında, oval şekilli olup kalın ve dayanıklı duvara sahiptir (Kılıçturgay ve ark. 1996, Topçu ve ark. 1996, Serter ve ark. 1999). (Şekil 2.4. A)

Kedigiller doğal koşullarda, parazitin ookist ve doku kisti şekilleri ile ağız yolundan enfekte olurlar. Ookist formu son konak olan kedigillerin bağırsaklarında epitel hücrelerine yerleşen ve parazitin eşeyli çoğalmasından sorumlu olan yapıdır. Kedigillerin bağırsaklarında epitel hücrelerinde önce şizogonik bir çoğalma, ardından gametogonik çoğalma görülmekte, makrogametosit ve mikrogametosit meydana gelmektedir. Bu yapılar olgunlaşarak döllenme sonrasında zigotu oluşturacak makrogamet ve mikrogamete dönüşürler. Zigot yapısının içinde ookistler bulunmaktadır. Epitel hücrenin parçalanmasıyla bağırsak lümenine dökülen ookistler, dışkılamayla dış ortama atılmaktadırlar. Parazitin doğadaki evrimi omurgalılarla kedigiller arasında gelişir (Topçu ve ark. 1996). Dış ortama atılan ookistler, sporogoni dönemi geçirerek diğer hayvanların ve insanların enfeksiyonuna yol açan enfektif formları oluştururlar (Balows ve ark. 1991, Mandell ve ark. 1990, Berktaş ve ark. 1997) (Şekil 2.4. B).

T. gondii ile enfekte fare ile beslenen evcil kedilerin milyonlarca ookist döktüğü belirtilmiştir (Dubey ve Frankel 1972). Bir bradizoit ile beslenen farelerin ookist dökmesi parazitin tekrarlayıcı potansiyelinin yüksek olduğunu göstermiştir (Dubey 2001). Enfekte kedilerin 3 haftadan kısa sürede ookist döktüğü, ilk ookist atımından sonra kedilerin iyi bağışıklık kazandığı bildirilmiştir. Herhangi bir başka enfeksiyonun alınması, dengesiz beslenme ve immün sistemin zayıf düşmesi ookistlerin tekrar dökülmesine sebep olabilir (Dubey 1995).



Şekil 2.4. A. Sporlanmamış *T. gondii* ookisti B. Sporlanmış *T. gondii* ookisti (Taşan 2008)

Doğada yayılmış olan ookistler, başta otoburlar olmak üzere tüm vertebralılara, bu arada insana bulaşır. Sindirim kanalına gelen sporlanmış ookist açılır ve serbest kalan sporozoitler bağırsak epitelindeki ilk üremeden sonra parazitemi yaparak tüm vücuda yayılır. Akut toxoplasmosisin geliştiği bu dönemden sonra doku kistleri oluşur ve parazit dormant hale geçer. Kediler, doku kisti içeren etleri (kuş, fare, otobur) yediklerinde, aldıkları doku kistleri barsakta açılır ve sonuç olarak *T. gondii*'nin doğal yaşam siklusu devam eder (Töre ve Kılıçturgay 1992, Töre ve ark. 2002).

2.4. *T. gondii*'nin Yaşam Döngüsü

T. gondii'yi diğer protozoonlardan ayıran özellik, sahip olduğu 3 formun da hem son konağı hem de ara konakları için enfektif olmasıdır. Parazitin enfektif formlarından birinin ara konak veya son konak tarafından ağız yolu ile alınması sonucu enfeksiyon oluşmaktadır. Etkenler ara konakların çekirdeksiz hücreleri hariç tüm organ ve doku hücrelerinde çoğalırlar (Dumanlı 2002, Montaya ve Liesefeld 2004). Ookist içinde enfektif form sporozoitler, doku kisti içindeki enfektif form ise bradizoitlerdir (Bayrak 2004).

Parazitin sporogonik (seksüel çoğalma) çoğalması yalnızca kedigillerde (Felidae ailesinde) meydana gelmektedir. En önemli kesin konak kedidir. Kedi; fare, sıçan yiyerek *T. gondii*'nin herhangi bir şekli ile sindirim yolundan enfekte olduğunda parazit ince bağırsak epitel hücrelerine girer. Burada şizogoni (aseksüel çoğalma) sonucu ortalama 10–16 hatta 2–40 merozoit oluşur. Sporogoni (seksüel çoğalma) sonucu ookistler meydana gelir. Bu olayda önce 3–15 günde gamontlar ve daha sonra bunlardan makrogamet ve mikrogamet oluşur. Mikrogamet in makrogameti döllemesi ile zigot oluşur. Zigot, olgunlaşmamış ookistlere 4 günde dönüşüp önce bağırsak boşluğuna, buradan da dışkı ile dışarı atılır (Kuman ve ark. 2002).

T. gondii'nin hayat döngüsünde arakonak, sonkonak ve dış ortamdaki gelişmeler olmak üzere 3 tip gelişme tipi görülür (Şekil 2.5.).

2.4.1. *T. gondii*'nin Ara Konaktaki Gelişimi

Enfeksiyon parazitin bütün enfektif formlarının ağız yoluyla alınmasıyla meydana gelir. Parazit arakonakta sadece bağırsak epitelleri dışında yani ekstraenteroepitelial bir gelişme gösterir. Enfektif formlar ağız yoluyla alındıktan sonra bağırsakta serbest

kalan sporozoitler (veya bradizoitler ve takizoitler) bağırsak mukozasından geçerek önce mezenterial lenf yumrularına ve oradan da kan ve lenf yoluyla başlıca karaciğer, akciğer, dalak ve lenf yumruları ve diğer organlara gider. Bu organlarda değişik hücrelerin sitoplazmasında (eritrositler dışında diğer bütün hücreler) endodiyogeni ile birçok kez hızla çoğalır ve çok sayıda takizoit (endozoit) formları meydana gelir. Takizoitler ara konağın bütün dokularında ve vücut sıvılarında bulunur. Enfeksiyonun bu akut döneminde konakta parazite karşı immun yanıt gelişir. İmmün yanıtın oluşması ile takizoitler ortadan kaybolur ve daha sonra doku kistleri gelişir. Doku kistlerine genellikle beyin, kalp, iskelet kasları, göz ve daha az oranda diğer organ ve dokularda rastlanmaktadır. Protozoon kist içinde bradizoit (kistozoit) formunda endodiyogeni ile yavaş bir hızla çoğalır. Kistleri çapı 100-300 µm çapa kadar ulaşabilir ve içinde binlerce bradizoit bulunabilir. Arakonaklar kistlere karşı yok edici bir immun yanıt geliştiremediğinden doku kistleri birçok konakta uzun yıllar canlı kalabilmektedir. Arakonak olan sığırlarda ise belirli bir süre sonunda etkenler kireçlenerek ölmektedir (Dubey ve Beattie 1988)

2.4.2. *T. gondii*'nin Son Konaktaki Gelişimi

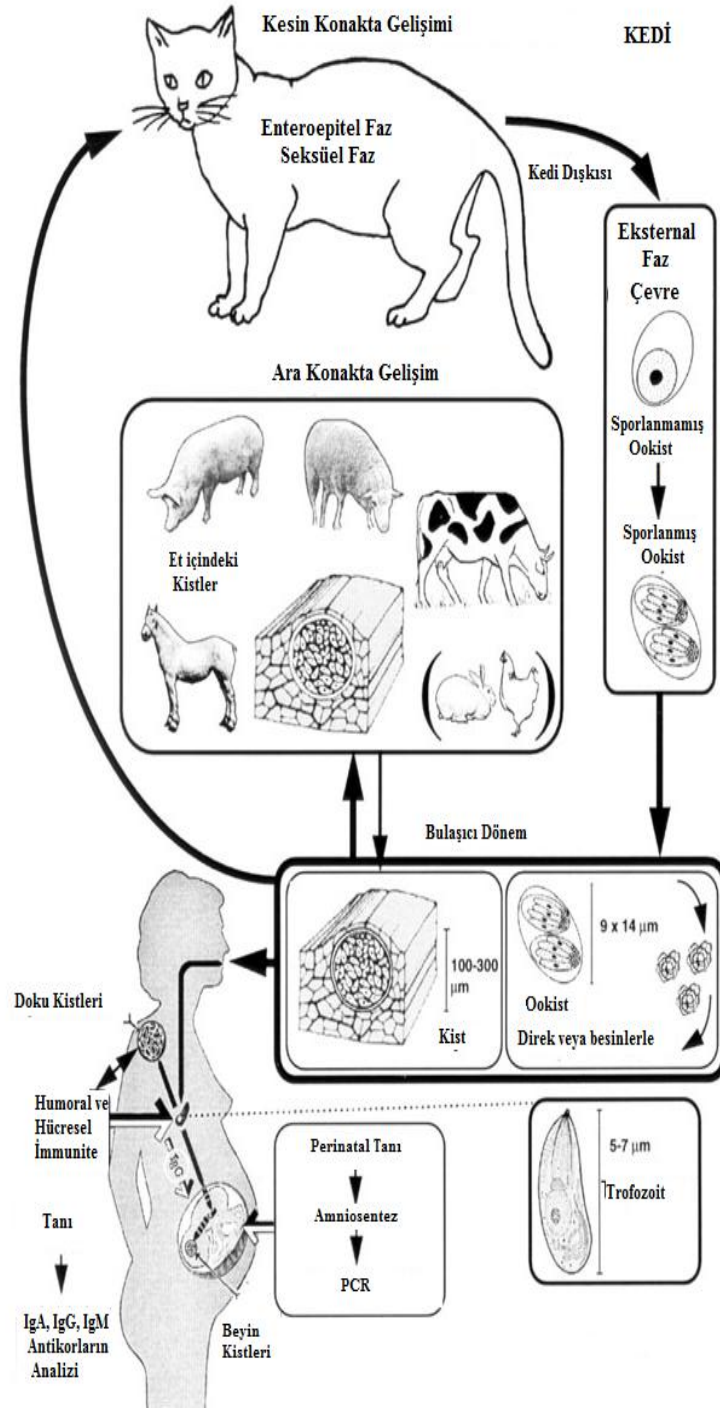
Son konak olan kediler için *T. gondii*'nin enfektif formları olan sporlanmış ookist, bradizoit ve takizoitlerin ağız yoluyla alınmasıyla enfeksiyon meydana gelir. Son konaklarda parazit bağırsak ve bağırsak dışı olmak üzere iki yerde gelişme geçirir. Bunlardan olan ekstraenteroepitelial gelişme şekli arakonaklarda olduğu gibidir. Diğer gelişme tipi olan enteroepitelial gelişme ise kedilerin ince bağırsak epitellerinde gelişir. Parazitler burada önce beş kez jejunumda şizogoni yoluyla eşeysiz bir çoğalma geçirir, bunu ileumda gametogoni-singami şeklinde bir eşeyli çoğalma takip eder. Oluşan ookistler dışkıyla dışarı atılır ve gelişmenin bağırsak dönemi tamamlanmış olur. *T. gondii*'nin prepatent süresi, sporlanmış ookistlerle oluşan enfeksiyonlarda 21-24 gün, takizoitlerle oluşan enfeksiyonda 9-11 gün ve bradizoitlerle oluşan enfeksiyonlarda ise 3-5 gündür (Dubey ve Beattie 1988, Tüzer ve Toparlık 1999, Dumanlı 2002).

2.4.3. *T. gondii*'nin Konak Dışındaki Gelişimi

Son konak olan kedigillerin dışkısıyla dışarı atılan sporlanmamış ookistler konak dışında sporogoni dönemini geçirirler. Ookist içinde sporogoni sonucu sporlanmış iki

sporokist içinde dörder sporozoit oluşur (Dubey 1994, Tüzer ve Toparlık 1999, Bayrak 2004). Sporulasyon süresi ortamın ısı ve oksijenine göre değişiklik gösterir. 24°C’de 2-3 gün, 15°C’de 8 gün, 11°C’de 14-21 gün sürdüğü, 4°C’nin altında ve 37°C’nin üstünde ise sporulasyonun oluşmadığı görülmüştür. Olgun ookistler nemli toprakta 18 ay canlı kalabilir. Kaynar suda 5 dakika tutulmaları veya %7’lik amonyak ile temasla ölmektedir (Dumanlı 2002, Montaya ve Liesefeld 2004).

Kedinin aldığı parazitin evrimini tamamlaması için geçen süre hayvanın aldığı parazitin formuna bağlıdır. Deneysel çalışmalar göstermiştir ki kedi, olgun kistleri sindirim yoluyla aldığımda 3 hafta, kist bulunan fareleri yediğinde 3-5 gün, takizoit bulunan fareleri yediğinde 10 gün sonra dışkısı ile ookist çıkarmaya başlar ve ookist atımı 1-2 hafta sürer. Aynı kedi *T. gondii*’yi tekrar sindirim yoluyla alsa da artık ookist çıkarmaz. Hareketli bir protozoon olan *T. gondii*, hücre içine girme yeteneğine sahip olup, bu amaçla bir madde salgılamaktadır (Taşan 2008).



Şekil 2.5. *T. gondii*'nin yaşam döngüsü (Canpolat 2005)

2.5.Toxoplasmosis

Hem trofozoit, hem doku kisti ve hem de ookist enfeksiyözüdür. Ancak enfeksiyonun yayılmasından sorumlu olan formlar doku kistleri ve ookistlerdir (Kılıçturgay ve ark. 1996). *T. gondii* kozmopolit bir dağılıma sahiptir, kedi bulunmayan bölgelerde de yaygındır (Saygı 2002). Yaygın olan bu bulaş yolu ile dış ortamda olgunlaşmış ookistlerle kirlenmiş yiyecek, içecek veya ellerle bu ookistlerin sindirim sistemine ulaşması ile enfeksiyon oluşmaktadır (Jones ve Dubey 2010). Kedilerin herkes tarafından bilinen dışkılama alışkanlıkları da ookistlerin direkt güneş ışığına maruz kalmasını, kurumasını önlediğinden, parazitin neslinin doğada devamına katkıda bulunmaktadır (Saygı 2002).

T. gondii'nin hücreye girişi bazılarında göre fagositozla, bazılarında göre ise salınan enzim etkisiyledir. Normal ve bağışık fare makrofajlarında ve fibroblastlarında bu durum incelenmiştir. Trofozoitlerin proliferasyonu, genellikle girdikleri hücrenin ölümü ile sonlanır ve şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonu ile çevrili nekroz odakları oluşur. Daha sonraki aşamada humoral ve hücre sel bağışıklığın gelişmesi akut enfeksiyonu geriletir ve parazitlerin çoğu harap olurken, doku kisti oluşturmuş olanlar konak savunmasından saklanarak yaşamaya devam ederler. Humoral bağışıklığın gelişmesinden sonra antikorla kaplı trofozoitlerin, Fc reseptörleri aracılığı ile makrofaj içine alındığı ve fagozom lizozom füzyonunun oluşması ile parazitin öldürüldüğü gösterilmiştir (Töre 1992).

Reenfeksiyonda, önceden oluşmuş bağışıklık nedeniyle kedi ookist çıkarmaz veya çok az sayıda ve kısa süreli ookist çıkarır. Diğer canlılar parazitin ara konağıdır. Ookistler doğal enfeksiyon zincirinin ilk halkasını oluşturursa da kemirgenler ve diğer hayvanlardaki karnivorizm doku kistleri aracılığı ile etkenin doğadaki devamını sağlar. İnsan enfeksiyonunda doku kisti içeren çiğ veya az pişmiş etler yanında, ookistlerle bulaşmış çiğ yenen salatalık, marul vb. gibi besinler önemli rol oynar (Topçu ve ark. 1996). Ayrıca, hamam böcekleri, karasinek gibi eklembacaklılar da, kedi dışkısında bulunan ookistlerin çevreye yayılmasını sağlar. İnsan Toxoplasmosis için kaynaklar şunlardır:

1. Dışkıları ile ookist atan kediler,
2. Parazitin takizoit ve bradizoitlerini içeren etler,

3. Vücudunda paraziti barındıran anne,
4. Toxoplasmosisli kişiden nakledilen doku.

Buna göre, insan Toxoplasmosise doğumdan önce (konjenital olarak) ve doğumdan sonra olmak üzere iki dönemde yakalanabilir (Saygı 2002).

Dünya üzerinde her bölgede toxoplasmosis görülmesine rağmen, değişik ülke ve toplumlarda seroprevalans açısından büyük farklılıklar bulunmaktadır. Bunun olası sebepleri arasında Fransa'da az pişmiş et yeme alışkanlığı gösterilirken, Orta Amerika ülkelerinde seroprevalans yüksekliğinin sebebi çiğ et yeme alışkanlığı dışındaki faktörlere bağlı olduğu vurgulanmaktadır (Gürüz ve Özcel 2007).

Toxoplasmosisin toplumdaki yaygınlığı %7 ile %94 arasında değişmektedir hatta bazı ileri yaş gruplarında %100'e ulaşmaktadır. Genelde yaş ilerledikçe seropozitiflik ve hücrel bağışıklık oranı yükselmektedir. El Salvador, Tahiti, Fransa gibi bölgelerde nüfusun yaklaşık %90'ında görülmektedir. Milyonlarca sağlıklı insan *T. gondii* ile enfekte olmaktadır. Fakat bunların sadece %10'unda hastalık görülmekte ve çok azında da ilerlemektedir. Genellikle belirtisiz ve sessizdir (Saygı 2002).

Besinlerdeki ookist veya doku kistleri yutulduktan sonra ince bağırsaklarda açılırlar. Serbest kalan bradizoitler önce intestinal mukoza epitelini enfekte ederler. Burada ilk üremesini gerçekleştirdikten sonra, trofozoitler kan dolaşımına karışarak tüm vücuda yayılırlar. Toksoplazma her tip hücreyi enfekte eder ve hücre invazyonu aktif olarak gerçekleşir (Dannemann ve ark. 1989, Kırağı 1997).

Akut enfeksiyonlu kişilerin sekresyonlarından trofozoitlerin izole edildiği bildirilmiştir. Transplasental yol insandan insana geçişin başlıca yoludur. Anneden fetüse enfeksiyonun geçişi, hemen daima annenin hamilelik sırasında enfekte olmasıyla mümkündür, fakat nadiren hamilelikten 6–8 hafta önceki sürede akut enfeksiyonu olan immün sistemi sağlam bir kadının da enfeksiyonu fetüse bulaştırabileceği bildirilmiştir (Kaleli ve ark. 1997, Montoya ve ark. 2000). Laboratuvar çalışanları da kaza sonucu enfekte olabilmektedir (Montoya ve ark. 2000, Kuman ve ark. 2002).

Trofozoitlerin proliferasyonu, genellikle girdikleri hücrenin ölümü ile sonlanır ve şiddetli mononükleer hücre infiltrasyonu ile çevrili nekroz odakları gelişir. Daha sonraki aşamada humoral cevap ve hücrel bağışıklığın gelişimi, akut enfeksiyonu

geriletir ve parazitlerin çoğu harap olurken bir kısım trofozoit, membranla kaplanmış kistler içinde toplanırlar. İnaktif olmalarına rağmen bu kistler içinde haftalar veya yıllar boyunca canlı kalabilirler. Genellikle sonuçta bu kistler bütünlüklerini kaybedip hyalin bir skar dokusu içinde hapsolür veya kalsifiye olurlar (Töre ve ark. 2002).

Enfeksiyon, özellikle immün yetmezliklilerde bazen de normal sağlıklı kişilerde ilerleyebilir ve nekrotizan ensefalit, pnömoni veya miyokardit gibi ölümcül tablolara dönüşebilir. Enfeksiyonun kendine özgü bir başka yönü de doku kistlerinin rüptürünün veya monosit ve makrofajlar içindeki canlı toksoplazmaların tekrarlayan parazitlenmeye ve enfeksiyonun kronikleşmesine neden olabilmesidir (Peterson ve ark. 1993, Töre ve ark. 2002).

Toxoplasmosis 4 ayrı klinik kategoride değerlendirilebilir.

- 1) İmmün sistemi sağlam kişilerde oluşan toxoplasmosis
- 2) İmmün yetmezlikli kişilerde oluşan toxoplasmosis
- 3) Oküler toxoplasmosis
- 4) Konjenital toxoplasmosis

Bu klinik kategorilerin hiç biri toxoplasmosis için spesifik değildir.

2.5.1. İmmün Sistemi Sağlam Kişilerde Oluşan Toxoplasmosis

Bu grupta yer alan hastaların %90'ı asemptomatik seyredir. Olguların öyküsünde toxoplasmosisle uyumlu bir ipucu bulunmaz. Semptomatik seyreden %10–20 kadar vakada kendiliğinden iyileşen, tedaviye gerek olmayan hastalık bulguları ortaya çıkar. En sık saptanan bulgu lenfadenopatidir (%90). Diğer belirti ve bulgular; subfebril ateş, bitkinlik, gece terlemesi boğaz ağrısı ve miyalji gibi gribal enfeksiyonu taklit edebilen belirtiler ve makülopapüler döküntü, hepatomegali ve splenomegalidir. Makülopapüler döküntü ile seyreden bazı olgularda olaya pnömoni de eşlik edebilir ve çok ağır seyirli olan bu olgular, başlangıçtan 2–4 hafta sonra davranış bozuklukları, dalgalılık gibi belirtiler göstererek ölümlü sonuçlanabilir. Klinik tabloya miyokardit, perikardit, hepatit, polimiyozit gibi patolojilerin de eklendiği olgular bildirilmiştir (Durdy 2008).

Nadiren sağlıklı görünen kişilerde, akut meningoensefalit tablosu oluşabilir. Tedavi edilmeyen olgular fatal seyredir veya tekrarlayan konvülsiyonlar ve kişilik

değişiklikleriyle kendini gösteren kalıcı beyin hasarı gibi sekeller kalabilir. Herhangi bir beyin hasarı olmaksızın iyileşen olgular da bildirilmiştir ve erken tanı ve tedavi ile prognoz oldukça iyidir (Montoya ve ark. 2000, Töre ve ark. 2002, Montoya ve Liensfeld 2004).

2.5.2. İmmün Yetmezlikli Kişilerde Oluşan Toxoplasmosis

İmmün yetmezliği olan veya çeşitli nedenlerle immün sistemi baskılanmış hastalarda toxoplasmosis, hayatı tehdit eden tablolarla karşımıza çıkabilmektedir. İmmün yetmezliği olanlarda en sık görülen akut toxoplasmosis olgusu merkezi sinir sistemi (MSS) ile ilgilidir. Diffüz tabiatta bir meningo ensafalitis gelişir. Yarı felç, felç, görme güçlüğü, bilinç kaybı, ateş ve ense sertliği gibi olgularda görülebilir. Hastalık birkaç günde ölüme biter. Ölümün %90'ı genellikle MSS'in enfekte olmasından ileri gelir. AIDS hastalarında görülen toxoplasmosisin %50'si MSS enfeksiyonlarıdır (Yılmaz ve Erensoy 2001, Montoya ve Liesefeld 2004). Bunun yanı sıra; malign hastalıklar (özellikle lenfomalar ve lösemiler), solid organ veya kemik iliği nakli veya kollagen vasküler hastalıklar nedeniyle immünoşüpresif tedavi alanlarda, ağır tablolara neden olabilmektedir. Ayrıca yeni doğanlar, retikuloendotelial sistem (RES) hastalığı olanlar, splenektomililer ve kompleman eksikliği olanlar da *T. gondii* ile ağır enfeksiyon riski altındadırlar. Her ne kadar immün yetmezlikli konaklar parazit ile ilk enfekte olduklarında akut hastalığa daha duyarlı ise de bu hastalardaki toxoplasmosisin sıklıkla latent enfeksiyonun reaktivasyonu sonucu oluştuğu bildirilmektedir. AIDS'li hastalardaki toxoplasmosis, çoğunlukla beyin, akciğer ve göz tutulumuyla seyredir. AIDS'li hastalardaki en sık toksoplazmik enfeksiyon şekli toksoplazmik ensefalittir. Kalp ve böbrek transplantasyonu yapılan olgularda, seronegatif hastaya seropozitif kişiye ait organın nakledilmesi sonucunda *Toksoplazma* ensefaliti meydana gelebilir (Durdu 2008).

Toksoplazmik ensefalit klinik belirti ve bulgular yönünden oldukça zengindir. Mental durum değişiklikleri, nöbetler, güçsüzlük, kranial sinir tutulumları, duyu anomalileri, serebellar bulgular, meninjizm bulguları, hareket bozuklukları ve nöropsikiyatrik belirtiler görülebilir, meninks tutulumu nadirdir. Ayırıcı tanıda, MSS lenfoması, beyin apsesi, sitomegalovirüs (CMV) ensefaliti akılda tutulmalıdır (Montoya ve ark. 2000, Töre ve ark. 2002, Montoya ve Liensfeld 2004).

2.5.3. Oküler Toxoplasmosis (Korioretinitis)

Doğum sonrası edinsel veya konjenital toxoplasmosise bağlı gelişebilir. Akut koryoretinite bağlı olarak görmeye bulanıklık, görme alanı kaybı, ağrı, fotofobi ve göz yaşarması meydana gelebilir. İmmün sistemi sağlam kişilerde edinsel toxoplasmosise bağlı gelişen oküler tutulumda, klinik seyir belirgindir ve semptomlar birkaç ay içinde kendiliğinden kaybolur. Konjenital toxoplasmosiste görülenden farklı olarak genellikle tek taraflıdır ve genellikle hayatın 4. ve 6. dekadları arasında görülür. Konjenital toxoplasmosis sonrası gelişen koryoretinit, hayatın 2. ve 3. dekadlarında bilateral tutulumla karşımıza çıkar. Enflamasyonun kaybolması ile birlikte görme düzelir ancak genellikle görme keskinliği eski haline gelmez. Tedaviden sonra tekrarlama oranı yüksektir. Toksoplazmik koryoretinitin ayırıcı tanısında tüberküloz, sifiliz, lepra ve oküler histoplazmoza bağlı posterior üveitler akılda tutulmalıdır (Töre ve ark. 2002).

2.5.4. Konjenital toxoplasmosis

Konjenital toxoplasmosiste, takizoitlerin enfekte anneden yavruya plasenta yoluyla geçmesi söz konusudur. Böyle bir durumda takizoitlerin yerleşim yerlerine bağlı olarak asemptomatik bir seyirden, ağır MSS belirtilerine kadar değişen bir spektrum gözlenir. Konjenital bulaşmanın, anne adayının hamilelik esnasında akut toxoplasmosise yakalandığı olgularda görüldüğü kabul edilmektedir (Yılmaz ve Erensoy 2001, Aktaş 2003, Montaya ve Liesefeld 2004).

Bulaşma gebeliğin hangi ayında gerçekleştiğine bağlı olarak da hamilelik, düşük, ölü doğum, belirtili ya da belirtisiz doğum şekillerinden biri ile sonlanmaktadır. İlk 3 aylık hamilelik döneminde enfeksiyonun fetusa bulaşma riski %5-15 iken 3-6 aylar arasındaki hamilelik döneminde %25 ve 6-9 aylar arasındaki hamilelik döneminde %40-60 olarak belirlenmiştir. Konjenital bulaşmanın oluşturacağı belirtilerin şiddeti annenin enfeksiyonu gebeliğinin hangi döneminde aldığı ile bağlantılıdır. Hamileliğin ilk 3 aylık döneminde genellikle ölü doğum ve düşüklere neden olmaktadır. Pek çok klinik olgu hamileliğin ikinci ve üçüncü 3 aylık dönemlerinde ortaya çıkmaktadır (Yılmaz ve Erensoy 2001, Aktaş 2003, Montaya ve Liesefeld 2004). Bu dönemlerde görülen klinik belirtiler ise başlıca, retinokoroidit,

hidrosefalus, mikrosefali, serebral kalsifikasyonlar, nöbetler, organamegali, döküntü ve ateştir (Güngör ve ark. 2001, Yılmaz ve Erensoy 2001).

Konjenital toxoplasmosis, gebelik esnasında veya gebelikten önceki 6–8 hafta içinde akut enfeksiyon geçiren annelerin çocuklarında gelişen klinik tablodur. İmmün yetmezliği olan ve kronik olarak enfekte annelerin çocuklarında da gelişebilir. Annede oluşan parazitemi sırasında transplasental olarak hematogen yolla fetüse bulaşır. Gebelik haftası arttıkça fetüste konjenital enfeksiyon riski artmasına rağmen, oluşan patolojilerin şiddeti azalmaktadır. Annenin tedavi edilmesi durumunda konjenital enfeksiyon gelişme riski %60 oranında azalmaktadır. Erken tedavi edilmeyen vakaların %85’inde gelişme geriliği veya ileri yaşlarda koryoretinit gelişmektedir. Epilepsi, psikomotor veya mental gerilik doğumdan haftalar bazen de aylar hatta yıllar sonra ortaya çıkabilir. Hastaların yaklaşık %75’i doğumda asemptomatiktir. Yeni doğanda hastalık tespit edildiğinde; hidrosefali, intrakranial kalsifikasyonlar, koryoretinit, ateş, hipotermi, kusma, anemi, sarılık, döküntü, trombositopeniye bağlı peteşiler, ensefalit, pnömoni, mikrosefali ve sağırılık bulgularına rastlanabilir (Kaleli ve ark. 1997, Montoya ve ark. 2000, Töre ve ark. 2002, Montoya ve Liensfeld 2004).

2.6. Epidemiyolojisi

T. gondii dünyada sık görülen bir protozoon parazittir. Doğal ortamda ookistlerin kedigiller tarafından serbestçe yayılması tüm canlıları toxoplasmosis açısından risk altına sokmaktadır. Etkeni barındıran kedigil bunu dikey olarak yavrusuna da geçirebilmekte ve böylece *T. gondii*’yi yayma potansiyeli kuşaktan kuşağa aktarılabilir (Beaman ve ark. 1995, Yaman 2007).

T. gondii, yaşam tarzı, alışkanlıklar ve geleneklere göre ülkeler arasında çok değişik seroprevalans değerleri göstermektedir. Farklı ülkelerdeki insanlarda toxoplasma prevalansı %4-77 arasında değiştiği bildirilmiştir. İnsanlardaki seroprevalansın, Avrupa ülkelerinden Hırvatistan, Polonya, Slovenya, Avustralya, Avusturya, Belçika, Fransa, Almanya ve İsviçre’de %37-58 arasında olduğu bildirilmektedir. Latin Amerika ülkelerinden; Brezilya, Arjantin, Küba, Jamaika, Venezüella ve Batı Afrika ülkelerinden Gine, Kongo ve Togo’da seroprevalans %54-77 düzeylerinde bulunmuştur. Güney Asya ülkelerinden Çin ve Kore ile İskandinav ülkelerinde ise

seroprevalans %4-39 arası düzeylerde tespit edilmiştir (Kuman ve ark. 1995, Tenter ve ark. 2000, Peterson ve ark. 2001, Akarsu ve Tekeli 2002, Kooper ve ark. 2004 Montaya ve Liesefeld 2004). Yunanistan da yapılan bir çalışmada son 20 yıldaki sonuçlar değerlendirilmiştir. Yunanistan'da 1984 yılında %37 olarak tespit edilen IgG seroprevalansı, 1997 yılında %29 ve 2004 yılında %24 olarak bildirilmiştir. Seroprevalanstaki bu düşüş eğilimini, ülkelerindeki sosyoekonomik düzeyin iyileşmesine bağlamışlardır (Diza ve ark. 2005).

T. gondii prevalansı dünyanın farklı coğrafyalarında kişilerin yaşam tarzlarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Çiğ ya da az pişmiş et ürünlerinin yenilebildiği yerlerde seropozitiflik %50'ler seviyesine ulaşmaktadır. Örneğin Alaska'da %28 prevalans değeri elde edilirken Panama'da %57 oranında pozitiflik saptanmıştır (Smith 1991). Fransa'da yapılan bir çalışmada, Paris'te yaşayan kadınlarda *T. gondii*'ye karşı oluşmuş antikordlarda %84 oranında pozitiflik olduğu ve bu değer Londra'da bulunan %32 değerinden daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Bu yüksek değer Fransa'da az pişmiş et yeme alışkanlığı olduğuna bağlanmıştır (Dubey ve Beattie 1988). Organ ve doku nakli sırasında meydana gelen bulaşmalarla ilgili olarak yapılmış çalışmalarda, bu bulaşın alıcının bağışıklık sistemi baskılandığı için klinik anlamda ortaya çıkacak belirtiler nedeniyle önemli olabileceği ancak epidemiyolojik olarak değerinin olmadığı belirtilmiştir (Yaman 2007).

Türkiye'de insanlarda ortalama prevalans %40 olarak kabul edilmekte olup yörelere göre farklılık göstermektedir. Örneğin; Edirne'de %33, Bursa'da %63, İzmir'de %52, Adana'da %48, Ankara'da %34, Sivas'ta %51, Isparta'da %30.6 ve Batman'da %78 olduğu bildirilmiştir (Demirci ve ark. 2001, Peterson ve ark. 2001, Akarsu ve Tekeli 2002).

T. gondii ve oluşturduğu enfeksiyon yurdumuzun hemen her bölgesinde, her yaş ve sosyoekonomik grupta, kadın ve erkeklerde yaygındır. Özellikle kadınlarda görülme oranı yaşla beraber artmaktadır. Bunun nedeni kadınların hem kendi dışkıları ile hem de bulaşıcı etlerle temas etme olasılığının yüksek oluşudur (Saygı 2002, Montaya ve Liesefeld 2004). Çiğ etlerle devamlı temasta olan kasaplar, mezbaha işçileri, hayvan bakıcıları ve veteriner hekimler enfeksiyona yakalanma riski fazla olan meslek

gruplarının başında gelmektedir (Sarnıç 1979, Saygı ve Altıntaş 1984, Gödekmerdan ve ark. 1999, Yıldız ve ark. 2000, Öztürk ve ark. 2002).

