

Toxoplasma gondii'ye Karşı Geliştirilen DNA Aşılarına Genel Bir Bakış

An Overview of DNA Vaccines Development Studies Against Toxoplasma gondii

© Ceren Gül¹, © Tuğba Karakavuk¹, © Muhammet Karakavuk², © Hüseyin Can³,
© Aysu Değirmenci Döşkaya⁴, © Aytül Gül⁵, © Sedef Erkunt Alak³, © Adnan Yüksel Gürüz⁴,
© Cemal Ün³, © Mert Döşkaya⁴

¹Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Ödemiş Meslek Yüksek Okulu, İzmir, Türkiye

³Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁵Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Cite this article as: Gül C, Karakavuk T, Karakavuk M, Can H, Değirmenci Döşkaya A, Gül A, Erkunt Alak S, Gürüz AY, Ün C, Döşkaya M. An Overview of DNA Vaccines Development Studies Against *Toxoplasma gondii*. Türkiye Parazit Derg 2022;46(3):253-70.

ÖZ

Toxoplasma gondii (*T. gondii*), insan dahil hemen hemen tüm sıcakkanlı hayvanları enfekte edebilen zorunlu hücre içi bir parazittir ve küresel nüfusun üçte birinin bu parazit ile enfekte olduğu düşünülmektedir. Kontamine gıdaların tüketilmesi, enfekte bir konak ile temas edilmesi veya konjenital geçiş ile enfeksiyon oluşabilmektedir. Toksoplazmozis immün sistemi sağlam olan kişilerde asemptomatik seyrederken, immün yetmezliği olan veya immün sistemi baskılanmış bireylerde şiddetli enfeksiyonlara neden olabilmektedir. İnsanlarda hastalık oluşturmamasının yanı sıra çiftlik hayvanlarında da enfeksiyona neden olmakta, koyun ve keçilerde ölü doğum ve kürtaj gibi sonuçlar doğurabilmektedir. Ciddi klinik tablo ve ekonomik kayıplara yol açan parazite karşı %100 etkili bir ilaç veya aşı mevcut değildir. İnsanlarda ve hayvanlarda kullanılmak üzere koruyucu bağışıklığı sağlayabilecek etkili, güvenli ve dayanıklı bir aşıya ihtiyaç duyulmaktadır. Toksoplazmozise karşı aşı çalışmaları 1990'lardan sonra hız kazanmıştır. Günümüzde moleküler biyoloji, biyoteknoloji ve immünolojideki gelişmelere bağlı olarak etkili ve güvenli aşıların geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapılabilmektedir. DNA aşıları kolay üretilibilmeleri, güvenli olmaları, soğuk zincire ihtiyaç duymamaları hem humoral hem de hücrel immün yanıtı uyatabilmeleri sebebiyle Toksoplazmozise karşı umut vadeden bir aşı platformudur. Bu derleme; parazitin karmaşık yaşam döngüsü, patogenezi ve epidemiyolojisi, neden olduğu enfeksiyona karşı konakta gelişen immün yanıt ve toksoplazmozise karşı geliştirilen DNA aşıları ve bu aşılar hakkında genel bir bakış açısı sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: DNA aşıları, toksoplazma, immünizasyon

ABSTRACT

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) is an obligate intracellular parasite that can infect almost all warm-blooded animals, including humans, and one-third of the global population is thought to be infected with this parasite. Infection can occur through consumption of contaminated food, contact with an infected host, or congenital transmission. While toxoplasmosis is asymptomatic in people with a healthy immune system, it can cause severe infections in people with a suppressed immune system or with immunodeficiency. In addition to causing diseases in humans, it also causes infections in livestock and may result in stillbirth and abortion in sheep and goats. There is no 100% effective medicine or vaccination against the parasite that causes major clinical symptoms and financial losses. There is a need for an effective, safe, and durable vaccine that can provide protective immunity for use in humans and animals. Vaccination studies against toxoplasmosis have gathered speed since the 1990s. Today, studies can be carried out to develop effective and safe vaccines depending on the developments in molecular biology, biotechnology, and immunology. DNA vaccines are a promising vaccine platform against toxoplasmosis because they are easy to produce, they are safe, they do not need a cold chain, and they can stimulate both humoral and cellular immune responses. This review provides an overview of the complex life cycle, pathogenesis, and epidemiology of the parasite; the immune response that develops in the host against the infection it causes; and the DNA vaccines developed against toxoplasmosis and these vaccines.

Keywords: DNA vaccines, toxoplasma, immunization



Geliş Tarihi/Received: 21.05.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 24.06.2022

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Mert Döşkaya, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Tel/Phone: +90 232 390 47 34 **E-Posta/E-mail:** mert.doskaya@ege.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-6868-008X

GİRİŞ

Toxoplasma gondii (*T. gondii*), insan dahil tüm sıcakkanlı hayvanları enfekte edebilen zorunlu bir hücre içi *Apicomplexan* parazittir (1). Kesin konak olan kedilerde eşeyli ve eşeysiz, ara konakta ise sadece eşeysiz çoğalan bu protozoanın akut enfeksiyonda görülen takizoit, kronik enfeksiyonda görülen bradizoit ve içerisinde sporozoitleri barındıran ookist olmak üzere üç farklı enfektif formu bulunmaktadır (2). Parazit takizoit formundayken konaktaki tüm çekirdekli hücreleri enfekte edebilme yeteneğine sahiptir. Bu sayede immün yanıtın olmadığı ortamda kendini çoğaltarak enfekte hücreleri öldürmekte ve hücre içinde yaşamını devam ettirebilmektedir (3). Doku kisti içeren az pişmiş etlerin, kontamine gıdaların ve ookist ile enfekte suların tüketilmesi, enfekte bir konak ile temas edilmesi veya konjenital geçiş yoluyla enfeksiyon oluşabilmektedir (1).

