

Sıtma Hastalarından Elde Edilen *Plasmodium* spp. İzolatlarındaki Moleküler Farklılıkların Araştırılması

Investigation of Molecular Differences in *Plasmodium* spp. Isolates Obtained from Malaria Patients

Emrah ERDOĞAN¹(ID), Merve YÜRÜK¹(ID), Eda SİVCAN¹(ID), Makbule SALLANBAŞ¹(ID), Ozan YAMAN²(ID)

¹ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

¹ Erciyes University Faculty of Medicine, Department of Medical Parasitology, Kayseri, Türkiye.

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kayseri Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Parazitoloji Laboratuvarı, Kayseri.

² University of Health Sciences, Kayseri City Training and Research Hospital, Parasitology Laboratory, Kayseri, Türkiye.

*Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2023-13227).

Makale Atfı: Erdoğan E, Yürük M, Sıvcan E, Sallanbaş M, Yaman O. Sıtma hastalarından elde edilen *Plasmodium* spp. izolatlarındaki moleküler farklılıkların araştırılması. Mikrobiyol Bul 2025;59(1):90-101.

ÖZ

Sıtma, her yıl dünya nüfusunun yarısından fazlası için ciddi bir tehdit oluşturmaya devam etmektedir. Hastalığa neden olan *Plasmodium* parazitleri, yalnızca insanlarla sınırlı kalmayıp sürüngenlerden kuşlara, memelilerden diğer omurgalılara dek geniş enfeksiyon yelpazesine sahiptir. *Plasmodium* türleri, çevredeki değişikliklere uyum sağlamalarını sağlayan olağanüstü genetik esnekliğe sahiptir ve bu da onlara sıtma ilaçları gibi tedavi edici maddelere karşı hızla direnç geliştirme ve konakçı özgülüğünü değiştirme potansiyeli verir. Parazitler, omurgalı konakların eritrositlerinde dinamik olarak çoğalır ve bu parazitlerin gelişimi sırasında hücrede biyolojik makromoleküllere zarar veren çok sayıda reaktif oksijen türü üretilmektedir. *Plasmodium falciparum*'un neden olduğu şiddetli sıtma türü olan serebral sıtma, karmaşık bir nörolojik sendromdur. Sağ kalanlarda davranışsal zorluklar, bilişsel eksiklikler ve epilepsi riski görülür. Serebral sıtma, çoklu organ disfonksiyonuyla ilişkilidir. Serebral mikrodamarlarda enfekte eritrositler, trombositler ve lökositlerin (makrofajlar, CD4+ ve CD8+ T hücreleri ile monositler) yapışması ve birikmesi hastalığın ilerlemesinde önemli bir rol oynar. Pıhtılaşma ve endotel disfonksiyonuyla mikrovasküler tıkanıklık nörolojik hasara ve hastalığın şiddetine katkıda bulunur. Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı rutin tanı laboratuvarlarında sıtma tanısı alan importe ve yerli hastalardan izole edilen *Plasmodium* spp. izolatlarının moleküler farklılıklarının araştırılması amaçlanmıştır. Ateş, titreme ve üşüme şikayetiyle hastanemize başvuran hastaların periferik kanlarından ince yayma preparatlar hazırlanarak Giemsa ile boyanıp x100 objektifli mikroskop altında incelenmiştir. Hastaların ince yayma preparatları incelendiğinde *Plasmodium* cinsine ait trofozoitler ve gametositler tespit edilmiştir. Rutin mikroskop incelemesi ve tür tayinine yönelik yapılan moleküler prob bazlı kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu [quantitative real-time polymerase chain reaction (qRt-PCR)] çalışmaları sonucunda hastaların enfekte oldukları *Plasmodium* spp. türleri tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 17 *Plasmodium* spp. izolatının 10'u *P.falciparum*, beşi *Plasmodium vivax*, biri *Plasmodium ovale* ve biri *Plasmodium knowlesi* izolatlarından oluşmuştur. *P.vivax* ile *P.falciparum* için mitokondriyal COX-1 gen bölgelerini ve *P.ovale* ile

P.knowlesi için 18S rRNA gen bölgelerini hedefleyen konvansiyonel PCR çalışması sonucunda elde edilen PCR ürünlerine DNA dizi analizi uygulanmıştır. DNA dizileme sonuçları, BLAST analizi ve MEGA programıyla filogenetik analiz yapılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin BLAST araması ile Genbank'a daha önce girilen benzer izolatlarla uyumlu olduğu görülmüştür. Sıtma, bulaşıcı hastalıklara bağlı ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Sıtma kontrol programları, eradikasyon çalışmaları içinde değerlendirildiğinde mevcut türlerin ve moleküler çeşitliliklerinin ortaya çıkarılmasının; aşı, ilaç ve direnç çalışmaları gibi önemli çalışmaların temelini oluşturmaları noktasında son derece değerli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Sıtma; Kayseri; *Plasmodium spp.*; moleküler karakterizasyon; PCR.