T. gondii'nin prevalans düzeyleri farklı hayvan türleri arasında değişiklik göstermektedir. Örneğin kedilerde %45.6, yabani kemirgen hayvanlarda %20-60, yabani kuşlarda %13.4-66.7 düzeylerinde olduğu bildirilmiştir (Webster 2001).

Hayvan ve hayvan ürünleriyle ilişkisi olan kişilerde ve hayvan kesimleriyle uğraşan işçilerde, toxoplasmosisin bulaşma riskinin arttığı, yaygınlık oranının aynı bölgede yaşayan ve yaşça aynı olan insanlara oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Gödekmerdan ve ark. 1999).

T. gondii enfeksiyonları yönünden risk grubu oluşturan mezbaha çalışanlarında toxoplasmosisin varlığının belirlenmesine yönelik Türkiye'de birçok araştırma yapılmıştır.

Diyarbakır'da mezbaha çalışanlarında Sabin Fieldman Testi (SFT) ile *T. gondii* seropozitifliği %41.43, kasaplarda %42.50, veteriner hekim ve hayvan sağlık memurlarında %33.33 oranında olduğu bildirilmiştir (Sarnıç 1979). Sivas'ta mezbaha çalışanlarında SFT ile toxoplasmosis seropozitifliği %51.8, IHA testi ile %46.2 oranında belirlenmiş, toxoplasmin cilt testi uygulanan 26 çalışmada %53.8 oranında seropozitiflik saptanmıştır (Saygı ve Altıntaş 1984).

Gödekmerdan ve ark. (1999), tarafından Elazığ yöresinde hayvancılıkla ilgili meslek gruplarında herhangi bir yakınması olmayan kasap, veteriner ve çiftçilerden oluşan 92 kişide ve kontrol grubu sağlıklı erişkin yaştaki 92 kan donöründe ELISA yöntemiyle *Toxoplasma* antikorları araştırılmıştır. Anti-*Toxoplasma* toplam antikor seropozitifliği; kasaplarda %66.3, veterinerlerde %53.2, çiftçilerde %72.8 ve kontrol grubunda ise %58.7 olarak saptanmıştır.

Kırıkkale mezbaha çalışanlarında %44.7 oranında seropozitiflik belirlenirken, kontrol grubu olarak seçilen kişilerde ise %13.3 oranında seropozitiflik saptanmıştır (Yıldız ve ark. 2000).

Bütün bu çalışmalar, *Toxoplasma* enfeksiyonunun seropozitifliğinin yaygın olduğunu, ülkeden ülkeye dolayısıyla ülke içerisinde yöreden yöreye değişiklik gösterebileceği

gibi, serolojik yöntem farklılıklarına göre de değişebileceği belirtilmektedir (Öz ve ark. 1995, Babür ve ark. 1996).

2.7. İmmünoloji

Toxoplasmosise karşı doğal ve kazanılmış olmak üzere iki temel bağışıklık söz konusudur. Doğal bağışıklık, bir canlının *T. gondii* ya da antijenleri ile karşılaşmadan ve ona karşı hiçbir aktif bağışıklık geliştirmeden parazitin yerleşmesine karşı belli bir direnç göstermesidir. Kazanılmış bağışıklıkta ise canlı, parazitin kendisi veya ürünleri ile yaşamının bir döneminde karşılaşmıştır. Bu karşılaşma sonucunda da vücudunda parazite karşı aktif savunma mekanizmaları oluşmuştur (Saygı 2002; Aktaş 2003).

2.7.1. Doğal Bağışıklık

Bu tip dirençte yaş faktörü önemlidir. *T. gondii* enfeksiyonuna karşı fetüs çok duyarlıyken ileri yaşlarda duyarlılık azalır. İleri yaşlarda parazit vücuda yerleşemez ya da vücuda yerleşebilen etkenler sessiz bir enfeksiyon oluşturur veya kendiliğinden iyileşme görülür. Bir diğer önemli nokta ise özgül olmayan hücresel bağışıklık mekanizmasının koruyucu rolüdür. Çünkü bağışıklık mekanizması bozulmuş olanlarda ve bağışıklığı baskılayıcı ilaç alanlarda *T. gondii*'nin kolayca yerleştiği, hatta ölümlere neden olduğu görülmüştür (Saygı 2002).

Erişkinlerde ve üç aydan büyüklerde IgM özelliğinde normal antikorlar gelişmektedir. Hücre aracılığıyla olan bağışıklığın işleyişini bozan durumlarda (bağışıklığı bastırıcı veya hücre zehirleyici ilaçlarla ve kortikosteroidlerle tedavi, Hodgkin hastalığı, AIDS) *T. gondii* fırsatçı bir parazittir. İmmün sistemi baskılayan durumlarda bulaş daha hızlı ve şiddetli olup gizli enfeksiyonlar ortaya çıkmakta ve hatta ölümle sonuçlanabilmektedir. Bu durum AIDS'de sık görülmektedir (Yiğit ve ark. 1996).

2.7.2. Kazanılmış Bağışıklık

T. gondii'nin vücutta yerleşmesine bağlı olarak enfekte kişilerde antikor yapımı görülür. Toxoplasmosiste bulaşmadan birkaç gün sonra IgM tipinde antikorlar oluşur. İki üç ay içinde en üst seviyeye ulaşır ve daha sonra titresini düşmeye başlar.

Bu nedenle yeni başlamış enfeksiyonun teşhisinde önemlidir. IgG tipi antikorlar geç olur, yavaş bir yükseliş sonra yavaş bir düşüş grafiği çizer. Yaşam boyu düşük bir titrede pozitif kaldığı sanılmaktadır. Toxoplasmosis ile enfekte kişilerde oluşan antikor titresi yüksek olsa da tek başına koruyucu değildir. Bu antikorlar pasif bağışıklıkta da etkisizdir. Buna karşın özgül hücresel bağışıklık toxoplasmosiste koruyucu bir fonksiyona sahiptir. Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda, hücresel bağışıklıkta rol oynayan duyarlı lenfositlerin nakli ile de hücresel bağışıklık aktarılabilmektedir (Saygı 2002).

2.8. Tanı

Toxoplasmosis tanısında yaklaşım hastanın immün durumu ile yakından ilgilidir. İmmün sistemi sağlam olan bireylerde toxoplasmosis tanısı genelde indirekt tanı teknikleri ile sağlanırken, immün sistemi baskılanmış olan hastalarda ise toxoplasmosis tanısında genelde direkt tanı teknikleri tercih edilmektedir. İndirekt tanı teknikleri serolojik testler yardımı ile toxoplasmosise karşı oluşan antikorların varlığını araştırırken, PZR, hibridizasyon, izolasyon ve histoloji gibi direkt tanı teknikleriyle parazitin kendisi veya parçalarının varlığı gösterilmeye çalışılır (Döşkaya 2006).

2.8.1. Direk Tanı Yöntemleri

2.8.1.1. *T. gondii* İzolasyonu

T. gondii'nin, hastanın doku örnekleri (kemik iliği, plasenta, beyin miyokard biyopsi örneği) veya vücut sıvısı örneklerinden (kan, amnion sıvısı, BOS, plevral mayii, idrar, vitröz sıvı) izolasyonu, akut enfeksiyon tanısı koydurur. Etkenin plasentadan izole edilmesiyle konjenital enfeksiyon tanısı konulabilir, ancak fetal dokulardan izole edilmesiyle kesin tanı konur. İzolasyon için alınan örnekler homojenize edilip filtreden geçirildikten sonra fare peritonuna inoküle edilirler. İnokülasyondan 6–10 gün sonra peritoneal sıvının incelenmesi ile etken gösterilir. Eğer fare ölürse inceleme erken yapılır. İnsanda patojen olan bazı *T. gondii* suşları farelerde avirulan olduğu için yaşamaya devam eden farelerde 6 hafta sonunda *Toxoplasma* antikor cevabı araştırılır ve antikor bulunursa kesin tanı için farenin beyin, karaciğer ve dalağında doku kistleri araştırılır. *Toxoplasma* izolasyonu için doku hücre kültürleri

de kullanılabilir. Bunların elde edilmesi daha kolaydır ve 3–6 gün gibi daha kısa sürede sonuç verirler; ancak duyarlılıkları daha düşüktür (Montoya ve ark. 2000, Töre ve ark. 2002, Montoya ve Liensfeld 2004).

2.8.1.2. Histolojik Tanı

Histolojik tanıda dokularda (beyin biyopsisi, kemik iliği aspirasyonu gibi) veya vücut sıvılarında (ventrikül sıvısı, BOS, humor aköz, balgam gibi) trofozoitlerin gösterilmesi akut toxoplasmosisi gösterir. Kistlerin görülmesi, kişinin toxoplasmosisli olduğunu göstermesine rağmen enfeksiyonun akut olup olmadığı hakkında yönlendirme yapamaz. Çünkü enfeksiyonun erken dönemlerinde de kistleşme oluşabileceğinden olay halen akut fazın içinde olabilir (Gürüz ve ark. 2000). Boyalı doku kistlerinde takizoitleri görmek zordur. Bu neden floresan antikor tekniği ve peroksidaz-antiperoksidaz tekniği ile daha kolay tanı konulabilir (Unat 1995).

2.8.2. İndirek Tanı Yöntemleri

İndirek tanı yöntemlerinde serolojik teknikler kullanılmaktadır. Sabin-Feldman boyama testi serolojik bir yöntem olarak toxoplasmosis tanısında altın standart kabul edilmektedir. Düzenli aralıklarla yapılması hastalığın içinde bulunduğu dönem hakkında bilgi vermektedir. Akut enfeksiyon sırasında ilk önce IgM antikorları yükselmektedir. Bu antikorlar 4 hafta içinde en yüksek seviyeye ulaştıktan sonra 6-8 aylık bir süreçte gerilemektedirler. IgG antikorları daha geç oluşmaya başlayıp 1-2 ay içinde en yüksek seviyelerine ulaşmaktadırlar (Altıntaş 2002). Testin temelinde, hasta serumunda bulunan antikorların kompleman varlığında canlı trofozoitleri nötralize ederek metilen mavisi ile boyanmalarını engellenmesi yer alır. Seri sulandırılmaları yapılan serumun titresi, boyayı alanlarla almayanların sayısına göre belirlenir. Boyanın ne kadar tutulduğuna gözle karar verildiği için değişik laboratuvarlarda farklı sonuçlar görülebilir. Canlı mikroorganizmaya gereksinim göstermesi ve ancak birkaç referans laboratuvarında bakılabilmesi nedeniyle yerini başka testlere bırakmaya başlamış bir yöntemdir (Unat 1995, Gürüz ve Korkmaz 1997, Töre ve ark. 2002).

Sabin- Feldman Testi (SFT) dışında indirekt hemaglutinasyon testi (IHA), İndirekt Floresans Antikor Testi (IFAT) ve Enzim Linked İmmunosorbent Assay (ELISA)

yöntemleride toxoplasmosis tanısında kullanılmaktadır. İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHAT), toksoplazmanın eriyebilen antijenleri, tannik asitle duyarlılaştırılmış koyun veya hindi alyuvarları toksoplazma antikorları içeren serumla karıştırıldığında alyuvarlar aglutine olur. SFT ve IFAT'a göre daha geç pozitifleştiği için gebelerde akut enfeksiyon tanısında kullanılmamalıdır. Yalancı negatif sonuçları nedeniyle konjenital toxoplasmosis tanısında da kullanılmamalıdır (Durdu 2008).

IFAT ise, SFT'ye çok yakın sonuçlar vermektedir. Ölü trofozoitler antijen olarak kullanılarak preparatlar hazırlanır. Bu nedenle SFT'den daha kolay, ucuz ve onun kadar güvenilirdir. Dye testi ile aynı antikorları ölçer, titreleri dye testine paraleldir. Bu testte ölü toksoplazmaların lam preparatları hasta serumunun seri dilüsyonları ile inkübe edilir. Antijen ile antikorlar arasındaki spesifik reaksiyon serum IgM ve IgG'sine karşı hazırlanmış fluorescein isotiyocynate ile işaretli antiserum ile gösterilebilir. Floresan mikroskopunda incelendiğinde pozitif bir reaksiyon, parazitin çevresinde sarı-yeşil parlaklık şeklinde saptanabilir. IFA yönteminde canlı parazite ihtiyaç duyulmaması yöntemin avantajını, pahalı gerekçelere ihtiyaç duyulması ise dezavantajını gösterir (Özcel ve Altıntaş 1997).

ELISA yöntemi esas olarak oluşturulan antijen-antikor kompleksine, enzim ile işaretli antiglobulinin ilave edilmesi ve sonra substratın eklenmesi ile eğer antikor varsa renk oluşumunun gözlenmesi esasına dayanmaktadır. Enzimle etkilenen substratın spektrofotometrik ölçümü, antikor konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Özcel ve Altıntaş 1997). Konjenital toxoplasmosis tanısında iki engel ortaya çıkmaktadır. Bunlardan birincisi yeni doğanda toksoplazma antikor düzeylerinin az olması, ikincisi ise tanıyı yorumlamayı zorlaştıran, anneden bebeğe geçebilen maternal antikorlardır. Anneden bebeğe pasif olarak geçen IgG antikorları veya plasentadan sızıntı yolu ile geçebilen IgM ve IgA antikorları yeni doğanda enfeksiyonu belirlemede ELISA veya ISAGA kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle ELISA veya ISAGA ile IgM veya IgA antikorları bebekte 10 gün sonra bakılmaktadır (Aktaş 2006, Durdu 2008).

Bu yöntemlerin dışında serum antikorlarının *Toxoplasma* eriyik antijenleri ile birleşirken ortamda bulunan komplemanı kullanması esasına dayanan Kompleman Fiksasyon Testi (KFT), antijen ile kaplanmış lateks parçacıklarının serumda bulunan özgül antikorlar tarafından aglutine edilmesi prensibine dayanan Lateks

Aglutinasyon Testi, antijen olarak formalinle muamele edilmiş toksoplazmaların seri serum dilüsyonları ile karşılaştırıldığı Direk Aglutinasyon Testi, serum veya gözyaşı ile agar jelde çift yönlü yayılım kullanılarak yapılan özellikle oküler tokzoplazmozda ve bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaç kullananlarda değerli olabilen presipitasyon yöntemleri de indirek tanı yöntemlerine dahildir.

2.8.3. Moleküler Tanı Yöntemleri

2.8.3.1. İlmige Dayalı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) Tekniği

İlmige Dayalı İzotermal Çoğaltma Yöntemi (LAMP) enfeksiyonları teşhis etmede uygulanan nükleik asit çoğaltma testlerinden biridir. LAMP son yıllarda kullanılan yeni bir teknik olup, 10 yıldan daha az bir zamanda bu teknikle 250'nin üzerinde çalışmanın yapıldığı belirtilmiştir (Notomi ve ark. 2000).

Bu teknikte altı adet primer kullanılır, duyarlılık ve özgüllük PZR'den daha yüksektir bu yüzden birkaç DNA kopyası, bir saat içinde milyarlarca kopya halinde çoğaltılabilir. Kapalı bir sistem olduğu için kontaminasyon riski azdır. Farklı miktarlardaki yabancı DNA, yöntemin duyarlılığını etkilemez. Altı primerle sekiz farklı bölgeyi tanıdığından özgüllük ve duyarlılık yüksektir. Uygulanması kolay, sıcaklık değişiklikleri için zaman kaybı olmadığından, daha hızlı sonuç alınan bir yöntemdir (Notomi ve ark. 2000, Nagamine ve ark. 2002).

LAMP tekniği pek çok viral, bakteriyel, fungal ve protozoonlara bağlı hastalıkları tespit etmek için kullanılan bir tekniktir (Kuboki ve ark. 2003, Maruyama ve ark. 2003, Endo ve ark. 2004). Son zamanlarda bu metod, yeni gelişen gen çoğaltma yöntemi olarak parazitik enfeksiyonların (malarya, tripanozomiyaz, theilerioz, babesiosis, toxoplasmosis, kriptosporidiosis ve giardiasis) teşhisinde kullanılmaktadır (Poon ve ark. 2006, Alhassan ve ark. 2007, Iseki ve ark. 2007, Thekisoe ve ark. 2007, Njiru ve ark. 2008).

LAMP yöntemi esas alınarak *Salmonella*, Verotoksijenik *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* gibi bakteriler, Norovirus ve diğer virüs çeşitleri, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Toxoplasma*, *Isospora*, *Cyclospora* gibi protozoonlar için ticari kitler üretilmiş olup bunların bazılarının

Japonya’da rutin identifikasyon ve izleme programlarında kullanımı resmi olarak onaylanmıştır (Mori ve Notomi 2009).

LAMP tekniğiyle, karmaşık ve profesyonel aletlere gerek olmaksızın reaksiyon karışımının türbidite veya floresan boya ile görsel denetiminin kolay bir şekilde değerlendirilmesi sağlanır. PZR ve diğer moleküler biyolojik teknikler sadece iyi donatılmış laboratuvarlarda en iyi uygulanabilir (Notomi ve ark. 2000). LAMP tekniğinin en önemli özelliğinden biri pozitif reaksiyonların kolayca belirlenmesine izin veren magnezyum fosfatın beyaz çökeltisini büyük miktarda üretebilme yeteneğidir. Bu yöntemle çıplak gözle de pozitif örnekler teşhis edilebilir (Nagamine ve ark. 2002, Kolören ve ark. 2010).

2.8.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tekniği

PZR’nin (Polymerase Chain Reaction = Polimeraz Zincir Reaksiyonu) keşfi, moleküler biyoloji ve tıp tarihindeki en önemli gelişmelerden birisidir. PZR, polimeraz enzimi kullanarak hedef DNA’nın üç basamaklı bir zincir reaksiyonu ile çoğaltılması esasına dayanır. Bugün bu teknik çok gelişmiş durumdadır ve halen de bu gelişmeler devam etmektedir. Amerika Birleşik Devletleri’nde bulunan Cetus şirketine bağlı olarak çalışan Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından 1985 yılında geliştirilen metot nükleik asitlerin canlı organizma içinde bulunmadan, uygun koşullar altında çoğaltılmasına dayanır. Hem araştırmada hem de klinik laboratuvar tanısındaki uygulama alanlarıyla büyük öneme sahip olan PZR’nin keşfi ve geliştirilmesindeki çalışmaları nedeniyle, K.Mullis, 1993 yılı Nobel Kimya Ödülünü almaya hak kazanmıştır. Amaç, bir ortamda (hastalık örneği) bulunabilecek pek az sayıdaki mikroorganizma (veya diğer) nükleik asitlerinin sayıca çok fazla çoğaltılmaları ve daha kolay saptanmalarıdır. Burada DNA’nın bir ipçığı ile DNA polimeraz enziminin ve gerekli maddelerin bulunması halinde bu molekülün birçok karşıt ipçik kopyalarını sentezletebilme özelliğinden yararlanır (Bilgehan 2004).

Genel olarak PZR laboratuvarında deneyimli elemanlara gereksinim duyulan bir yöntemdir. Dışkıdan etkenin teşhisinde PZR’yi rutin bir şekilde kullanabilmek için kontaminasyon riskinin ortadan kaldırılması ve numuneden ookistlerin titizlikle izole edilmesi gerekmektedir (Fayer ve ark. 2000). Aynı zamanda, uygun bir ekstraksiyon yöntemi bularak işleme sokmak ve en uygun primerleri seçip kullanmak

gerekmektedir. Rutinde yaygın olarak kullanılan fenol-kloroform ekstraksiyonu, dışkıda yer alan safra tuzları, bilirubin, kompleks polisakkaritler ve bazı diğer komponentler PZR tekniğinde inhibitör karakterinde yapılardır. Dolayısıyla testin güvenilirliği açısından dışkıda veya diğer numunelerde bulunan inhibitör özelliği gösteren yapıların eliminasyonu gerekmektedir. Son yıllarda, gerek PZR teknolojilerinin gelişmesi, gerekse de bütün inhibitörleri ortadan kaldıran DNA izolasyon kitlerinin üretilmesi, PZR'nin tercih edilmesini sınırlayıcı faktörleri elimine etmiştir (Xiao ve ark. 2000)

PZR ile *T. gondii* DNA'sı beyin dokusunda, beyin omurilik sıvısı, amnio sıvısı her türlü doku örneklerinde ve kanda saptanabilir. PZR da *T. gondii*'nin tanısında rDNA, SAG-1, B1 ve B30 genleri kullanılmaktadır. Konjenital toxoplasmosisde serolojik yöntemler öncelikli düşünülse de gebeliğin onsekizinci haftasından sonra amniyon sıvısından PZR çalışmak daha başarılı sonuç vermektedir. Amniyon sıvısında %65-80, plasenta örneğinde %60, beyin omurilik sıvısında %17-100 ve oküler toxoplasmosis olgularında %100 oranında başarı sağlanmaktadır (Bastien 2002, Montaya 2002). PZR ile gebelik esnasında konjenital toxoplasmosis tanısı koymakla, fare peritonu içinde üretilen izolasyon edilmenin beraber kullanımı %60 oranında başarı sağlamaktadır (Buffalano ve ark. 2005).

2.9. Tedavi

Uygulanacak tedavi protokolü hastanın kliniğine ve immün sistem yeterliliğine göre belirlenir. Yalnızca lenfadenopati formu görülen, semptomları şiddetli olmayan immünkompetan erişkinlerde tedaviye gerek duyulmayabilir. İmmün yetmezlik durumlarında 6 ay veya daha uzun süre tedavi sürdürülebilir. Bugün kullanılanlar içinde toxoplasmosise karşı çok etkin bir kemoterapötik yoktur. Tüm kemoterapötikler sadece takizoitler üzerine etkili olup doku kistleri bunlara direnç göstermektedir. Bu preparatların ortak özellikleri parazitin trofozoit şekline etkili, dokulardaki ve özellikle de beyindeki kistlerine etkisiz olmalarıdır Fakat azitromisin ve atovaquone ile farklı sonuçlar alınmıştır. En etkili müdahale primetamin ve sulfadiazinin kombine kullanılmasıdır. Bu ilaçlar kombine halde sinerjistik olarak hareket etmekte parazitin dihidrofolat redüktaz üretimini durdurarak DNA, RNA ve

protein sentezini engellemektedir. AIDS'li hastalarda ise tedavi hiç kesilmeden devam ettirilir (Taşan 2008).

AIDS'li hastalardaki toxoplasmosis tedavisi, ve primer profilaksiden oluşur. İndüksiyon tedavisinden sonra olguların %80'de tekrarlama olduğu için yaşam boyu idame tedavisi yapılmalıdır. İndüksiyon tedavisi en az 3 hafta sürmeli, ağır olgularda 6 hafta veya daha fazla devam etmelidir. AIDS'li hastalardaki toxoplasmik ensefalit tedavisinde beyin ödemi azaltmak için steroidler kullanılabilir (Taşan 2008).

Oküler toxoplasmosis olgularında tedavi uygulamak için bazı şartların oluşması gerekmektedir. Toxoplasmosise bağlı lezyon, görmeyi tehdit eden makula veya papilla bölgesine, retinanın kanlanmasına yol açan damarların yanına yerleşmiş olmalıdır. Belirgin olarak vitrit gözlenmelidir. Bu durumda hastaya ilk olarak pyrimethamine ve sülfadiazin kombinasyonu ile beraber haftalık kortikosteroid ve folat verilmesi gerekmektedir. Oküler toxoplasmosiste klindamisin ve kotrimoksazol alternatif olarak kullanılabilir (Altıntaş 2002).

Pyrimethamine doza bağlı olarak kemik iliği kökenli hücrelerin üretilmesini baskılayabildiğinden dikkatle kullanılmalıdır. Teratojenik etkisi nedeniyle bu ilacın gebelerde kullanımı tehlikeli durumlara yol açmaktadır buna bağlı olarak gebeliğin ilk üç ayı içinde kullanımı önerilmemektedir. Bu süreç içinde etkenin fetusa geçişini %60 oranında engelleyen spiramisin tercih edilmektedir. Tedavi günde 3 g olacak şekilde 3 hafta devam etmektedir. Toxoplasmosiste alternatif olarak klindamisin, azitromisin, atovaquone ve sülfadoksin gibi ilaçlar da kullanılabilir (Altıntaş 2002).

2.10. Korunma yolları

Toxoplasmosise yakalanmada ve korunmada, kişinin yeme alışkanlığı büyük önem taşır. İmmün yetmezlikli hastalarda ve seronegatif hamile kadınlarda korunma çok büyük önem taşımaktadır. Çiğ veya az pişmiş etlerden yapılmış ürünlerin yenmesi önlenmelidir. Etin 66°C'nin üstünde pişirilmesi ve -20°C'de 24 saat dondurulması ile doku kistleri ölmektedir (Hökelek 2006).

Çiğ et ve sebzelerle temastan sonra eller iyice yıkanmalıdır. Ayrıca sebze ve meyvelerin üzerinde de ookistlerin bulunma olasılığı dikkate alınarak yenmeden önce çok iyi yıkanmalıdır. Çiğ yumurta yemekten ve çiğ süt içmekten sakınılmalıdır. 5 dk. kaynamış yumurtada, 3 dk. sahanda pişirilmiş yumurtada da canlı parazit saptanmıştır (Hökelek 2006). Hamilelerin evde kedi varsa kumunu değiştirmemeli, ayrıca kedinin kumunun 24 saatte değiştirilmesi gerekmekte, çiğ et yedirilmemelidir (Unat 1995)

Kontaminasyonun kademesi genellikle bilinmemesine rağmen, bazı ölçümler suda *T. gondii* enfeksiyonunu engellemede yardımcı olabilir. İnsanlar rekreasyonel aktiviteleri boyunca gölet, nehir, göl ve akarsulardan arıtılmamış suyu kullanmaktan kaçınılmalıdır. Arıtılmamış yüzey suyu veya içme suyunun ana kaynağı tüketildiyse filtre ya da kaynatmayla *T. gondii* elemine edilecektir. İyodinin (%2) tinctiruiile uzun bir süre maruz kalmasıyla *T. gondii* inaktive edilmesine rağmen, klorin arıtmasında *T. gondii* inaktive değildir. Mümkünse, rezervuarların ya da içme suyu tanklarının civarına kedilerin erişmesi sınırlandırılmalıdır. Vahşi atıkların belediyelerce bertaraf edilmesi ve konteynırların mevcut risklerden temizlenmesi sağlanmalıdır. Ayrıca *T. gondii* ya da diğer parazitler tarafından kontamine olabilen su örnekleri yeterli arıtma yöntemiyle filtre edilmelidir. Suyun arıtılması için daha yeni yaklaşımlar keşfedilmiştir. Bunlara Filtrasyon metotları, kimyasal inaktivasyon, UV gibi örnekler verilebilir (Jones ve Dubey 2010)

Kullanılan dezenfeksiyon yöntemlerin birtakım avantaj ve dezavantajları vardır. Oluşabilen risklerden biri dezenfeksiyon yan ürünleridir. Ancak yapılan araştırmalarda, dezenfekte edilmemiş bir içme suyunda bulunabilecek patojen mikroorganizmaların, dezenfekte edilmiş sulardaki dezenfeksiyon yan ürünlerine göre en az 100-1.000 kat fazla tehlikeli olduğu vurgulanmıştır. Bu nedenle suların

dezenfeksiyonu önemli bir unsurdur. Son zamanlarda suların UV ile işlenmesi, su kaynaklarının dezenfeksiyonu için en popüler yöntem olarak görülmektedir. Ookistleri inaktive etmede UV ışınlama tekniğinin ön plana çıkması, ozonla ya da diğer dezenfeksiyon işlemleriyle ilgili duyulan sağlık kaygılarını ortadan kaldırmaktadır. (Ardıç 2007).

Enfekte insan ve hayvanların her türlü vücut salgı ve çıkartılarının etrafa dağılmaması için özen gösterilmeli, sinek ve hamamböceği gibi artropodların da bulaşımında rol oynayacakları dikkate alınarak mücadelede titizlik gösterilmelidir (Hökelek 2006).

Kan ve kan ürünleri naklinde *Toxoplazma* seropozitif kişiler verici kabul edilmemelidir. Organ transplantasyonuna bağlı immün yetersiz hastalarda ve lökosit zengin kan transfüzyonu sonucu *Toxoplazma* bulaşımı öldürücüdür. Hamilelerin ülkemizde yaygın olan çiğ et yemek gibi alışkanlıklardan uzak durmaları, çiğ yenen meyve sebzeleri iyi yıkamaları, kedilerin bulunduğu ortamlardan ve özellikle bunların oynadığı kumlardan uzak durmaları öğütlenmelidir. Bu yöntem birçok Avrupa ülkesinde yalnız başına veya tarama testleri ile birlikte başarılı olarak uygulanmaktadır. Tüm hamile kadınlarda en az 10-12, gebelik haftasında serolojik testler uygulanmalı ve 20-22. haftada tekrar edilmelidir. Doğuma yakın yeni bir kontrol faydalıdır. İlk testlerde seropozitif kadınların aynı serumlarında IgM bakılmalıdır (Hökelek 2006).

Türkiye'de konjenital *Toxoplasma* enfeksiyonlarının gerçek sıklığının belirlenmesi ve önlenmesi için bir yandan etkin tarama testlerine başlanırken diğer yandan da toplum eğitime de önem verilmelidir (Taşan 2008).

Toxoplasmosisin, kişisel sağlığı olumsuz etkilemesi dışında, konjenital bulaşma yoluyla, nesillerin geleceğini etkileyeceğini tehdit ettiği, muazzam iş gücü ve ekonomik kayıplara yol açtığı, zeka geriliğine, sekellere ve körlüğe neden olabildiği unutulmamalıdır (Saygı 2002).

Türkiye milli zoonoz komitesinin 2000 yılında almış olduğu kararlarının bir kısmı şöyledir; kadınlar hamile kalmadan önce bir toxoplasmosis testi yaptırmalı, çocuk park ve bahçelerindeki kum havuzlarına sokak kedilerinin girmeleri engellenmeli, kedilerin fare, kuş v.s. avlanması önlenmeli, hayvan yemlerinin bulunduğu yerlerde

kedi bulundurulmamalı, hayvan yem ve sularına kedi dışkısı karışması engellenmeli, et yiyen hayvanlara çiğ et ve sakatat grubu yedirilmemeli, bir çok AB ülkesinde olduğu gibi evlilik öncesi çiftlerin kan grubu tayininde olduğu gibi Toxoplasmosis testi de yaptırılmasının daha sağlıklı nesiller için önemli olduğunun, nikah işlemleri esnasında tavsiye edilmesine, aşı konusunda çalışmaların desteklenmesi öngörülmüştür (Taşan 2008).

3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

3.1. Yurtdışında Yapılan Çalışmalar

Ronday ve ark. (1999), oküler toxoplasmosisli 88 hastanın intraoküler sıvı analizinde %27 oranında sadece intraoküler IgG, %15 oranında sadece intraoküler IgA, %37.5 oranında hem IgG hem de IgA saptamıştır. Tek başına PZR pozitifliğinin hassasiyetinin %27 olduğunu; intraoküler IgG pozitifliği ile beraber PZR pozitif hassasiyetinin %77, intraoküler IgA hassasiyetinin ise %91 oranında olduğunu belirtmişlerdir.

Cermakova ve ark. (2005), 347 kişiden alınan 441 numunede (kan, yeni doğan kanı, biyopsi örnekleri, kök hücreleri) PZR metodu çalışmışlar, 441 örneğin %5.2'sinde *T. gondii* DNA'sı bularak, pozitif PZR numunelerini serolojik metotlar ile doğrulamışlardır.

Esquivel ve ark. (2007), Mexico Durango'da sağlıklı kan donörlerinde *T. gondii*'nin seroepidemiolojisini ELİSA testi ile araştırmışlar 432 kan donörünün %7.24 ünde anti-*T. gondii* IgG, %1.9 unda anti-*T. gondii* IgM saptamışlardır. Çalışmada 35-60 yaşları arasındaki donörlerde 25-35 yaş aralığındaki donörlerden daha yüksek *Toxoplasma* enfeksiyon sıklığının olduğunu bildirmişlerdir.

Lin ve ark. (2008), Tayvan'da yerli ve göçmen hamile bayanlarda *T.gondii* parazitini tespit etmişler. ELİSA metodu ile yerli hamile bayanlarda *Toxoplasma* IgG %40.6, göçmen hamile bayanlarda ise *Toxoplasma* IgG %18.2 oranında bulmuşlardır. Farklı 2 grup arasındaki yaşam tarzı değerlendirildiğinde, artılmamış suyun kullanımı, çiğ ya da az pişmiş et ve iç organların tüketimi, kedilerle olan yakın temasın bu oranlardaki farklılığa neden olarak göstermişlerdir.

Alekseev ve ark. (2009), Okhotsk denizinden Yunus *Tursiops truncatus ponticus* ve Beyaz balina *Whale Delphinapterus leucas*'den alınan kan örneklerinin serumları ayrıldıktan sonra ELİSA çalışarak *Toxoplasma* antikorlarını tespit etmişler. Çalışmaya dahil edilen 74 Yunus'un 39'u (%52.7), 147 Beyaz balinanın 7'sinde (%4.7) *Toxoplasma* antikoruna (hem IgG hem de IgM) rastlamışlardır.

Hosseininejad ve ark. (2009), İran'da köpeklerden elde edilen serumlarla yaptıkları çalışmada IFAT ve ELİSA tekniklerini kullanmışlar. IFAT ile 245 köpek serumun 73'ü, ELİSA ile 80'ninde *T. gondii* tespit etmişler. Çalışmalarında ELİSA'nın IFAT'a göre %94.52 oranında daha duyarlı ve %93.6 oranında daha özgül sonuç verdiğini bildirmişler.