İmmün sistemi sağlam olan kişilerde enfeksiyonların çoğu asemptomatiktir ya da hafif grip benzeri semptomlarla seyredir. Bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde (HIV ile enfekte hastalar, organ nakli alıcıları, kanser hastaları vb.) birincil enfeksiyon veya reaktivasyon, ensefalit veya pnömöni gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir (4). Günümüzde toksoplazmozis şizofreni ve diğer psikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilmektedir. Lori ve ark. (5) tarafından yapılan bir çalışmada *T. gondii* ile enfekte olmuş kişilerin, enfekte olmayan kişilere kıyasla şizofreniye yatkın olan farklı genetik risk faktörlerine sahip olup olmadığı incelenmiş ve çalışma sonucunda *T. gondii*'nin şizofreni riskini artırdığı belirtilmiştir. Yapılan başka bir çalışma, otizmlili çocuklardaki enfeksiyon oranının normal çocuklara kıyasla anlamlı seviyede yüksek olduğunu göstermiştir (6). Bunlara ek olarak toksoplazmozis ile kanser gelişimi arasında bir bağlantı olduğu düşünülmektedir. Hodge ve ark. (7) tarafından *T. gondii* ile erişkin glioma riski arasındaki ilişkiyi incelemek için yapılan bir çalışmada, *T. gondii* antikorları için seropozitiflik ve glioma riski arasında pozitif ilişki gözlemlenmiştir. İnsanlarda neden olduğu hastalıkların yanı sıra koyun ve keçi gibi çiftlik hayvanlarında da enfeksiyona neden olan bu parazit ölü doğum ve kürtaja neden olarak ekonomik bir yük oluşturmaktadır (4).

Küresel nüfusun üçte birini enfekte ettiği düşünülen, ciddi klinik tablo ve ekonomik kayıplara yol açan *T. gondii*'ye karşı %100 etkili bir ilaç mevcut değildir (1). Günümüzde koyunlarda kürtajın önüne geçmek için ticari olarak temin edilebilen yalnızca bir aşı (Toxovax®, MSD hayvan sağlığı) bulunmaktadır (8). Aşılanmanın amacı koruyucu bağışıklığın sağlanmasıdır (9). Toksoplazmozise karşı insanlarda ve hayvanlarda kullanılacak etkili, güvenli ve dayanıklı bir aşıya ihtiyaç duyulmaktadır (4).

DNA aşıları, patojene ait hedeflenen bir antijeni içeren bakteriyel plazmitlerden oluşmakta, canlı zayıflatılmış veya inaktive edilmiş patojenleri içermediğinden virülen formlara geri dönüş riski taşımamaktadır (10). Hem hücresel hem de humoral bağışıklık tepkilerini indüklemeye yeteneği DNA aşısını geleneksel protein veya peptid aşılarından farklı kılmaktadır (11). Son beş yılda toksoplazmozise karşı elliden fazla DNA aşı adayları fare modelinde test edilmiştir. Aşının başlıca hedefi olan kediler ve oyunlarda ise sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. İnsanlarda ise henüz test edilmiş bir aşı bulunmamaktadır. DNA aşılarının istenilen düzeyde korunma sağlayamaması DNA aşılarının piyasaya çıkmasını engellemektedir (1,12). Bunun yanında yakın zamanda Koronavirüs hastalığı 2019'a karşı geliştirilen DNA aşısının insanlarda faz çalışmalarını birer birer geçip acil kullanım onayı

alması DNA aşılarının insanlara uygulanabilirliğini göstermiştir (13). DNA aşılarının koruyucu etkinliğinin artırılması için adjuvan eklenmesi, aşı dağıtımında taşıyıcı olarak bakteri ve virüslerin kullanılması, çapraz koruma için birden fazla antijenin dahil edilmesi gibi stratejiler geliştirilmiştir (1).

Toxoplasma gondii Genel Bilgi

T. gondii ilk kez 1908 yılında *Ctenodactylus gundi* adlı bir kemirgende tanımlanmış ve aynı yıl içinde Brezilya'da, tavşan dokusunda bu parazitin varlığı tespit edilmiştir. *T. gondii* şekil itibari ile yaya benzediği için Yunancada yay anlamına gelen *Toxo* ve yaşam anlamına gelen *plasma* kelimeleri birleştirilerek *Toxoplasma gondii* adlandırılması yapılmıştır (14). 1923 yılında ilk kez gözden *T. gondii* kistlerinin izolasyonunu gerçekleştirilmiştir. İlk konjenital olgu ise 1937 yılında tespit edilmiş ve insanlardaki toksoplazmozis 1942 yılında tanımlanmıştır (15). Aynı yıl koyunlarda toksoplazmozis olgusu bildirilmiştir (16).

Türkiye'de ilk kez 1950 yılında bir köpekten *T. gondii* izolasyonu gerçekleştirilmiş, 1953 yılında ise ilk insan olgusu bildirilmiştir. 1969 yılına gelindiğinde toksoplazmozis tanısında serolojik yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. 1973 yılında ölen bir köpekten parazit izolasyonu ve bir yıl sonra ise Ankara'da bir bebekten *T. gondii* izolasyonu yapılmış, bu suş Ankara suşu olarak adlandırılmıştır (15,17,18).