ABSTRACT

Malaria continues to pose a serious threat to more than half of the world's population each year. The *Plasmodium* parasites that cause disease are not limited to humans alone; they have a wide range of infections that extend to reptiles, birds, mammals and other vertebrates. *Plasmodium* species have extraordinary genetic flexibility that allows them to adapt to changes in the environment, giving them the potential to rapidly develop resistance to therapeutics such as antimalarials and to change host specificity. Parasites multiply dynamically in the erythrocytes of vertebrate hosts and during the development of these parasites, numerous reactive oxygen species are produced that damage biological macromolecules in the cell. The severe form of malaria, cerebral malaria caused by *Plasmodium falciparum*, is a complex neurological syndrome. Survivors have behavioral difficulties, cognitive deficits and a risk of epilepsy. Cerebral malaria is associated with multiple organ dysfunction. Adhesion and accumulation of infected erythrocytes, platelets, and leukocytes (macrophages, CD4+ and CD8+ T cells and monocytes) in the cerebral microvessels play a major role in disease progression. Microvascular obstruction with coagulation and endothelial dysfunction contribute to neurological damage and disease severity. The aim of this study was to investigate the molecular differences of *Plasmodium* spp. isolated from imported and domestic patients diagnosed with malaria in the routine diagnostic laboratories of the Erciyes University Faculty of Medicine Department of Medical Parasitology. Thin smears were prepared from the peripheral blood of patients who applied to our hospital with the complaints of fever, shivering and chills, stained with Giemsa and examined under a microscope with a x100 objective. When the thin smears of the patients were examined, trophozoites and gametocytes belonging to the *Plasmodium* genus were detected. As a result of routine microscopic examination and molecular probe-based quantitative real-time polymerase chain reaction (qRt-PCR) studies for species identification, the *Plasmodium* spp. that infected the patients were identified. Of the 17 *Plasmodium* spp. isolates included in the study, 10 were *P.falciparum*, five were *Plasmodium vivax*, one was *Plasmodium ovale* and one was *Plasmodium knowlesi*. DNA sequence analysis was applied to the PCR products obtained as a result of conventional PCR studies targeting mitochondrial COX-1 gene regions for *P.vivax* and *P.falciparum* and 18S rRNA gene regions for *P.ovale* and *P.knowlesi*. DNA sequencing results were evaluated by BLAST analysis and phylogenetic analysis with the MEGA program. The data obtained were found to be compatible with similar isolates previously entered into Genbank by BLAST search. Malaria is one of the leading causes of death from infectious diseases. When malaria control programs are evaluated within eradication studies, it is thought that revealing the existing species and their molecular diversity is extremely valuable in terms of forming the basis of important studies such as vaccine, drug and resistance studies.

Keywords: Malaria; Kayseri; *Plasmodium spp.*; molecular characterization; PCR.

GİRİŞ

Sıtma, dünya çapında tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak görülen ölümcül bir hastalıktır. Artemisinin, folat antagonistleri, kinolinler ve antibiyotik kombinasyonları kliniklerde başlıca seçeneklerdir. Şu anda parazitlerin geniş bir direnç yelpazesi, yeni yapıları ve yeni antimalaryal hedeflere sahip kimyasal bileşiklerin araştırılmasını gerektirmektedir¹. *Plasmodium vivax*, gezegendeki coğrafi olarak en yaygın sıtma parazitidir.

Bunun nedeni büyük ölçüde sivrisinek bulaşmasından sonra *P.vivax* sporozoitlerinin hepatositleri istila edebilmesi ve hipnozoitler olarak bilinen gizli karaciğer evreleri oluşturmasıdır. Bu kalıcı karaciğer aşamaları, enfekte bir kişinin birincil klinik enfeksiyon geçirmesinden haftalar, aylar hatta yıllar sonra aktive olabilir².

Sıtma semptomları genellikle enfeksiyondan 10-14 gün sonra ortaya çıkar ve sıtmanın endemik olduğu bölgelerde kalan ateşli hastalarda hasta muayenesi ve tıbbi öyküye göre hastalıktan şüphelenilebilir. Hastalığın ilk semptomları patognomonik değildir ve tüm sıtma hastalarının ateş geliştirmedeğini hatırlamak önemlidir. Potansiyel olarak yaşamı tehdit eden bu hastalığın başarılı tedavisi için bir ön koşul, iyi hedeflenmiş, zamanında teşhis ve antiparaziter tedavinin hemen uygulanmasıdır. Sıtmaya karşı mücadelede dünya çapında önemli ilerlemelere rağmen hastalık, özellikle de importe bir enfeksiyon sonucu geliştiğinde ve diğer hastalıkların varlığı nedeniyle tanının karmaşıklılaştığı durumlarda, teşhis ve tedavi açısından zorluk teşkil etmeye devam etmektedir³.

Plasmodium falciparum, en şiddetli ve en ölümcül insan sıtma enfeksiyonundan sorumludur. Bu enfeksiyonun en ciddi komplikasyonu serebral sıtma. Serebral sıtmada nörolojik sendromun tezahürünün açıklanmasına yönelik önerilen hipotezler arasında vasküler oklüzyon/sekestasyon/meکانik hipotez, sitokin fırtınası ve enflamatuvar teori veya her ikisinin bir kombinasyonu yer almaktadır⁴.

Bu parazitler üzerindeki çalışmalar, uzun süreli kültür tekniklerinin olmaması nedeniyle öncelikle klinik örneklerle dayanmaktadır. Klinik örneklerden parazit DNA'sını saflaştırmak için geliştirilmiş yöntemlerle, ihmal edilen sıtma parazitlerinin tam genom dizileme çalışmaları artan bir popülerlik kazanmıştır. Yapılan çalışmalarla birlikte 2200'den fazla *P.vivax* global izolatının popülasyon genomu, parazit biyolojisi ve konak-parazit etkileşimleri hakkındaki bilgilerin artmasıyla birlikte aşı hedefleri ve potansiyel ilaç direnci belirteçleri belirlenmeye devam etmektedir⁵.