Lass ve ark. (2009), Polonya'da kum çukurları, tarımın yapıldığı bölgeler ve çöplük çevresinden alınan toprak örnekleri üzerinde *T. gondii* ookistlerini flotasyon metodu kullanarak elde etmişler. *T. gondii*'yi belirlemek için PZR yöntemini kullanarak B1 hedef bölge çoğaltılmışlar. Sekans sonucunda da 101 örneğin 18'inde *Toxoplasma* DNA' sı pozitif olarak bulmuşlardır.

Dos Santosa ve ark. (2010), Brazilya Sao Paulo'daki devlet okullarından alınan çevresel örneklerde *T. gondii*'yi tespit etmek için histopatolojik, immunohistokimyasal ve IFAT metotları kullanmışlardır. İmmunohistokimyasal metot ile %32.26, IFAT ile %25.80 oranında *T. gondii*'ye rastlamışlar. Ancak histopatolojik olarak *T. gondii*'yi tespit edememişlerdir. Çalışmanın özgüllük ve duyarlılığı kıyaslandığında IFAT metodunun diğerlerine göre daha başarılı sonuçlar verdiğini göstermişlerdir.

Lau ve ark. (2010), 105 kişiden alınan kan örneklerinde SAG1, SAG2 ve B1 olmak üzere 3 gen bölgesini çalışmışlar, LAMP ve Nested PZR kullanarak hassasiyetlerini karşılaştırmışlardır. Araştırmada 40 toxoplasmosisli, 40 negatif, 25 ise diğer parazitlerle enfekte kişilerden oluşan 105 kişinin çalışılmıştır. Araştırmacılar çalışılan SAG2 gen bölgesinin diğerlerinden %87.5 oranında daha hassas sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Taghdosi ve ark. (2010), Salmonidae familyası üzerinde yaptıkları 50 balığı kapsayan çalışmada ELİSA tekniği ile *Toxoplasma* IgG hiçbir örnekte saptanmazken 5'inde *Toxoplasma* IgM bildirmişlerdir.

Truppel ve ark. (2010), Brazilya'nın güneyindeki 26 Kapibara kemirgeninin kan, karaciğer, kalp, dalak ve lenf düğümleri örneklerinde PZR ve IFAT testi uygulamış, IFAT sonuçlarına göre %62.5 oranında seropozitiflik saptamışlardır. B1 primerleri kullanılarak yapılan PZR çalışmasında 2 Kapibara'da %7.7 pozitiflik tespit

etmişlerdir. Kapibaraların birinde karaciğer diğerinde ise hem karaciğer hem de kan örneklerinde *T. gondii*'ye rastlanılmıştır.

Khabaz ve ark. (2011), immünkompresif kanserli hastalarda *T. gondii*'nin latent reaktivasyonunu ELİSA ve PZR yöntemleriyle tespit etmişlerdir. Çalışmalarındaki kanserli 99 hastanın 67'si kemoterapi almaktadır. Kemoterapi alan bireylerin %61.2'sinde ELİSA testi ile *Toxoplasma* IgG, %7.5 inde ise PZR ile pozitiflik saptanmıştır. Tedavi almayan 32 kanserli bireyin ELİSA IgG pozitifliği %68.7 oranında elde edilirken; aynı örneklerde PZR negatifliği söz konusudur.

Du ve ark. (2012a), Çin, Wuhan'da bulunan parktaki toprak numunelerinde *T. gondii* ookist kontaminasyonunu araştırmışlar. Standart PZR ve LAMP metodunu kullandıkları çalışmada, 252 toprak örneğinin 41'i Standart PZR ile 58'i LAMP ile *T. gondii* DNA'sı açısından pozitiflik bildirmişlerdir.

Du ve ark. (2012b), Çin'deki domuz çiftliklerindeki *T. gondii*'nin toprak kontaminasyonu üzerindeki etkisini araştırmak için standart PZR ve LAMP metodu kullanılarak *T. gondii* pozitifliğini saptanmışlardır. Ayrıca çiftliklerdeki kedilerin bulunduğu orana göre domuzlardan aldıkları kan örneklerinde *T. gondii* antijeni ELİSA ile çalışılmışlar. Standart PZR ile %21.1, LAMP ile %37.9 *T. gondii* DNA'sı tespit etmişlerdir. ELİSA sonucuna göre kedinin fazla olduğu çiftlikte %36.6, kedinin az bulunduğu çiftlikte ise %21.2 *T. gondii* antikorlarına rastladıklarını bildirmişlerdir.

Fan ve ark. (2012), Batı Afrika'da ilkokul çocuklarında *T. gondii*'nin seroprevalansını Latex Agglütinasyon testi (LAT) ile araştırmış, 123 erkek ve 132 kız öğrencinin yer aldığı toplam 255 ilkokul öğrencisinden kan örnekleri alınmış ve erkek öğrencilerde %62.6, kız öğrencilerde %63.6 oranında *T.gondii* pozitifliği saptamışlardır.

Zemene ve ark. (2012), Güneybatı Etiyopya Jimma kentinde yaşayan hamile bayanlarda *T. gondii*'nin seroprevalansını ELİSA metodunu kullanarak araştırmışlar. Hamile 201 bayanı kapsayan çalışmada yaş grupları, meslekleri, eğitimleri ve hamileliğin kaçınıcı trimesterinde parametreleri dikkate alınmıştır. Hamile bayanların %81.1'inde IgG seropozitifliği, %2.5'inde ise IgM seropozitifliği saptamışlardır. Çalışma anahtarlarını değerlendirerek 20-24 yaş grubundaki hamile bayanlarda

%48.3, ev hanımlarında %80.6, eğitim düzeyi 5-8 olan hamile bayanlarda %25.4, hamileliğin 2. trimesterinde olan bayanlarda %51.7 oranında *Toxoplasma* seropozitifliği bildirmişlerdir.

Esquivel ve ark. (2013), Mexico Durango’da mevsimsel çalışma için gelen göçmen işçilerde *T. gondii* seroprevalansını 173 göçmen işçinin kan örnekleri ELİSA testi ile çalışılmışlardır. İşçilerin %28.9’unda *Toxoplasma* IgG, %20.8’inde *Toxoplasma* IgM antikörlerini tespit etmişlerdir.

Tehrani-Sharif ve ark. (2013), İran, Gramsar’da başıboş kedilerde 32 erkek ve 75 kız kedinin %64.48’i *Toxoplasma* açısından pozitif olarak bulmuşlardır. Çalışmada kedilerde risk olan grubun ise genç ve gebe kedilerin oluşturduğu belirtilmiştir.

Gharekhani ve ark. (2014), Batı İran’da 120 yerli at, 270 köpek ve 100 maymun kan örneklerinde Modifiye Aglutinasyon Testi (MAT) kullanılarak atlarda %13.3, köpeklerde %10.7 ve maymunlarda %47 oranında *Toxoplasma* pozitifliği saptamışlardır.

3.1.1. Yurtdışında Yapılan Su Kökenli Çalışmalar

Illinois’de domuz çiftliklerinde yapılan bir çalışmada, 43 çiftlikte 366 kedi hapsedilmiştir. Altı çiftlikte su, yağ ve besin örneklerinde ve bu çiftliklere ait kedilerin dışkılarında *T. gondii* ookistleri bulunmuştur. Bu yüzden kırsal yerleşim yerlerinde *T. gondii* transmisyonun potansiyeli daha yüksektir (Dubey ve ark. 1995).

Kourenti ve Karanis (2004), su içinde *T. gondii*’yi tespit etmek için PZR yöntemini geliştirmişlerdir. Çalışmalarında enfekte kedilerden elde edilen *T. gondii* ookistleri 1L su içerisine bırakılmıştır. Ookist ile kontamine olan suya $Al_2(SO_4)_3$ ve $Fe_2(SO_4)_3$ çöktürme işlemleri uygulanmıştır. DNA izolasyonundan sonra seçilen primerler ile PZR metodu bu örneklerle uygulanmıştır. $Al_2(SO_4)_3$ ile yapılan çöktürme işleminden sonra elde edilen DNA’lardan daha iyi PZR ürünü elde edilmiştir.

Villena ve ark. (2004), 139 çevresel su örneklerinde PZR yöntemini çalışmışlar. Çalışmada PZR inhibitörü içeren su örneklerinin 53 tanesine Bowin Serum Albümin (BSA) eklenmiştir. BSA eklenmiş su örneklerinin 39’unda PZR ile pozitif sonuç elde edilmiştir. 125 örneğin %8’inde *Toxoplasma* tespit edildiği bildirilmiştir.

Kourenti ve Karanis (2006) tarafından yapılan bir çalışmada izlenen yöntem; su örneklerinin $Al_2(SO_4)_3$ -çöktürülme, sükröz gradiyent ile saflaştırma ve 18S rRNA ile *Toxoplasma*-DNA tespitine dayanır. 14 aylık bir süre boyunca toplanan farklı kalite ve kökenli 60 su örneğinde Nested PZR uygulanmış ve *Toxoplasma* DNA'sı 4 örnekte tespit edilmiştir.

Sroka ve ark. (2006), içme suyunda mikroskobiyal bakı ve PZR yöntemi kullanarak *Toxoplasma*'yı analiz etmiştir. PZR kullanılarak yapılan çalışmada 114 içme suyunun 31'inde (%27.2), mikroskobik incelemenin olduğu çalışmada ise 114 içme suyunun 15'inde (%13.2) *T. gondii* ile bulaş olduğu saptanmıştır.

Rostov ve Sofya'da çevre sularında *T. gondii*'yi belirlemek için yapılan bir çalışmada, Nested PZR, LAMP ve IFT metodu kullanılmıştır. Alınan su örneklerinde *T. gondii*'yi belirlemek için uygulanan tekniklerde, LAMP tekniği için *T. gondii* B1 geni hedef gen olarak kullanılmış, Nested PZR için ise 18S rRNA geni hedef olarak kullanılmıştır. Farklı orjinli 52 doğal su örneğinin 24'ü (%48) LAMP ile 7'si ise Nested PZR ile *Toxoplasma* pozitif bulunmuştur. Çalışmada IFT metodu ile *T. gondii*'ye rastlanılmamıştır (Sotiriadou ve Karanis 2008).

Aubert ve Villena (2009), Fransa'da yaptıkları çalışmada sularda *T. gondii*'yi PZR kullanarak toplanan 482 çevresel su örneğinin 27'sinde (%7.7) paraziti pozitif bulmuşlardır.

Borchardt ve ark. (2009), yüzeysel ve içme sularında *T. gondii*'yi konsantre işleminden sonra filtre edilen su örnekleri bir takım işlemlere tabi tutulduktan sonra UV ışığı altında otofloresans mikroskopta incelemişlerdir.

Yang ve ark. (2009), su örneklerinde real time PZR kullanarak *T. gondii*'yi tespit etmişlerdir. Çalışmada konsantre edilen su örneklerinde *T. gondii* ookistinden DNA izole edilmiştir. Elde edilen DNA hem standart PZR hem de real time PZR kullanarak çalışmışlardır. Çalışmanın sonunda su örneklerinde real time PZR kullanmanın daha alternatif metot olduğu gösterilmiştir.

T. gondii ile LAMP tekniğinin duyarlılığı ve spesifikliğinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada, LAMP tekniği ve klasik PZR tekniği kıyaslanmıştır. Çalışmada kullanılan LAMP primerlerini dizayn etmek için *T. gondii*'nin 529 bp hedef geni kullanılmış ve elde edilen sonuçlarda çalışılan örneklerin %76.9'u klasik PZR ile,

%85.7'si LAMP tekniğiyle pozitif bulunmuştur. Tüm rnekler üzerinde yapılan mikroskopik çalışmalar ve klasik PZR ile pozitif sonuçlanan örneklerin hepsi LAMP tekniğiyle de pozitif bulunmuştur (Zhang ve ark. 2009).

Nimir ve Linn (2011), Kuala Lumpur'da temizliğinden şüphe edilen pazarda yakalanan farelerin beyinlerindeki doku kistleri ile satıcılar tarafından kullanılan su örneklerinde *T. gondii* ookistini araştırmıştır. Alınan su örneklerinde *T. gondii* ookistine rastlanmamıştır. Bölgeden alınan farelerin beyinlerinden Haematoxylin ve Eosin (H&E) boyama yapılarak preparat hazırlanmıştır. Sonuç olarak farelerin %3'nde *Toxoplasma* pozitifliği belirlenmiştir.

Lindemann ve ark. (2013), Almanya'nın aşağı Ren alanı içinde topladığı çevresel sularda *T. gondii* ookistini hassas, hızlı, özgül metot olan LAMP metodunu uygulayarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda atıksu arıtma tesisinden alınan örneklerin %9.6'sı pozitif iken; yüzey, zemin ve musluk sularında negatif sonuç bulmuşlardır.

3.2. Ülkemizde Yapılan alışmalar

Ankara Üniversitesi İbni Sina Hastanesi ve Etimesgut Onkoloji Hastanesinde İmmün süpresif ilaç almakta olan lösemili toplam 30 hastanın serumlarında ELISA IgG - IgM ve Sabin Feldman Test (SFT) yöntemleri ile Toxoplasmosis antikorları araştırılmıştır. ELISA yöntemi ile kontrol grubunda %6.7 oranında IgM pozitifliği saptanırken, bu oran hasta grubunda %26.7 olarak bulunmuştur. ELISA IgG pozitifliği kontrol grubunda %40 iken hasta grubunda %63.3'tür. SFT ile kontrol grubunda %46.7 oranında bir pozitiflik görülürken, bu oran hasta grubunda %66.7 olarak saptanmıştır. İmmün sistem baskılı hastalardaki seropozitivitenin nasıl değiştiği konusunda bilgi verebileceği düşünülmüştür (Güngör ve ark. 1993).

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine gelen 1.160 infertil kadında IFAT, 1.146 infertil kadında ise ELISA ile *Toxoplasma* IgG antikorlarının varlığı araştırılmıştır. IFAT ile 1.160 olgunun 539'unda (%46.5), ELISA ile ise 1.146 olgunun 538'inde (%46.9) *Toxoplasma* IgG antikorunun saptandığı belirtilmiştir (Tavmergen ve ark. 1993).

Topçu ve ark. (1993) tarafından yapılan çalışmada, lösemi veya lenfomalı hastalarda *Toxoplasma* insidansını belirlemek amacıyla 115 hastada *anti-Toxo* antikoru indirekt hemaglutinasyon yöntemiyle çalışılmıştır. Hastaların 38'inde (%33) pozitiflik saptamıştır.

İplikçi ve Aydın (1994), lenfodenopati 100 hastada IFAT ve ELİSA serolojik testlerini uygulayarak Toxo-IgM ve Toxo-IgG'yi araştırmıştır. Sonuç olarak %13 IgM, %67 IgG pozitifliği bulunmuştur.

Kaleli ve ark. (1997), gebelerde *Toxoplasma* IgG ve IgM seropozitifliğini ELİSA tekniğini kullanarak araştırmışlar. Çalışmada 258 gebenin %43.4'ünde *T. gondii* IgG, %0.4'ünde ise *T. gondii* IgM pozitif olarak tespit edilmiştir.

Kara ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde doğum sırasında 86 anne ve bebek göbek kordonundan alınan serumlar ile amniyon sıvılarında İndirekt Floresan Antikor (IFA) tekniği ile *Toxoplasma* IgM ve IgG antikoru araştırılmıştır. Seropozitiflik oranlarının (IgM ve/veya IgG); anne kanlarında %84.9, kordon kanı serumlarında %74.4 ve amniyon sıvılarında %50 olduğu belirtilmiştir.

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalına toxoplasmosis şüphesi ile başvuran 65 hastanın serumlarında SFT ve ELİSA IgM testi ile *Toxoplasma* antikoru araştırılmıştır. SFT ile %16.9, ELİSA IgM yöntemiyle %1.5 seropozitivite tespit edilmiştir. Rutin laboratuvar çalışmalarında uygulama kolaylığı açısından ELİSA IgG ve IgM'nin birlikte kullanılabilceği, ancak referans laboratuvarlarında altın standart olarak kabul değerini koruyan SFT testinin kullanılması gerektiğinin sonucuna varılmıştır (Aslan ve Altıntaş 2000).

Nuhoğlu ve ark.'nın (2001) yaptıkları çalışmada ise toxoplasmosisin gebelerde intrauterin bulaşma riskini belirlemek amacıyla, İzmir Bölge Hıfzısıhha Enstitüsü tarafından 452 sağlıklı yeni doğanın kordon serumlarında EIA yöntemi ile *Toxoplasma* antikoru araştırılmıştır. Kordon serum örneklerinin 5 (%1.11)'inde Toxo-IgM antikoru, 149 (%32.96)'unda Toxo-IgG antikoru pozitif olduğu belirtilmiştir.

Şanlıurfa'da da mezbaha çalışanlarından 43 kişiye ait serumda *T. gondii* antikorları araştırılmış ve SFT ile % 48.83 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (Aslan ve Babür 2002).

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi tarafından 1995-2000 yılları arasında toplam 1.634 hasta serumunda SFT ile çalışılmış ve 604 (%37) serumda 1/16 titrede 251 (%15.4), 1/64'de 265 (%16.2), 1/256'da 57 (%3.5), 1/1024'de ise 31 (%1.9) anti- *T. gondii* antikorları bulunduğu bildirilmiştir (Babür ve ark. 2002).

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoparazitoloji Laboratuvarı'na toxoplasmosis şüphesiyle başvuran toplam 295 hasta serumunda IFA-IgG, IFA-IgM ve ELISA-IgG, ELISA-IgM yöntemleriyle *T. gondii*'ye karşı oluşmuş antikorlarının dağılımları değerlendirilmiştir. Her iki testte bu hastaların 91 (%30.84)'inde IgG, 8 (%2.71)'inde IgG ve IgM, 2 (%0.68)'sinde IgM antikorları saptandığı bildirilmiştir (Kayran ve ark. 2002).

Mersin Et ve Balık Kurumu'nda kesimi yapılan yöreye ait 99 koyun ve burada çalışan 20 kişiye ait serumlarda SFD testi ile *T. gondii* antikorları araştırılmıştır. Koyunların 48'inde (%48.4), Et ve Balık Kurumu çalışanlarının 2'sinde (%10) seropozitiflik saptanmıştır (Öztürk ve ark. 2002).

Çiftçi ve ark. (2003) yapmış olduğu çalışmada; Van yöresinde kanserli hastalarda toxoplasmosis seroprevalansının ortaya konulması amacı ile 55 kanserli hastanın 41'inde (%74.5) çeşitli dilüsyonlarda antikor saptanmıştır.

İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 1.270 Toxoplasmosis şüpheli hasta serumu üzerinde yapılan bir çalışmada, anti-*T. gondii* antikorlarının varlığı araştırılmıştır. Gönderilen kan örneklerinde anti-*T. gondii* IgG ve IgM sınıfı antikorlar ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. Araştırmada 1.270 hastanın 552'sinde (%43.46) IgG seropozitifliği, 61'inde (%4.80) ise IgM seropozitifliği 18'inde (%1.41) IgG ve IgM seropozitifliği saptanmıştır (Türk ve ark. 2004).

Aydoğan ve ark. (2005), *T. gondii* tanısında Real time PZR yöntemini kullanmışlar. Gazi Üniversitesinden çalışmaya alınan 80 örneğin 3'ünde *T. gondii* DNA'sı pozitif bulunmuştur. Pozitif örneklerin ikisi kadın doğum kliniğinden gönderilen amnion sıvısı örneği, diğeri ise yeni doğan kliniğinden gönderilen beyin omurilik sıvısı

(BOS) örneğidir. BOS örneği pozitif olan bu hastanın kan örneğinde *T. gondii* DNA'sı saptanmamıştır.

Öncel ve ark. (2005), Yalova'daki koyunlarda *T. gondii* seropozitifliğini SFT ve Latex Agglutination Test (LAT) ile çalışmışlar. Koyun serumlarının %66.66'sının SFT ile pozitif, %65.08'inin LAT ile pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Doğan (2006), 18-25 yaş grubu doğurmamış 280 kadın serumunda ELISA ve IFAT yöntemlerini kullanarak toxoplasmosise özgül IgG ve IgM antikorları araştırmıştır. *Toxoplasma* IgG pozitifliği %23.6 oranında saptarken, IgM pozitifliğine rastlanmamıştır. Taramaya dahil edilen 312 gebe kadında *T. gondii* IgG seropozitiflik oranını %37.5 olarak bulmuştur. ELISA yöntemiyle *T. gondii* IgM pozitifliğini %0.6 olarak bulurken, IFAT yöntemiyle IgM pozitifliğine rastlanmamıştır. Kordon kanı alınarak yapılan taramada ELISA ve IFAT yönteminin her ikisinde de IgM pozitifliğine rastlanmazken, ELISA yönteminde %34.3 IgG IFAT yöntemiyle de %33.4 seropozitiflik tespit edilmiştir.

Korkmaz ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada diabetli hastalarda *T. gondii* seroprevalansını araştırmışlar. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı'na başvurup daha önce şeker hastalığı tanısı almış olan 74 hastada *Toxoplasma* IgM ve IgG antikorlarının ELISA yöntemi ile çalışmış ve sonuçları sağlıklı 68 kişiden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. *Toxoplasma* IgM her iki grupta da negatif bulunurken, *Toxoplasma* IgG, Diabetes mellituslu hastaların 30'unda (%40.5), kontrol grubundaki sağlıklı bireylerin ise 26'sında (%38.2) seropozitiflik saptanmıştır. Gruplar arasında *Toxoplasma* IgG seropozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kan Merkezi'ne kabul edilen, kan bağışçısı sorgulama kriterlerine göre herhangi bir sağlık sorunu bulunmayan, yaşları 18-59 yıl arasında değişen 390 erkek ve 24 kadın kan bağışçısının serumu *T. gondii* antikorlarının varlığı yönünden SFT ile araştırılmıştır. İncelenen 414 serum örneğinin 176'sı (%42.5) pozitif olarak bulunmuştur. Seropozitiflik oranının kadınlarda %62.5 erkeklerde ise %41.3 olduğu izlenmiş ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Yılmaz ve ark. 2006).

Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi İmmünoloji Laboratuvarı'na gelen Toxoplasmosis şüpheli 4 908 hastanın serumlarında *T. gondii* antikorları araştırılmıştır. Bu hastaların 1 522 (%31.01)'sinde anti- *T. gondii* IgG antikorları pozitif iken, 38 (%0.77)'sinde anti-*T. gondii* IgM antikorlarını pozitif olarak bulunmuştur. Toxoplasmosis şüpheli 550 yenidoğan hastanın 171 (%31.09)'inde anti-*T. gondii* IgG antikorları pozitif bulunurken anti- *Toxoplasma* IgM antikorları hiçbir hastada rastlanılmamıştır (Kuk ve Özden 2007).

Tekay ve Özbek (2007), Şanlıurfa'da tümü kadın olan hastalardan 2 586 kan örneği "chemiluminescence immunoassay" yöntemi ile çalışmış, *Toxoplasma* IgM pozitifliği %3, *Toxoplasma* IgG pozitifliği %69.5 olarak saptanmıştır. Total anti-*Toxoplasma* pozitifliği %69.6 ve total anti-*Toxoplasma* negatifliği %30.4 oranında tespit edilmiştir

Şanlıurfa Kadın Doğum Hastanesi ve Adıyaman Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi kadın doğum kliniklerine düşük hikayesi ile gelen 16-45 yaş arasındaki bayanların serumları ELISA tekniği ile incelenmiştir. IgM'de 247 hasta ve 29 kontrol grubu, IgG'de ise 200 normal ve 28 kontrol grubu üzerinde karşılaştırmalar yapılmıştır. Çalışmaya göre IgG'de 128 (%64), IgM'de ise 20 (%8) kişide pozitiflik tespit edilmiştir. *Toxoplasma* IgM seropozitifliği Adıyaman'da %10.1, Şanlıurfa'da ise %5.5 oranında saptanmıştır. İki ile göre yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel sonuç anlamsız olarak değerlendirilmiştir (Taşan 2008).

İnci ve ark. (2009), Kayseri'de 2 235 kadının *T. gondii* seropozitifliğini Mikropartikül Enzim Immunoassay (MEIA) testi ile araştırmışlar. Sonuçlara göre, kadınların %30.46'sında *T. gondii* IgG ve %0.53 oranında da *T. gondii* IgM pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmada yaş gruplarına göre değerlendirme yapılmış ve yaş arttıkça IgG pozitifliğinin arttığı fakat IgM pozitifliğinin azaldığı ve her iki antikor içinde farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır.

Kölgeliler ve ark. (2009), yaptıkları bir çalışmada, Adıyaman 82. Yıl Devlet Hastanesi Kadın Doğum Poliklinikleri'ne başvuran 17-45 yaş arasındaki 455 gebede *T. gondii* seroprevalansını retrospektif olarak araştırmıştır. Anti-*T. gondii* IgG seropozitiflik oranı %48.4 (220/455) ve IgM pozitiflik oranı ise %0.65 (3/455) olarak

saptanmıştır. Sonuç olarak, gebelik esnasında enfeksiyon alan kadınların çocuklarında konjenital enfeksiyon meydana gelebileceğini vurgulanmıştır.

Çekin ve ark. (2011), Antalya’da 4 065 gebe kadını kapsayan çalışmalarında *T. gondii* seropozitifliğini araştırmışlar. Araştırmacılar %22 oranında *Toxoplasma* IgG, %0.5 oranında *Toxoplasma* IgM, %2.4 oranında da hem *Toxoplasma* IgG hem de *Toxoplasma* IgM saptanmıştır.

Güler (2011) tarafından, Niğde mezbahanesinde kesilen koyunlarda %6.28 oranında *T. gondii* seropozitifliği tespit edilmiştir. Farklı aylarda yaptığı örneklemede aylara göre istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır.

Bölük ve ark. (2012), Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi’ne başvuran toxoplazmosis şüphesi ile başvuran hastalar üzerinde çalışmıştır. *Toxoplasma* IgG seropozitifliği %23.3, IgM seropozitifliği ise %0.1 oranında saptanmıştır. Hem IgG hem de IgM nin seropozitifliğine bakıldığında bu oran %0.2 olarak bulunmuştur. Anti-*T.gondii* IgG seropozitifliğinin en çok çiğ et tüketen hastalarda olduğunu tespit edilmiştir.

Çiçek ve ark. (2012), Şanlıurfa ilinde doğurganlık çağındaki kadınlarda ELİSA ve *T. gondii* antikorlarını değerlendirmişlerdir. Gebe kadınlarda anti- *Toxoplasma* IgG antikorlarının seropozitifliği %68.9, gebe olmayan kadınlarda ise bu oran %63 olarak saptanmıştır. Anti-*Toxoplazma* IgM seropozitiflik değerleri gebe kadınlarda %2.8, gebe olmayanlarda ise %3 olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmede anti-*Toxoplasma* IgG seropozitifliği hem gebe hem de gebe olmayan kadınlarda anlamlı olarak bulunmuştur (p<0.05).

Doğan ve ark. (2012) tarafından İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına başvuran 312 gebe ve yenidoğanların serum örneklerinde *T. gondii* IgG ve IgM antikorları ticari ELISA ve indirekt immünfloresans yöntemleriyle araştırmışlar. Her üç trimestırda 153, iki ve üçüncü trimestırda 58 ve üçüncü trimestırda 101 gebe çalışmaya katılmış ve doğumlarından hemen sonra kordon kanı örnekleri alınarak 312 yenidoğan taranmıştır. Çalışmada gebelerde anti-toksoplazma IgG pozitiflik oranı %37.5 (117/312) olarak bulunmuş, takipli gebelerde serokonversiyon tespit edilmemiş ve anti-*Toksoplazma* IgM tüm gebelerde negatif olarak saptanmıştır. Ayrıca, tüm yeni doğanların kordon kanında da anti-*Toksoplazma* IgM negatif bulunmuş, IgG pozitifliği ise %33.3 (104/312)

oranında tespit edilmiştir. Gebelere olası bulaşma yollarıyla ilgili uygulanan anket sonuçlarına göre, antitoksoplazma IgG seropozitifliği ile çiğ et tüketimi ($p < 0.001$) ve toprak ile uğraşma ($p < 0.005$) parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkili bulunmuştur.

Pekintürk ve ark. (2012), Antalya ilinde bir mikrobiyoloji laboratuvarında 15-49 yaş grubu bayanlarda *T.gondii* antikorlarını araştırmış, 5 013 serumun %1.8'inde *Toxoplasma* IgM, 2 986 serumun %32.4'ünde *Toxoplasma* IgG antikorları tespit etmişlerdir.

Aşık ve ark. (2013), Afyon ilinde gebeler üzerinde yaptıkları çalışmada *Toxoplasma* IgM antikorlarının pozitiflik oranını %1.6, *Toxoplasma* IgG seropozitifliğini de %22.7 olarak tespit etmişlerdir.

Muz ve ark. (2013), Hatay yöresinde süt üretimi yapan koyun, keçi, sığırcılık işletmeleri ile bu sürülerin çoban köpeklerindeki *T. gondii* seroprevalansını belirlemişlerdir. Yapılan ELISA testi sonuçlarına göre *T. gondii* seroprevalansı sığırlarda % 60.9, koyunlarda % 53.8, keçilerde % 35.9 ve çoban köpeklerinde % 58.7 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmaya bölgedeki sahipli ve sahipsiz 36 kedi dışkılarındaki *T. gondii* ookist yaygınlığı da araştırılmıştır. Kedi dışkılarında *T. gondii* benzeri ookistlere %8.3 oranında rastlanmıştır.

3.2.1. Ülkemizde Yapılan Su Kökenli Çalışmalar

Kolören ve Demirel (2011), tarafından yapılan bir çalışmada ırmak, göl ve şebeke sularından alınan toplam 60 su örneğinde IFT ve LAMP yöntemleri kullanılarak *T. gondii*'nin varlığı araştırılmıştır. Sonuca göre IFT ile ırmak, göl ve şebeke sularının hiçbirinde *T. gondii* tespit edilmezken, LAMP yöntemiyle 60 su örneğinin 15 (%25)'inde bu parazitin varlığı gösterilmiştir.

Demirel ve Kolören (2012), Ordu İli Melet Irmağı'nda *T. gondii*'nin varlığını göstermek için toplam 60 su örneği Ordu İli Melet Irmağı'nın denizli birleştiği nokta, Irmak yakınındaki katı atık depolama sahası, Ordu-Giresun karayolu üzerindeki köprü mevki, şehir sanayisinin bulunduğu yer ve şehir çıkışı olarak belirlenen istasyonlardan alınmıştır. Alınan su örneklerinin DNA izolasyonu yapıldıktan sonra bu örneklere Nested PZR uygulanmıştır. Sonuçlara göre; Ordu İli Melet Irmağı'nın 3

noktası (Irmak yakınındaki katı atık depolama sahası, şehir sanayisinin bulunduğu yer ve şehir çıkışı) Nested PZR ile *T.gondii* açısından pozitif bulunmuştur.

Amasya ilinden; Havza son- Amasya girişi, Suluova girişi, Kanlıdere, Boğazköy-Tersakan, Tersakan son; Amasya çıkışı, Amasya köprüsü; Yeşilirmak-Tersakan birleşimi, Safmaya; Amasya çıkışı, Durucasu, Taşova istasyonları ve bu istasyonlara ek olarak 20 şebeke suyunu kapsayan diğer bir çalışmada alınan 120 yüzeysel su örneğinin 48'inde (%40) Nested PZR ile *T. gondii*'ye rastlanırken içme suyu örneklerinin hiçbirinde bu parazite rastlanmamıştır. Araştırma alanında, Suluova girişi, Karasu, Tersakan son; Amasya çıkışı ve Taşova *Toxoplasma* pozitif olan istasyonlardır (Kolören ve Demirel 2013b).

Kolören ve Demirel (2013c), tarafından bu tez kapsamında TÜBİTAK'ın desteklediği kısmını oluşturan Ordu il ve ilçelerinden alınan su örneklerinde *Toxoplasma* varlığını araştırmak için LAMP, PZR ve Nested PZR gibi moleküler metotlar kullanılmıştır. Su örneklerinde %35.7 oranında LAMP, %21.42 oranında Standart PZR, %28.57 oranında ise Nested PZR ile *T.gondii* DNA' sı pozitif olarak tespit edilmiştir. Bölgeden alınan içme sularında ise *T.gondii* DNA'sına rastlanmamıştır.

Yine bu tez kapsamında Kolören ve ark.'ının (2013) BAP tarafından desteklenmiş kısmı ile yaptıkları çalışma Giresun ilini içermektedir. Bu çalışmada Giresun il ve İlçelerinden alınan çevresel ve içme suyu örneklerinde *T. gondii*'yi Standart PZR kullanarak tespit etmiştir. Çalışmaya göre çevresel suların %13 ünde *T.gondii* DNA sı pozitif iken, alınan içme sularında ise bu parazitin varlığına rastlanmamıştır.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. MATERYAL

Çalışmanın evrenini Ordu ve Giresun ili oluşturmuştur. Çalışmanın Ordu ilini kapsayan kısmı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 210T141 nolu proje ile, Giresun ilini kapsayan kısmı ise TF1203 nolu Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) tarafından desteklenmiştir.