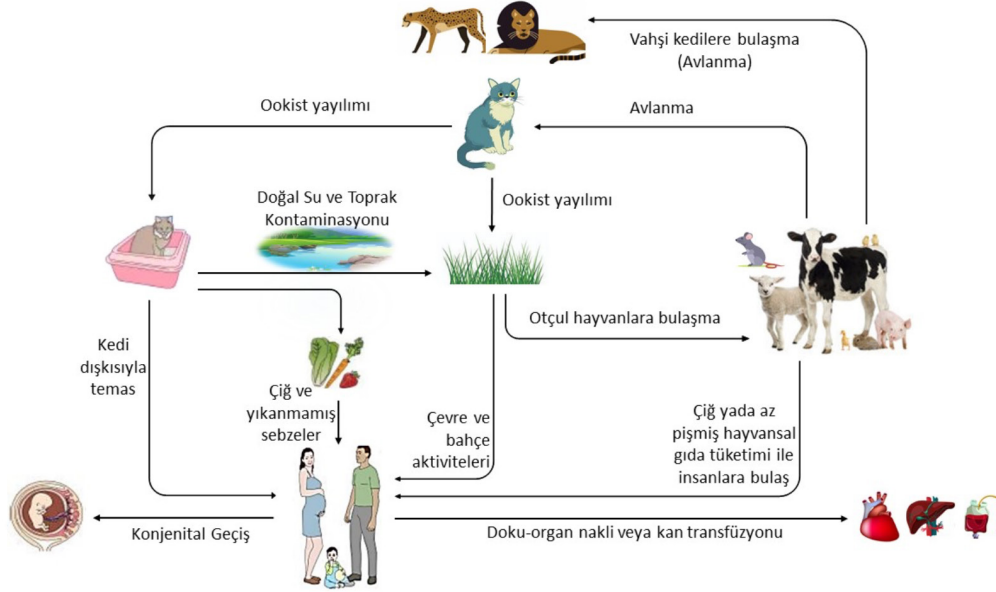
Morfoloji ve Yaşam Döngüsü

T. gondii, insanları ve hayvanları enfekte ederek toksoplazmozise neden olan geniş bir konak yelpazesine sahip zorunlu hücre içi parazittir (Şekil 1) (19). Parazitin yaşam döngüsünde hızlı bölünme özelliğine sahip takizoitler, doku kistlerinde bulunan bradizoitler ve sporozoitleri bulunduran ookistler olmak üzere 3 farklı form olduğu bilinmektedir (Şekil 2) (20).

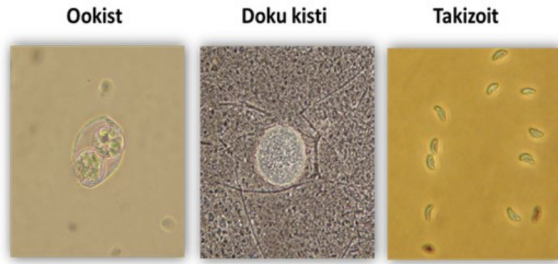
Takizoitler 2x6 µm boyutlarında, karakteristik olarak muz veya hilal şeklinde, nükleusa sahip, hareket edebilen ancak herhangi bir almaca sahip olmayan bir formdur. Yapılarında bulunan çeşitli proteinler ve moleküller sayesinde konak hücrelere penetrasyon, kimyasal etkileşim ya da fagositoz yoluyla girdikleri bilinmektedir. Konak hücreye girdikten sonra ovalleşir ve kendisine konak hücre duvarından parazitofor vakuölü (PV) oluşturarak konağın immün sisteminden korunmaktadır. Vakuol içinde bulunan takizoitte meydana gelen tekrarlayan bölünmeler sonucunda konak hücre patlar. Açığa çıkan takizoitlerin bir kısmı çevredeki komşu hücreleri istila ederken bir kısmı kan ve lenf yoluyla genellikle sinir sistemi, plasenta, göz ve kalp kası gibi hayati doku ve organlara yayılmaktadır (17,21).

Konak hücredeki immün sistem baskısından dolayı PV içinde bulunan takizoitlerin daha yavaş bölünen bradizoitlere dönüştüğü ve konak hücrenin sitoplazmasında doku kistlerini oluşturduğu görülmüştür. Morfolojik olarak kist duvarı ince, esnek bir yapıya ve 5-120 µm arasında değişen bir çapa sahiptir ve içerisinde 100-3000 bradizoit barındırır. Konakta hiçbir belirti göstermeden aylarca hatta yıllarca immün sistemden korunarak yaşamını devam ettirebilmektedir (21). Doku kistleri sinir sistemi, kalp kası, göz ve beyine yerleşebilmekte ve beyine yerleşen doku kistlerinin konak hücre dışına çıkmadan da ölüme sebep olduğu bilinmektedir (17,22).

Ookistlerin kesin konakları kedigillerdir. Çeşitli yollarla beslenme sonucunda paraziti vücutlarına alan kedilerin bağırsak epitel hücrelerinde üreme döngüleri başlamakta ve eşeyli üreme sonucunda oluşan ookistler dışkılama ile çevreye bırakılmaktadır.



Şekil 1. *Toxoplasma gondii*'nin yaşam döngüsü



Şekil 2. *T. gondii*'nin 3 formuna ait faz kontrast mikroskopu altındaki görüntüleri (orijinal)

Dışkıda bulunan sporüle olmamış ookistler 1-21 gün sonra uygun ortam şartlarında sporüle olarak enfektif hale gelmektedir (21). Kompleks bir yaşam döngüsüne sahip olan bu parazit Şekil 1'de görüldüğü gibi kedigiller dışında insan, koyun, domuz, fare ve sığır gibi canlıları ara konak olarak kullanıp yaşamını sürdürmektedir. Kesin konak ile ara konaklarında gerçekleşen yaşam döngüsü farklılık göstermektedir (23). Ara konakta endodiyogeni ile takizoitler çoğalırken, kesin konakta eşeyli üreme sonucunda ookistler oluşmaktadır. Oluşan ookistlerin ara konaklar tarafından su ve besinlerle (çevrede birikmiş su kaynakları, pişmemiş ya da az pişmiş et tüketimi, iyi yıkanmamış sebze-meyve tüketimi) vücuda alınmasıyla takizoit ve bradizoit formlarının oluşumu gözlenmektedir. Doku kistlerinin çevreden alınmasıyla tüm konakların enfekte olduğu bilinmektedir. Takizoitler konakta akut enfeksiyona, bradizoitler ise kronik enfeksiyona yol açmaktadır (21,24).

Toksoplazmozis

Toksoplazmozise neden olan *T. gondii* büyükbaş ve küçükbaş hayvanları enfekte ederek düşüklere ya da ölü doğumlara sebep olmaktadır. Özellikle koyun, keçi, domuz gibi ekonomik öneme sahip çiftlik hayvanlarında gelişen toksoplazmozis sonucunda hayvancılıkta büyük ekonomik kayıplar yaşanmaktadır (14,25).