Sıtma ülkemizde çoğunlukla importe olgular şeklinde görülen bir hastalıktır. İmporte olguların görülmesinin yanında son yıllarda yerli olgular da tespit edilmektedir⁶. Hastalığa neden olan türlerin moleküler çalışmalarla farklılıklarının ortaya konulduğu çalışmalar dünyada olduğu gibi ülkemizde de sınırlı sayıdadır. Bu çalışmada, sıtma tanısı alan importe ve yerli hastalardan izole edilen *Plasmodium* spp. izolatlarının moleküler farklılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örneklerin Toplanması

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı (Karar no: 2018/184) ile gerçekleştirildi ve hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alındı. Rutin tanı amaçlı toplanan kan örnekleri Giemsa boyama yöntemi ve mikroskopik incelemesi yapıldıktan sonra polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] yöntemi ile moleküler incelemesi yapılmak üzere çalışma yapılıncaya kadar toplanıp -20 °C'de saklandı.

Giemsa Boyama ve Mikroskop İncelemesi

Hastalardan alınan periferik kanlardan ince yayma kan preparatları hazırlanarak Giemsa ile boyandı ve x100 objektifle ışık mikroskobunda incelendi.

Total Genomik DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, Qiagen genomic DNA purification kiti (Qiagen, Almanya) prosedürüne göre yapıldı. Genomik DNA'lar çalışmada kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Total genomik DNA'lardan türlere özgü primerler kullanılarak PCR yöntemiyle PCR ürünleri elde edildi. Toplam 25 µl olacak şekilde hazırlanan PCR karışımlarına; 12.5 µl 2x PCR master miks (Takara, Japonya), *P.vivax* ve *P.falciparum* için mitokondriyal COX-1 gen bölgelerini [395 baz çifti (bp) ve 315 bp]; *Plasmodium ovale* ve *Plasmodium knowlesi* için 18S rRNA gen bölgelerini (234 bp ve 467 bp) hedefleyen F ve R primerlerinin her birinden 20 pmol 1 µl, DNA'lardan ise 2.5 µl ilave edildi. *P.vivax*, *P.falciparum* ve *P.knowlesi* için PCR amplifikasyonunda 95 °C'de 10 dakika başlangıç denatürasyonunu takiben, toplam 35 döngü 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, 58 °C'de 40 saniye primer birleşmesi, 72 °C'de 45 saniye sentez olarak gerçekleştirildi. Son döngüyü takiben 72 °C'de yedi dakika son uzama işlemi yapıldı. *P.ovale* için PCR amplifikasyonunda 95 °C'de beş dakika ön denatürasyon aşamasını takiben, toplam 35 PCR siklusu 94 °C'de bir dakika denatürasyon, 59 °C'de bir dakika primer birleşmesi, 72 °C'de bir dakika sentez olarak gerçekleştirildi. Son siklusu takiben 72 °C'de 15 dakika son uzama işlemi yapıldı.

PCR ürünleri %1.5'lik etidyum bromürle boyanmış agaroz jelde yürütüldü ve jel görüntüleme cihazında (Bio-Rad, Amerika Birleşik Devletleri) görüntülendi.

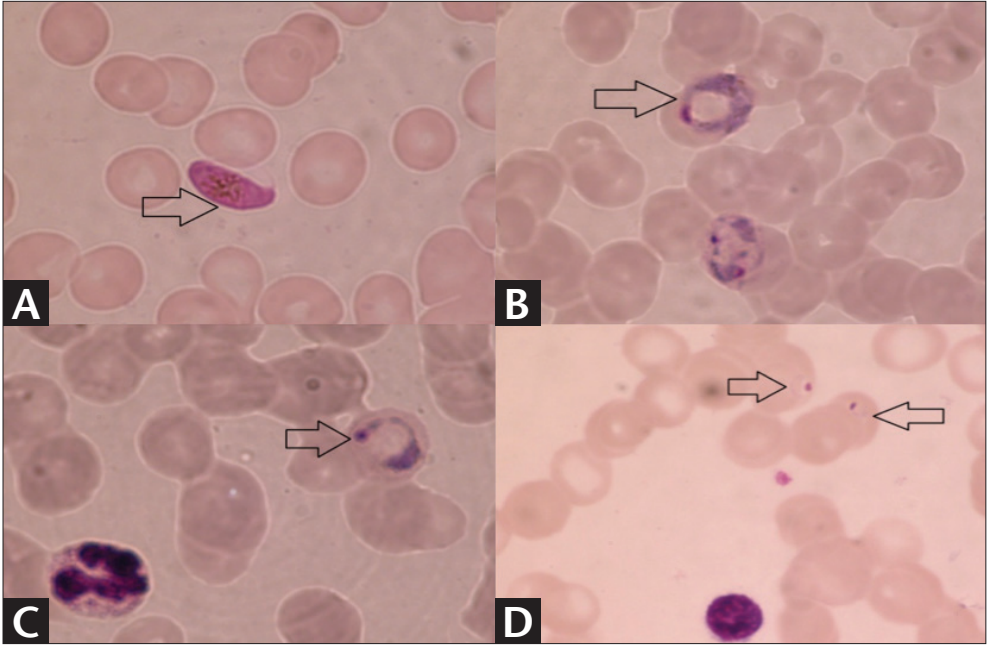
DNA Dizi Analizi

PCR ürünlerinin her birine DNA dizi analizi yaptırıldı. DNA dizi analiz sonuçları, BLAST analizi ve MEGA program ile filogenetik analiz yapılarak değerlendirildi.