4.1.1. Araştırma Bölgelerinin Tanıtımı

4.1.1.1. Ordu

Ordu; Doğu Karadeniz Bölgesi içinde yer almaktadır. Kuzeyinde Karadeniz, güneyinde Tokat, Sivas, doğusunda Giresun, batısında Samsun bulunmaktadır. Toplam yüzölçümü 5.961 km² olup, ülke topraklarının %8'ini kaplar. İl 40° 18' - 41° 08' kuzey paralelleri, 36° 52'-38° 12' doğu meridyenleri arasında olup üzerinden Melet, Cival Deresi, Akçaova Deresi gibi büyüklü küçüklü akarsuların oluşturduğu yer yer alüvyon düzlükler bulunmaktadır. Ordu ili merkez coğrafyasında genelde dağlık, denize dik ve paralel kanyonlar yoğunluktadır. Merkezde Melet Havzası bulunmaktadır. Şehir kıyı ile birlikte doğu-batı doğrultusunda uzanan, yüksekliği 3000m'yi geçen aşılması güç Doğu Karadeniz dağ sıralarının kıyıda sıkıştırdıkları dar bir bölge ve küçük bir körfezin kenarında kurulmuştur Akarsu bakımından zengin olup, tüm kanyonlarda ırmak, dere türü akarsular bulunmaktadır. En önemli ırmakları Melet Irmağı, Bolaman Çayı, Elekçi Irmağı, Turnasuyudur. (Şekil 4.1.) (Anonim 2013f).

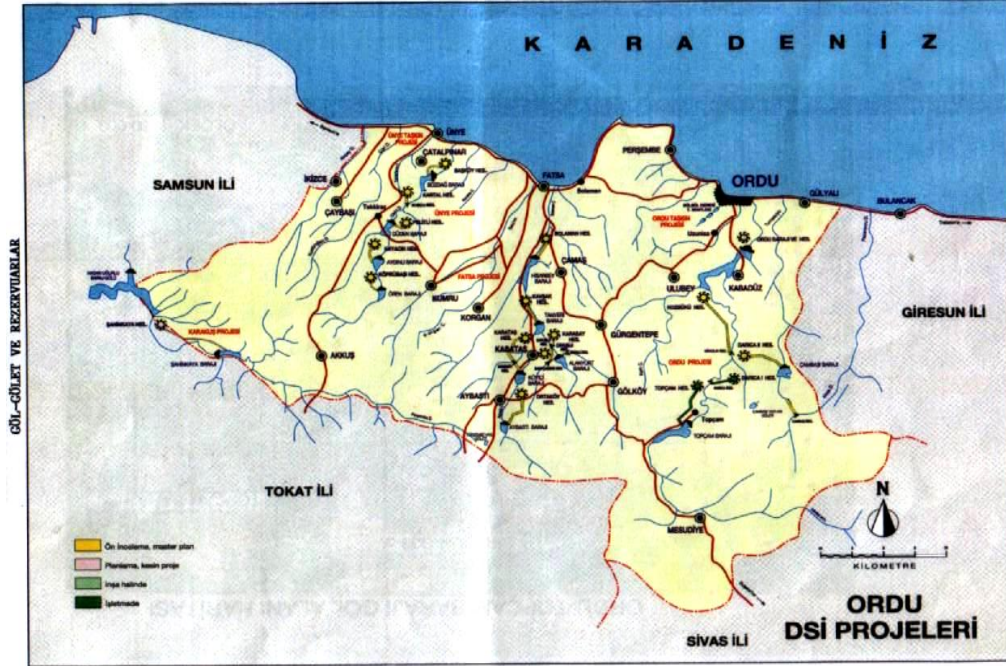


Şekil 4.1. Araştırma alanını oluşturan Ordu ilindeki istasyonlarının haritası (Kolören ve Demirel 2013)

Ordu ılıman bir iklime sahip olup kışları ılık yaz ayları ise serin geçer. Karadeniz de yılın bütün ayları yağışlı geçer. Senenin ortalama olarak 143 günü yağışlı geçmektedir. Günün en çok yağış miktarı Eylül ayında 153.4mm olarak kaydedilmiştir. Batı Karadenizden daha fazla fakat Doğu Karadeniz (Rize) kıyı şeridinden biraz daha az yağış alır. Yıllık ortalama yağış miktarı 1.152mm dir (Anonim 2013f).

Ordu il merkezi içme suyu kaynağı olarak Melet ırmağı'nı kullanmaktadır. Melet Irmağı'ndan alınan su; su alma yapısıyla içme suyu arıtma tesisine iletilmekte ve arıtma tesisinden arıtdıktan sonra şehir merkezine ulaşmaktadır. Ordu ili Fatsa ilçesinin içme suyu ise gelecek yıllar için içme suyu ve enerji amaçlı olan planlama aşamasındaki Hisarbey Barajı'ndan, Ünye ilçesi içme suyu ise inşaatı başlatılan proje ile önümüzdeki yıllarda Ceviz Deresi'nden temin edilmesinin planlandığı bildirilmiştir (Anonim 2013f).

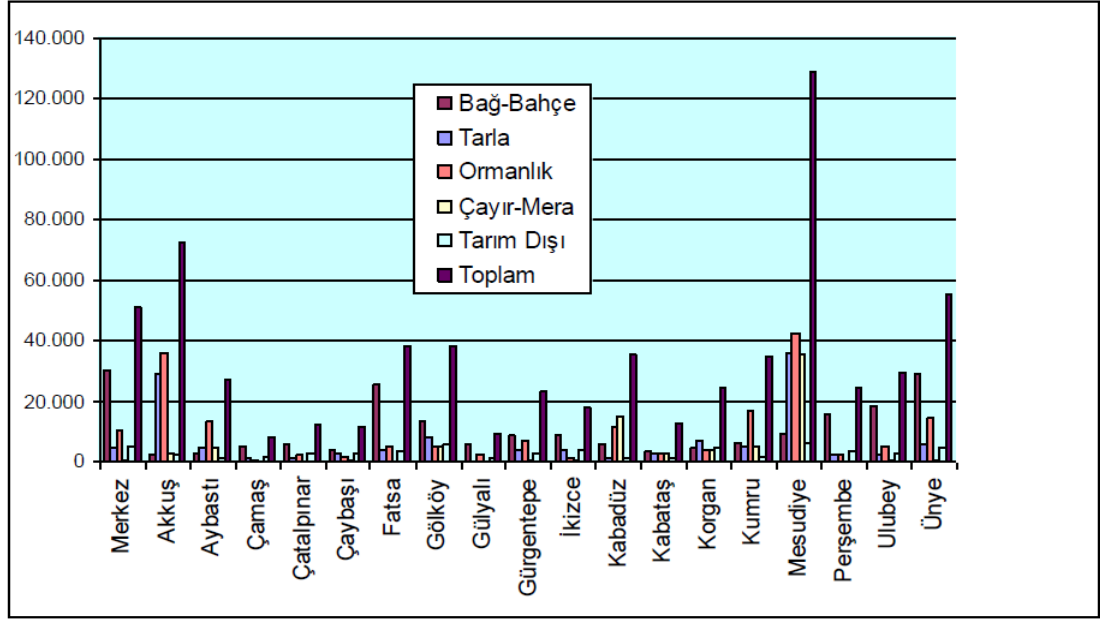
Ordu ilinde yer altı su rezervi Sarmaşık kaplıcasıdır. Ordu il merkezinde 15, Perşembe'de 1, Fatsa'da 4, Ünye ve Golköy de 7 tane yer altı suyu kuyuları mevcuttur (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Ordu ili baraj ve su rezervuarlarının mevcut durumu (Anonim 2013f)

Ordu ilinde işletmede olan göletler; Aybastı Perşembe Yaylası Göleti, Çambaşı Göleti ve Korgan-Absut Yaylası Göletidir. Bu göletlerin kullanım amacı ise hayvan su ihtiyacını karşılamaya yöneliktir (Anonim 2013f).

Toprak insan faaliyetleri ve kimyasal dönüşümler sonucunda toprağın yapısının bozulması, biyolojik, kimyasal ve fiziksel değişime uğraması toprak kirliliği olarak tarif edilmektedir. Toprak kirliliği yaygın olarak il genelinde bilinçsiz gübrelemeden kaynaklanmaktadır. Şekil 4.3.'te Ordu ili ve ilçelerine arazi varlığı durumu gösterilmiştir. Toprağın pH'sı, mineral madde ihtiyacı ve fazlalıkları bilinmeden yapılan gübreleme toprağın kirlenmesine ve dolayısıyla kullanımına engel olmaktadır (Anonim 2013f).



Şekil 4.3. Ordu il ve ilçelerinde arazi varlığının durumu (Anonim 2013f).

Toprak kirliliğinin oluşmasında evsel, endüstriyel ve tarımsal faaliyetler sonucunda oluşan katı ve sıvı atıkların oldukça önemli bir yeri vardır. İlgili yönetimlerce toplanan bu atıkların depolandığı alanlardan sızan sızıntılar ve kontrolsüz depolanmalar sonucunda sulara karışan Pb, Cd, Ni, Hg gibi ağır metallere oluşan zehirli maddelerin besin zinciri vasıtasıyla insan ve canlı sağlığını olumsuz etkilemektedir. Bu sebeple Ordu ilinde katı atık sorununun giderilememesi uzun vadede toprak kirliliğine ve su kirliliğine neden olabileceği bildirilmiştir (Anonim 2013f).

Değişik faaliyetler sonucunda akarsularda oluşan (evsel, endüstriyel ve bazı sağlık kurumlarından kaynaklanan) çok sayıda ve türde bakteri, virüs gibi organizmalar bulunabilmektedir. Bu suların tarımsal amaçlı kullanımları veya toprak üzerine yayılarak bertaraf edilmesi gibi durumlarda bol miktarda istenmeyen türdeki (*Salmonella*, *Shigella*, tifo basili, hepatitis virüsleri ve entero virüsleri gibi) organizmalar toprak bünyesine geçebilmektedir. Bu canlılar toprağın fiziksel ve kimyasal yapısına (gözeneklilik, sıcaklık, tutma kapasitesi, nem içeriği vb.) bağlı olarak 7 günden 7 yıla kadar yaşayabilmektedir. Örneğin *Salmonella* sp. Toprakta 15-280 gün arası, *Salmonella typhi* ise 2-10 gün yaşayabilmektedir. Genellikle bakterilerin büyük çoğunluğu, helminitler ve protozoonlar, daha büyük organizmalar olması sebebiyle toprakta filtrasyon mekanizmasıyla hepatit, tifo vb. birçok hastalığa

neden olan virüslerse absorbsiyon ile tutunabilmekte, bir süre sonra da yok olmaktadır. Ancak toprak özelliklerinin uygun olmadığı (Gözenekliliğin büyük, absorplama kapasitesinin küçük olduğu veya kırık ve çatlaklı yapılarının bulunduğu zeminlerin varlığı) durumlardan sonra bu virüsler herhangi bir engelle karşılaşmadan yer altı sularına ulaşabilmektedirler. İçme sularından kaynaklanan birçok hastalığın nedeni de budur. Hastalıklara neden olan organizmaların bulunduğu atık suların toprağa verilmesinden önce toprak özelliklerinin çok iyi tespit edilmesi gerekmektedir (Anonim 2013f).

4.1.1.2. Giresun

Karadeniz Bölgesi'nin Doğu Karadeniz bölümü'nde yer alan Giresun ili $40^{\circ} 07'$ ve $41^{\circ} 08'$ kuzey enlemleriyle, $37^{\circ} 50'$ ve $39^{\circ} 12'$ doğu boylamları arasında bulunmaktadır. Doğudan Trabzon ve Gümüşhane, güneydoğuda Erzincan, güney ve güneybatısında Sivas, batıda Ordu illeri ile kuzeyde de Karadeniz ile çevrilidir (Şekil4.4.)



Şekil 4.4. Araştırma alanını oluşturan Giresun ilindeki istasyonlarının haritası

Giresun'un yer aldığı Doğu Karadeniz Bölgesi, ülkemizin en çok yağış alan bölgesidir. Bölgenin orta kesiminde, Giresun Dağları'nın kuzey yamaçlarına yayılan ve bir bölümü ile de Kelkit Havzası'na sarkan il alanında değişik iki ana iklim özellikleri görülmektedir. Karadeniz'e bakan kısmı, ılık ve yağışlı iklim özellikleri gösterirken, Kelkit Havzasına giren bölümü Kara İklim özellikleri göstermektedir. Giresun en fazla yağışı sonbahar ve kış aylarında alır buna bağlı bu zamanlarda sel felaketleri yaşanmaktadır. Ilıman iklim tipinin hâkim olduğu ilde, yazlar genellikle orta sıcaklıkta kışlar ise ılık geçer (Anonim 2013g).

Giresun Dağlarının 2000 m'yi aşan bazı kesimlerinde hayvancılık açısından da önem taşıyan birçok yaylası mevcuttur. Giresun Dağları üzerindeki bu yaylaların başlıcaları: Kümbet, Kulakkaya, Bektaş, Tamdere, Karagöl, Eğribel, Kazıkbeli yaylalarıdır (Anonim 2013g).

Giresun ilinin başlıca akarsuları; Pazarsuyu, Aksu Deresi, Yağlıdere, Harşit Çayı, Kelkit Çayı, Gelivera Deresi, Görele Deresi'dir. Giresun ilinde enerji üretimi amacı ile kullanılacak su kaynaklarından başlıcaları; Pazarsuyu, Aksu Deresi, Yağlıdere, Harşit Çayı, Gelivera Deresi, Görele Deresi, Doğankent sınırları içinde bulunan Kozan Deresi, Güdül Deresi Çatalağaç Deresi ve Gümüşhane il sınırında bulunan Derindere'dir (Anonim 2013g).

Harşit Çayı (Doğankent Çayı) ise Giresun ili akarsularının en uzununu olup, 160 km'dir. Çayın debisi 232m³/sn dir. Harşit Çayı üzerinde Doğankent 1 ve 2 hidroelektrik santralleri vardır. Gümüşhane il sınırlarındaki Vavuk Yaylası'ndan doğar. Günyüzü yakınlarında il topraklarına girer ve Tirebolu'nun doğusunda denize dökülür. Gelivera (Özlüce) Çayı, Balaban Dağları'ndan doğar ve Espiye'nin doğusundan Karadeniz'e dökülür. Uzunluğu 80 km'dir. Özlüce Deresinin suyu yaz ve kış bol olup eğimin fazlalığı nedeniyle akışı hızlıdır. Yağlıdere Çayı ise Erimez dağından çıkan Çakrak, Akpınar, Ayvat, Sınırköy ve Hisarcık yörelerinin sularını topladıktan sonra, Yağlıdere'den geçer ve Espiye'nin batısında Karadeniz'e dökülür. Aksu Deresi, Karagöl bölgesinden doğar. Kızıldağ, Sarıyakup, Pınarlar ve Güdül bölgelerinin sularını topladıktan sonra merkez ilçenin doğu sınırında Karadeniz'e dökülür. Uzunluğu 60 km'dir. Batlama Deresi, Çaldağ'ın batı yamacının güneyinde Bektaş Yaylası'ndan doğar ve merkez ilçenin batısında denize dökülür. Uzunluğu 40

km'dir. Pazarsuyu Deresi ise Karagöl ve Yürücek bölgelerinin sularının birleşmesiyle oluşur ve Bulancak'ın batısından denize dökülür (Anonim 2013g).

Bütün akarsularda iç bölgelerden başlayarak, akarsular üzerindeki yerleşim birimlerinin kanalizasyonları deşarj edilmektedir. Yani üstü açık kolektör gibi kullanılan akarsular kıyı kuşağına ulaştıklarında, yolları üzerindeki bütün yerleşim birimlerinin kanalizasyon atıklarını, büyük kasabalarda ise evsel atıklarla birlikte sanayi atıklarını da denize deşarj etmektedir. Akarsular genel hatlarıyla her türlü kirletici için debilerin yüksek olduğu Mayıs ayında daha düşük kirlilik kategorisinde bulunmakta, Ağustos ve Ekim aylarında debilerin azalması ile daha kirli bir hal almaktadır. Giresun ili sınırları içinde kalan akarsular evsel, endüstriyel ve zirai faaliyetler sonucu her geçen gün artan bir ivmeyle kirliliğe maruz kalmaktadır (Anonim 2013g).

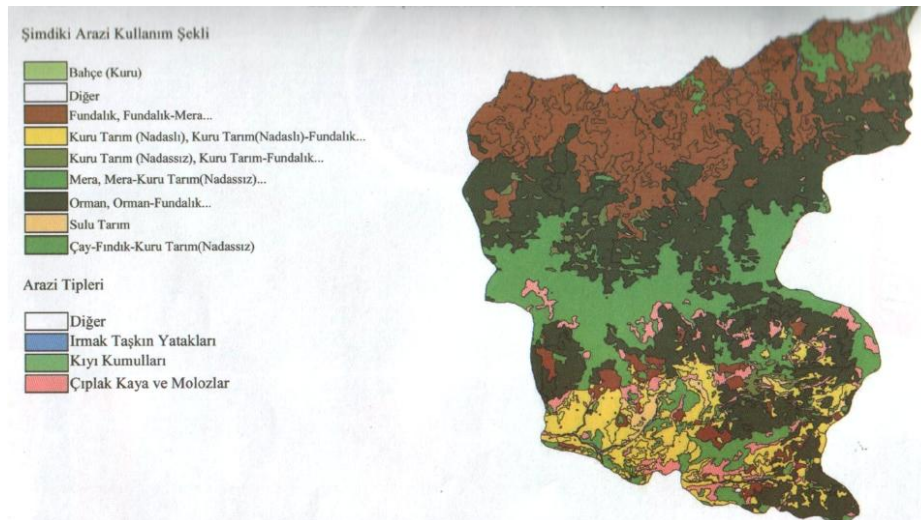
Bazı kirletici maddeler biyolojik olarak parçalanabildiklerinden zamanla doğal yollarla daha basit ve anorganik ürünlere dönüşürler. Petrol ve türevlerinin yaygın bir şekilde üretilip kullanılması, kullanımdan kaynaklanan deşarjlar, deniz taşınımı ve kazalar deniz kirlenmesinde önemli rol oynarlar (Anonim 2013g).

Giresun ilinin morfolojisi gereği, akarsular kısa, eğimi fazla ve akış hızı yüksektir. Bu akarsular vadi boyunca sıralanmış bütün yerleşim yerlerinin evsel, endüstriyel atıkların, hatta çoğu zaman çöplerini taşıyarak denize ulaştırmaktadır. Akarsuların sürüklenmesinin yoğun oluşu, erozyona neden olmakta ve akarsuların denize taşıdıkları organik madde miktarlarını oldukça artırmaktadır. Ayrıca buna akarsu yataklarında bulunan taş kırma tesislerinin yüksek oranda bulanıklık taşıyan yıkama suları da eklenmektedir (Anonim 2013g).

Yörenin çok yağış alması ve arazinin yüksek eğimi nedeni ile yapılan suni gübreleme çok kolay bir şekilde yıkanarak hem milli servet kaybına neden olmakta hem de akarsu, yeraltı suyu ve deniz kirliliğine sebep olmaktadır. Yerleşim alanlarından çıkan atıklar, egzoz gazları, endüstri atıkları, tarımsal mücadele ilaçları ve kimyasal gübreler toprak kirliliğine sebep olan en önemli etkenlerdendir. Yerleşim alanlarından çıkan çöplerin boşaltıldığı alanlar ile kanalizasyon şebekelerinin arıtılmaksızın doğrudan toprak verildiği alanlarda toprak kirliliği meydana gelmektedir (Anonim 2013g).

Toprak kirliliğine sebep olan diğer bir faktör de tarımsal mücadele ilaçları ve suni gübrelerdir. Tarımsal mücadele ilaçlarının bilinçsiz ve aşırı kullanımı sonucu, toksin maddelerin toprakta birikimi artmakta ve doğal ortamın kirletmesine sebep olmaktadır. Sodyum, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, çinko, bakır, mangan, bor gibi besin maddelerini içeren suni gübreler de aşırı ve bilinçsiz kullanım sonucu toprağın yapısını bozmakta ve toprak kirliliğine yol açmaktadır. Buna bağlı olarak Giresun ilinde görülen yağış miktarıyla orantılı olarak akarsu ve göller de kirlenmektedir (Anonim 2013g).

Giresun sahil kesimi besicilik için uygun bir yapıya değildir. Maliyetleri düşürecek mera alanları yoktur. Yayla ve obalar ise eskiden beri süregelen kullanım karmaşası, ulaşım güçlükleri ve sınır anlaşmazlıkları gibi nedenlerle verimli kullanılmamaktadır. Sahil kesiminde yetiştirilen Jersey ırkı inekler süt kalitesiyle çok üstün olmalarına rağmen, et tutma kapasiteleri zayıf ve etleri kalitesizdir. Bu durumda besi materyali teminini zorlaştırmaktadır. Yem bitkisi üretimi ve kaliteli mera olmadan başarılı besicilik yapmak imkânsızdır. Çamoluk, Alucra ve Şebinkarahisar ilçeleri dışında besicilik çok karlı olmamaktadır. Giresun ilinde koyun varlığının yoğun olduğu ilçeler sıra ile Şebinkarahisar, Dereli, Bulancak, Alucra ve Merkez ilçedir. **Şekil 4.5.** de Giresun iline ait arazi kullanım şekli gösterilmektedir (Anonim 2013g).



Şekil 4.5. Giresun ilinin arazi kullanım şekli (Anonim 2013g)

4.1.2. Parazit İçeren rneklerle Ait İstasyonlar

Bu alışma Ordu il ve çevresinde 2011 Haziran ve Temmuz aylarında Giresun il ve çevresinde ise 2012 Şubat- 2013 Ocak ayları arasında çevresel su örneklerinde yapılmıştır. Çalışmada, Ordu ilinde 31 ve Giresun ilinde 76 istasyon belirlenmiştir. Bu istasyonlar; Ordu il merkezinde Turnasuyu, Melet, Civil, Bülbül dereleri, Kumbaşı, Ordu Şehir girişi ve Ordu ıkışından (**Şekil 4.6**); Perşembe ilçesinde; Akçaova, Karabalçık, Kışla, aka, Bykağız ve Belicesu dereleri (**Şekil 4.7**); Fatsa ilçesinde; alışlar, Bolaman, Ilıca, Elekçi, atak, Serefıye, Sıcaksu dereleri ve Fatsa ıkışı (**Şekil 4.8**); nye ilçesinde ise; Tabakhane, Cevizler, Sazlık, Kavaklar, Lahna ve nye ıkışı (**Şekil 4.9**); Mesudiye ilçesinde Akpınar, Kerali dereleri ve Mesudiye ilçe girişidir. (**Şekil 4.10**)

Giresun il merkezinde ise; Aksu, Boğacık, Batlama, Bykre dereleri ve deniz suyu (**Şekil 4.11**); Piraziz ilçesinde; Piraziz, ayırağzı, Keloğlu dereleri ve deniz suyu (**Şekil 4.12**); Bulancak ilçesinde; Bulancak, Karadere, İncivez dereleri ve deniz suyu (**Şekil 4.13**); Espiye ilçesinde ise; Gelivera ve Yağlıdere dereleri ve deniz suyundan (**Şekil 4.14**); Keşap ilçesinde; Yolağzı, Keşap, Keşap Giriş Köprüsü dereleri ve deniz suyudur (**Şekil 4.15**).

Ayrıca dere ve deniz sularına ek olarak Ordu il ve İlçeleri'nden 25, Giresun il ve ilçeleri'nden 20 İçme suyu da alınıp çalışmaya dahil edilmiştir



Şekil 4.6. Ordu il merkezinden alınan su örneklerine ait istasyonlar



Şekil 4.7. Perşembe ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar



Şekil 4.8. Fatsa ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar



Şekil 4.9. Ünye ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar



Şekil 4.10. Mesudiye ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar



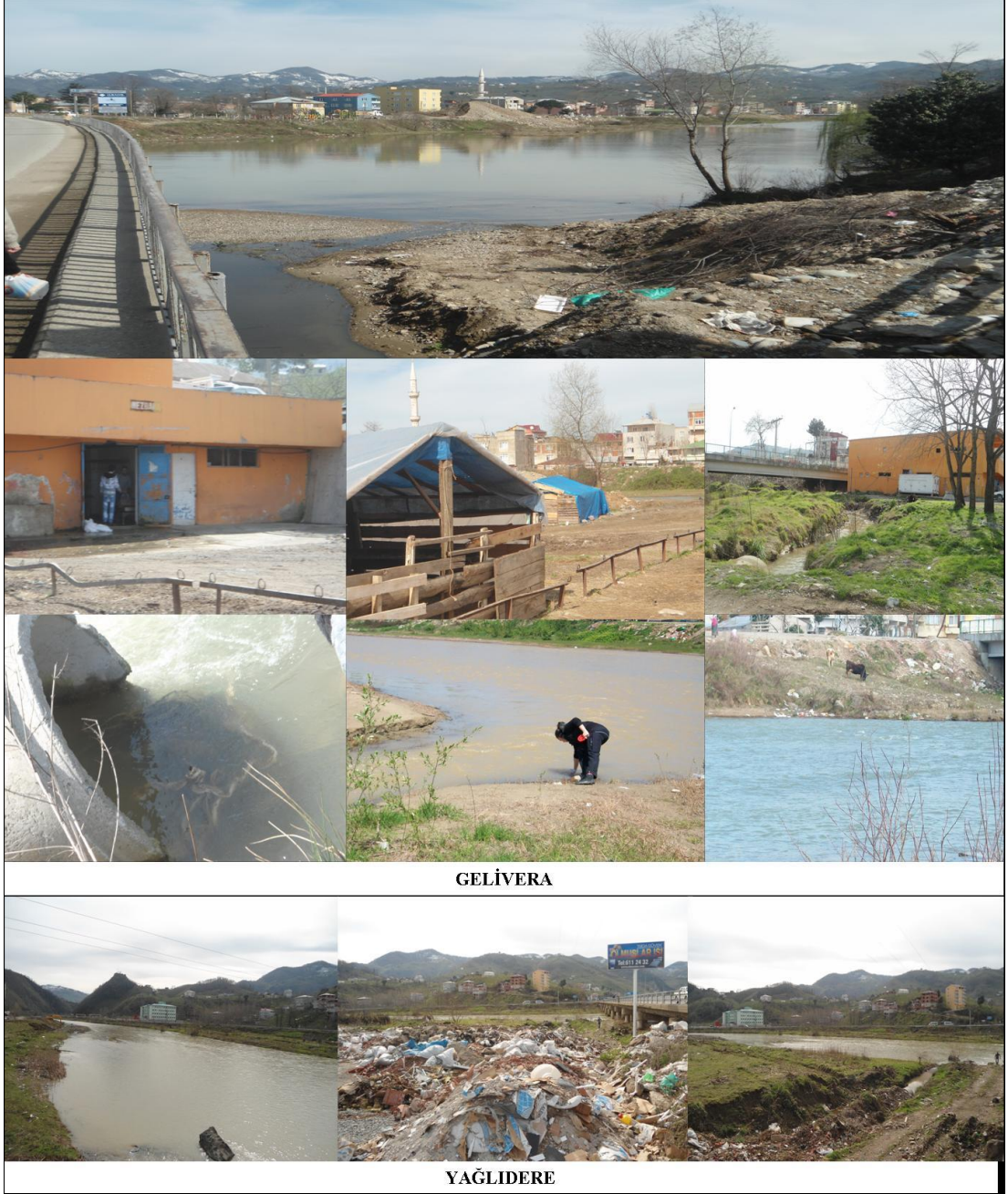
Şekil 4.11. Giresun il merkezinden alınan su örneklerine ait istasyonlar



Şekil 4.12. Piraziz ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar



Şekil 4.13. Bulancak ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar



Şekil 4.14. Espiye ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar



Şekil 4.15. Keşap ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar

4.2. YÖNTEM

4.2.1. Örneklerin Toplanması ve Alüminyum Sülfat ile Çöktürme

Ordu-Giresun il ve ilçelerinden 10 L'lik su örnekleri toplanmıştır. Her istasyondan alınan 10'ar litrelik su örneklerindeki materyalin çöktürülmesi için örneklere 20'şer ml Alüminyum sülfat $Al_2(SO_4)_3$ eklenerek pH 5.4-5.8 ayarlanmıştır. Çökelmenin sağlanabilmesi için örnekler karanlık ortamda 22 saat bekletilmiştir. Üstteki sıvı kısmı uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen 200ml' lik çökelti 50ml' lik falcon santrifüj tüplerine homojen şekilde konulmuş ve 2100 x g'de 10 dk 4°C' de santrifüj edilmiştir. Süpernatantı atılan tüplerde 5 ml örnek bırakılarak vortekslenmiştir. Distile su eklenerek 50 ml' ye tamamlanan örnekler 2100 x g'de 10 dk 4°C' de

santrifüj edilip süpernatant atılmış ve 5 ml' lik çökelti vortekslelendikten sonra üzerine 10ml lizis tamponu eklenip son hacim 50 ml' ye distile su ile tamamlanmıştır. Örnekler 15 dk' da bir çalkalamak suretiyle 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra örnekler 2 kez 2100 x g'de 10 dk 4°C'de santrifüj edilmiştir. Tüm tüplerin süpernatantı atılıp tüplerde 5 ml örnek bırakılarak son hacim 10 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanmıştır. Örnekler daha sonra kullanılmak üzere + 4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

4.2.2. Örneklerin Saflaştırılması (Sükroz Gradient Yöntemi)

Saflaştırma sürecinde 0.1 M PBS (pH: 7.2) ve sükroz çözeltisi (500 g Sükroz, 6.5 g fenol, 320 ml saf su) hazırlanmıştır. Sükroz/PBS oranı farklı iki çözelti (solüsyon A: 1/2, solüsyon B: 1/4) elde edilmiştir. Bu çözeltilere maksimum 4 damla % 1'lik tween 80 damlatılmıştır. Steril 50 ml'lik poliprolen falkon tüpünün içine önce 15 ml solüsyon A konulup üzerine 15 ml solüsyon B eklenerek gözle görülebilir bir faz elde edilmiştir. Bu fazın üstüne 10 ml su örneği dikkatli bir şekilde konularak 2. bir tabaka elde edilmiştir. Santrifüj 1200 x g'de 30 dk 4°C de edilmiş ve en üstte yaklaşık 10ml' lik ilk görünen üst tabaka atılmıştır. Atılan tabakanın altında mevcut olan yaklaşık 5-10 ml'lik ikinci tabaka temiz bir falkon tüpüne alınmıştır. Üzeri saf su ile 50 ml'ye tamamlanıp 2100 x g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra yaklaşık 2 ml lik pellet tüpün dibinde kalacak şekilde süpernatant atılmıştır. Tekrar üzeri saf su ile 50 ml'ye tamamlanıp 2100 x g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Yaklaşık 2 ml'lik pellet tüpün dibinde kalacak şekilde süpernatant atılmış ve pellet DNA ekstraksiyonunda kullanılmak üzere buzdolabında saklanmıştır.

4.2.3. DNA İzolasyonu

Sükroz gradient yöntemiyle saflaştırılan örneklerden DNA izolasyonu QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) protokolü modifiye edilerek Karanis ve ark. (2006) göre yapılmıştır. Buna göre, örneklerin üzerine lizis tamponu eklendikten sonra peşpeşe 15 kez sıvı azot içinde dondurup-çözme işlemi yapılmıştır. Dondurma işlemi örnekler sıvı azot içerisinde 1 dk bekletilerek, çözme işlemi ise kaynama sıcaklığında olan su banyosunda 1dk bekletilerek yapılmış ve bu sayede ookist duvarlarının tamamen kırılması sağlanmıştır. Bu işlemden sonra sırayla kit protokolü takip edilmiştir. Son olarak DNA 50 µl TE tampon içinde toplanmış ve elde edilen DNA

örnekleri, PZR, Nested PZR ve LAMP reaksiyonlarında kullanılmak üzere + 4°C'de saklanmıştır.

4.2.4. LAMP Tekniği (İlmiğe Dayalı İzotermal Amplifikasyon Tekniği)

LAMP reaksiyon karışımı 25 µl son hacimde hazırlanmıştır. 12.5 µl 2 X LAMP reaksiyon tamponu [40 mM Tris-HCL (pH: 8.8), 20 mM KCL, 16 mM MgSO₄, 20 mM (NH₄)₂SO₄, %0.2 Tween 20, 4M Betaine, 2.8 mM dNTP'ler], 1.3 µl primer karışımı [FIB, BIP (100 pmol), F3, B3 (100 pmol), LB, LF (100 pmol)], 8U Bst DNA polimeraz (Biolabs)'dan 1 µl eklendikten sonra nükleazsız su (Hyclone, katalog no: 5H3053802) ile reaksiyon karışımı 25 µl'ye tamamlanmıştır.

Reaksiyon karışımı vortekslenip PEQlab PZR cihazında 65°C'de 1 saat 80°C' de 5 dk DNA inkübasyona bırakılmıştır. Her bir test için pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır. Oluşan ürünler %1.5'lik agara yüklenip ethidium bromide boyanmıştır. Jel elektroforezde 100 V da 60 dk yürütüldükten sonra UV altında (Prizma/Quantum ST4) bantlar görüntülenmiştir. *T. gondii*'nin LAMP analizinde B1 gen bölgesi çoğaltılmaktadır. Bu gen bölgesine ait primerlerin dizilimi Çizelge 4.1. de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. *T. gondii* amplifikasyonunda kullanılan LAMP primerleri

PRİMER TİPİ	PRİMER UZUNLUĞU	DİZİLİMİ	AMPLİKON BOYUTU	HEDEF
BIP (B1- B2c)	45	5'- TCGCAACGGAGTTCTTCCC AG- TTTT- GGCCTGATATTACGACGG AC-3'	212	<i>T.gondii</i> B1 GENİ
FIB (F1c- F2)	45	5'- TGACGCCTTTAGCACATCT GGT- TTTT- GATGCTCAAAGTCGACCG C-3'		
B3	20	5'- CAGACAGCGAACAGAACA GA-3'		
F3	20	5'- GGGAGCAAGAGTTGGGAC TA-3'		

4.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tekniği

PZR reaksiyon karışımı 25 µl son hacimde hazırlanmıştır. Hot Start Taq DNA Polimeraz kiti (10X PZR tamponu, 5X Q solution, 25 mM MgCl₂, 5U hotstart taq DNA Polimeraz) (Qiagen), 25 mM dNTP mix, 10 pmol B1 genine ait F3 ve B3 primerleri ve 1 µl DNA'da kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı vortekslenip PEQlab PZR cihazında inkübasyona bırakılmıştır. PZR çalışması için aşağıda verilen protokol kullanılmıştır.