Toksoplazmozisin insanlara konjenital ve edinsel olmak üzere iki farklı yolla bulaştığı bilinmektedir. Edinsel bulaş genellikle parazite ait ookistlerin kedi dışkısı ile çevreye atılması sonucunda kontamine olan su ve besin maddelerinin, doku kisti içeren çiğ ya da az pişmiş etlerin veya pastörize edilmemiş süt ürünlerinin tüketilmesiyle gerçekleşmektedir. Takizoit formu ile bulaşın oldukça nadir görüldüğü bildirilmektedir (17,21). Çiğ veya az pişmiş kontamine etlerin tüketilmesiyle enfekte olan insanlarda inkübasyon süresi 10-23 gün sürerken, kedi dışkısı yoluyla ookistlerin alınmasında bu süre 5-20 gün arasında değişmektedir. Doku ve organ nakilleri veya kan transfüzyonları ve konjenital geçiş ise diğer bulaş yollarıdır. Konjenital bulaş, hamilelik sırasında ya da öncesinde anne adayının *T. gondii* ile enfekte olması sonucu gerçekleşmektedir. Hamilelik öncesinde enfekte olan kadınların paraziti fetüse nadiren geçirdiği bilinmekle birlikte hamilelik sırasında enfekte olan anneden plasenta aracılığı ile parazitin fetüse bulaştığı bilinmektedir. Hamileliğin ilk dönemlerinde geçirilen enfeksiyonların düşük ya da ölümlere, son dönemlerinde geçirilen enfeksiyonların ise daha az hasara ve erken doğuma neden olduğu bilinmektedir (15,26,27). Başlangıçta bebeklerde hiçbir belirti göstermeyen toksoplazmozisin geç fark edilmesi veya tedavi edilmemesi gelişme geriliği gibi ciddi klinik sorunlar oluşturmaktadır (28).

Enfekte bireylerde gerçekleşecek klinik belirtiler başta konak hücrenin özellikleri olmak üzere konak hücreyi enfekte eden parazit miktarına ve parazitin bulunduğu konuma göre değişiklik göstermektedir. İmmün sistemi sağlam olanlarda asemptomatik seyreden toksoplazmozis bazı kişilerde hafif ateş, baş ağrısı gibi ağır olmayan belirtiler gösterebilmektedir (3). AIDS ve kanser hastaları ya da hiperimmüno globulin M (IgM) sendromuna sahip bireyler gibi immün sistemi baskılanmış ve immün yetmezliği olanlarda bilinç kaybı, yüksek ateş benzeri belirtiler gözlenirken bazılarında da hepatosplenomegali, miyokardit, perikardit ve tonsillit gibi ciddi hastalıklar gözlenmektedir (29).

Epidemioloji

Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinin *T. gondii* ile enfekte olduğu ileri sürülmektedir (30). Kedilerin dışkılaması sonucu çevreye

atılan ookistlerin diğer canlılar tarafından çeşitli yollarla alınması da parazitin çevreye yayılımında kedigillerin önemli konaklar olduğunu açıkça göstermektedir (31). Dünyadaki prevalansın, coğrafik bölgelere, kişisel hijyene, kedi popülasyonuna ve kişilerin beslenme alışkanlıklarına göre değişkenlik gösterdiği bilinmektedir (32). Yapılan çalışmalarda Asya, Afrika, Doğu Avrupa ve Latin Amerika'da yüksek seropozitiflik gözlenirken, Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'da yer alan çoğu ülkede seropozitifliğin düşük olduğu bildirilmiştir (33).

Dünya genelinde yapılan çalışmalarda sığır, koyun, keçi, tavuk ve domuz gibi çiftlik hayvanlarından doku kisti izole edilmiştir. Koyun, inek ve keçilerden elde edilen et ve süt ürünlerinde tespit edilen *T. gondii* varlığı, insanların enfekte olmasında hayvanlarla temasın ve hayvansal gıdaların uygun olmayan şartlarda tüketiminin önemli bulaş yollarını oluşturduğunu göstermektedir (2,34). Hayvan çiftliklerinin yeterince denetlenmemesi, özellikle domuzların doğal ortamda bitki ve çeşitli canlılarla beslenmesi nedeniyle yüksek prevalansa rastlanmakta, yükselen prevalansla birlikte ekonomik kayıplar gerçekleşmektedir (35).

2009-2014 yılları arasında yapılan çalışmada Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) seropozitifliğin %13,3 ve her yıl konjenital toksoplazmozise bağlı olgu sayısının yaklaşık 500-5000 olduğu, ayrıca *T. gondii*'nin sebep olduğu klinik tablolar nedeniyle yaklaşık 750 kişinin hayatını kaybettiği rapor edilmiştir (36-38). ABD Hastalık Koruma ve Önleme Merkezi verilerine göre *T. gondii*, ABD'de gıda kaynaklı hastalıklara bağlı ölümlerin %70'ini oluşturmaktadır (30). 2000'li yıllarda yapılan çalışmada hamile kadınların yaklaşık %60'ının yeterince pişirilmemiş et tüketimi nedeniyle, %6-17'sinin ise çevresel temasa bağlı olarak bu enfekte oldukları belirtilmiştir (39). Paris ve Londra'da yaşayan enfekte kadınların yer aldığı bir çalışmada seropozitiflik oranının Paris'te daha yüksek olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu sonuç, kişilerin beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak çiğ ya da az pişmiş et tüketimleriyle ilişkilendirilmiştir (16). Avusturya, Belçika, Almanya ve Norveç gibi ülkelerde yaşayan doğurganlık çağındaki kadınlarda seroprevalansın %37 ile %58 arasında değiştiği belirlenmiştir (27,40).