BULGULAR

Hastalardan alınan periferik kanlardan ince yayma kan preparatları hazırlanarak Giemsa ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında incelemelerinde *P.vivax*, *P.falciparum*, *P.ovale* ve *P.knowlesi* parazitlerine ait ring ve gametosit formları tespit edilmiştir (Şekil 1).

Sıtma olgularının tamamının erkek olduğu görülmüştür. Üç hastada miks enfeksiyon varlığı da söz konusu olan durumda toplam 14 hastadan izole edilmiş 17 izolattan 15'inin yurt dışı orijinli, iki izolatan ise yerli izolat olduğu saptanmıştır (Tablo I). Hastalardan yurt dışı uyruklu olan üç hastanın Kayseri'ye eğitim faaliyetleri kapsamında geldiği tespit edilmiştir. Yerli hasta dışındaki diğer Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı 10 hastanın ise çeşitli iş faaliyetleri amacıyla Afrika ülkelerine seyahat ettikleri ve belli sürelerde gittikleri ülkelerde bulundukları belirlenmiştir. *P.vivax* ve *P.falciparum* miks enfeksiyonu saptanan 42 yaşındaki Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı hastanın Gine'ye iş için gittiği tespit edilmiştir.



Şekil 1. *Plasmodium* spp. ışık mikroskobu görüntüleri (x100). **A.** *P.falciparum* gametosit (okla gösterilen), **B.** *P.vivax* ring (okla gösterilen), **C.** *P.ovale* ring (okla gösterilen), **D.** *P.knowlesi* ring (okla gösterilenler).

P.vivax ve *P.knowlesi* miks enfeksiyonu tespit edilen Afganistan uyruklu 19 yaşındaki hastanın Türkiye Cumhuriyeti'nde okuduğu, Afganistan'a ailesini ziyaret etmeye gittiği günlerde enfeksiyonun bulaştığı değerlendirilmiştir. *P.vivax* ve *P.falciparum* miks enfeksiyonu tespit edilen 14 yaşındaki yerli hastanın ise Kayseri'de yaşadığı ve herhangi bir yurt dışı hikayesinin olmadığı saptanmıştır (Tablo I).

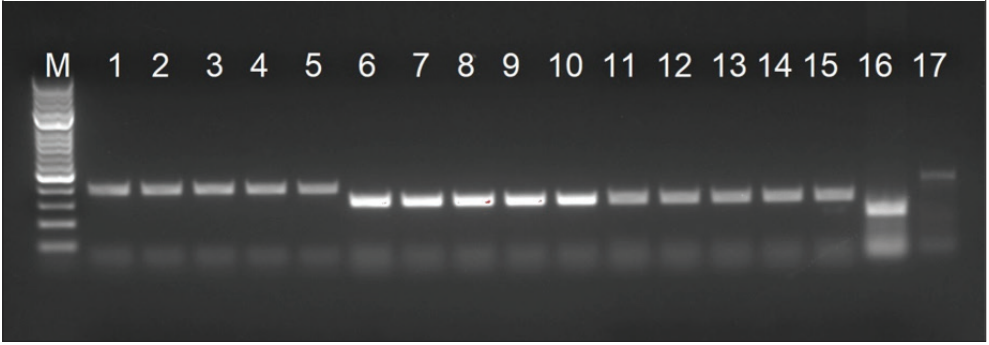
Çalışmada; sıtma hastalarından elde edilen *Plasmodium* spp. izolatlarından *P.vivax* ve *P.falciparum* için mitokondriyal COX-1 gen bölgelerinin (395 bp ve 315 bp), *P.ovale* ve *P.knowlesi* içinse 18S rRNA gen bölgelerinin (234 bp ve 467 bp) hedef alındığı PCR ürünleri elde edilmiştir (Şekil 2).

PCR ürünlerinden elde edilen DNA dizileri bu gen bölgelerinin kısmi dizilerini içermektedir. Bu dizilerin BLAST analizi sonucunda referans izolatlarla benzerlikleri Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5 ve Şekil 6'da gösterilmiştir.

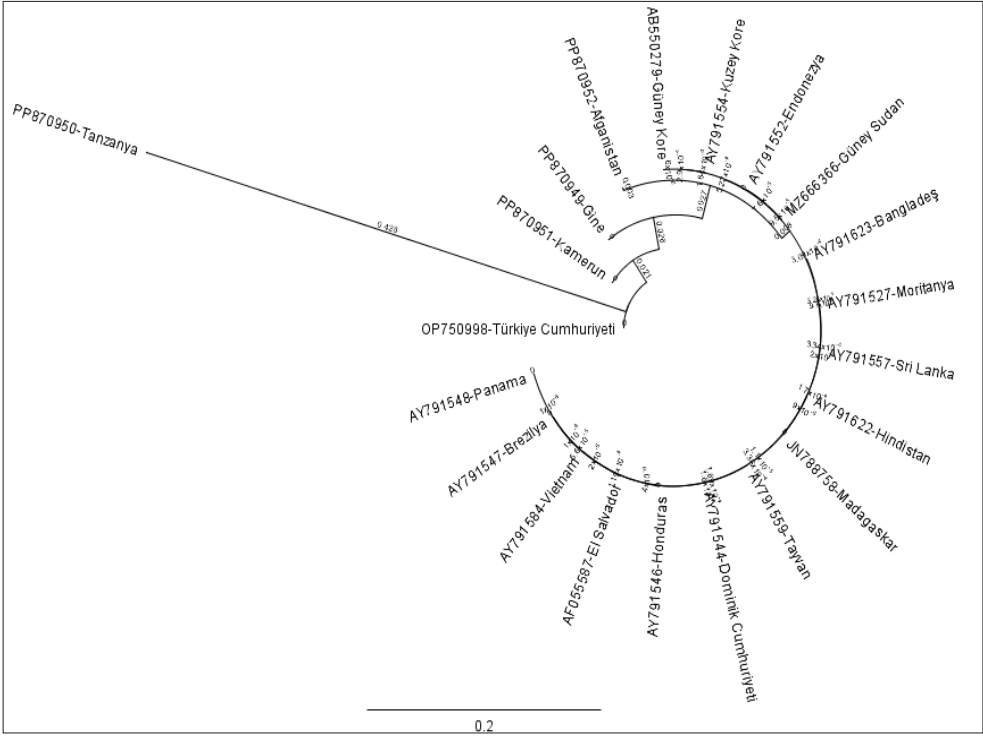
Elde edilen verilerin BLAST search ile Genbank'a daha önce girilmiş izolatlarla karşılaştırılması sonucunda; 17 *Plasmodium* spp. izolatından 10'unun *P.falciparum*, beşinin *P.vivax*, birinin *P.ovale* ve birinin *P.knowlesi* izolatları olduğu doğrulanmıştır. Çalışmada elde edilen izolatların Genbank numaraları Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların ve *Plasmodium* spp. İzolatlarının Özellikleri