Kapak ısısı 105°C

İlk denatürasyon (zincirlerin ayrılması), 95°C’de 15 dakika

30 döngü için;

Denatürasyon (zincirlerin ayrılması), 94°C’de 45 saniye

Annealing (primerlerin bağlanması), 60°C’de 1 dakika

İlk extention (primerlerin uzaması), 72°C’de 1 dakika 30 saniye

Extention (Primerlerin uzaması), 72°C’de 10 dakika

Elde edilen PZR ürünleri +4°C’de kullanılıncaya kadar saklanmıştır. Her bir test için pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır. Oluşan ürünler %1.5’lik agaraya yüklenip ethidium bromidle boyanmıştır. Jel elektroforezde 100 V’da 60 dk yürütüldükten sonra UV altında (Prizma/Quantum ST4) bantlar görüntülenmiştir.

4.2.6. Nested PZR Tekniği

Nested PZR için Hot Start Taq DNA Polimeraz kiti (10X PZR tamponu, 5X Q solution, 25 mM MgCl₂, 5U hot start taq DNA Polimeraz) (Qiagen), 25 mM dNTP mix, 10 pmol T18SNEF, T18SNER, T18SNIF ve T18NIR primerleri (T18SNİF: AGGGTTCGATTCCGGAG, T18SNİR: GTGGAGAAATCCAGAA, T18SNEF: GACGGTACTGTATTGGACTA, T18SNER: TACTTCAGTCCTAGAAACCA) ve 1µl DNA kullanılmıştır. Toplam hacim 25µl olacak şekilde nükleazsız su (Hyclone, katalog no: 5H3053802) eklenmiştir. Reaksiyon karışımı vortekslenip PEQlab PZR cihazında inkübasyona bırakılmıştır. Karışım birinci ve ikinci PZR çalışması için aşağıda verilen protokol kullanılmıştır.

Kapak ısısı 105°C

İlk denatürasyon (zincirlerin ayrılması), 95°C’de 15 dakika

30 döngü için;

Denatürasyon (zincirlerin ayrılması), 94°C’de 1 dakika 30 saniye

Annealing (primerlerin bağlanması), 48°C’de 1 dakika 30 saniye

İlk extention (primerlerin uzaması), 72°C’de 1 dakika 30 saniye

Döngü biter

Extention (Primerlerin uzaması), 72°C’de 10 dakika

Elde edilen PZR ürünleri +4°C’de kullanılıncaya kadar saklanmıştır. Her bir test için pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır. Oluşan ürünler % 1.5’lik agaraya yüklenip

ethidium bromidle boyanmıştır. Jel elektroforezde 100 V da 60 dk yürütüldükten sonra UV altında (Prizma/Quantum ST4) bantlar görüntülenmiştir.

4.2.7. Sekans Analizi

Macrogen firmasına 18S rRNA Nested PZR ürünleri gönderilmiştir. Genetic Analyzer with a Big Dye Terminator V.3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems) ile ABI PRISM 3730 XL Analyzer (96 capillary Type) kullanılarak dizileme gerçekleştirilmiştir. Nested PZR'de kullanılan Forward ve Reverse primerleri ile iki yönlü dizileme yapılmıştır. BioEdit, Mega5 ve ClustaIW Software kullanılarak *Toxoplasma*'nın 18S rRNA gen dizisi Genbanktan alınan M97703 kodlu DNA dizisi ile karşılaştırılmıştır.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

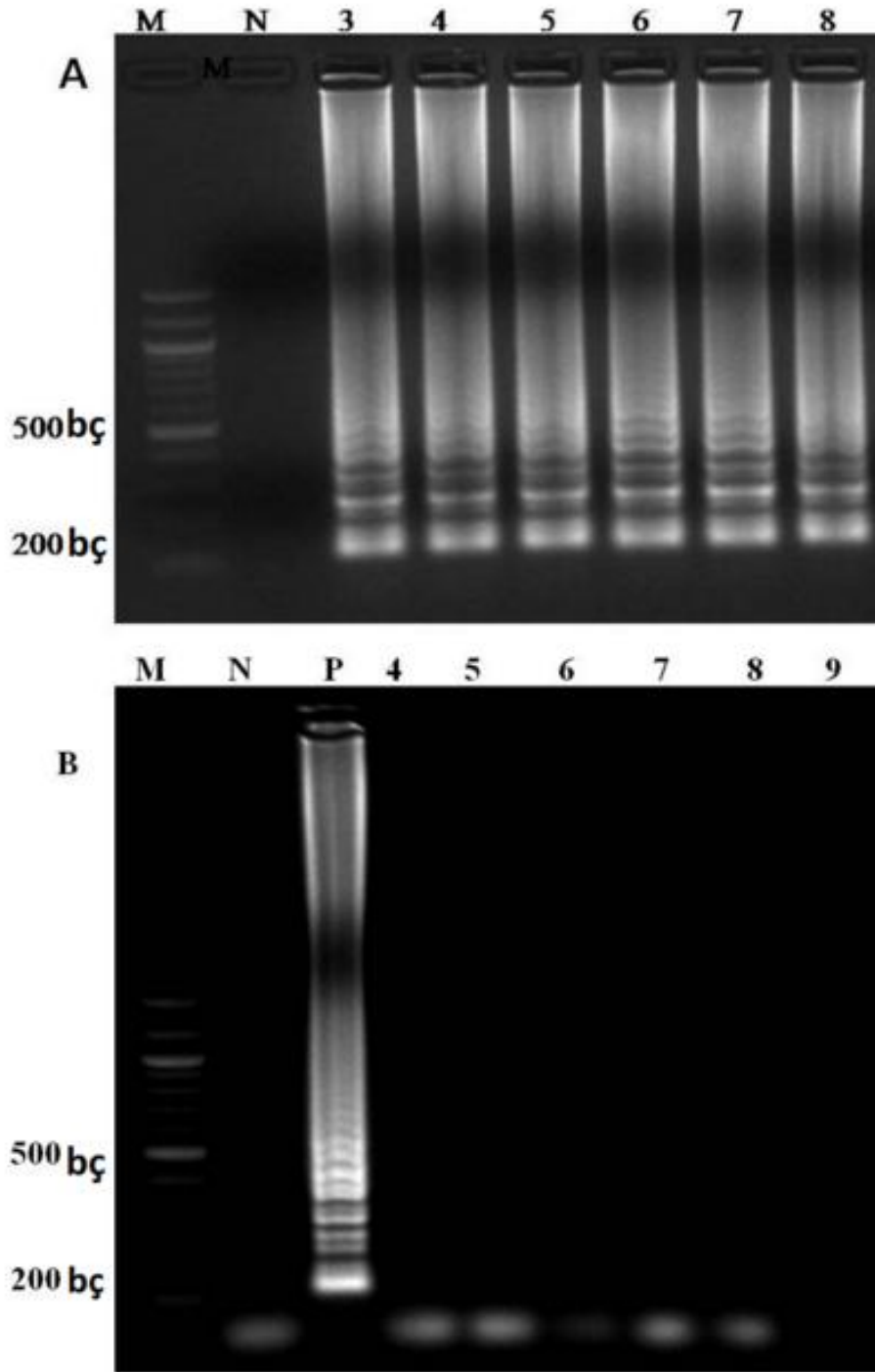
5.1. *T. gondii*'nin Moleküler Yöntemlerle Tespit Edilmesi

5.1.2. Kullanılan Moleküler Metotların Hassasiyeti ve Özgünlüğü

5.1.2.1. LAMP Metodunun Hassasiyeti ve Özgünlüğü

LAMP metodunun hassasiyet deneyi için önce pozitif olduğunu bilinen *Toxoplasma* RH takizoitlerinden elde edilen DNA'dan (10 ng) seri sulandırma yapılmıştır. Seri sulandırılmış DNA örneklerinden en az hangi konsantrasyondan bu metotla çoğalmanın gerçekleştiği kaydedilmiştir. Buna göre önce *Toxoplasma* RH DNA'sı nükleaz içermeyen su kullanılarak 10^{-1} 'den 10^{-6} 'ya kadar seri olarak sulandırılmıştır. Elde edilen farklı konsantrasyonlardaki DNA'lara LAMP tekniği uygulanmış ve elde edilen ürün ethidium bromidli %1.5'lik agaroz jele yüklenerek elektroforezde yürütülen DNA'ların UV ışığı altında (Prizma/Quantum ST4) bantları görüntülenmiştir (Şekil 5.1.A).

T. gondii LAMP deneyinin özgüllüğünü göstermek için hedef DNA olarak seçilen *T. gondii*'nin yanı sıra hedef DNA olarak seçilmeyen *G. lamblia*, *Neospora caninum*, *Hammondia hammondi*, *Babesia gibsoni*, *C. Parvum* protozoonları kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda LAMP reaksiyonuyla *T. gondii* DNA'sı çoğalırken diğer protozoonlarda herhangi bir çoğalma gözlenmemiştir (Şekil 5.1.B).



Şekil 5.1. **A.** LAMP tekniğiyle çoğaltılan seri sulandırılmış *Toxoplasma* RH (takizoit) DNA'sı kullanılarak yapılan hassasiyet deneyinin agaroz jeldeki görüntüsü. M: 100 bç marker, N: distile su (negatif), 3-8: sırasıyla; 10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg, 100 fg *Toxoplasma* RH DNA'sı. **B.** LAMP tekniğinin özgünlüğünün agaroz jeldeki görüntüsü. M: 100 bp marker, N: distile su (negatif), P: *Toxoplasma* RH (takizoit) DNA, 4: *C. parvum* DNA, 5: *G. lamblia* DNA, 6: *N. caninum* DNA, 7: *B. gibsoni* DNA, 8: *H. hammondi* DNA.

LAMP yönteminin hassasiyet çalışmasında *Toxoplasma* RH DNA'sı 10 ng'dan 100 fg'a kadar sulandırılmıştır. En son 100 fg/ μ L de *T.gondii* pozitif sonuçlanmıştır. Sotiriadou ve Karanis (2008), Zhang ve ark. (2009) ve Kolören ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmalarda da LAMP metodunun hassasiyeti gösterilerek *T. gondii* RH DNA'sını 100 fg/ μ L'de pozitif olarak tespit edilmiştir.

Sotiriadou ve Karanis (2008) ile Zhang ve ark. (2009), çalışmalarında olduğu gibi bu çalışmada da LAMP metodunun özgünlüğü gösterilmiştir. *T. gondii* DNA'sı pozitif *C. parvum*, *G.lambliia*, *N. caninum*, *B. gibsoni*, *H. hammondi* gibi diğer protozoon DNA'ları negatif sonuç vermiştir.

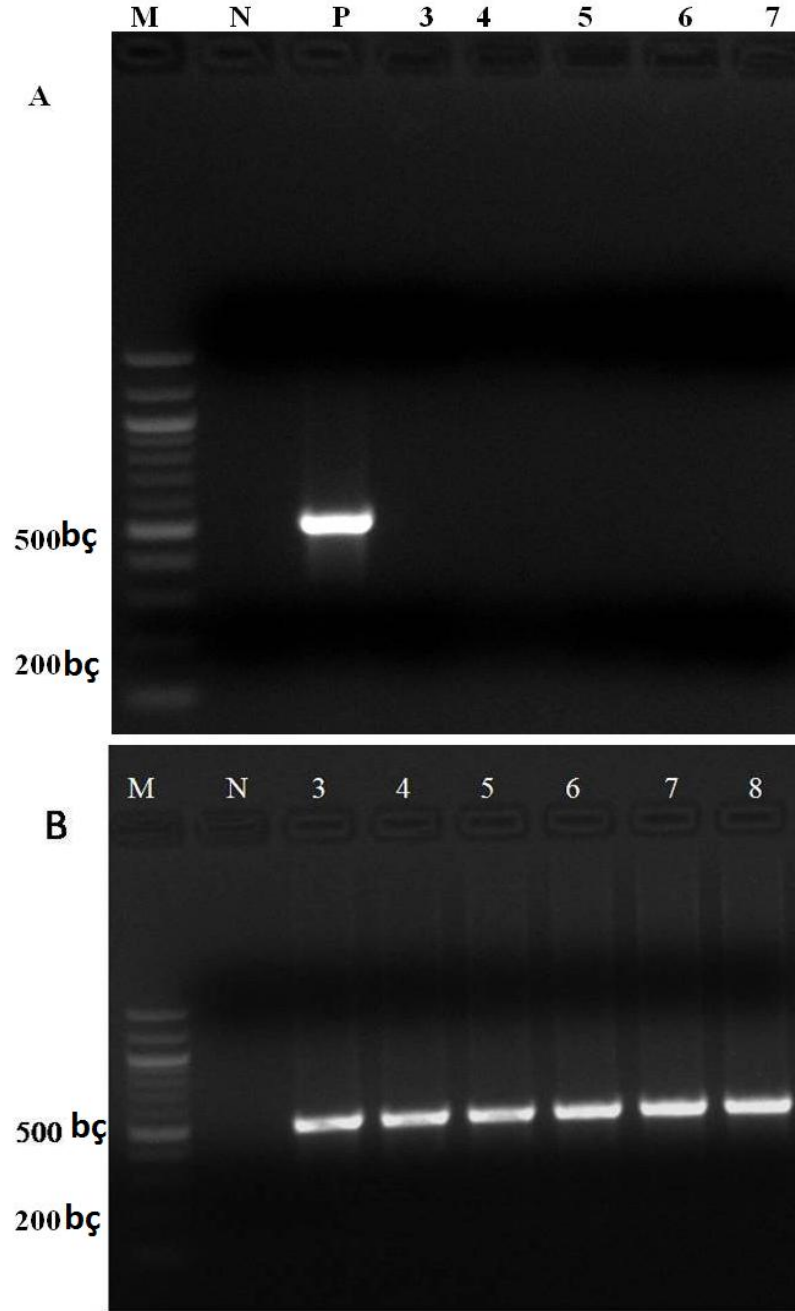
Zhang ve ark.'da (2009) LAMP deneyinin özgüllüğünü göstermek amacıyla, hedef DNA olarak seçilen *T. gondii*'ye ilave olarak hedef DNA olarak seçilmeyen *N. caninum*, *B. gibsoni*, *B. bovis*, *C. parvum*, *Trypanosoma brucei* ve *Theileria parva* protozoonlarını kullanmışlar reaksiyon sonucunda *T. gondii* çoğalırken diğer protozoonlarda herhangi bir çoğalma gözlemlenmemişlerdir. Bu çalışmada da LAMP metodunun özgünlüğü gösterilmiş olup, elde edilen sonuçlar Zhang ve ark. (2009), yapmış olduğu çalışma ile benzerdir.

5.1.2.2. PZR ve Nested PZR Metotlarının Hassasiyeti ve Özgünlüğü

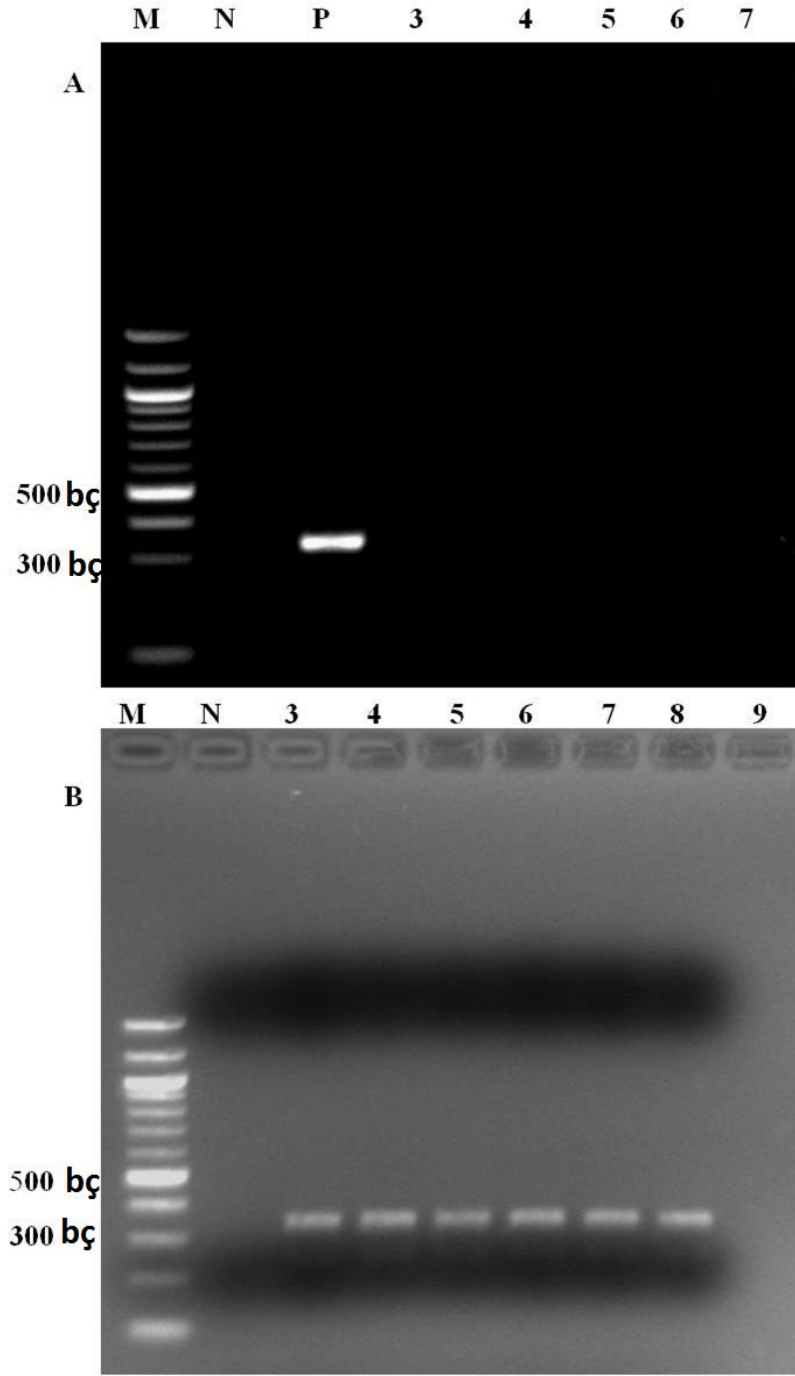
PZR ve Nested PZR metotlarının hassasiyeti, pozitif olduğu bilinen *Toxoplasma* RH (takizoit) DNA'sı (10 ng) nükleaz içermeyen su kullanılarak 10^{-1} den 10^{-6} 'e kadar seri olarak sulandırılmıştır. Elde edilen farklı konsantrasyonlardaki DNA'lara standart PZR ve nested PZR teknikleri uygulanmıştır ve elde edilen ürün ethidium bromidli %1.5'lik agaroz jele yüklenmiştir. Elektroforezde yürütülen DNA'ların UV ışığı altında (Prizma/Quantum ST4) bantları görüntülenmiştir (Şekil 5.2.B, Şekil 5.3.B).

T. gondii PZR ve Nested PZR deneyinin özgüllüğünü göstermek için hedef DNA olarak seçilen *T. gondii*'nin yanı sıra hedef DNA olarak seçilmeyen *G. lamblia*, *N. caninum*, *H. hammondi*, *B. gibsoni*, *C. parvum* protozoonları kullanılmıştır. *Toxoplasma* DNA'sı standart PZR ile 533 bç'de pozitif sonuç verirken, Nested PZR ile 321 bç'de pozitif sonuç vermiştir. Çalışmanın sonucunda standart PZR ve nested

PZR reaksiyonuyla *T. gondii* çoğalırken diğer protozoonlarda herhangi bir çoğalma gözlenmemiştir (Şekil 5.2.A, Şekil 5.3.A).



Şekil 5.2. A. 18S rRNA *Toxoplasma* geninin PZR tekniği ile özgünlüğünün agaroz jeldeki görüntüsü. M: 100 bç marker, N: distile su (negatif), P: *Toxoplasma* RH (takizoit) DNA, 3: *C. parvum* DNA, 4: *G. lamblia* DNA, 5: *N. caninum* DNA, 6: *B. gibsoni* DNA, 7: *H. hammondi* DNA. B. 18S rRNA *Toxoplasma* geninin PZR tekniğiyle çoğaltılan seri sulandırılmış *Toxoplasma* RH DNA'sı kullanılarak yapılan hassasiyet deneyinin agaroz jeldeki görüntüsü. M: 100 bp marker, N: distile su (negatif), 3-8: sırasıyla; 10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg, 100 fg *Toxoplasma* RH DNA'sı.



Şekil 5.3. **A.** 18S rRNA *Toxoplasma* geninin NestedPZR tekniği ile özgülüğünün agaroz jeldeki görüntüsü. M: 100 bç marker, N: distile su (negatif), P: *Toxoplasma* RH (takizoit) DNA, 3: *C. parvum* DNA, 4: *G. lamblia* DNA, 5: *N. caninum* DNA, 6: *B. gibsoni* DNA, 7: *H. hammondi* DNA. **B.** 18S rRNA *Toxoplasma* geninin NestedPZR tekniğiyle çoğaltılan seri sulandırılmış *Toxoplasma* RH DNA'sı 1 kullanılarak yapılan hassasiyet deneyinin agaroz jeldeki görüntüsü. M: 100 bp marker, N: distile su (negatif), 3-8: sırasıyla; 10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg, 100 fg *Toxoplasma* RH DNA'sı.

PZR tekniğinin hassasiyet ve özgünlüğü de 18S rRNA *Toxoplasma* geni kullanılarak gösterilmiştir. Hedef DNA olan *T. gondii* DNA'sı 533 bç de pozitif bant vermiştir; fakat hedef DNA olmayan diğer protozoon DNA'ları negatif olarak tespit edilmiştir.

PZR tekniğinin hassasiyeti ile ilgili çalışmada Zhang ve ark. (2009), *T. gondii* RH DNA'sını 10 ng'dan 10 pg'a kadar pozitiflik elde etmişlerdir. Çalışmada ise orijinal *T. gondii* DNA'sı 10 ng'dan 100 fg'a kadar sulandırılarak gösterilmiş *Toxoplasma* DNA'sı 100 fg'a kadar hassas olarak tespit edilmiştir. Yine yapılan çalışmada 100 fg'da elde edilen pozitiflik sonucun Zhang ve ark. (2009) elde ettiklerinden daha hassas olduğu şeklinde yorumlanabilir. Sotiriadou ve Karanis de (2008) çalışmalarında PZR tekniğinin hassasiyeti için *T. gondii* DNA'sı kullanmıştır. Çalışmalarında 100 fg'a kadar sulandırdıkları DNA'lar bu araştırma ile benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

NestedPZR tekniği ile de 18S rRNA *Toxoplasma* geni kullanılarak hassasiyet ve özgünlüğü gösterilmiştir. Çalışma sonunda *T. gondii* RH DNA'sı pozitif olarak sonuçlanmıştır. Hedef DNA olmayan diğer protozoon DNA'ları negatif olarak tespit edilmiştir. Nested PZR tekniğinin hassasiyetinin belirtildiği çalışmada *Toxoplasma* DNA'sı 10 ng'dan 100 fg'a kadar sulandırılmış ve 100 fg'da pozitif sonuç alınmıştır.

Kedi feçeslerinde görülen, nonpatojenik ve morfolojik olarak *T. gondii*'ye benzeyen *H. hammondi* ookistinin ayırıcı tanısı moleküler tekniklerle mümkün olmaktadır (Frenkel ve Dubey 1975). Bu çalışmada kullanılan moleküler metotların yüksek özgünlüğü *T. gondii* pozitifliğinin güvenilirliğini göstermiş olduğu kanısına varılmıştır.

5.1.3. İstasyonlarımıza Ait Örneklerin LAMP, PZR ve Nested PZR Sonuçları

5.1.3.1. Ordu İl ve İlçelerinden Alınan Su Örneklerinin LAMP, Standart PZR, Nested PZR ve Sekans Analiz Sonuçları

Çalışmada 2011 Haziran ve Temmuz aylarında Ordu il merkezi ve ilçelerinden alınan 31 çevresel ve 25 içme suyu örnekleri sükröz gradiyent yöntemiyle saflaştırılmıştır. Daha sonra tüm su örneklerinden DNA izole edilmiştir ve izole edilen DNA'lara LAMP, Standart PZR ve Nested PZR moleküler metotları uygulanmıştır. İçme suyu örneklerinde *Toxoplasma* hiçbir metot ile tespit edilmemiştir. Toplamda 56 su örneği incelenmiş olup LAMP yöntemiyle 20 (%35.7), Nested PZR tekniğiyle 16 (%28.57) ve PZR ile de 12 (%21.42) örnek pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 5.1.).

Çizelge 5.1. Ordu il merkezi ve ilçelerinden alınan su örneklerinde *T. gondii*'nin LAMP, PZR ve Nested PZR yöntemlerinin karşılaştırılması

Alınan su tipi	İstasyon	İncelenen örnek sayısı	LAMP ile pozitif örnek sayısı	Nested PZR ile pozitif örnek sayısı	PZR ile pozitif örnek sayısı
Musluk suyu	Bütün istasyonlar	25	0	0	0
Ara toplam % pozitif		25	0%	0%	0%
Irmak suyu	Ordu-Merkez	8	5	4	3
	Ünye	6	4	3	3
	Fatsa	8	5	4	4
	Perşembe	6	4	3	1
	Mesudiye	3	2	2	1
Ara toplam % pozitif		31	20 (%64.51)	16 (%51.61)	12 (%38.7)
Genel toplam pozitif (%)		56	20 (%35.7)	16 (%28.57)	12 (%21.42)

Tablo incelendiğinde Ordu il merkezinden alınan Turnasuyu, Melet, Civil, Bülbül dereleri ve Ordu çıkış noktaları olmak üzere 5 noktada alınan su örnekleri LAMP metodu ile pozitif sonuçlanmıştır. Turnasuyu, Melet, Civil ve Bülbül dereleri olmak üzere 4 istasyonda nested PZR tekniği kullanılarak da pozitif sonuç elde edilmiştir. Standart PZR tekniği ile pozitif olanlar ise Melet, Civil ve Bülbül dereleridir. Ordu çıkış noktası LAMP metodu ile pozitif iken, Nested PZR ve Standart PZR tekniği ile negatif olarak saptanmıştır.

Perşembe ilçesinde ki örneklerden Karabalçık, Kışla, Büyükağz ve Belicesu dereleri LAMP metodu ile *T. gondii* pozitifdir. Aynı ilçeden Karabalçık, Büyükağz ve Belicesu dereleri Nested PZR ile Karabalçık Deresi ise Standart PZR ile pozitif bulunmuştur. Büyükağz ve Belicesu derelerinden alınan su örneklerinde de *T. gondii* pozitifliği LAMP ve Nested PZR ile saptanmıştır. LAMP metodu ile Kışla'dan alınan su örneğinde de pozitif sonuç elde edilmiştir.

Fatsa ilçesinde Çalışlar, Çatak, Bolaman, Serefiye ve Elekçi derelerinde *T.gondii* LAMP metoduyla pozitifdir. Çatak, Bolaman, Serefiye ve Elekçi dereleri istasyonları LAMP, Nested PZR ve Standart PZR tekniği ile pozitif bulunmuştur. Çalışlar Deresi'nden alınan su örneği Nested PZR ve Standart PZR ile negatifken, LAMP metoduyla pozitif olarak bulunmuştur.

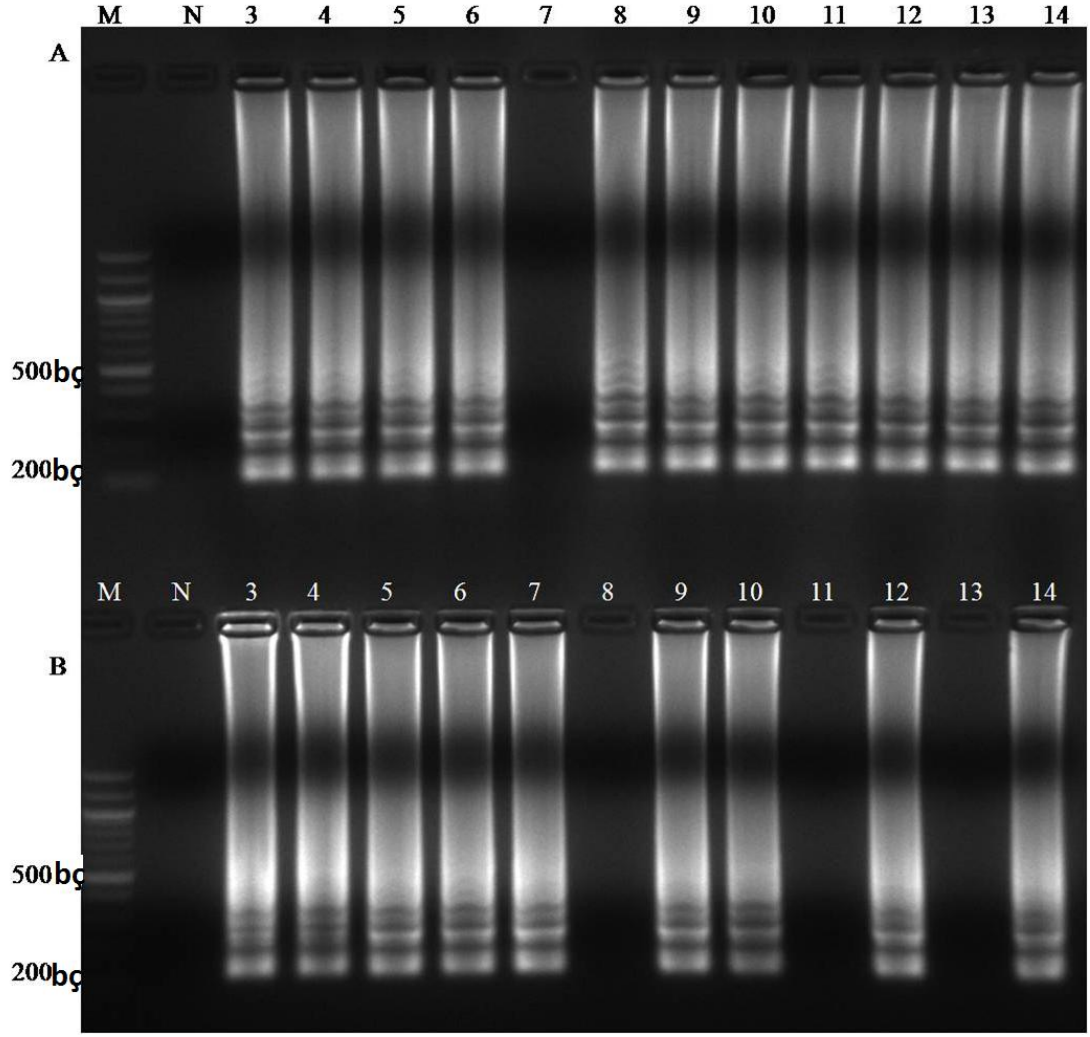
Ünye ilçesinde Kavaklar, Cevizler, Lahna ve Tabakhane dereleri LAMP metodu ile *T. gondii* pozitif olarak elde edilmiştir. Standart PZR ve Nested PZR teknikleriyle ise sadece Kavaklar, Cevizler ve Lahna dereleri pozitif olarak tespit edilmiştir. LAMP metodunun pozitif olarak tespit ettiği Tabakhane Deresi'nden alınan su örneği Standart PZR ve Nested PZR ile negatif olarak sonuçlanmıştır.

Mesudiye ilçesinde Akpınar ve Kerali dereleri LAMP ve Nested PZR ile pozitif bulunmuştur. Standart PZR tekniği kullanılıp pozitif sonuç alınan istasyon ise Akpınar Deresi'dir. Kerali Deresi su örneği LAMP ve Nested PZR ile pozitif, Standart PZR tekniği ile negatif bulunmuştur.