Dünya genelindeki dağılım oranla Türkiye'de de geniş bir dağılım gösteren *T. gondii*, epidemiyolojik olarak ilk kez koyunlarda çalışılmış ve seroprevalansın %43,1 olduğu saptanmıştır (41). Ankara ve çevresinde seropozitifliğin %62,06, Kırıkkale ve çevresinde %15,7 olduğu, beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak et tüketiminin yüksek olduğu Doğu ve Güneydoğu Anadolu

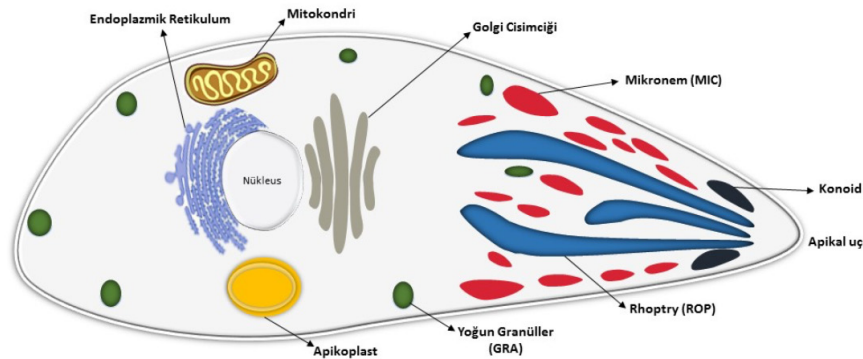
Bölgeleri'nde ise daha yüksek olduğu saptanmıştır (42-45). Türkiye'de doğurganlık çağındaki kadınların yer aldığı bir çalışmada Denizli'de %30,7 olarak belirlenen seropozitiflik Şanlıurfa'da %69,5 olarak saptanmıştır (44,46). Başka bir çalışmada ise Aydın ilinde hamile kadınlar arasındaki seroprevalansının %30,1 olduğu görülmüştür (47). Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden elde edilen sonuçlara göre *T. gondii* yayılımında önemli olan risk faktörleri çiğ et, yıkanmamış sebze-meyve tüketimi ve kontamine kedi dışkısı ile yakın temas sonucu etrafa saçılan ookistlerin vücuda alınmasıdır (48).

T. gondii kategori B biyoterörizm ajanıdır ve günümüze kadar dünya çapında önemli salgınlara neden olmuştur. Panama'daki bir askeri birlikte 1979 yılında toksoplazmozis salgını ortaya çıkmış ve salgından ormanda yer alan kontamine su kaynağının sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (49). Dünyadaki en büyük epidemiyolojik salgın su rezervuarından sokak kedilerinin su içmesi ve bu rezervuarın içme suyuna bağlanması sonucunda 1995 yılında Kanada İngiliz Kolumbiyası'nda meydana gelmiştir (50). 2001 yılında, Güney Brezilya'nın bir eyaletinde sebebinin kontamine olan içme suyu deposundaki suyun tüketilmesi olduğu düşünülen ve yüzlerce insanı etkileyen salgının meydana geldiği bildirilmiştir (39). 2002 yılında İzmir'de yer alan bir askeri okulda meydana gelen salgında 171 pilot adayı öğrencide akut enfeksiyon saptanmıştır (51). 2004 yılında Hindistan'da kontamine su kaynağından meydana geldiği düşünülen salgında 242 kişide oküler toksoplazmozis olgusu tespit edilmiş ve aynı yıl Hindistan Coimbatore'de 178 kişiyi etkileyen başka bir oküler toksoplazmozis salgını bildirilmiştir (52,53). Brezilya Anapolis'de 2006 yılında doku kisti kaynaklı kontamine gıda tüketimi nedeniyle meydana gelen bir salgında 61 kişide *T. gondii* saptanmıştır (54).

Patogenez

Konak hücreye ilk tutunmayı gerçekleştiren proteinler yüzey antijenleridir (SAG). Proteinlerin, üç ana salgı organelinden [mikronemler (MIC), roptriler (ROP) ve yoğun granüller (GRA)] sıralı salınımı, konak hücre bağlanmasını, PV'nin oluşumunu ve parazit istilasını düzenlemektedir (55). Salınım bu proteinlerin lokalizasyonu ve hücreden salınım süreleri birbirinden farklıdır (Şekil 3) (56).

Parazitin konak hücrelerce tanınmasında ve konak hücreye tutunmada rol oynayan MIC ve konak hücre membranına penetrasyonunda rol oynayan ROP parazitin apikal ucunda



Şekil 3. *T. gondii* salgı organellerinin lokalizasyonu

lokalizedir (57,58). ROP, paraziti lizozomal enzimlerden korumak için PV'yi oluştururken parazitin çoğalması ve hücre içinde yaşamını devam ettirebilmesi için vakuol içine GRA salgılanmaktadır (55,59). Bu dört ana protein dışında parazit istilasının düzenlenmesinde rol oynayan rhomboidler ve paraziti stres unsurlarından korumakla görevli ısı şok proteinleri (HSP) bulunmaktadır (21,58). 1990'lı yıllardan buyana *T. gondii*'ye karşı geliştirilen DNA aşılarında, aşı adayı antijen olarak kullanılan proteinler Tablo 1'de sunulmuştur. Bu proteinler yanında aşı antijeni olarak yapısal proteinler veya enzimler dahi kullanılmıştır (Tablo 2).

Toksoplazmozise Karşı Gelişen İmmün Yanıt

Kesin konağı olan kedi ve kedigillerde eşeyli ve eşeysiz, çiftlik hayvanları (özellikle koyun ve domuz), kuşlar, kemirgenler ve insanların dahil olduğu ara konaklarında sadece eşeysiz çoğalan bu parazitin akut enfeksiyonda görülen takizoit, kronik enfeksiyonda görülen bradizoit ve içerisinde sporozoitleri barındıran ookist olmak üzere üç farklı enfektif formu bulunur (2,60,61). Parazit takizoit formundayken konaktaki tüm çekirdekli hücreleri enfekte edebilme yeteneğine sahiptir bu sayede immün yanıtın olmadığı ortamda kendini çoğaltarak enfekte hücreleri öldürmekte ve hücre içinde yaşamını devam ettirebilmektedir. Parazitin neden olduğu enfeksiyona karşı konakta hücrel ve humoral immün yanıt uyarılmakta, gelişen immün yanıt sonucunda takizoitler kendini korumak üzere bradizoit formuna dönüşerek kist içinde saklanmaktadır (3,62).