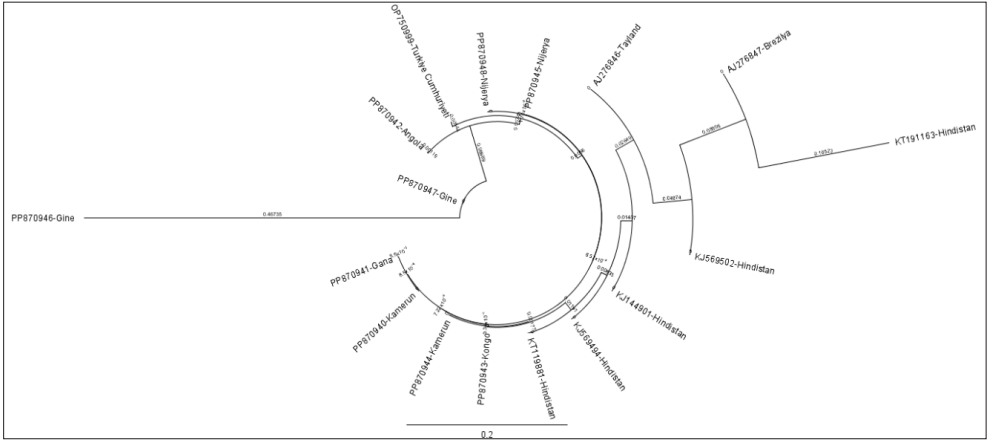
Parazit	Genbank no	Orijin	Tanı Yılı	Tanı Yöntemi	Hasta Cinsiyeti	Hasta Yaşı	Hasta Uyuğu
<i>P.vivax</i>	PP870949	Gine	2019	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	42	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.vivax</i>	PP870950	Tanzanya	2016	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	49	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.vivax</i>	PP870951	Kamerun	2015	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	39	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.vivax</i>	PP870952	Afganistan	2017	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	19	Afganistan
<i>P.vivax</i>	OP750998	Türkiye Cumhuriyeti	2022	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	14	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.falciparum</i>	PP870940	Kamerun	2018	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	39	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.falciparum</i>	PP870941	Gana	2020	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	41	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.falciparum</i>	PP870942	Angola	2019	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	34	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.falciparum</i>	PP870943	Kongo	2021	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	27	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.falciparum</i>	PP870944	Kamerun	2017	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	39	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.falciparum</i>	PP870945	Nijerya	2016	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	22	Suudi Arabistan
<i>P.falciparum</i>	PP870946	Gine	2019	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	42	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.falciparum</i>	PP870947	Gine	2020	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	36	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.falciparum</i>	PP870948	Nijerya	2017	qRt-PCR	Erkek	23	Afganistan
<i>P.falciparum</i>	OP750999	Türkiye Cumhuriyeti	2022	mikroskop/qRt-PCR	Erkek	14	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.ovale</i>	OP902168	Kamerun	2018	qRt-PCR	Erkek	53	Türkiye Cumhuriyeti
<i>P.knowlesi</i>	PP838800	Afganistan	2017	qRt-PCR	Erkek	19	Afganistan