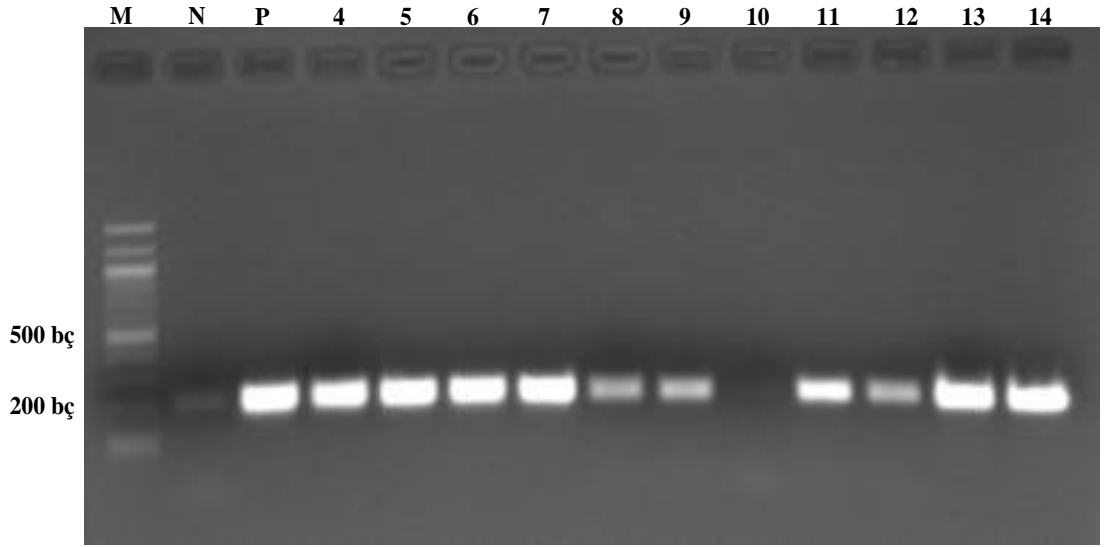
Buna göre; Ordu il merkezinden alınan 8 istasyonun 5'i, Perşembe ilçesinden 6 istasyonun 4'ü, Fatsa'dan 8 istasyonun 5'i, Ünye'den 6 istasyonun 4'ü, Mesudiye'den 3 istasyonun 2'si LAMP yöntemiyle pozitif olarak tespit edilmiştir.

Ordu il merkezinden alınan 8 istasyonun 3'ü, Perşembe ilçesinden 6 istasyonun 1'i, Fatsa'dan 8 istasyonun 4'ü, Ünye'den 6 istasyonun 3'ü, Mesudiye'den 3 istasyonun 1'i Standart PZR ile pozitifdir. Ordu il merkezinden 8 istasyonun 4'ü, Perşembe ilçesinden 6 istasyonun 3'ü, Fatsa'dan 8 istasyonun 4'ü, Ünye'den 6 istasyonun 3'ü, Mesudiye'den 3 istasyonun 2'si Nested PZR yöntemiyle *Toxoplasma* DNA'sı pozitif sonuç vermiştir.

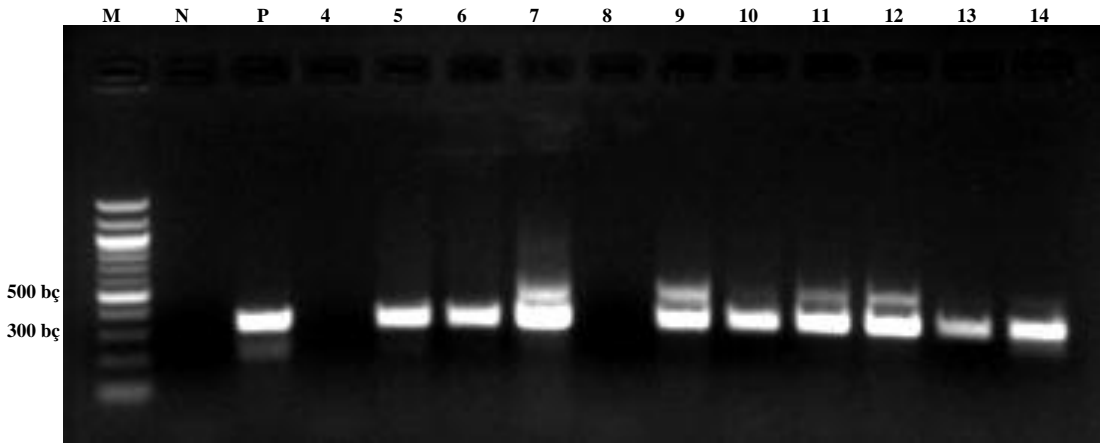
Çalışmada Ordu ilinden alınan örneklere uygulanan LAMP metodunun (Şekil 5.4.), Standart PZR metodunun (Şekil 5.5.) ve Nested PZR metodunun (Şekil 5.6.) agaroz jeldeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 5.4. LAMP yöntemiyle çalışılan Ordu ili araştırma alanından toplanan su örneklerine ait LAMP ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. A ve B jeli; M: 100-bç DNA marker; N: distile su (negatif), 3: *Toxoplasma* RH DNA'sı (pozitif), 4-14: çalışılan su örnekleri.



Şekil 5.5. Standart PZR yöntemiyle çalışılan Ordu ilinden alınan su örneklerine ait PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü; M:100 bç DNA marker; N: (distile su) negatif; P:*T. gondii* (RH) DNA'sı, 4-14: çalışılan su örnekleri



Şekil 5.6. Nested PZR yöntemiyle çalışılan Ordu ilinden alınan su örneklerine ait Nested PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü; M:100 bç DNA marker; N: (distile su) negatif; P:*T. gondii* (RH) DNA'sı, 4-14: çalışılan su örnekleri

Su örneklerinin nested PZR tekniği kullanılarak elde edilen 16 ürünün sekans analiz sonuçları Gen bankasından (National Center for Biotechnology Information-NCBI) M97703 kodlu 18S rRNA *Toxoplasma* gen dizisi ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada elde edilen 13 Nested PZR ürününün sekansı başarılı bir şekilde alınmıştır. Ordu ilinde Turnasuyu, Perşembe ilçesinde Belicesu, Fatsa ilçesinde Elekçi derelerinin DNA ürünleri için elde edilen dizilerin sekansı alınmamıştır. Çizelge 5.2.'de sekans sonuçları ve diğer metotların sonuçları gösterilmiştir.

Çizelge 5.2. Yüzeysel ve içme sularına uygulanan LAMP, Standart PZR ve Nested PZR sonuçları ile Nested PZR ürünlerinin sekans sonuçları

İstasyonlar	18S rRNA Nested PZR ve Sekans sonuçları <i>T. gondii</i>	18S rRNA PZR <i>T. gondii</i>	Toxo B1-LAMP <i>T. gondii</i>
Ordu İl Merkezi			
Ordu çıkışı	-	-	+
Turnasuyu	+ (sekansı alınamadı)	-	+
Melet	+	+	+
Civil	+	+	+
Bülbül	+	+	+
Ordu Liman	-	-	-
Kumbası	-	-	-
Ordu Şehir Girişi	-	-	-
İçme suları	-	-	-
Perşembe			
Akcaova	-	-	-
Karabalcık	+	+	+
Kışla	-	-	+
Çaka	-	-	-
Büyükağız	+	-	+
Belicesu	+ (sekans alınamadı)	-	+
İçme suları	-	-	-
Ünye			
Kavaklar	+	+	+
Cevizler	+	+	+
Lahna	+	+	+
Sazlık	-	-	-
Tabakane	-	-	+
Ünye ilçe çıkışı	-	-	-
İçme suları	-	-	-
Fatsa			
Çalışlar	-	-	+
Ilıca	-	-	-
Çatak	+	+	+
Bolaman	+	+	+
Serefiye	+	+	+
Elekçi	+ (sekans alınamadı)	+	+
Sıcaksu	-	-	-
Fatsa ilçe çıkışı	-	-	-
İçme suları	-	-	-
Mesudiye			
Akpınar	+	+	+
Kerali	+	-	+
Mesudiye ilçe çıkışı	-	-	-
İçme suları	-	-	-

5.1.3.2. Giresun İl ve İlçelerinden Alınan Su Örneklerinin LAMP, Standart PZR ve Nested PZR sonuçları

Çalışmada 2012 Şubat- 2013 Ocak ayları arasında Giresun il Merkezi ve ilçelerinden alınan 76 çevresel ve 20 içme suyu örnekleri sükröz gradient yöntemiyle ile saflaştırılarak DNA'ları izole edilmiştir ve izole edilen DNA'lara LAMP, Standart PZR ve Nested PZR moleküler metotları uygulanmıştır. İçme suyu örneklerinde *Toxoplasma* hiçbir metot ile tespit edilmemiştir. Toplamda 96 su örneğinden LAMP, Nested PZR ve PZR yöntemi ile 10 (%10.41) örnek pozitif bulunmuştur (Çizelge 5.3.).

Çizelge 5. 3. Giresun il merkezi ve ilçelerinden alınan su örneklerinde *T. gondii* varlığının LAMP, PZR ve Nested PZR yöntemleriyle karşılaştırılması

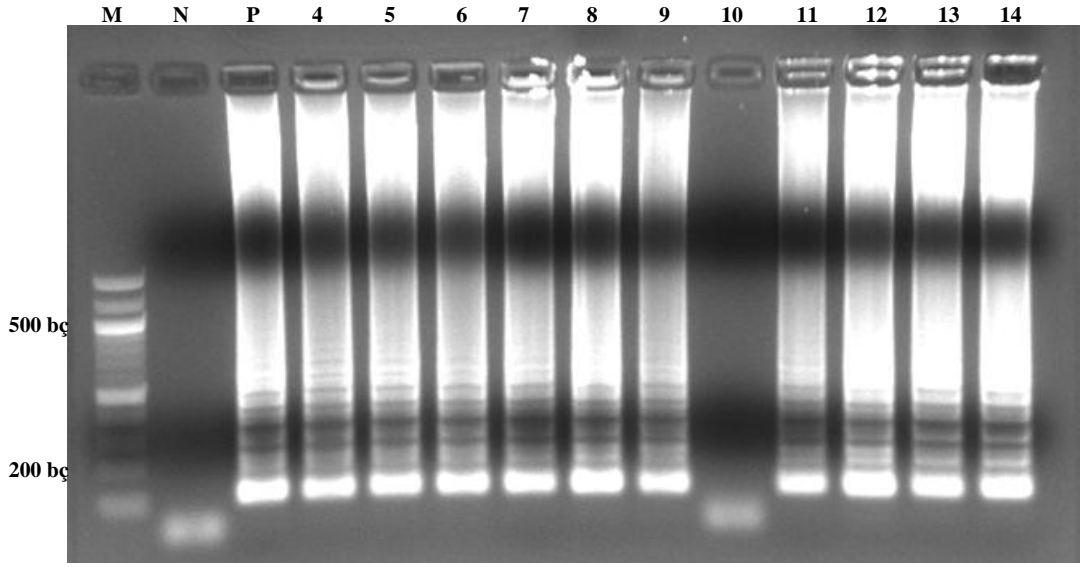
Alınan su tipi	İstasyon	İncelenen örnek sayısı	LAMP ile pozitif örnek sayısı	Nested PZR ile pozitif örnek sayısı	PZR ile pozitif örnek sayısı
Musluk suyu	Bütün istasyonlar	20	0	0	0
Ara toplam % pozitif		20	0%	0%	0%
İrmak suyu	Giresun-Merkez	24	1	1	1
	Piraziz	12	2	2	2
	Bulancak	16	3	3	3
	Keşap	18	3	3	3
	Espiye	6	1	1	1
Ara toplam % pozitif		76	10 (%13.15)	10 (%13.15)	10 (%13.15)
Genel Toplam pozitif (%)		96	10 (%10.41)	10 (%10.41)	10 (%10.41)

Tablo incelendiğinde Giresun il merkezinden su örnekleri alınan Aksu Deresi; Piraziz ilçesinde Piraziz ve Çayırdağı Dereleri; Bulancak ilçesinde Bulancak, Karadere ve İncivez Dereleri; Keşap ilçesinde Yolağı, Keşap ve Keşap Giriş

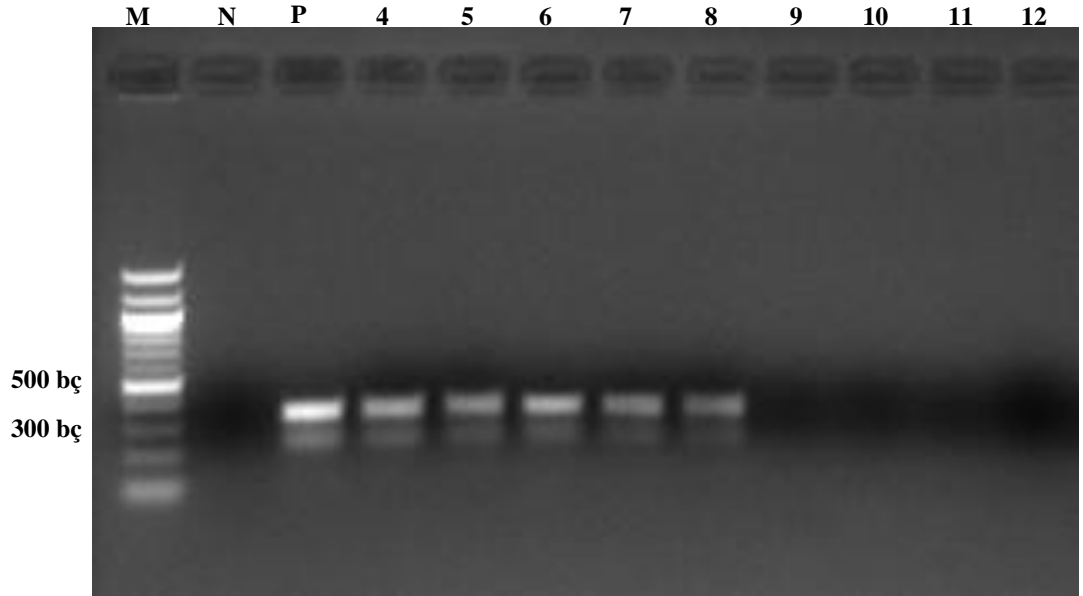
Köprüsü Dereleri; Espiye ilçesinde Gelivera Deresi LAMP, Nested PZR ve Standart PZR tekniği ile *T. gondii*'nin varlığı tespit edilmiştir.

Buna göre, Giresun il merkezinden alınan 5 istasyonun 1'i, Piraziz ilçesinden 4 istasyonun 2'si, Bulancak ilçesinden 4 istasyonun 3'ü, Keşap ilçesinden 4 istasyonun 3'ü ve Espiye ilçesinden 3 istasyonun 1'i LAMP, Standart PZR ve Nested PZR yöntemleriyle *Toxoplasma* DNA'sı pozitif olarak tespit edilmiştir. İçme suyu ve çevresel suların genel toplamı değerlendirildiğinde 96 su örneği LAMP, Nested PZR ve Standart PZR ile 10 (%10.41) örnek pozitif olarak bulunmuştur.

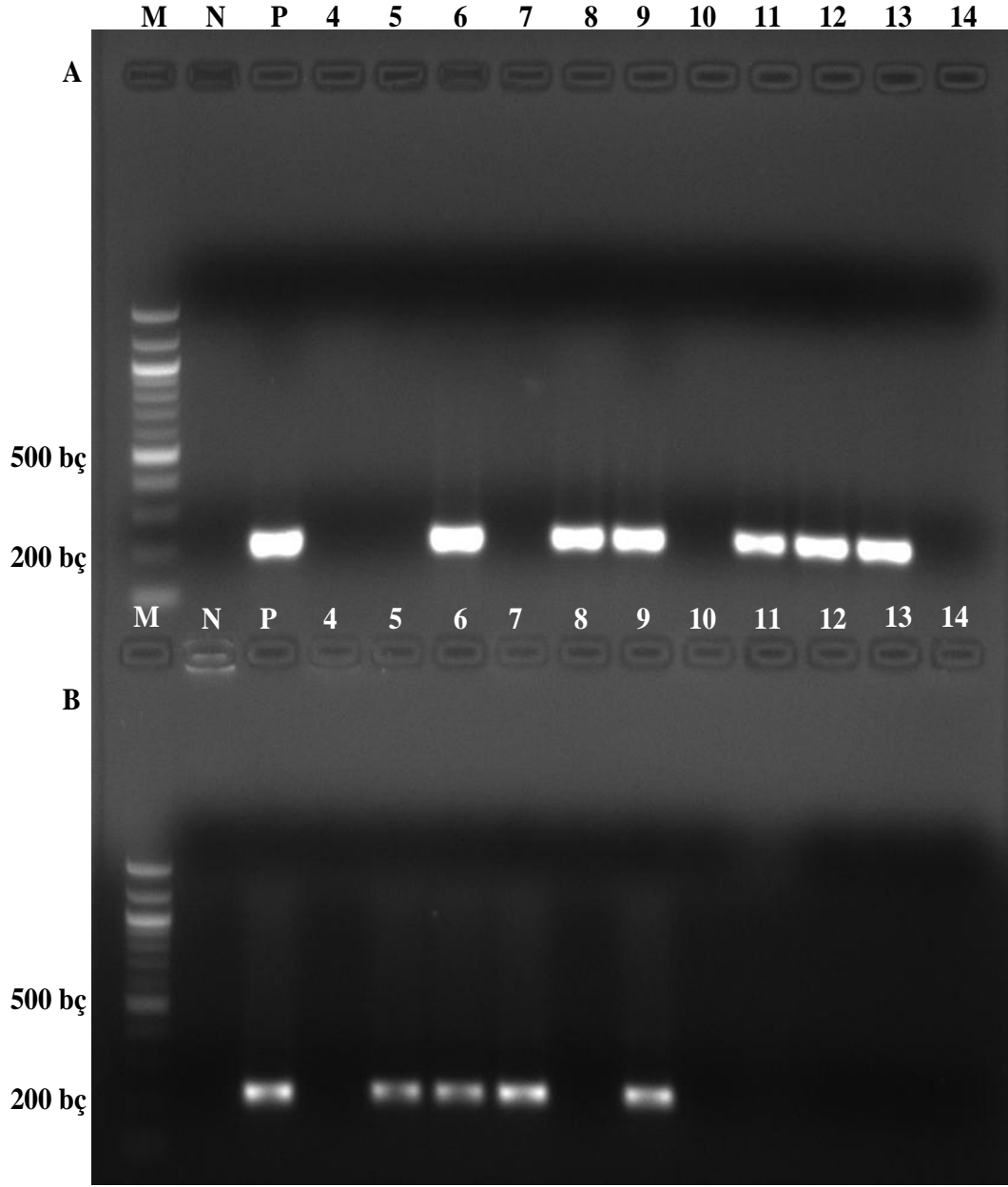
Örneklere uygulanan LAMP metodunun (Şekil 5.7.), Nested PZR metodunun (Şekil 5.8.) ve Standart PZR metodunun (Şekil 5.9.) agaroz jeldeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 5.7. LAMP yöntemiyle çalışılan Giresun İl ve ilçelerinden alınan su örneklerine ait LAMP ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. M: 100-bç DNA marker; N: distile su (negatif), 3: *Toxoplasma* RH DNA'sı (pozitif), 4-14: çalışılan su örnekleri.



Şekil 5.8. Nested PZR yöntemiyle çalışılan Giresun il ve ilçelerinden alınan su örneklerine ait Nested PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü; M:100 bç DNA marker; N: (distile su) negatif; P:*T. gondii* (RH) DNA'sı (pozitif), 4-14: çalışılan su örnekleri



Şekil 5.9. Standart PZR yöntemiyle çalışılan Giresun il ve ilçelerinden alınan su örneklerine ait PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü. A ve B jeli; M: 100 bç DNA marker; N: distile su (negatif), P: *Toxoplasma* RH DNA'sı (pozitif), 4-14: çalışılan su örnekleri.

Dünya üzerindeki 1.5 trilyon insan suyla taşınan hastalıklara yakalanmakta ve bunun 3.4 milyonu viral patojenler, ökaryotik parazitler ve bakterilerle kontamine olmuş suyu direkt ya da dolaylı olarak kullanarak bu etkenlerle enfekte olma riskiyle karşı karşıyadır (Wilkes ve ark. 2009). Protozoon enfeksiyonlarında bulaşma su ve gıda ile sporüle ookistlerin ağızdan alınmasıyla gerçekleşmektedir. Mideden geçen ookistler sindirim enzimlerinin etkisiyle bağırsakta açılmakta ve serbest kalan trofozoitler yerleşim yerlerine geçmektedir. *Toxoplasma* ookistinin sebze, meyve ve salatalarla ayrıca çiğ süt, çiğ ya da az pişmiş etle alınması sonucu enfeksiyonun şekillendiği bildirilmiştir (Terzi 2005).

Halk Sağlığı Uzmanları Derneğinin Türkiye Halk Sağlığı raporunda su ve besinlerle bulaşan hastalıklar grubunda yer alan *T. gondii*'nin bulaşma şekilleri ve seropozitiflik oranları hakkında bilgi verilmektedir (Anonim 2014a). Toxoplasmosis Sağlık Bakanlığının Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim sistemi, Standart Tanı ve Sürveyans ve Laboratuvar Rehberinde C grubu bildirim zorunlu hastalıklar arasında yer almaktadır (Anonim 2014b).

Kanada da 1994'te büyük *Toxoplasma* salgınının yaşanması, salgının belediye sularıyla ilişkilendirilmesine ve *T. gondii*'nin su kaynaklı zoonoz olarak düşünülmesine neden olmuştur (Bowie ve ark. 1997). Kanada-British Kolombiyada gerçekleşen su kaynaklı salgından sonra ookistler su rezervinden alınan içme suyunda bulunmamasına rağmen (Isaac-Renton ve ark. 1998), rezervin civarında bir fekal yığın ve hapislenen yabancı jaguarların rektal içerik miktarının bulunması salgının sebebi olarak düşünülmüştür (Aramini ve ark. 1998).

Su kaynaklarına ve sebze yetiştiriciliğine yakın olarak bulunan vahşi depolama alanları *Toxoplasma*'nın yayılmasını hızlandırmaktadır. İnsanlar tarafından kullanılan su ve besin maddelerinin sporüle ookistleri almasıyla bulaş gerçekleşmiş olur. Ayrıca, çiğ et ve çiğ süt tüketiminde de takizoit formunda bulaş gerçekleşmektedir. Çalışmanın alanı ve materyalin seçiminde, *Toxoplasma*'nın su ile bulaşımın gerçekleşebileceği göz önüne alınmış ve bu konu ile ilgili yapılan çalışmaların az olması, etkili olmuştur.

Parazitin pozitifliği genellikle insanlardan alınan kan, BOS, hamilelerden alınan kordon kanı ve amniyon sıvısı gibi numunelerde SFT, İHA, İFAT ve ELİSA yöntemi ile saptanmıştır (Gürüz ve Özcel 2007).

Moleküler biyoloji ve biyoteknolojideki gelişmeler, özellikle klasik yöntemlerle saptanması güç infeksiyon etkenlerinin tanısında önemli bir gelişme göstermiştir (Mullis ve Faloona 1986). Son yıllarda BOS'da PZR yöntemi ile parazitin DNA'sının gösterilmesi aktif infeksiyonun göstergesi kabul edildiğinden bu hastalarda riskli bir yöntem olan beyin biopsisi ihtiyacı büyük oranda azalmaktadır (Tachikawa ve ark. 1999).

İntrauterin infeksiyonun tanısında da ilerlemiş teknik yöntemlere rağmen hala ideal test bulunamamıştır. İntrauterin infeksiyonun kesin tanısı amniyon sıvısı veya fetal kanın fare inokülasyonu ve hücre kültürüdür. Hücre kültürü 4 günde tanıya götürmekte fakat vakaların yarısında etkili olmaktadır. Fare inokülasyonu ile izolasyon ise daha duyarlıdır, ancak 3-6 haftada sonuçlanması ve sadece belirli merkezlerde yapılabilmesi dezavantajları bulunmaktadır. Vakaların %64'ünde tek metod tanıda yardımcı değildir, tekniklerden sadece birinin pozitif olması ise karşılaşılan bir durumdur. Son yıllarda kullanılmaya başlanan PZR ile amniyon sıvısında çok başarılı sonuçlar bildirilmektedir. Çalışma sonuçlarına göre bu testin özgüllüğü ve pozitif prediktif değeri %100, negatif prediktif değeri %99.7'dir. Tek bir yöntem ile %100 doğru sonuç alınamamasına rağmen testlerin birlikte kullanılması duyarlılığı büyük oranda artırmaktadır (Tunçbilek 2000).

T. gondii insanlarda göz hastalıklarında en önemli nedenlerinden biridir. Genelde oftalmolojik inceleme sırasında tanı konmakta, spesifik serolojik testlerle de desteklenmekte ve tedaviye başlanmaktadır (Montoya ve Remington, 1996). Sıvı miktarının az olması nedeniyle özellikle hücre kültürü ve fare inokülasyonu zordur. Biyopsi genelde zor ve risklidir. PZR'nin böyle hastalarda yararlı olabileceği yapılan çalışmalarla gösterilmektedir. Aktif infeksiyonlarda yapılan çalışmada PZR sonuçlarının duyarlılığı diğerlerine göre daha yüksek bildirilmekle birlikte, farklı çalışmalarda duyarlılık %2.3-75 iken özgüllük %75-100 arasındadır (Montoya ve Remington 1996, Bou ve ark. 1999).

Çevresel suları ve diğer materyallerde *Toxoplasma*'nın tespitinde farklı yöntemler uygulanmıştır (Çiftçi ve ark. 2003, Öncel ve ark. 2005, Tekay ve Özbek 2007, Kuk ve Özden 2007, İnci ve ark. 2009, Çekin ve ark. 2011, Pekintürk ve ark. 2012, Bölük ve ark. 2012, Aşık ve ark. 2003). Yapılan çalışma da materyal olarak çevresel suların kullanılması ve etken parazitin moleküler metotlarla tespit edilmesi nedeniyle ülkemizde yapılan diğer çalışmalardan farklılık göstermektedir.

DNA amplifikasyon çalışmaları için son yıllarda geliştirilmiş bir teknoloji olan LAMP metodu hızlı ve verimli sonuçlar vermekte ve üstün yönleriyle PZR tekniğini de geride bırakmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki LAMP analizleri yüzden fazla farklı patojenin keşfini içermekte ve gelişmektedir (Karanis ve Ongerth 2009).

LAMP'in başarılı sonuçları, bu tekniğin kryptosporidiosis (Karanis ve ark. 2007), toxoplasmosis (Sotiriadou ve Karanis 2008, Kolören ve Demirel 2013c) ve giardiasis (Plutzer ve Karanis 2009) gibi hastalıklara neden olan etkenlerin teşhisi için uygun olduğunu göstermektedir.

Kolören ve ark. (2011), Ordu ilinden alınan su örneklerinde LAMP ve Nested PZR yöntemleriyle *Toxoplasma* ile aynı şubeden (Apicomplexa), aynı takımdan (Eucoccidia) olan *Cryptosporidium* türlerinin varlığını göstermiştir. Su örneklerine uygulanan LAMP metodu sonucunda %27.1 oranında *Cryptosporidium* türlerine rastlanılmıştır. Nested PZR uygulanan örneklerde herhangi pozitif sonuç elde edilememiştir. Bu çalışmada Nested PZR yöntemiyle *Toxoplasma* için pozitif sonuç alınmıştır. Bu durum Nested PZR yönteminin *Toxoplasma* DNA'sını tespit etmede başarılı olduğu şeklinde açıklanabilir.

Yine, Kolören ve Demirel (2013a), Ordu ili Melet Irmağı'nın farklı noktalarından alınan su örneklerinde *Cryptosporidium* türlerinin varlığını LAMP yöntemini kullanarak göstermiştir. Sonuca göre, uygulanan LAMP yöntemiyle Melet Irmağı'nın tüm noktaları pozitif olarak elde edilmiştir. Çalışmada da Ordu ve Giresun illerinden alınan su örneklerinde *Toxoplasma*'nın tespitinde uluslararası kabul görmüş, hassas ve güvenilir yöntem olan LAMP tekniği kullanılmıştır. Özellikle Ordu iline ait örneklerden alınan sonuçlar bu metodun hassasiyetini ortaya koymuştur.

Çalışmanın evrenini oluşturan Ordu ve Giresun il ve ilçelerinden alınan 45 içme sularında LAMP Nested PZR ve PZR ile herhangi bir pozitiflik elde edilmemiştir. Ulaşılan kaynak bilgilerde Sroka ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada PZR tekniğini kullanarak *T. gondii*'yi tespit etmiştir. İçme sularında PZR tekniği ile %27.2 oranında *Toxoplasma* DNA'sı elde edilmiştir. Bu durum çalışmanın yapıldığı bölgeden, iklimden ve çalışma ortamından kaynaklanmış olabilir.

Yapılan çalışmada Ordu il ve ilçelerinden alınan 56 su örneğinin LAMP yöntemiyle 20 (%35.7), Nested PZR tekniğiyle 16 (%28.57) *T.gondii* pozitifliği tespit edilmiştir. Benzer olarak Sotiriadou ve Karanis (2008), Rostov ve Sofya'da LAMP ve Nested PZR yöntemleri ile 52 su örneğinin 24'ünde (%48) LAMP metoduyla, 7'sinde de (%13.5) Nested PZR ile *T.gondii* pozitifliği saptamışlardır.

Çalışmada Giresun il ve ilçelerinden alınan 96 su örneğinin 10'u (%10.41) hem LAMP hem de Nested PZR ile *T. gondii* DNA'sı açısından pozitif olarak elde edilmiştir. Her üç metot ile elde edilen pozitif örnek sayısı değerlendirildiğinde Giresun'da alınan sonuçlar Sotiriadou ve Karanis'in (2008) çalışmasından farklılık göstermektedir. Bu durum çalışmanın yapıldığı bölgeden, iklimden, çalışma ortamından ve yöntemden kaynaklanmış olabilir.

Zhang ve ark. (2009), *T.gondii*'yi tespit etmek için LAMP ve Standart PZR tekniğini kullanmışlar. Çalışılan su örneklerinin %76.9'u Standart PZR ile %85.7'si LAMP tekniğiyle *T.gondii* DNA'sı pozitif olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada da benzer olarak Ordu ili su örneklerinin LAMP yöntemiyle %64.51'si, Standart PZR ile de %38.7'sinde *Toxoplasma* DNA'sı pozitif olarak bulunmuştur. Giresun ili su örneklerinin hem LAMP hem de Standart PZR ile %10.41 oranında *T.gondii* DNA'sı tespit edilmiştir. Giresun il ve ilçelerine ait su örneklerine uygulanan bu 2 metot ile elde edilen pozitif örnek sayısı aynı olduğu için Zhang ve ark. (2009) yaptığı çalışma ile benzerlik göstermemektedir.

Aubert ve Villena (2009), Fransada çevresel su örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada PZR tekniğini kullanmıştır. Çevresel suların %7.7'sinde *T.gondii* pozitif bulunmuştur. Yine Linndeman ve ark. (2013), Almanya'nın Ren alanından aldıkları çevresel sularda *T.gondii*'nin varlığını LAMP metodu kullanarak tespit etmişlerdir.

Su örneklerinden elde edilen DNA'larda %9.6 oranında *T.gondii* DNA'sı LAMP metodu ile saptamışlardır.

Kolören ve Demirel (2013b), Amasya ilinden aldıkları su örneklerinde Nested PZR tekniğini kullanarak %40 oranında *T. gondii* DNA'sı tespit etmiştir. Ordu ilinden alınan su örneklerinde %28.57 oranında, Giresun ilinden alınan örneklerde de %10.41 oranında *T. gondii* DNA'sı elde edildiği göz önüne alındığında, Amasya ilindeki su örneklerinin *T. gondii* protozoonu ile daha kontamine olduğu görülmüştür. Bu durum Amasya ilinde hayvancılığın daha yaygın olması, mevcut derelerin etkeni taşınması ve korunma yollarının iyi bilinmemesi şeklinde açıklanabilir.

Bugün ülkemizdeki pek çok yerleşim merkezinde olduğu gibi Giresun'da da katı atıklar uygun koşullar altında biriktirilmemekte ve toplanan atıklar depolama alanlarına gelişigüzel dökülmekte, ayıklama işlemleri son derece sağlıksız koşullarda gerçekleşmektedir. Bunun yanında birçok yerleşim alanında katı atıklar akarsu ve deniz kenarlarına depolanmakta ve yeraltı ile yüzeysel sularımız kirlenmektedir (Anonim 2013g).

Ulaşılan kaynak bilgilere göre ülkemizde su kaynaklı *Toxoplasma* çalışmaları yok denecek kadar azdır. Bu nedenle Karadeniz Bölgesinde yapılan bu çalışmanın bu konuda yapılan diğer çalışmalara ek kaynak oluşturması bakımından önemlidir. Ayrıca çalışmada kullanılan moleküler metotlar bundan sonra bu alanda yapılacak pek çok çalışma için referans olabileceği düşünülmüştür.

Kanalizasyon atıklarının hiçbir işleme tabi tutulmadan dere ve denizlere boşaltılması kaliteli suyun azalmasına neden olmaktadır. Bu sebeple çevresel sularda olması muhtemel parazitik etkenlerin varlığının gösterilmesi kaynakların ne derecede kirli olduğunun bir göstergesidir. Çalışma *T. gondii*'nin bulaşma kaynağına yönelik tedbirlerin alınması ve bu konuda çalışmaların daha da ileri seviyeye taşınarak bölgede karşılaşılabilecek ciddi problemlerin önüne geçilmesi açısından önemli bir kaynak oluşturacağı düşünülmektedir. Ayrıca su kaynakları bakımından zengin olan Ordu ve Giresun illerinde parazitten korunmak için gerekli önlemlerin alınması gerektiği kanısına varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada 2011 Temmuz ve Ağustos aylarında Ordu il merkezi ve ilçelerinden toplanan 31 çevresel su örneğinin LAMP yöntemiyle 20 (%64.51), Nested PZR ile 16 (%51.61) ve Standart PZR ile 12 (%38.7) örnekte *T. gondii* pozitif bulunmuştur. Yine aynı zamanda, aynı araştırma bölgesinden alınan 25 içme suyu örneğinde her üç metodla herhangi bir *Toxoplasma* parazite rastlanılmamıştır. Tüm veriler değerlendirildiği zaman, içme suyu ve çevresel sular dahil toplam 56 su örneğinde LAMP yöntemiyle %35.7, Nested PZR ile %28.57, Standart PZR ile %21.42 oranında *Toxoplasma*'nın varlığı tespit edilmiştir. LAMP ve Nested PZR yöntemiyle Ordu merkezden ve Fatsa'dan alınan çevresel sularda, PZR metoduyla ise Fatsa ve Ünye ilçelerinde diğer istasyonlara kıyasla daha fazla oranda *Toxoplasma* saptanmıştır. Ordu il çıkışı istasyonundan alınan su örneği PZR ve Nested PZR ile negatifken, LAMP yöntemi ile pozitif sonuç vermiştir.