Enfeksiyona Karşı Gelişen Hücrel İmmün Yanıt

T. gondii'ye ait antijenik yapıdaki proteinler fagositoz yolu ile antijen sunan hücrelerin (APC'lerin) içine alınarak peptitlerine ayrılmaktadır. Peptitler, endoplazmik retikulumda (ER'de) üretilen MHC sınıf II molekülü ile birleşmenin ardından golgi kompleksinde paketlenip APC yüzeyine iletilmekte ve CD4+ T lenfositlerine sunulmaktadır (63). T-hücre yüzeyinde bulunan CD3 koreseptörü, T-hücre reseptörü (TCR) ile MHC II-peptit kompleksi oluşturmak üzere CD4+ T yardımcı 0 (T_H0) hücrelerini uyararak aktive etmektedir. APC yüzeyinde bulunan CD80/86 ile T hücre yüzeyinde bulunan CD28 reseptörü bağlanarak CD4+ T_H0 hücrelerinin uyarımını artırmaktadır (59). APC üzerinde bulunan

CD40, T-hücre yüzeyindeki CD40 ligandına (CD40L) bağlanarak CD80/86 ekspresyonunu artırarak T_H0 hücre uyarımını artırmaktadır (3). CD40'ın bağlanmasıyla APC'lerden salgılanan IL-12, T_H0 hücrelerinin T_H1 hücrelerine dönüşümünü ve bu hücrelerde IFN- γ salgılanmasını sağlamaktadır (64). Salgılanan IFN- γ sayesinde makrofajlar ve doğal katil hücreleri (NK) uyarılarak hücrel immün yanıt aktifleşmektedir. Uyarılmayla birlikte IL-12 hücrel immün yanıtı güçlendirmektedir (65).

Parazit vakuolünden salınan proteinler proteozomlar tarafından peptitlerine parçalanarak MHC sınıf I molekülü ile APC yüzeyine iletilmekte ve CD8+ T lenfositlerine sunulmaktadır. T-hücre yüzeyinde bulunan CD3 koreseptörü, CD8+ T_C hücrelerini uyararak T-hücre reseptörü (TCR) ile MHC I-peptit kompleksi oluşturmak üzere aktive etmektedir (63). APC yüzeyinde bulunan CD80/86 ile T-hücre yüzeyinde bulunan CD28 reseptörünün bağlanması uyarımı daha da artırmaktadır (59). APC yüzeyinde bulunan Fas reseptörü ile CD8 T_C hücre yüzeyinde bulunan Fas Ligandının (FasL) bağlanması hedef hücrenin apoptozuna yol açmaktadır. Ek olarak CD8 T_C hücrelerinden salınan perforin ve granzim gibi sitolitik moleküller hedef hücreyi öldürmede, salınan IFN- γ ise hedef hücreden indüklenebilir nitrik oksit sentaz (INOS) salgılanmasını uyararak parazitin ölümünde rol oynamaktadır (64,66).

Enfeksiyona Karşı Gelişen Humoral İmmün Yanıt

Antikorlar vücudun ilk savunma hattıdır. Toksoplazmozise karşı gelişen humoral immün yanıtta B hücrelerinden farklılaşan plazma hücreleri tarafından ilk haftanın sonunda üretilen birinci antikor IgM'dir. Bu immünooglobulinler kompleman sistemin en iyi aktivatörleri olmalarının yanı sıra yüksek sitotoksositeye sahiptirler (64). Oluşan ikinci antikor olan IgG ve alt grupları, kompleman sistemin aktivasyonu yoluyla takizoitlerin çoğalmasını engellemekte ve antikor-bağımlı sitotoksosite göstererek makrofajları aktive ederek fagositozu artırmaktadır (3). Plazma hücreleri tarafından IgM ve IgG antikorlarının salgılanmasını takiben IgA ve IgE üretimi yapılmaktadır. Enfeksiyondan yaklaşık olarak 2 hafta sonra IgM antikorlarının ve yaklaşık 2 ay sonra IgG antikorlarının tepe noktasına ulaştığı görülmektedir. IgM, IgE ve IgA salınımı bir süre sonra azalırken IgG salınımı hayat boyu devam etmektedir (3,67).

T. gondii'nin neden olduğu enfeksiyona karşı gelişen immün yanıtlar göz önüne alındığında koruma sağlamak amacıyla geliştirilecek bir aşının CD4 T_H1 ve IFN- γ salgılayan CD8 T_C lenfositlerini uyarması beklenmektedir (68).

DNA Aşıları

DNA aşıları, patojene ait hedeflenen bir antijeni içeren bakteriyel plazmitlerden oluşur. Plazmitler prokaryotik replikasyon orijinine sahip oldukları için replikasyon sadece bakteri hücresindeyken gerçekleşir. Antijenik proteinin üretimi ise memeli hücrelerinde gerçekleşmektedir (9,69,70).