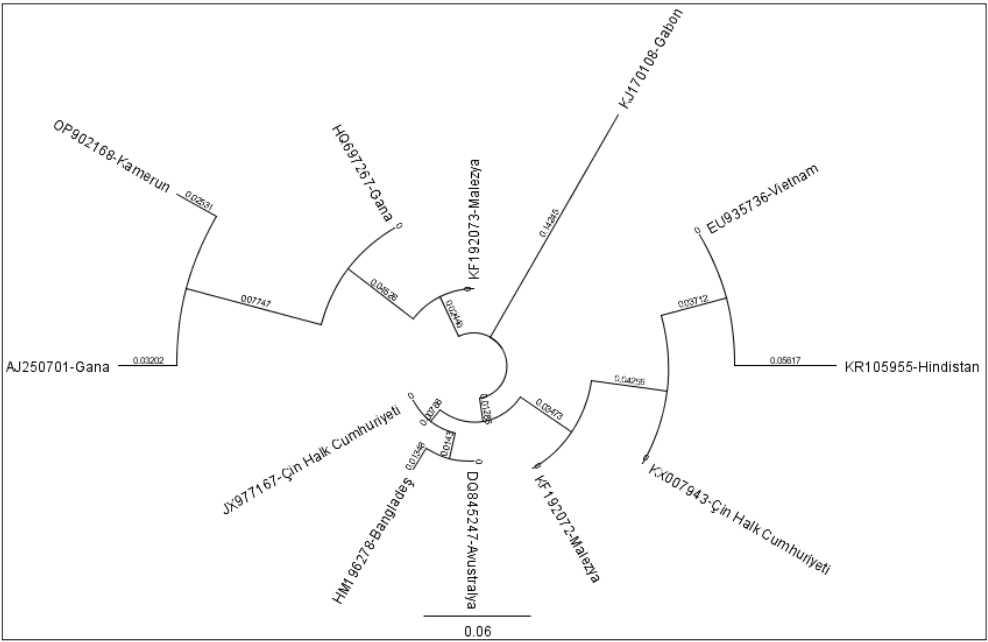
Şekil 2. *Plasmodium* spp. izolatlarının PCR ürünlerinin %1.5'lik etidyum bromürle boyanmış agaroz jeldeki görüntüsü. **M:** 100 bp DNA ladder moleküler belirteci (GeneAll), **1-5:** *P.vivax* izolatlarının PCR ürünleri (395 bp), **6-15:** *P.falciparum* izolatlarının PCR ürünleri (315 bp), **16:** *P.ovale* izolatının PCR ürünü (234 bp), **17:** *P.knowlesi* izolatının PCR ürünü (467 bp).



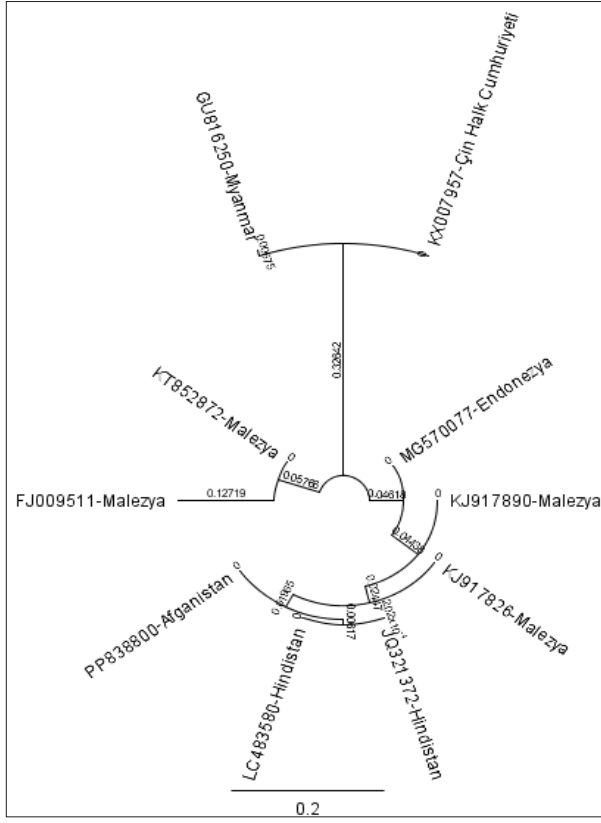
Şekil 3. Çalışmada elde edilen *P.vivax* izolatlarının ve referans dizilerin COX-1 gen bölgelerinin Neighbour-Joining filogenetik ilişkisi.



Şekil 4. Çalışmada elde edilen *P. falciparum* izolatlarının ve referans dizilerin COX-1 gen bölgelerinin Neighbour-joining filogenetik ilişkisi.



Şekil 5. Çalışmada elde edilen *P. ovale* izolatının ve referans dizilerin 18S rRNA gen bölgelerinin Neighbour-joining filogenetik ilişkisi.



Şekil 6. Çalışmada elde edilen *P.knowlesi* izolatının ve referans dizilerin 18S rRNA gen bölgelerinin Neighbour-joining filogenetik ilişkisi.

TARTIŞMA

Sıtma, insanların en yıkıcı bulaşıcı hastalıklarından biridir. Daha yoksul ülke ve bölgelerde yaygın olduğu ve sosyoekonomik kalkınmayı güçlü bir şekilde engellediği için klinik ve ekonomik olarak sorun teşkil etmektedir. Bugüne kadar 200'den fazla *Plasmodium* türü resmi olarak tanımlanmakla birlikte bu türler sadece insanları değil, sürüngenlerden kuşlara, memelilerden diğer omurgalılara kadar değişen geniş bir enfeksiyon yelpazesine sahiptir⁷. *Plasmodium* cinsinin neden olduğu tekrarlayan sıtma olgularının çoğundan sorumlu olan *P.vivax*, muhtemelen Afrika dışındaki maymun konaklardan kaynaklanan eski ve devam eden bir zoonozdur. Diğer zoonotik sıtmaların (*P.knowlesi*, *Plasmodium cynomolgi* ve *Plasmodium simium*) ortaya çıkması, hastalığın ciddiyetini daha da vurgulamaktadır. Bu salgın hastalığın şiddeti, parazit özellikleri, konak-parazit etkileşimleri ve enfeksiyonun patolojisi dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır⁸.