Giresun il merkezi ve ilçelerinden 2012 Şubat- 2013 Ocak ayları arasında alınan 76 çevresel ve 20 içme suyu örneklerinde *Toxoplasma*'nın varlığı LAMP, PZR ve Nested PZR ile araştırılmıştır. Toplam 76 su örneğinin 10'u (%13.15) kullanılan üç yöntemle pozitif bulunmuş, 20 içme suyu örneği ise bu yöntemler ile negatif sonuç vermiştir. Tüm veriler değerlendirildiğinde, içme suyu ve çevresel sular dahil toplam 96 su örneğinde LAMP, Nested PZR ve Standart PZR yöntemleri ile %10.41 oranında *Toxoplasma*'nın varlığı tespit edilmiştir. *Toxoplasma* DNA'sının görüldüğü istasyonlar: Espiye ilçesinde Gelivera Deresi, Keşap ilçesinde Yolağzı, Keşap ve Keşap Giriş Köprüsü Dereleri, Giresun il merkezinde Aksu Deresi, Bulancak ilçesinde Bulancak, Karadere, İncivez Dereleri, Piraziz ilçesinde Piraziz ve Çayırağzı Dereleridir. Giresun ilindeki Bulancak ve Keşap ilçesinde bulunan tüm istasyonlarda *Toxoplasma* pozitif olarak bulunmuştur.

T. gondii doku kisti ve takizoitlerinin in vivo çalışmaları yüksek maliyetli ve zahmetlidir. Çözüme daha hızlı ulaşılması moleküler metotların kullanım alanlarının genişletilmesi ile mümkün olmaktadır. Çalışmada kullanılan LAMP, Standart PZR ve Nested PZR yöntemlerinin bu parazitin tanısında hem hassas hem de daha güvenilir sonuçların alınmasında önemli olduğu bir kez daha gösterilmiştir. Özellikle çevresel kaynaklı örneklerde çok fazla miktarda PZR'yi inhibe edecek ajanların

bulunması bu metoda alternatif LAMP metodunun uygulanabileceğini göstermiştir. Ordu ilinden alınan örneklerde LAMP metodu gerek Standart PZR gerekse Nested PZR yöntemlerinden daha fazla pozitif sonuca neden olduğu halde, Giresun ilinden alınan örneklerde her üç yöntemle elde edilen pozitif örnek sayısı aynıdır.

Ülkemizde genellikle *T. gondii*'nin varlığı kan, BOS, amniyon sıvısı gibi örneklerde araştırılmıştır. Bu araştırmanın çevresel su örnekleri üzerinde yapılmasının nedeni ülkemizde çevresel su örneklerinde yapılan çalışmaların yok denecek kadar az olmasıdır. **Bu çalışmanın Karadeniz Bölgesi'nde su kökenli *Toxoplasma*'nın araştırılmasında ilk çalışma olması ve ileride yapılacak diğer çalışmalar için kaynak oluşturması nedeniyle önemli olduğu düşünülmektedir.**

Çalışmanın kapsamında, fekal oral yolla bulaşan su kökenli parazitlerin bulaşma riskini azaltmak amacıyla derelerin denize döküldüğü yerlerde denize girilmemesi ve aynı yerlerde balıkçılığın yapılmaması önerilmektedir.

Yerleşim yerlerinden kaynaklanan atık sular için en iyi çözüm kanalizasyon sistemlerinin yapılarak toplu arıtmaya geçilmesidir. Toplu arıtma sisteminin yapılması deniz kirliliğini büyük oranda azaltmaktadır. Arıtılan kanalizasyon atıklarının deşarj işleminin içme suyu kaynaklarından daha uzak yerlerde yapılması tavsiye edilmektedir.

Bol yağış alan Karadeniz Bölgesi'nde yağmur suyunun dere, göl ve akarsulara taşınması esnasında su kirliliğine neden olan etkenin hızla yayılması mümkün olabilir. Bu nedenle derelerdeki suların tarımsal sulamada ve içme suyu kaynağı olarak kullanılması konusunda başta yetkililer ve bu kanallar aracılığıyla halkın bilinçlendirilmesi önerilmektedir.

Araştırma alanında arazi çalışması sırasında mezbaha atıklarının dahi hiçbir işleme tabi tutulmadan direk olarak dereye atılmış olduğu istasyonlara rastlanmıştır. *Toxoplasma*'nın çiğ etlerle bulaştığı göz önüne alındığında pek çok omurgalı hayvan için risk oluşturacağı muhtemeldir. Bu hayvanlar doğada bu parazitin yayılmasında kaynak oluşturacağı için oldukça önemlidir. Bu kapsamda 11.09.2000 tarihinde 24167 Resmi Gazetede Tarım ve Köy İşleri Bakanlığına ait Kırmızı Et ve Et Ürünleri Üretim Tesislerinin Kuruluş, Açılış, Çalışma ve Denetleme Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelikte mezbahanelerin sınıflara ayrılması, hijyen koşulların nasıl olması

gerektiği ve atıkların değerlendirilmesi ve değerlendirilene kadarki süreçte saklanma koşulları belirtilmektedir. Et endüstrisinde bu yönetmelik esas alınarak mezbaha atıklarının hiçbir işleme tabi tutulmadan derelere atılması ve hijyen olmayan koşullarda hayvan kesimlerinin yapılmaması gerektiği ve böylece kaynak rolü teşkil edecek hayvanlar için risklerin oluşması önlenmelidir.

Konutlardan, ticari yerlerden, kurum ve kuruluşlardan düzensizce toplanan çöpler hiçbir işleme tabi tutulmadan ya da yetersiz ayrıştırma ile şehirde biraz uzakta bulunan vahşi depolama alanına taşınmaktadır. Yetersiz olan katı atık bertaraf hizmetleri ve vahşi depolama alanlarına boşaltılan tüm atıkların evre ve insan sağlığı için önemli ölçüde tehlike kaynağı olduğu bilinmektedir. Karadeniz Bölgesi için yapılması gereken evre çözümlerinin başında atıkların toplanması, bertaraf edilmesi ve depolanması işlemleri gelmektedir. Bu işlemlerim aksamadan yapılması bölgede atıkların sulara ulaşmasını engelleyebilir. Bu anlamda Ordu ilinde Ordu Kaynakta Ayrıştırma Projesi (ORKAP) ile, Giresun Görele ilçesinde ise Katı Atık Bertaraf Sisteminin yapılması gibi projeler çözüm için ilk adım olarak değerlendirilebilir.

Çiğ et veya az pişmiş etlerden uzak durarak, sakatat ve bat gibi yiyeceklerden kaçınarak, kaynağı ve arıtımından emin olunmayan sular tklmeyerek, sebze ve meyveleri tktmeden önce bol su ile yıkayarak, kediler ile yakın temasta bulunmayarak ve kedilerin bulunduğu yerlerde yeme içme faaliyetlerine daha da dikkat ederek toxoplasmosisten kendimizi korumak mümkündür. Karadeniz Bölgesi'nde risk grubunu oluşturan insanların toxoplasmosis konusunda bilgilendirilmesi ve korunma yollarının anlatılması için, bu tezin bir kısmını destekleyen TBTAK 210T141 nolu proje kapsamında broşürler hazırlanmıştır.

Toxoplasma ile ilgili broşürler Ordu ili Sağlık Müdürlüğüne bağlı, Halk Sağlığı laboratuvarı, Gıda bölümüne portör muayenesi için gelen gıda işçilerine, yine Ordu ili Merkez Sağlık Ocağı, Ana-ouk sağlığı birimine gelen gebe bayanlara dağıtılmıştır. Ayrıca proje sonuç raporu evre ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'ne gönderilmiştir.

Ülkemizde kabul edilen Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'ndan İnsani Tktim Amaçlı Sular Hakkındaki Yönetmelikte içme- kullanma suları için gerekli

olan şartlarda parazitlere yer verilmemiştir. Su Kalite Kontrol Yönetmeliği'nde de su kaynaklarının sınıflarına göre bulundurması gereken parametrelerde su kökenli protozoonlar yer almamaktadır. 2012 yılında Resmi Gazetede yayınlanan açık deniz haricindeki bütün yüzeysel sular ile kıyı ve geçiş sularını kapsayan Yüzeysel Su Kalite Yönetimi Yönetmeliği'nde çevresel kalite standartlarından bahsedilmektedir. Çevresel kalite standartları incelendiğinde Biyolojik parametrelere yer verilmektedir; fakat burada da su kökenli parazitlere yer verilmemektedir. Bu konuda gerekli birimlere bölgede tespit edilen su kökenli parazitlerin varlığı ve bu parazitlerin insanlar üzerindeki etkisi bildirilerek yönetmeliklerde yer alması sağlanmalıdır.

Ülkemizde kabul edilen Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı'na ait 'İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki Yönetmelik' el kitabında belirtilen su kalite kriterleri kapsamında su kökenli protozoon *Cryptosporidium* türlerine ve *Giardia intestinalis*'e yer verilmektedir. Ancak su kökenli *Toxoplasma* hakkında herhangi bir bilgi mevcut değildir. Aynı zamanda Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğinde (SKKY, 2004) kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterlerinde su kökenli protozoonların hiçbirisine yer verilmemektedir. 2012 yılında Resmi Gazetede yayınlanan açık deniz haricindeki bütün yüzeysel sular ile kıyı ve geçiş sularını kapsayan Yüzeysel Su Kalite Yönetimi Yönetmeliğinde çevresel kalite standartlarından bahsedilmektedir. Çevresel kalite standartları içerisinde mevcut olan biyolojik parametreler kısmında da su kökenli parazitlere yer verilmemektedir. Kıta içi su kaynaklarının hayvansal sulama ve rekreasyonel amaçlı kullanımı dikkate alındığında, bu protozoonların gerek bu yönetmelik gerekse SKKY (2004) ve İTASHY (2013)' ye dahil edilmesi önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Akarsu, A.G., Tekeli, F.A. 2002. Behçet Hastalarında Anti-Toxoplasma IgG ve IgM Antikorlarının Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 26 (4), 347-349.
- Akın, M., Akın, G. 2007. Suyun Önemi, Türkiye’de Su Potansiyeli, Su Havzaları ve Su Kirliliği. Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi, 47(2), 105-118.
- Akısü, Ç., Budak, S. 1998. *Toxoplasma gondii*’nin aktif penetrasyonu ve endodiyogenezi. Türkiye Parazitoloji. Dergisi, 22: 371- 374.
- Aktaş, H., 2003. Toksoplazmoz Tanısında Hücre Kültürü ve Kültürlerde Üretilen Toxoplasma gondii’lerin Antijen olarak Kullanımı. Y. Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Aktaş, S., 2006. Toksoplazmoz tanısında IgG avidite ve IgA antikorlarının değeri ve western blott yöntemi ile IgM pozitifliğinin Double Sandwich ELISA IgM yöntemi ile karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Akyurt, İ., 1993. Balık Yetiştiriciliğinde Su Kalitesi Yönetimi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Erzurum, 67s.
- Alekseev, A.Y., Reguzova, A.Y., Rozanova, E.I., Abramov, A.V., Tumanov, Y.V., Kuvshinova, I.N., Shestopalov, A.M. 2009. Detection of Specific Antibodies to Morbilliviruses, *Brucella* and *Toxoplasma* in the Black Sea Dolphin *Tursiops truncatus ponticus* and the Beluga Whale *Delphinapterus leucas* from the Sea of Okhotsk in 2002-2007. Russian Journal Of Marine Biology, 6 (35): 494-497.
- Alemdar, S., Kahraman, T., Ağaoğlu, S., Alişarlı, M. 2009. Bitlis ili içme sularının bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri. Ekoloji, 19 (73): 29-38.
- Alhassan, A., Govind, Y., Tam, N.T., Thekisoe, O.M., Yokoyama, N., Inoue, N., Igarashi, I. 2007. Comparative evaluation of the sensitivity of LAMP, PZR and in vitro culture methods for the diagnosis of equine piroplasmiasis. Parasitology Research, 100, 1165–1168.
- Alişarlı, M., Ağaoğlu, S., Alemdar, S. 2007. Van Bölgesi ve içme kullanma sularının mikrobiyolojik kalitesinin halk sağlığı yönünden incelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 18 (1): 67-77.
- Alkan, U., Çalışkan, S., Mescioğlu, Ü. 1999. Ulubat Gölü’ nün Mikrobiyolojik Kirlilik Seviyesinin Belirlenmesi. Çevkor, 9 (33): 3-5.
- Altıntaş, K., 2002. Tıbbi Parazitoloji. Nobel Tıp Yayınları, Ankara, 142-162.
- Anonim, 1996. Guidelines for Drinking-Water Quality. Second Edition, Volume: I-II, WHO, Geneva.
- Anonim, 1997. TS266, Türk İçme Suyu Standartları, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara
- Anonim, 2004. Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği. 31.12.2004 Tarih ve 25687 Sayılı Resmi Gazete..SKKY, Ankara.

- Anonim, 2005. İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik 17.2.2005 tarihli ve 25730 sayılı Resmî Gazete. İTASHY, Ankara.
- Anonim, 2008. Guidelines for Drinking-Water Quality. Third Edition, Volume: I. WHO, Geneva.
- Anonim, 2012. Yüzeysel Su Kalite Yönetimi Yönetmelik 30 Kasım 2012 tarih ve 28483 sayılı Resmi Gazete. YSKYY. Ankara.
- Anonim, 2013. İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik 07.3.2013 tarihli ve 28580 sayılı Resmî Gazete. İTASHY, Ankara.
- Anonim, 2013a. Kocaeli Su ve Kanalizasyon İdaresi Genel Müdürlüğü. Suyun Önemi, <http://www.isu.gov.tr/icerik/detay.aspx?Id=42-> (Erişim tarihi: 16.07.2013)
- Anonim, 2013b. Suyun Canlılar İçin Önemi. [http://www.diyadinnet.com/YararliBilgiler-933&Bilgi=suyun-canlilar-icionemi-\(Erisim-tarihi:16.07.2013\).](http://www.diyadinnet.com/YararliBilgiler-933&Bilgi=suyun-canlilar-icionemi-(Erisim-tarihi:16.07.2013).)
- Anonim, 2013c. Su Kaynakları ve Suyun Önemi (Su Kirliliği), <http://www.sosyalokulu.com/y-181-Su-Kaynaklari-Ve-Suyun-OnemiSu-Kirliligi.html-> (Erişim tarihi: 16.07.2013).
- Anonim, 2013d. http://en.wikipedia.org/wiki/Toxoplasma_gondii- (Erişim tarihi: 22.07.2013)
- Anonim, 2013e. <http://www.npr.org/templates/story/story.php?storyId=9560048-> (Erişim tarihi: 22.07.2013).
- Anonim, 2013f. Ordu İli Su Kaynakları http://www.csb.gov.tr/db/ced/editordosya/ordu_icdr2011.pdf- Erişim tarihi: 25.07.2013
- Anonim, 2013g. Giresun İli Su Kaynakları http://www.csb.gov.tr/turkce/dosya/ced/icdr2011/giresun_icdr2011.pdf- Erişim tarihi: 25.07.2013
- Anonim, 2014a. Halk Sağlığı Uzmanları Derneği Türkiye Halk Sağlığı Raporu. http://halksagligiokulu.org/anasayfa/components/com_booklibrary/ebooks/Turkiye_Saglik_Raporu_2012.pdf- Erişim Tarihi: 15.03.2014.
- Anonim,2014b. Bulaş Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi. Sağlık Bakanlığı, 2004, Ankara.
- Aramini, J.J., Stephen, C., Dubey, J.P. 1998. Toxoplasma gondii in Vancouver Island cougars (Felis concolor vancouverensis): serology and oocyst shedding. Journal of Parasitology, 84, 438–440.
- Ardıç, N., 2007. İçme Sularında Parazit ve Diğer Patojenlere Karşı Dezenfeksiyon Uygulamaları ve Ara Konaklarla Mücadelede Kullanılan Kimyasallar. 5. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 4-8 Nisan 2007, Kundu, Antalya.
- Ashburn, D., Edit-Ho-Ye, D.O., Joss, A.W.L. 1992. Human Toxoplasmosis, History and General Epidemiology, Oxord University Pres, New York, 1, 1-22.

- Aslan, G., Altıntaş, K. 2000. Toksoplazmosis teşhisinde Sabin-Feldman testi ve ELİSA IgM Antikorlarının Karşılaştırılması. Genel Tıp Dergisi, 10(4): 161-164.
- Aslan, G., Babür, C. 2002. Şanlıurfa’da koyun ve sığırlar ile mezbaha çalışanlarında *Toxoplasma gondii* seroprevalansı. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 32 (1-2): 102-105.
- Aşık, G., Ünlü, B.S., Er, H., Yoldaş, Ö., Köken, G., Çufalı, D., Altındış, M., Yılmaz, M. 2013. Afyon bölgesinde gebelerde Toksoplazma ve Rubella seroprevalansı. Pamukkale Tıp Dergisi, 6(3):128-132.
- Aubert, D., Villena, I. 2009. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in water: proposition of a strategy and evaluation in Champagne-Ardenne Region France. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 104: 290–295.
- Aydoğan, S., Doğruman, E.A., Kalkancı, A., Kuştimur, B.A. 2005. *Toxoplasma gondii* infeksiyon tanısında iki türlü gerçek zamanlı (Real-Time) polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin kullanılması. Türkiye parazitoloji dergisi. 29(2): 80- 84.
- Aysal, 2004. Isparta Bölgesindeki çeşitli su kaynaklarında *Cryptosporidium parvum*, *Giardia intrestinalis*, *Enterohemorajik E.coli* ve diğer enteropatojenlerin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süleyman Demirel Üniversitesi.
- Babür, C., Karaer, Z., Çakmak, A., Yaralı, C., Zeybek, H. 1996. Ankara yöresinde SF, IFA, LAT ile koyun toxoplazmosisinin prevalansı. Fırat Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Dergisi, 10 (2): 273-277.
- Babür, C., Kılıç, S., Özkan, A.T., Esen, B. 2002. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığında 1995- 2000 yılları arasında çalışılmış Sabin-Feldman Dye Test sonuçlarının değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 26(2):124-128.
- Balows, A.H., Hausler, W.J., Herrmann, K.L., Iseberg, H.D., Shadomy, H.J. 1991. Manual of Clinical Microbiology, Washington. 740-742.
- Bastien, P. 2002. Molecular diagnosis of toxoplasmosis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 96 (1): 205-215.
- Bayrak, N. 2004. Kars Yöresindeki Koyunlarda *Toxoplasma gondii* ‘nin Seroprevalansı. Yüksek Lisans Tezi. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı, Kars.
- Beaman, M.H., McCabe, R.E., Wong, S., Remington, J.S. 1995. *Toxoplasma gondii* Mandell, Douglas and Bennett’s, Principles and practice of Infectious Diseases. Churchill, Livingstone, New York. 2455-2475.
- Berktaş, M., Balcı, İ., Yılmaz, H., Bozkurt, H. 1997. Çeşitli Obstetrik Sorunları Bulunan Kadın Hastalarda *Toxoplasma* Antikorlarının Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 21 (3): 249-251.
- Bilgehan, H., 2004. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 4, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir, 777.

- Biol, K., 1981. Ankara Garnizonundaki Karargah Kurum ve Birliklerin İçme Sularının Fiziksel-Kimyasal ve Bakteriolojik Yönden İncelenmesi. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Bülteni*, 23 (2): 237-243.
- Borchardt, M.A., Spencer, S.K., Bertz, P.D. Ware, M.W. Dubey, J.P., Alan Lindquist, H.D. 2009. Concentrating *Toxoplasma gondii* and *Cyclospora cayetanensis* from surface water and drinking water by continuous separation channel centrifugation, *Journal of Applied Microbiology*, 107: 1089–1097.
- Bowie, W.R., King, A.S., Werker, D.H., Isaac-Renton, J.L., Bell, A., Eng, S.B., Marion, S.A. 1997. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *Lancet*, 350, 173–177.
- Bölük, S., Özyurt, B.C., Girginkardeşler, N., Kilimcioğlu, A.A. 2012. Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarına 2006-2010 Yıllarında Toxoplasmosis Şüphesi ile Başvuran Hastaların Serolojik Sonuçlarının Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 36:137-141.
- Buffalano, W., Beghetto, E., Del Pezzo, M., Spadoni, A., Cristina, M., Petersen, E., Gargano, N. 2005. Use of recombinant antigens for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 43 (12): 5916-5924.
- Canpolat, A., 2005. Antakya Yöresinde İnsanlarda ELISA Yöntemi ile *Toxoplasma gondii*'nin Seroprevalansı. Y. Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (VET) Anabilim Dalı, Hatay.
- Cermakova, Z., Ryskova, O., Pliskova, L. 2005. Polymerase chain reaction for detection of *Toxoplasma gondii* in human biological samples. *Folia Microbiologica*, 50 (4): 341-344.
- Çekin, Y., Kızılateş, F., Gür, N., Şenol, Y. 2011. Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesine Son Dört Yılda Başvuran Gebe Kadınların *Toxoplasma gondii* Seropozitifliğinin Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 35: 181-184.
- Çeber, K., Aslan, G., Otağ, F., Delialioğlu, N., Öztürk, C., Babür, C., Babür, C., Emekdaş, G. 2005. Mersin İlindeki İçme Suyu, Kullanma Suyu, Atık su ve Deniz Sularında *Cryptosporidium* spp. Ookistlerinin Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 29(4): 224-22.
- Çiçek, A.Ç., Duygu, F., İnakçı, I.H., Boyar, N., Boyar, I.H. 2012. Şanlıurfa ilinde doğurganlık çağındaki kadınlarda ELISA ile *Toxoplasma gondii* antikörlerinin araştırılması: Üç yıllık değerlendirme. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 3(1): 61-65.
- Çiftçi, İ.H., Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Körkoca, H., Bayram Y., Berktaş, M. 2003. Van Yöresinde Kanserli Hastalarda Toxoplasmoz Seroprevalansı. *Van Tıp Dergisi*, 10 (3): 62-64.
- Dannemann, B.R., Morris, V., Araujo, F.G. 1989. Assesment of human naturel killer and lymphokine-activated killer cell cytotoxicity against *Toxoplasma gondii* trophozoites and brain cysts. *The Journal of Immunology*, 143: 2684-91.
- Delioğlu, K.B., 2012. Yeşilirmak ve Tersakan Çayı'ndan (Samsun-Amasya) alınan yüzeysel su örneklerinde *Cryptosporidium parvum*'un LAMP tekniğiyle

- araştırılması. Y. Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim dalı, Ordu.
- Demirci, M., Cicioğlu, A.B., Can, R., Kaya, S. 2001. Isparta’ da Değişik Gruplarda Toxoplasmosis Seroprevalansı. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 25 (2), 107-109.
- Demirel, E., Kolören, Z. 2012. Ordu İli Melet Irmağından Alınan Su Örneklerinde *Toxoplasma gondii* Yaygınlığının Nested PZR ile Tespiti. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül 2012, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Demirel, E., Kolören, Z., Karaman, Ü., Ayaz, E. 2013. Giresun il merkezi ve ilçelerinden Alınan Yüzeysel Su Örneklerinde *Toxoplasma gondii*’nin Standart PZR yöntemiyle Tespit Edilmesi. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli.
- Dietz, V., Vugia, D., Nelson, R. 2000. Active, Multisite, Laboratory-based Surveillance For *Cryptosporidium parvum*. Am J Trop Med Hyg 62; 368–372.
- Diza, E., Frantzidou, F., Souliou, E., Arvanitidou, M., Gioula G., Antoniadis, A., 2005. seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Northern Greece During the Last 20 Years,. Clinical Microbiology Infection, 11(9), 719-723.
- Doğan, B.K., 2006. Gebelerde *Toxoplasma gondii* ve Sitomegalovirüs Seropozitiflik, Serokonversiyon ve Fetusa geçiş oranının belirlenmesi. Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi, Cerrahi Tıp Bilimleri, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalı, Malatya.
- Doğan, K., Kafkaslı, A., Karaman, Ü., Atambay, M., Karaoğlu, L., Çolak, C. 2012. Gebelerde Toksoplazma Enfeksiyonunun Seropozitiflik ve Serokonversiyon Oranları. Mikrobiyoloji Bülteni, 46(2): 290-294.
- Dos Santosa, T.R., Nunesb, C.M., Luvizottoc, M.C.R., de Mourad, A.B., Lopesa, W.D.Z., da Costaa, A.J., Brescianib, K.D.S. 2010. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples from public schools. *Veterinary Parasitology*, 171: 53–57.
- Döşkaya, M., 2006. *Toxoplasma gondii* GRA1 proteininin tanımlanması: Aşı çalışmalarındaki yeri. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İzmir.
- Du, F., Fengc, H.L., Nie, H., Tu, P., Zhang, Q.L., Hu, M., Zhou, Y.Q., Zhao, J.L. 2012a. Survey on the contamination of *Toxoplasma gondii* oocysts in the soil of public parks of Wuhan, China. *Veterinary Parasitology* 184: 141– 146.
- Du, F., Zhang, Q., Qian Yu, Q., Hu, M., Zhou, Y., Zhao, J. 2012b. Soil contamination of *Toxoplasma gondii* oocysts in pig farms in central China. *Veterinary Parasitology* 187: 53– 56.
- Dubey, J.P., 1994. Toxoplasmosis. JAVMA. 205 (11). 1593-1598.
- Dubey, J.P., 1995. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. Journal of Parasitology, 81, 410–415.
- Dubey, J.P., 2001. Oocyst shedding by cats fed isolated bradyzoites and comparison of infectivity of bradyzoites of the VEG strain *Toxoplasma gondii* to cats and mice. Journal of Parasitology, 87, 215–219.

- Dubey, J.P., Beattie, C.P. 1988. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Pres. Florida, 61-80..
- Dubey, J.P., Frenkel, J.K. 1972. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. Journal of Protozoology, 19, 155–177.
- Dubey, J.P., Weigel, R.M., Siegel, A.M., Thulliez, P., Kitron, U.D., Mitchell, M.A., Mannelli, A., Mateus-Pinilla, N.E., Shen, S.K., Kwok, O.C.H., Todd, K.S. 1995. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. Journal of Parasitology, 81, 723–729.
- Dumanlı, N., 2002. Veteriner Parazitoloji Ders Notları. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Ders Tekstiri No: 54, 1.Baskı. 139-149.
- Durdu, B., 2008. Sağlıklı Gebelerde *Toxoplasma* Seropozitifliği, IgG Avidite Değerlerinin İncelenmesi ve Seropozitifliğe Etki Eden Çeşitli Risk Faktörlerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul.
- Endo, S., Komori, T., Ricci, G., Sano, A., Yokoyama, K., Ohori, A., Kamei, K., Franco, M., Miyaji, M., Nishimura, K. 2004. Detection of gp43 of *Paracoccidioides brasiliensis* by the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method. Fems Microbiology Letters, 234: 93–97.
- Esquivel, C.A., Suarez, M.F.M., Briones, A.R., Torres, L.F., Julio Octavio Ayala, J.O.A., Piedra, L.J.N., Morales, E.D., Martínez, S.E., Liesenfeld, O., José Ángel Márquez-Conde, J.A.M., García, S.A.M. 2007. Seroepidemiology of infection with *Toxoplasma gondii* in healthy blood donors of Durango, Mexico. BMC Infectious Diseases, 7(75):1-7.
- Esquivel, C.A., Ruiz, F.C., Liesenfeld, O. 2013. Seroepidemiology of infection with *Toxoplasma gondii* in migrant agricultural workers living in poverty in Durango, Mexico. Parasites & Vectors, 6:113-119.
- Fan, C.K., Lee, L.W., Liao, C.W., Ying-Chieh Huang, Y.C., Lee, Y.L., Chang, Y.T., José da Costa, A.S.R., Gil, V., Chi, L.H., Nara, T., Tsubouchi, A., Akinwale, O.P. 2012. *Toxoplasma gondii* infection: relationship between seroprevalence and risk factors among primary schoolchildren in the capital areas of Democratic Republic of São Tomé and Príncipe, West Africa, Parasites & Vectors, 5:141-147.
- Fayer R., Morgan U., Upton S.J. 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. International Journal of Parasitology, 30: 1305-1322.
- Frenkel, J.K., Dubey, J.P. 1975. *Hammondia hammondi* gen. nov., sp. nov., from domestic cats, a new coccidian related to *Toxoplasma* and *Sarcocystis*. Zeitschrift fur Parasitenkunde 46, 3–12.
- Garcia, L.S., Bruckner, D.A. 1993. Diagnostic Medical Parasitology, American Society for Microbiology, Washington, 2. Baskı.
- Gharekhani, J., Sadeghian, A.G., Tavoosidana, G., Sohrabei, A. 2014. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in dogs and domestic equine from western Iran. Comp Clin Pathol, DOI 10.1007/s00580-014-1885-y.

- Gödekmerdan, A., Kalkan, A., Kizirgil, A., Demirdağ, K., Özkeklikci, A. 1999. Elazığ yöresinde hayvancılıkla ilgili meslek gruplarında anti-Toxoplasma antikörlerinin araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 23(1): 15-18.
- Güler, S. 2011. Niğde Mezbahasında Kesilen Koyunlarda Anti- Toxoplasma gondii Antikörlerinin ELİSA Testi ile Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Niğde.
- Gülmezoğlu, T., 1980. Depo sularının koliform yönünden tetkiki. İzmir Devlet Hastahanesi Mecmuası; 18 (11), 18-21.
- Güngör, Ç., Akarsu, A.G. ve Altıntaş, K. 2001. Ankara'da Gebe Kadınlarda Toxoplazma IgG ve IgM Seropozitifliği. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 25(2), 104-106.
- Güngör, Ç., Ataoğlu, H., Altıntaş, K. 1993. İmmünespresif İlaç Alan Akut Lösemili Hastalarda Toxoplasma IgM, IgG ve Sabin Feldman Antikörlerinin Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 17(3- 4): 21-26.
- Gürüz, Y., İnceboz, Ü., İnceboz, T. 2000. Konjenital Toxoplasmoz riskini azaltmak için ulusal tarama yapalım mı?. Türk Parazitoloji Dergisi, 24(3): 217-221.
- Gürüz, Y., Korkmaz, M. 1997. Özellikli Tanı Yöntemleri. Parazit Hastalıklarında Tanı. Editörler: Özcel MA ve Altıntaş N. Parazitoloji Derneği Yayın No: 15, İzmir. 293-318.
- Gürüz AY, Özcel MA Toxoplasmosis. Özcel'in Tıbbi parazit hastalıkları. Editör:Özcel MA. Türkiye. Parazitoloji Derneği Yayını İzmir. 2007;22: 141-189.
- Hosseininejad, M., Azizi, H.R., Hosseini, F., Schares, G. 2009. Development of an indirect ELISA test using a purified tachyzoite surface antigen SAG1 for serodiagnosis of canine *Toxoplasma gondii* infection. Veterinary Parasitology 164: 315-319.
- Hökelek, M., 2006. Toxoplasmoz. 1. Türkiye Zootonik Hastalıklar Sempozyumu, 14-15 Kasım 2006, TOBB Konferans Salonu, Ankara.
- Isaac-Renton, J., Bowie, W.R., King, A., Irwin, G.S., Ong, C.S., Fung, C.P., Shokeir, M.O., Dubey, J.P. 1998. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. Applied and Environmental Microbiology, 64: 2278-2280.
- Iseki, H., Alhassan, A., Ohta, N., Thekisoe, O.M., Yokoyama, N., Inoue, N., Nambota, A., Yasuda, J., Igarashi, I. 2007. Development of a multiplex loop-mediated isothermal amplification (mLAMP) method for the simultaneous detection of bovine *Babesia* parasites. Journal of Microbiological Methods, 71, 281-287.
- İnci, M., Yağmur, G., Aksebzeci, T., Kaya, E., Yazar, S. 2009. Kayseri'de Kadınlarda *Toxoplasma gondii* Seropozitifliğinin Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 33(3): 191-194.
- İplikçi, M.T., Aydın, K.H., 1994. Lenfadenopati Hastalarda Edinsel Toxoplasmosis İnsidansı. Türkiye Parazitoloji Dergisi. 18(1): 13- 25.