Aşılama sonrasında hedef antijeni içeren plazmit DNA, somatik hücrelerin (miyositler ve keratinositler) veya dendritik hücrelerin (DC'lerin) çekirdeğine girerek gen transkripsiyonunu ve sitoplazmalarında protein ekspresyonunu başlatır. Antijen sunumu ile ilgili üç olası mekanizma bulunmaktadır: 1) Plazmit DNA, somatik hücreler tarafından eksprese edilir ve bu hücrelerin yüzeyinde bulunan MHC sınıf I kompleksleri aracılığıyla CD8+ T-hücrelerine sunulur. 2) Plazmit DNA, enjeksiyon bölgesinde

Tablo 1. *T. gondii*'ye karşı DNA aşısı geliştirme çalışmalarında aşı adayı antijen olarak kullanılan başlıca proteinler

Antijen	DNA aşılarında kullanılan proteinler
GRA	GRA1, GRA2, GRA4, GRA6, GRA7, GRA8, GRA14, GRA15, GRA16, GRA17, GRA23, GRA24, GRA41,
MIC	MIC2, MIC3, MIC6, MIC8, MIC11, MIC13
ROP	ROP1, ROP2, ROP5, ROP7, ROP8, ROP9, ROP13, ROP16, ROP17, ROP18, ROP19, ROP21, ROP29, ROP35, ROP38, ROP54
SAG	SAG1, SAG2, SAG2C, SAG2D, SAG2X, SAG3, SAG4, SAG5, SAG5A, SAG5B, SAG5C, SAG5D
DNA aşı çalışmalarında kullanılan diğer antijenler	AMA1, ROM1, ROM4, ROM5, RON4, RON5, HSP30, HSP60, HSP70, HSP90

Tablo 2. *T. gondii*'ye karşı yapılan DNA aşı çalışmaları

Kullanılan antijen	Adjuvan	Model hayvan suşu	Aşılama yolu	Sonuçlar	Yazar	Yıl
SAG1	-	C3H, BALB/c	I.M	%80-100 koruma	85	1999
SAG1	GM-CSF	C57BL/6	I.M	Beyin kistlerinde %71 azalma	86	2000
GRA1, GRA7 ve ROP2	-	C57BL/6, BALB/c, C3H	I.M	Değişik gruplarda fare yaşam oranı %50-90	87	2000
ROP2	-	BALB/c, C57BL/6, CBA/J	I.M	2 gün fazla korunma	88	2001
SAG1, ROP2 ve SAG1-ROP2	-	BALB/c	I.M	Kokteyl aşı uygulanan farelerde 9-12 gün yaşam süresi	89	2003
GRA1	-	C3H/HeN	I.M	RH suşuna karşı %75-100 korunma	90	2003
SAG1	-	BALB/c	I.M	Beyin kistleri azalırken, materno-fötal bulaşı engellemede başarısız	91	2003
HSP70, HSP30 ve SAG1	-	C57BL/6, BALB/c	G.G/I.M/I.P	En iyi kısmi koruma HSP70 ile sağlanmıştır	92	2003
MIC3	GM-CSF	CBA/J	I.M	Beyin kistlerinde %67-74 azalma	93	2003
rSAG1-SAG2	Vet L-10	BALB/c	I.P	Enfeksiyon sonrası yaşam oranı %73	94	2004
BAG1, MAG1 ve BAG1-MAG1	-	C3H/HeN	I.M	Beyin kistlerinde %62 azalma	95	2006
Vahşi tip GRA1 ve kodon optimize GRA1	-	BALB/c	I.M	Kodon optimize GRA1 aşısı vahşi tip DNA aşısına göre daha iyi korunma sağlamıştır.	96	2007
GRA1, GRA7, ROP2, GRA1-GRA7, GRA1-ROP2, GRA7-ROP2 ve GRA1-GRA7-ROP2	-	C3H/HeN	I.M	Akut toksoplazmoza karşı %89 koruma, beyin kistlerinde azalma	97	2007
ROP2	BCG	BALB/c	S.C	Kontrol grubuna göre ölüm zamanında gecikme	98	2007
MIC2, M2AP, AMA1 ve BAG1	-	BALB/c, C57BL/6	G.G	Kısmi korunma (%12,5-60 aralığında değişen koruma)	99	2007
SAG1, ROP2 ve SAG1-ROP2	IL-12	BALB/c	I.M	RH suşuna karşı belirgin korunma	100	2007
Kodon optimize GRA1-GRA7	-	Belgian landrace x Piétrain	I.D	İmmün yanıtta belirgin uyarılma (humoral ve hücrel)	101	2008
MIC6	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama	102	2009
MIC3	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	103	2009
SAG1 ²³⁸⁻²⁵⁶ -SAG1 ²⁸¹⁻³²⁰ -GRA1 ¹⁷⁰⁻¹⁹³ -GRA4 ³³¹⁻³⁴⁵ -GRA4 ²²⁹⁻²⁴⁵ -GRA2 ¹⁷¹⁻¹⁸⁵	CpG-ODN	BALB/c, C57BL/6	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, %40-100 korunma	104	2009
SAG1	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	105	2010
GRA7	Lipozom, emulsigen P, emulsigen D	Sixty coopworth ewes	I.M	Belirgin immün yanıt uyarılmış	106	2010
MIC8	-	Kunming	I.M	RH suşuna karşı korunmada uzama	107	2010
SAG1	IL-18	BALB/c	I.M	RH suşuna karşı %60 korunma	108	2010
SAG2	-	BALB/c, Swiss-webster	I.N/S.C	Beyin kistlerinde %85 azalma	109	2010
HSP70	-	BALB/c, C57BL/6	G.G	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	110	2010
ROP16	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	111	2011
ROP18	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	112	2011