Küresel sıtmanın ortadan kaldırılmasının önündeki engellerden biri, son derece hassas, spesifik ve doğru teşhis araçlarının olmamasıdır. Özellikle teşhis araçlarının yokluğu,

deneyimsiz personel varlığı, parazit türleri arasında zayıf farklılaşmaya, kötü prognoza ve gecikmiş tedaviye yol açmaktadır^{9,10}. Sıtma, esas olarak ilaca dirençli suşların ortaya çıkması nedeniyle yıllar içinde tedavide ciddi bir zorluğa neden olan en yaygın bulaşıcı hastalıklardan biridir. Bu durum yeni protein hedeflerini keşfetme ve tanımlama ihtiyacını tetiklemiştir. Daha iyi ilaç hedefleme yeterliliğine yardımcı olmak için yeni bir etki mekanizmasını ortaya çıkarabilen, bilinen ilaçlar için hedeflerin belirlenmesine yönelik bir kemo-genomik yaklaşımı benimsemek iyi bilinen bir uygulamadır. Eradikasyon, aşı ve ilaç çalışmalarının temelini oluşturmaları nedeniyle; mevcut türler ve suşlar arasındaki moleküler farklılıkların ortaya çıkarıldığı çalışmalar hayati önem kazanmaktadır¹¹. Ayrıca vektörler üzerinde yapılacak tür tanımlaması için geliştirilmiş moleküler kapasite, sivrisinek karakterizasyonunu iyileştirecek, belirli sivrisinek türlerini hedefleyen doğru kontrol strateji/tedavisini sağlayacak ve böylece sıtmanın ortadan kaldırılmasına katkıda bulunacaktır. Hastalarda sıtmaya neden olan *Plasmodium* spp.'nin doğru biçimde tanımlanması, hastalık epidemiyolojisi ve gözetimi açısından çok önemlidir. Daha doğru, hassas, otomatik ve yüksek verimli tanı tekniklerinin geliştirilmesiyle hastalık gözetimi kapasitesi önemli ölçüde artacaktır¹².

Pakistan'da sıtma enfeksiyonlarının %70'inden sorumlu *P.vivax* izolatlarının circumsporozoit protein (*pvcsp*) ve merozoit surface protein-1 (*pvm-sp-1*) genlerini hedef alan bir çalışmada; *pvcsp* geninin merkezi tekrar bölgelerinde dört değişken tekrarıdan oluşan dizilerin bulunduğu, *pvm-sp-1* geninin ise özellikle ikinci blokunun kısmi dizileri arasında yüksek düzeyde çeşitlilik görüldüğü vurgulanmıştır¹³. Kırgızistan'da yapılan bir çalışmada Tacikistan'dakine kıyasla daha düşük *P.vivax msp-1*, *msp-3α*, *csp* ve *dbp II* gen polimorfizmi ortaya çıkarılmıştır. Etkenin moleküler karakterizasyonları sonucunda Kırgızistan'da *P.vivax* popülasyonlarının, güney batı bölgelere nazaran oldukça farklı ve Kırgızistan'ın kuzey bölgelerinde genetik olarak homojen olan birkaç soydan oluştuğunu göstermiştir. Kuzey bölgelerindeki bu profil, parazitin uzun vadeli endemik dolaşımından ziyade birkaç yeni girişin olduğu gerçeğini de ortaya çıkarmıştır¹⁴.

Türkiye Cumhuriyeti'nde sıtma etkenleri üzerine yapılan çalışmalar insanlardan elde edilen izolatlardan daha sıklıkla kuş ve benzeri diğer canlılarda bulunan izolatlar üzerinde "cytochrome b" (*cyt-b*) gibi gen bölgelerini hedef alarak gerçekleştirilmiştir¹⁵. Ülkemizde insan izolatlarına ait dizi verileri bu çalışmaya kadar bildirilmemiştir. Çalışmada, ayrıca yerli ve imparte olguların dizi bilgilerinin incelenmesi sonucunda aynı parazit genotiplerinin yerli olgularda miks enfeksiyon şeklinde ortaya çıkabileceğine dair bulgular tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, insanlardan elde edilen *Plasmodium* spp. izolatlarının diğer ülkelerden daha önce bildirilen izolatlarla aralarındaki farklılıkları veya benzerlikleri araştırılmıştır. Özellikle *Plasmodium* spp. izolatlarının insanlardan izole edilmiş olmaları ve çalışılan türlerin çeşitli olması nedeniyle bu kapsamda Türkiye Cumhuriyeti'ndeki ilk çalışmalardan biri gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen Türkiye Cumhuriyeti, Gine, Tanzanya, Kamerun ve Afganistan orijinli *P.vivax* izolatlarının mitokondriyal COX-1 gen bölgelerinin

dünyadan daha önce bildirilen benzer izolatlarla karşılaştırılması yapılmıştır. Karşılaştırılması yapılan *P.vivax* izolatlarının %97-99 oranında identik oldukları belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen Türkiye Cumhuriyeti, Kamerun, Gana, Angola, Kongo, Nijerya ve Gine orijinli *P.falciparum* izolatlarının mitokondriyal COX-1 gen bölgelerinin dünyadan daha önce bildirilen benzer izolatlarla karşılaştırılmaları sonucunda %96-98 oranında identik oldukları tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen Kamerun orijinli *P.ovale* izolatının 18S rRNA gen bölgesinin Dünya'dan daha önce bildirilen benzer izolatlarla karşılaştırılması sonucunda %94-97 oranında identik oldukları belirlenmiştir. Çalışmada izole edilen Afganistan orijinli *P.knowlesi* izolatının 18S rRNA gen bölgesinin Dünya'dan daha önce bildirilen benzer izolatlarla karşılaştırılması sonucunda %95-98 oranında identik oldukları tespit edilmiştir. Çalışmada mitokondriyal COX-1 ve ribozomal 18S rRNA gen bölgelerinin daha önceki çalışmalarda olduğu gibi yüksek oranda korunmuş bölgelerden oluştuğu gözlenmiştir.