- Jennings, P., Rhatigan, A. 2002 Cryptosporidiosis outbreak in Ireland linked to public water supply. *Eurosurveillance Weekly Release*, 22:6, 2089.
- Jones, J.L., Dubey J.P. 2010. Waterborne Toxoplasmosis. *Experimental Parasitology*, 124, 10-25.
- Kaleli, B., Kaleli, İ., Aktan, E., Akalın, H., Akşit, F. 1997. Gebelerde Toxoplasma IgG ve IgM Seropozitifliği. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 21(3) 241-243.
- Kara, H., Özcan, K., Tanrıverdi, S., Kotlaş, S. 1999. Anne kanı, kordon kanı ve amniyon sıvısında *Toxoplasma* IgG ve IgM antikorlarının gösterilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 23(2):115-118.
- Karaman, Ü., Kolören, Z., Demirel, E., Ayaz, E., Seferoğlu, O. 2013a. Giresun İlindeki, Sularda Parazitlerin Varlığı. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli.
- Karaman, Ü., Kolören, Z., Seferoğlu, O., Ayaz, E., Demirel, E. 2013b. Samsun İl ve İlçelerinden Alınan Çevresel Sularda Parazitlerin Varlığı. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli.
- Karanis P, Ongerth J. 2009. LAMP-a powerful and flexible tool for monitoring microbial pathogens. *Trends Parasitology*, 25 (11): 498-499.
- Karanis, P., Oriel, T., Klytaimnıstra, K., Jerry, O., Ikuo, I., Noborou, I., 2007. Development and preliminary evaluation of a loop-mediated isothermal amplification procedure for sensitive detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal and water samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 5660–5662.
- Karanis, P., Sotiriadou, I., Kartashev, V., Kourenti, C., Tsvetkova, N., Stojanova, K., 2006. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in water supplies of Russia and Bulgaria. *Environmental Research*, 102, 260–271
- Kayran, İ.E., Yılmaz, U., Östan, İ., Özbilgin, A. 2002. Manisa yöresinde toxoplasmosis şüpheli kişilerde *Toxoplasma gondii*' ye karşı oluşmuş IgG ve IgM antikorlarının dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 26(2): 137-139.
- Khabaz, M.N., Elkhateeb, L., Alami, J.A. 2011. Reactivation of latent *Toxoplasma gondii* in immunocompromised cancer patients. *Comp Clin Pathol*, 20:183–186.
- Kılıçturgay, K., Gökırmak, F., Töre, O., Gedikoğlu, S., Göral, G., Helvacı, S. 1996. *Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji*. Editörler: Kılıçturgay, K. Bursa Güneş & Nobel Tıp kitapçıları, Bursa. 295- 299.
- Kırağı, D., 1997. Doğurganlık Çağı Kadınlarda Antitoksoplazma IgG ve IgM Antikorlarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne.
- Kolören, Z., Avşar, C., Kaya, D. 2012. Monitoring of *Cryptosporidium* species in Water Supplies of Sinop, Black Sea, Turkey by Acid-Fast Staining Method. *Journal of Applied Biological Sciences*, 7(2): 10-13.
- Kolören, Z., Avşar, C., Şekeroğlu, A.Z. 2010. Protozoonların Tanısında İlmiğe Dayalı İzotermal Çoğaltma Yöntemi (LAMP), *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 34: 207-211.

- Kolören, Z., Delioğlu B.K. 2011. Prevalence of *Cryptosporidium* species in water supplies of Amasya, Middle Black Sea, by Acid-Fast staining methods. *Journal of Applied Biological Sciences*, 5(3): 81-84.
- Kolören, Z., Demirel, E. 2013a. Investigation on *Cryptosporidium* spp. in water samples collected from River Melet in Ordu by Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP). *Journal of Applied Biological Sciences*. 7(2): 28-32
- Kolören, Z., Demirel, E. 2013b. Investigation on *Toxoplasma gondii* in Surface and Drinking Water Samples from Amasya by Nested Polymerase Chain Reaction. *Journal of Applied Biological Sciences*, 7 (2): 10-13.
- Kolören, Z., Demirel, E. 2013c. Detection of *Toxoplasma gondii* in Turkish River and Drinking Water Samples by Different PZR and LAMP Methods. *CLEAN – Soil, Air, Water*. 41(10): 963-968.
- Kolören, Z., Seferoğlu, O., Delioğlu, B.K. 2012. Yeşilirmak Nehri ve Tersakan Çayı'ndan (Amasya) Alınan Yüzeysel Su Örneklerinde Giardia intestinalis Yaygınlığının Nested PZR Tekniği ile Tespiti. 2. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı), 15-18 Kasım 2012, Antalya.
- Kolören, Z., Sotiriadou, I., Karanis, P. 2011. Investigations and comparative detection of *Cryptosporidium* species by microscopy, nested PZR and LAMP in water supplies of Ordu, Middle Black Sea, Turkey. *Annals of Tropical Medicine Parasitology*, 105(8): 607-615.
- Kolören, Z., Taş, B., Kaya, D., 2011. Gaga Gölü (Ordu,Türkiye)'nün mikrobiyolojik kirlilik seviyesinin belirlenmesi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 1 (3): 74-85.
- Kooper, L., Courret, N., Darche, S., Luangsoy, S., Mennechet F., Minns, L., Rachinel, N., Ronet, C., Buzoni-Gafel, D. 2004. *Toxoplasma gondii* and Mucosal Immunity. *International Journal for Parasitology*, 34, 401-409.
- Korkmaz, İ., Eren, ŞH., Oğuztürk, H., Beydilli, İ. 2006. Diabet Hastalarında *Toksoplazma gondii* Antikorları Seroprevalansı. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 28(1): 7-10.
- Kourenti, C., Karanis, P. 2004. Development of a sensitive polymerase chain reaction method for the detection of *Toxoplasma gondii* in water. *Water Sci Technol* 50, 287–291.
- Kourenti, C., Karanis, P., 2006. Evaluation and applicability of a purification method coupled with Nested PZR for the detection of *Toxoplasma* oocysts in water. *The Society for Applied Microbiology*, 43: 475-481.
- Kölgelir, S., Demiraslan, H., Kataş, B., Güler, D. 2009. Gebelerde *Toksoplazma gondii* Seroprevalansı. *Dicle Tıp Dergisi*, 36 (3): 170-172.
- Kuboki, N., Inoue, N., Sakurai, T., Di Cello, F., Grab, DJ., Suzuki, H., Sugimoto, C., Igarashi, I. 2003. Loop-mediated isothermal amplification for detection of African trypanosomes. *Journal of Clinical Microbiology* 41, 5517–5524.
- Kuk, S., Özden, M., 2007. Hastanemizde Dört Yıllık *Toxoplasma gondii* Seropozitifliğinin araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31(1): 1-3.

- Kuman, A.H., Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M. 2002. “*Toxoplasma gondii*” İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitapevleri, 2, Ankara, 1883- 1897.
- Kuman, A.H., Yılmaz, U., Üstün, Ş., Gürüz, Y.A. 1995. *Toxoplasmoz*. Kitap: Özcel M.A., İmmün Yetmezlikte Önemi Artan Parazit Hastalıkları, 1. Baskı, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 12, 137-164.
- Lass, A., Pietkiewicz, H., Modzelewska, E., Dumètre, A., Szostakowska, B., Myjak, P. 2009. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental soil samples using molecular methods. *Eur Journal Clinical Microbiology Infect Disease*, 28:599–605.
- Lau, Y.L., Meganathan, P., Sonaimuthu, P., Thiruvengadam, G., Nissapatorn, V., Chen, Y. 2010. Specific, sensitive, and rapid diagnosis of active toxoplasmosis by a loop-mediated isothermal amplification method using blood samples from patients. *Journal of Clinical Microbiology* 48, 3698–3702.
- Lin, Y.L., Liao, Y.S., Liao, L.R., Chen, F.N., Kuo, H.M., Shiping He, S. 2008. Seroprevalence and sources of *Toxoplasma* infection among indigenous and immigrant pregnant women in Taiwan. *Parasitoloji Research*, 103:67–74.
- Lindemann, C.G., Sotiriadou, I., Mahmoodi, M.R., Karanis, P. 2013. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in different water resources by Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP), *Acta Tropica*, 125: 231– 236.
- MacKenzie, W.R., Kazmierczak, J.J., Davis, J.P. 1995. An outbreak of cryptosporidiosis associated with a resort swimming pool. *Epidemiology and Infection*, 115: 545-553.
- Mandell, G.L., Douglass, G.J., Bennett, JE. 1990. Principles and Practice of Infectious Diseases. USA. 2090.
- Maruyama, F., Kenzaka, T., Yamaguchi, N., Tani, K., Nasu, M. 2003. Detection of bacteria carrying the *stx2* gene by in situ loop-mediated isothermal amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 5023–5028.
- Merdivenci, A., 1981. Medikal Protozooloji. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 2. baskı: 197-224.
- Montaya, J.G., 2002. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. *The Journal of Infectious Diseases*, 185 (1): 73- 82.
- Montaya, J.G., Liesefeld, O. 2004. Toxoplasmosis. *The Lancet*, 363, 1965-1976.
- Montoya, J.G., Remington, J.S., Mandell, G.L., Benett, J.E., Dolin, R. 2000. *Toxoplasma gondii* Principles and Practice of Infectious Diseases, Churchill Livingstone, fifth edition, 2, 2294- 2310..
- Mori, Y., Notomi, T. 2009. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *Journal of Infection Chemotherapy*, 15: 62-69.
- Mons, C., Dume`tre, A., Gosselin, S., Galliot, C., Moulin, J., 2009. Monitoring of *Cryptosporidium* and *Giardia* river contamination in Paris area. *Water Research*, 43, 211– 217.

- Mullis, K.B., Faloona, F.A. 1986. Specific synthesis of DNA invitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155: 335-350
- Muz, M.N., Altuğ, N., Karakavuk, M. 2013. Hatay Yöresi Süt İşletmelerindeki Ruminantlar ve Çoban Köpeklerinde *Toxoplasma gondii* Seroprevalansı ile Kedi Dışkılarında *T.gondii* benzeri Ookist Tespiti. *Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Dergisi*, 3(1): 38-45.
- Nagamine, K., Hase, T., Notomi, T. 2002. Accelerated reaction by Loopmediated isothermal amplification using loop primers. *Molecular and Cellular Probes*, 16: 223-229.
- Nichols, B.A., Chiapinno, M.L. 1987. Cytoskeleton of *Toxoplasma gondii*. *The Journal of protozoology*, 34: 217-226.
- Nimir, A.R., Linn, T.C., 2011. Detection of toxoplasmosis in environmental samples at a wet market of a capital city centre. *Acta Medica (Hradec Kralove)*;54(3):107-10
- Njiru, Z.K., Mikosza, A.S., Matovu, E., Enyaru, J.C., Ouma, J.O., Kibona, S.N., Thompson, R.C., Ndung'u, J.M. 2008. African trypanosomiasis: sensitive and rapid detection of the sub-genus Trypanozoon by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of parasite DNA. *International Journal for Parasitology* 38, 589–599.
- Notomi, T., Okayama, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., Hase, T. 2000. Loop- mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28: 63.
- Nuhoğlu, S., Kaya, D., Kaya, E. 2001. Sağlıklı yenidoğan bebeklerin kordon serumunda eia yöntemi ile *Toxoplasma* antikorlarının araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 25(4):329-331.
- Otağ, F., Aslan, G., Emekdaş, G., Aydın, E., Özkan, T., A., Çeber, K. 2007. Mersin ilinde ilkokul öğrencilerinde *Cryptosporidium* spp. ookistlerinin araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31: 17-19.
- Öner, B., Öztürk, M. 2009. İçme Suyu Depolarının Temizlenmesi, Dezenfeksiyonu ve İnsan Sağlığına Etkileri. <http://portal.worldwaterforum5.org/wwf5/en-us/Lists/Poster%20presentations/Attachments/19/CLEANING%20AND%20DI SINFECTION%20OF%20POTABLE%20WATER%20AND%20EFFECTION S%20ON%20HUMAN%20HEALTH.doc>. Erişim Tarihi: 30.04.2014
- Öncel, T., Vural, G., Babür, C., Kılıç, S. 2005. Detection of *Toxoplasma gondii* Seropositivity in sheep in Yalova by Sabin Feldman Dye Test and Latex Agglutination Test. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 29 (1): 10-12.
- Öz, İ., Özyer, M., Çorak, R. 1995. Adana yöresi sığır, koyun ve keçilerinde ELISA ve IHA testleri ile Toxoplasmosis yaygınlığının araştırılması. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 8 (1): 87-99.
- Özcel, A., Altıntaş, N. 1997. Özellikle Tanı Yöntemleri. *Parazit hastalıklarında Tanı Türkiye Parazitoloji Derneği*. Yayın no:15 İzmir., 400-401.

- Öztürk, C., Babür, C. ve Aslan, G. 2002. Mersin yöresinde koyunlarda ve mezbaha çalışanlarında Sabin-Fieldman Boya Testi ile anti- *Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. Genel Tıp Dergisi, 12(1): 21-25.
- Pekintürk, N., Çekin, Y., Gür, N. 2012. Antalya İlinde Bir Mikrobiyoloji Laboratuvarına *Toxoplasma gondii* Antikorları Araştırılması Amacıyla Başvuran Doğurganlık Yaş Grubu Kadın Olgulara Ait Sonuçların Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 36: 96-99.
- Peterson, P.K., Gekker, G., Hu, S., Chao, C.C. 1993. Intracellular survival and multiplication of *Toxoplasma gondii* in astrocytes. J Infect Dis.,168: 1472.
- Petersen, E., Pollak, A. ve Reiter-Owona I. 2001. Recent Trends in Research on Congenital Toxoplasmosis. International Journal for Parasitology,31,115-144.
- Plutzer, J., Karanis, P., 2009. Rapid identification of *Giardia duodenalis* by loop mediated isothermal amplification (LAMP) from faecal and environmental samples and comparative findings by PZR and real-time PZR methods. Parasitol Research, 104(6): 1527-1533.
- Poon, L.L., Wong, B.W., Ma, E.H., Chan, K.H., Chow, L.M., Abeyewickreme, W., Tangpukdee, N., Yuen, K.Y., Guan, Y., Looareesuwan, S., Peiris, J.S. 2006. Sensitive and inexpensive molecular test for falciparum malaria: detecting Plasmodium falciparum DNA directly from heat-treated blood by loop-mediated isothermal amplification. Clinical Chemistry 52, 303–306.
- Ronday, M.J.H., Ongkosuwito, J.V., Rothova, A., Kijlstra, A. 1999. Intraocular anti-*Toxoplasma gondii* IgA antibody production in patients with ocular toxoplasmosis. An J Ophthalmol; 127: 294-300.
- Sarıç, H. 1979. Diyarbakır yöresinde hayvanlarla ve ürünleriyle ilişkisi olanlarda *Toxoplasma gondii* antikorları. Türkiye Parazitoloji Dergisi, II (2): 39-49.
- Saygı, G., Altıntaş, K. 1984. Sivas mezbaha işçilerinde cilt testi ve serolojik yöntemlerle toksoplazmoz taraması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, VII (1-2): 13-18.
- Saygı, G., 2002. *Toxoplasma gondii* ve Toxoplasmosis. Temel Tıbbi Parazitoloji. Esnaf Ofset Matbaacılık. Sivas. 71- 77.
- Scott, T.M., Parveen, S., Portier, K.M., Rose, J.B., Tamplin, M.L., Farrah, S.R., Koo, A., Lukasik, J. 2003. Geographical variation in ribotype profiles of *Escherichia coli* isolates from humans, swine, poultry, beef, and dairy cattle in Florida. Applied and Environmental Microbiology, 69, 1089–1092.
- Seferoğlu, O., Kolören, Z. 2012. Ordu İli Melet Irmağı'ndan Alınan Su Örneklerinde *Giardia intestinalis*'in İlmiğe Dayalı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) Yöntemiyle Tespit Edilmesi. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül, İzmir.
- Seferoğlu, O., Kolören, Z., Karaman, Ü., Ayaz, E. 2013. Giresun il merkezi ve ilçelerinden Alınan Yüzeysel Su Örneklerinde *Giardia intestinalis*' in Nested PZR yöntemiyle Tespit Edilmesi. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli.
- Serter, D., Ertem, E., Gökengin, D. 1999. *Toxoplasma gondii* ve Toxoplazmoz. Başlıca Bakteriyel, Paraziter ve Mikotik Enfeksiyon Hastalıkları. 431- 439.

- Smith, J.L., 1991. Foodborne toxoplasmosis. *Journal of Food Safety* 12:17-57.
- Sotiriadou, I., Karanis, P. 2008. Evaluation of loop-mediated isothermal amplification for detection of *Toxoplasma gondii* in water samples and comparative findings by polymerase chain reaction and immunofluorescence test (IFT). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 62, 357-365.
- Sroka, J., Wójcik-Fatla, A., Dutkiewicz, J. 2006. Occurrence of *Toxoplasma gondii* in water from wells located on farms. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 13: 169–175.
- Tachikawa, N., Goto, M., Hoshino, Y. 1999. Detection of *Toxoplasma gondii*, Epstein-Barr virus, and JC virus DNAs in the cerebrospinal fluid in acquired immunodeficiency syndrome patients with focal central nervous system complications. *Internal Medicine*, 38: 556-62.
- Taghadosi, C., Kojouri, G.A., Taheri, M.A. 2010. Detection of *Toxoplasma* antibodies in sera of Salmonidae by ELISA. *Comp Clin Pathology*, 19:203–206
- Taş, B., Candan, A.Y., Can, Ö., Topkara, S. 2010. Ulugöl (Ordu)'ün bazı fiziko-kimyasal özellikleri. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 4 (3): 254-263.
- Taşan, M. 2008. Düşük Yapan Hastalarda *Toksoplasma gondii* Antikorları Dağılımının Makroelisa Tekniği İle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa
- Tavmergen, E., Oruç, S., Tavmergen, E.N., Ak, M., Çapanoğlu, R. 1993. İnfertilite olgularında toksoplazmoz prevalansının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 7(3-4):317-320.
- Tehrani-Sharif, M., Jahan, S., Alavi, S.M., Khodami, M. 2013. Seroprevalence of *Toxoplazma gondi* antibodies of stray cats in Gramsar, İran. *Journal Parasitology Diseases*, DOI 10.1007/s12639-013-0349-7.
- Tekay, F., Özbek, E. 2007. Çiğ Köftenin Yaygın Tüketildiği Şanlıurfa İlinde Kadınlarda *Toxoplasma gondii* Seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*,31(3):176-179.
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology* 30, 1217–1258.
- Terzi, G., 2005. Gıda kaynaklı protozoon enfeksiyonların insan sağlığı açısından önemi. *YYÜ Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 16 (2):47-55.
- Thekiso, O.M., Honda, T., Fujita, H., Battsetseg, B., Hatta, T., Fujisaki, K., Sugimoto, C., Inoue, N. 2007. A trypanosome species isolated from naturally infected *Haemaphysalis hystrixis* ticks in Kagoshima Prefecture, Japan. *Parasitology* 134, 967–974.
- Topçu, A.W., Söyletin, G., Doğanay, M. 1996. *Toxoplasmosis: İnfeksiyon Hastalıkları.*, Nobel Kitapevi, 525- 532.
- Topçu, S., Şen, M., Özçelik, S., Saygı, G. 1993. Lösemi veya Lenfomalı Hastalarda Anti- *Toxoplasma gondii* Antikorlarının Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 17(3- 4): 16- 20.

- Töre, O., 1992. Toxoplazmozda patojenite, patoloji ve klinik bulgular. Türkiye Parazitoloji Dergisi. 16: 95.
- Töre, O., Kılıçturgay, K. 1992. Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji. Bursa, Onur Yayıncılık; 276.
- Töre, O., Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M. 2002. “*Toxoplasma gondii*” İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Ankara, Nobel Tıp Kitapevleri, 1, 676-685.
- Truppel, J.H., Reifur, L., Ferreira, F.M., Lange, R.R., de Castro Vilani, R.G.D., Gennari, S.M., Soccol, V.T. 2010. *Toxoplasma gondii* in *Capybara (Hydrochaeris hydrochaeris)* antibodies and DNA detected by IFAT and PZR. Parazitoloji Research, 107:141–146.
- Tunçbilek, S. 2000. Toksoplazmoz Tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Yeri. Türkiye Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 57(3): 195-202
- Türk, M., Güngör, S., Bayram, D., Bilgin, N., Er, H., Kurultay, N., Türker, M. 2004. İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesine Bir Yılda Başvuran Toxoplazmosis Şüpheli Hastaların ELİSA Yöntemiyle Taranması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 28(2): 80-82.
- Tüzer, E., Toparlak, M. 1999. Veteriner Protozooloji. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını, Ders Notu No: 105, İstanbul.
- Unat, E.K. 1995. Unat’ın Tıp Parazitolojisi. İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan Hastalıkları. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Vakfı Yayınları: 15, İstanbul, 886.
- Uslu, O., Türkman A. 1987. Su Kirliliği ve Kontrolü, T.C.Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi 1, İzmir, 364.
- Usluer. G. 2004. Su ile bulaşan enfeksiyonlar. Ankem Derg, 18: 17-20.
- Villena, I., Aubert, D., Gomis, P., Ferte, H., Ingland, J.C., Denis-Bisiaux, H., Dondon, J.M., Pisano, E. 2004. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. Appl Environ Microbiol 70, 4035–4039.
- Webster, J.P., 2001. *Rats, Cats, People and Parasites: The Impact of Latent Toxoplasmosis on Behaviour*. Microbes and Infection, 3 (12): 1037-1045.
- Wilkes, G., Thomas, Edge, T., Gannon, V., Jokinenc, C., Lyautey, E., Medeiros, D., Neumann, N., Ruecker, N., Topp, E., R. Lapen, D.,2009. Seasonal relationships among indicator bacteria, pathogenic bacteria, *Cryptosporidium* oocysts, *Giardia* cysts, and hydrological indices for surface waters within an agricultural landscape. Water Research, 43, 2209–2223.
- Xiao L., Morgan U.M., Fayer R., Thompson R.C.A., Lal A.A. 2000. *Cryptosporidium* systematics and implications for public health, Parasitology Today 16, 287-292.
- Yaman, K., 2007. *Toxoplasma gondii* Antijenlerinin Karakterizasyonu.Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Yıldız, K., Babür, C., Kılıç, S., Aydenizöz, M., Dalkılıç, İ. 2000. Kırıkkale mezbahası'nda kesilen koyun ve sığır ile mezbaha çalışanlarında anti-Toxoplasma antikorlarının araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 24(1): 180-185.
- Yılmaz, A., Akkaş, Ö., Uslu, H. 2013. Erzurum İli İçme Sularının Nisan, Mayıs ve Temmuz Aylarında Cryptosporidium spp. Ookistleri Yönünden Araştırılması. 18. Ulusal Parazitoloji kongresi, 29 Eylül - 5 Ekim, Pamukkale, Denizli.
- Yılmaz, G.R., Babür, C., Kılıç, S., Özkan, A.T., Beyaz, E., Karakoç, A.E. 2006. Kan Bağışçılarında *Toxoplasma gondii* Antikorlarının Sabin-Feldman Boya Testi İle Araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni, 40: 375-381.
- Yılmaz, T., Erensoy, A. 2001. Oküler Toksoplazmozis. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 15(3), 499-503.
- Yiğit, S., Özcan, K., Tanrıverdi, S., Kılıç, B., Kara, H. 1996. Kan Donörlerinde *Toxoplasma gondii* Antikorlarının IHA Yöntemi ile Aranması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 20(3- 4): 325- 331.
- Yumuturuğ, S., 1988. Halk Sağlığı Ders Kitabı. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 64, Ankara, 225.
- Yücel, A., 1979. Su Hijyeni ve Bakteriyolojisi. Sağlık Dergisi, 53: 4-6.
- Zemene, E., Yewhalaw, D., Abera, S., Belay, T., Samuel, A., Zeynudin, A. 2012. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and associated risk factors among pregnant women in Jimma town, Southwestern Ethiopia, BMC Infectious Diseases,12:337-342.
- Zhang, H., Thekiso, O.M.M., Aboge, G.O., Kyan, H., Yamagishi, J., Inoue, N., Nishikawa, Y., Zakimi, S., Xuan, X. 2009. *Toxoplasma gondii*: Sensitive and rapid detection of infection by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method, Experimental Parasitology, 122,47-50.

EK 1. Kıyı ve Geçiş Su Kütlelerinin İzleme Tablosu (Anonim 2012)

Su Kütleleri	İstasyon Yeri ve Tipolojisi		Matriks ve İzleme Parametreleri	İzleme Periyodu	Açıklamalar
Kıyı ve Geçiş Suları	İstasyon Yeri seçimi ve Tipoloji Belirlenmesi için Gerekli Kriterler: - Enlem-Boylam - Derinlik - Dip Çökeltisi Yapısı - Tuzluluk	Ekolojik Durum	Biyolojik Parametreler		<ul style="list-style-type: none"> Biyolojik parametreler ilk 3 yıl mevsimsel olarak izlenir. Öncelikli maddeler, bu Yönetmelik Ek-4'te listelenen parametrelerdir.
			Fitoplankton (Tür çeşitliliği, bolluk, biyokütle)	2 kez/1 yıl	
Makrofit (Tür çeşitliliği, bolluk)	1 kez/4 yıl				
Bentik omurgasızlar (Tür çeşitliliği, bolluk)	1 kez/4 yıl				
Balık veya batık (demersal) türler (Tür çeşitliliği, bolluk)	1 kez/1 yıl				
Zooplankton ve Makrozooplankton (Tür çeşitliliği, bolluk)	2 kez/1 yıl				
Hidromorfolojik Parametreler					
Derinlik değişimi	1 kez/8 yıl				
Deniz dibinin yapısı, özellikleri ve alt katmanları (batimetri)	1 kez/8 yıl				
Dip çökeltisi yapısı	1 kez/8 yıl				
Dalga rejimi	1 kez/8 yıl				
Tatlı su girdileri	1 kez/8 yıl				
Genel Kimyasal ve Fizikokimyasal Parametreler					
Sıcaklık	2 kez/1 yıl				
pH	2 kez/1 yıl				
Geçirgenlik	2 kez/1 yıl				
Tuzluluk	2 kez/1 yıl				
ÇO, Oksijen doygunluğu	2 kez/1 yıl				
Nutrient - Besin Elementleri (TP, TN, DIN, TIN, DIP, Si)	2 kez/1 yıl				
Klorofil-a	2 kez/1 yıl				
Kıyasal Durum					
Kirleticiler/Sediman ve Biyota					
Sediman-Metaller (Al, Cu, Zn, Cr, Cd, Hg, Pb, As ve PAH ,HH (PAH ve HH), Org-C, Org-N	1 kez/4 yıl				
Midye-Metaller (Al, Cu, Zn, Cr, Cd, Hg, Pb, As ve PAH ,HH (PAH ve HH)	1 kez/1 yıl				
Öncelikli Maddeler	1 kez/4 yıl				
Belirli Kirleticiler	1 kez/4 yıl				

EK 2. Kıtaıçı Yüzeysel Su Kaynaklarının Sınıflarına Göre Kalite Kriterleri (Anonim 2012)

Su Kalite Parametreleri	Su Kalite Sınıfları			
	I	II	III	IV
Genel Şartlar				
Sıcaklık (°C)	≤ 25	≤ 25	≤ 30	> 30
pH	6,5-8,5	6,5-8,5	6,0-9,0	6,0-9,0 dışında
İletkenlik (µS/cm)	< 400	400-1000	1001-3000	> 3000
Renk	RES 436 nm: 1.5 RES 525 nm: 1.2 RES 620 nm: 0.8	RES 436 nm: 3 RES 525 nm: 2.4 RES 620 nm: 1.7	RES 436 nm: 4.3 RES 525 nm: 3.7 RES 620 nm: 2.5	RES 436 nm: 5 RES 525 nm: 4.2 RES 620 nm: 2.8
(A) Oksijenlendirme Parametreleri				
Çözünmüş oksijen (mg O ₂ /L) ^a	> 8	6-8	3-6	< 3
Oksijen doygunluğu (%) ^a	90	70-90	40-70	< 40
Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) (mg/L)	< 25	25-50	50-70	> 70
Biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ ₅) (mg/L)	< 4	4-8	8-20	> 20
(B) Nutrient (Besin Elementleri) Parametreleri				
Amonyum azotu (mg NH ₄ ⁺ -N/L)	< 0,2 ^b	0,2-1 ^b	1-2 ^b	> 2
Nitrit azotu (mg NO ₂ ⁻ -N/L)	< 0,002	0,002-0,01	0,01-0,05	> 0,05
Nitrat azotu (mg NO ₃ ⁻ -N/L)	< 5	5-10	10-20	> 20
Toplam kjeldahl-azotu (mg/L)	0.5	1.5	5	> 5
Toplam fosfor (mg P/L)	< 0,03	0,03-0,16	0,16-0,65	> 0,65
(C) İz Elementler (Metaller)				
Cıva (µg Hg/L)	< 0,1	0,1-0,5	0,5-2	> 2
Kadmiyum (µg Cd/L)	≤ 2	2-5	5-7	> 7
Kurşun (µg Pb/L)	≤ 10	10-20	20-50	> 50
Bakır (µg Cu/L)	≤ 20	20-50	50-200	> 200
Nikel (µg Ni/L)	≤ 20	20-50	50-200	> 200
Çinko (µg Zn/L)	≤ 200	200-500	500-2000	> 2000
(D) Bakteriyolojik Parametreler				
Fekal koliform (EMS/100 mL)	≤ 10	10-200	200-2000	> 2000
Toplam koliform (EMS/100 mL)	≤ 100	100-20000	20000-100000	> 100000
Tehlikeli maddeler	Tehlikeli maddeler ve bu tabloda verilmeyen diğeri kirleticiler konuyla ilgili ülke envanteri (referans değerler) oluşturulduktan sonra, 1 Ocak 2015'den itibaren değerlendirilecektir.			

EK 3. Rekreasyon Maksadıyla Kullanılan Kıyı ve Geçiş Sularının Sağlaması Gereken Standart Değerleri (Anonim 2012)

Parametre	Standart
Renk	Renkte sıra dışı bir değişiklik olmamalıdır
Bulanıklık	Seki derinliği:
Berraklık	1 m - %90 (kılavuz)
Işık geçirgenliği	2 m - %95 (zorunlu)
pH	6-9
Karbon kalıntıları ve yüzen maddeler	Bulunmayacaktır.
Yüzer madde (yağ ve gres dahil)	Ahşap, plastik vb parçalar gibi yüzen maddeler, gözle görülebilir yağ tabakası veya köpük olmamalıdır.
Çözülmüş oksijen	%80-120 doygunluk (%90)
Intestinal entrokok* (koloni/100 mL)	100 (%95) (kılavuz) 200 (%95) (zorunlu) 185 (%90) (yeterli)
Escherichia coli* (koloni/100 mL)	250 (%95) (kılavuz) 500 (%95) (zorunlu) 500 (%90) (yeterli)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Elif DEMİREL
Doğum Yeri : Ordu
Doğum Tarihi : 25.02.1988
Yabancı Dili : İngilizce
E-mail : elifdemirel@gmail.com
İletişim Bilgileri : 0541 799 2502

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	
Ön Lisans	Laborant ve Veteriner Sağlık	Anadolu Üniversitesi	2008-2010
Lisans	Biyoloji	Ordu Üniversitesi	2006-2010
Y. Lisans	Biyoloji	Ordu Üniversitesi	2011-2014

YAYINLAR

- 1- Kolören, Z., **Demirel E.**, Beyhan T., 2011. Ulugöl (Ordu, Türkiye) de fekal kirlilik indikatörü bakterilerin tespiti. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*. 2011, 4 (2): 151-156
- 2- Kolören, Z., **Demirel, E.**, Investigation on *Cryptosporidium* spp. in water samples collected from River Melet in Ordu by Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP). *Journal of Applied Biological Sciences*. 2013, 7 (2): 28-32
- 3- Kolören, Z., **Demirel, E.**, Investigation on *Toxoplasma gondii* in Surface and Drinking Water Samples from Amasya by Nested Polymerase Chain Reaction. *Journal of Applied Biological Sciences*. 2013, 7 (2): 10-13
- 4- Kolören, Z., **Demirel, E.** 2013. Detection of *Toxoplasma gondii* in Turkish River and Drinking Water Samples by Different PZR and LAMP Methods. *CLEAN – Soil, Air, Water* 41(10): 963-968

BİLDİRİLER

- 1- Kolören, Z., **Demirel, E.** 2011. Detection of *Toxoplasma gondii* by Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) and Immunofloresan Test (IFT). Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi,12. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi. 27-30 Ekim 2011, Antalya, s115.
- 2- **Demirel, E.**, Aldemir, İ., Kolören, Z. 2012. *Toxoplasma gondii* ve Halk Sağlığı. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi 9-13 Temmuz 2012, İstanbul, s73.
- 3- **Demirel, E.**, Kolören, Z. 2012. Ordu İli Melet Irmağından Alınan Su Örneklerinde *Toxoplasma gondii* Yaygınlığının Nested PCR ile Tespiti. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül 2012, İzmir, s1353.
- 4- Kolören, Z., **Demirel, E.** 2012. Amasya İlinden Alınan Yüzeysel ve İçme Suyu Örneklerinde *Toxoplasma gondii*'nin varlığının Nested PCR ile Tespiti. . 2. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı), 15-18 Kasım 2012, Antalya, s104.
- 5- **Demirel, E.**, Kolören, Z., Karaman, Ü., Ayaz, E. 2013. Giresun İl Merkezi ve İlçeleri'nden Alınan Yüzeysel Su Örneklerinde *Toxoplasma gondii*'nin Standart PCR Yöntemiyle Tespit Edilmesi. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli, s222.
- 6- Karaman, Ü., Kolören, Z., **Demirel, E.**, Ayaz, E., Seferoğlu, O. 2013. Giresun İli'ndeki Sularda Parazitlerin Varlığı. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli, s228.
- 7- Karaman, Ü., Kolören, Z., Seferoğlu, O., Ayaz, E., **Demirel E.** 2013. Samsun İl ve İlçelerinden Alınan Çevresel Sularda Parazitlerin Varlığı.18. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli, s229.
- 8- Karaman, Ü., Kolören, Z., Ayaz, E., **Demirel E.**, Seferoğlu, O. 2013. Samsun İli Terme ve Kocaman İlçelerindeki Sularda Protozoon ve Helmintler. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli, s230.