Globalleşen dünyada Koronavirüs-2019 pandemisi göz önüne alınıp değerlendirildiğinde herhangi bir coğrafyada ortaya çıkıp diğer ülkeleri etkilemeyecek patojenlerin varlığı artık söz konusu olmamaktadır. Sıtma eradikasyon programlarını sıkı uygulayan ülkelerde bile söz konusu patojenler sporadik olgular şeklinde görülebilmektedir. Bu bağlamda özellikle karşılaşılan olgularda doğru tanı, tedavi ve korunma protokollerinin titizlikle uygulanması hayati önem taşımaktadır. İnsanda enfeksiyon kaynağı bütün türleri için bildirimi zorunlu hastalıkların başında gelen sıtmanın; parazitlerden özellikle *P.vivax* ve *P.ovale* izole edilen hastalarda nüks potansiyeli bulunduğundan takipleri titizlikle devam etmektedir. Dünya tarihinin en yıkıcı enfeksiyonlarının başında gelen sıtmanın; kontrol programları, eradikasyon çalışmaları içinde değerlendirildiğinde mevcut türlerin ve moleküler çeşitliliklerinin ortaya çıkarılmasının; aşı, ilaç, direnç çalışmaları gibi önemli çalışmaların temelini oluşturmaları noktasında son derece değerli olduğu düşünülmektedir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 04.04.2018 ve Karar No: 2018/184).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Yang J, Wang Y, Guan W, Su W, Li G, Zhang S, et al. Spiral molecules with antimalarial activities: A review. *Eur J Med Chem* 2022; 237: 114361. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114361>
2. Zanghi G, Vaughan AM. *Plasmodium vivax* pre-erythrocytic stages and the latent hypnozoite. *Parasitol Int* 2021; 85: 102447. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2021.102447>
3. Kulawiak N, Borys S, Roszko-Wysokińska A, Zgud-Jankowska N, Korzeniewski K, Sikorska K. Challenges in the diagnosis and treatment of malaria in Polish workers returning from Africa: A case series and review of literature. *Int Marit Health* 2022; 73(1): 46-51. <https://doi.org/10.5603/IMH.2022.0006>

4. Daniyan MO, Fisusi FA, Adeoye OB. Neurotransmitters and molecular chaperones interactions in cerebral malaria: Is there a missing link? *Front Mol Biosci* 2022; 9: 965569. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.965569>
5. Brashear AM, Cui L. Population genomics in neglected malaria parasites. *Front Microbiol* 2022; 13: 984394. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.984394>
6. Türe Z, Yıldız O, Yaman O, Kalın Ünüvar G, Aygen B. Domestic malaria cases in Kayseri province. *Mikrobiyol Bul* 2023; 57(2): 307-16. <https://doi.org/10.5578/mb.20239922>
7. Sato S. *Plasmodium* a brief introduction to the parasites causing human malaria and their basic biology. *J Physiol Anthropol* 2021; 40(1): 1. <https://doi.org/10.1186/s40101-020-00251-9>
8. Hang JW, Tukijan F, Lee EQ, Abdeen SR, Aniweh Y, Malleret B. Zoonotic malaria: Non-Laverania *Plasmodium* biology and invasion mechanisms. *Pathogens* 2021; 10(7): 889. <https://doi.org/10.3390/pathogens10070889>
9. Slater L, Ashraf S, Zahid O, Ali Q, Oneeb M, Akbar MH, et al. Current methods for the detection of *Plasmodium* parasite species infecting humans. *Curr Res Parasitol Vector Borne Dis* 2022; 2: 100086. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2022.100086>
10. Gupta H, Sharma S, Gilyazova I, Satyamoorthy K. Molecular tools are crucial for malaria elimination. *Mol Biol Rep* 2024; 51(1): 555. <https://doi.org/10.1007/s11033-024-09496-4>
11. Rajan S, Yoon HS. Structural insights into *Plasmodium* PPlases. *Front Cell Infect Microbiol* 2022; 12: 931635. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.931635>
12. Hadebe MT, Malgwi SA, Okpeku M. Revolutionizing malaria vector control: The importance of accurate species identification through enhanced molecular capacity. *Microorganisms* 2023; 12(1): 82. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010082>
13. Bibi Z, Fatima A, Rani R, Maqbool A, Khan S, Naz S, et al. Genetic characterization of *Plasmodium vivax* isolates from Pakistan using circumsporozoite protein (pvcsp) and merozoite surface protein-1 (pvmsp-1) genes as genetic markers. *Malar J* 2021; 20(1): 112. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03654-w>
14. Goryacheva II, Baranova AM, Lukashev AN, Gordeev MI, Usenbaev NT, Shaikevich EV. Genetic characterization of *Plasmodium vivax* in the Kyrgyz Republic. *Infect Genet Evol* 2018; 66: 262-8. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.10.009>
15. Ciloglu A, Yildirim A, Duzlu O, Onder Z, Dogan Z, Inci A. Investigation of avian haemosporidian parasites from raptor birds in Turkey, with molecular characterisation and microscopic confirmation. *Folia Parasitol (Praha)* 2016; 63: 2016.023. <https://doi.org/10.14411/fp.2016.023>



Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.

Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.

©Telif Hakkı 2025 Mikrobiyoloji Bülteni'ne aittir. Makale metnine www.mikrobiyolbul.org web sayfasından ulaşılabilir.