Tablo 2. Devamı

Kullanılan antijen	Adjuvan	Model hayvan suşu	Aşılama yolu	Sonuçlar	Yazar	Yıl
RON4, NRON4 ve CRON4	GM-CSF	CBA/J	I.M	İmmün yanıtta uyarılma olmasına rağmen korunma sağlanamamış	113	2011
SAG1, ROP2 ve SAG1-ROP2	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	114	2011
HSP70	-	C57BL/6	G.G	İmmün yanıtta uyarılma ve kist sayısında azalma	115	2011
PLP1	IL-18	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama	116	2011
GRA6	LMS	BALB/c, Kunming	I.M	Kısmi koruma (%53,3)	117	2011
IMP1	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	118	2012
SAG1, MIC3 ve SAG1-MIC3	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	119	2012
GRA1, SAG1 ve GRA1-SAG1	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, RH suşuna karşı korunmada uzama	120	2012
GRA7, ROP1 ve GRA7-ROP1	IL-12	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, kist sayısında azalma ve korunma zamanında uzama	74	2012
ROP13	IL-18	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama, kistlerde azalma	121	2012
SAG1, 14-3-3 proteini ve SAG1-14-3-3	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	122	2012
SAG1, GRA2 ve SAG1-GRA2	SPreS2	BALB/c	I.M	RH suşuna karşı kısmi koruma	123	2012
AMA1	-	C57BL/6	I.P	Beyin kistlerinde %23 azalma, %50 korunma	124	2012
ROM1	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	125	2012
PLP1, MIC6 ve PLP1-MIC6	IL-18	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %65,43 azalma	126	2012
ROP8	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama	127	2013
SAG1 ve SAG1-SAG3	CTXA ₂ /B	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, %40 korunma	128	2013
GRA4	-	BALB/c	I.M	%40 korunma	129	2013
MIC13	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama, %57,14 beyin kistlerinde azalma	130	2013
MIC11	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, RH suşuna karşı korunma zamanında belirgin uzama	131	2013
CDPK3	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama, %50 beyin kistlerinde azalma	132	2013
SAG2C, SAG2D, SAG2X ve SAG2C-SAG2D-SAG2X	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %77 azalma	133	2013
eIF4A	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	134	2013
IF2α	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama, %44,1 beyin kistlerinde azalma	135	2013
CyP	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında %37,5 uzama	136	2013
CPB, CPL ve CPB-CPL	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	137	2013
ASP1	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	138	2013
MIC8	IL-12	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama	139	2013

Tablo 2. Devamı

Kullanılan antijen	Adjuvan	Model hayvan suşu	Aşılama yolu	Sonuçlar	Yazar	Yıl	
SporoSAG	Bcl-xL	Swiss outbred	I.M	İmmün yanıtta uyarılma (humoral ve hücresele)	68	2014	
ROP16, GRA7 ve ROP16-GRA7	B7-2	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	140	2014	
ROP9	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	141	2014	
MIC8	mIL-21, mIL-15	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, %63,8 beyin kistlerinde azalma	142	2014	
CDPK5	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında uzama, %40 beyin kistlerinde azalma	143	2014	
SAG5D	α-GalCer	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	144	2014	
DPA	-	Swiss webster	I.P	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	145	2014	
SAG1-GRA1-ROP2-GRA4-SAG2C-SAG2X	-	BALB/c	I.N/I.P/I.O	Her üç yolla aşılamada, immün yanıtta uyarılma ve korunma zamanında uzama (en fazla korunma zamanında uzama %60 ile intraoral yolla)	146	2014	
ROP38	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, %76,6 beyin kistlerinde azalma	147	2014	
GST	-	Swiss webster	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	148	2015	
EF-1α	-	BALB/c	I.M	Güçlü humoral ve hücresele immün yanıt tepkileri, korunma zamanında artma	149	2015	
ESA10	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	150	2015	
SAG1-GRA2-GRA7-ROP16	RANTES	BALB/c	I.M	Güçlü humoral ve hücresele bağışıklık tepkileri, korunma zamanında uzama	151	2015	
SAG5A	-	BALB/c	I.M	Etkili hücresele ve humoral tepkileri indükleme, beyin kistlerinde %35 azalma	152	2015	
ROP5, GRA15 ve ROP5-GRA15	-	Kunming	I.M	Korunma zamanında artma, beyin kistlerinde azalma, immün yanıtta artma	153	2015	
ROP5, ROP18 ve ROP5-ROP18	Poly I:C	BALB/c, C3H/HeOuJ	S.C	İmmün yanıtta uyarılma, akut ve kronik toksoplazmoza karşı koruma,	154	2015	
ROM4 ve ROM5	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında artma, beyin kistlerinde azalma	155	2015	
ROP19	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta (hücresele ve humoral) etkili uyarılma, %57 beyin kistlerinde azalma	156	2016	
CDPK1	IL-7/IL-15	Kunming	I.M	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında artma, beyin kistlerinde azalma	157	2016	
GRA1, MIC3 ve GRA1-MIC3	-	BALB/c	I.M	Yüksek seviyede humoral yanıtın indüklenmesi, korunma zamanında uzama, parazit yükünde azalma	158	2016	
ROP5, ROP7 ve ROP5-ROP7	-	BALB/c	I.M	Korunma süresinde uzama, beyin kistlerinde %75 azalma	159	2016	
ROP17	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama, immün yanıtta uyarılma	160	2016	
ROP1	-	BALB/c	I.M/S.C	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında artma	161	2016	

Tablo 2. Devamı

Kullanılan antijen	Adjuvan	Model hayvan suşu	Aşılama yolu	Sonuçlar	Yazar	Yıl
Et-TgSAG1	-	BALB/c, SPF chickens	I.O/I.P	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında uzama	162	2016
ROP18	IL-12	CBA/J	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, koruma sağlamadı	163	2016
RON5	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında artma, beyin kistlerinde %25 azalma	164	2016
GRA14	IL-12	BALB/c	I.M	Gelişmiş spesifik humoral ve TH1 hücreli immün tepkilerin indüklenmesi, korunma zamanında uzama, parazit yükünde azalma	165	2017
GRA14	CaPN	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta artma, parazit yükünde azalma, korunma zamanında uzama	166	2017
SAG1, ROM4 VE ROM4-ROM4 ₄₀₅₋₄₂₄	-	BALB/c	I.M	Yüksek seviyelerde IgG, IgG2a ve IFN- γ , spesifik humoral ve hücreli immün yanıt, korunma zamanında uzama, beyin kistlerinde azalma	167	2017
ROP54	-	Kunming	I.M	Güçlü humoral ve hücreli yanıt, beyin kistlerinde %35,9 azalma, korunma zamanında uzama	168	2017
SAG4 ve SAG4/SAG4 ₆₁₋₇₅	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama, beyin kistlerinde %69 azalma	169	2017
ROM4 ve ROM4- GRA14	CaPN	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında uzama	170	2017
EGFP	Alum, MPLA, Alum/MPLA	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında uzama, beyin kistlerinde azalma	171	2017
SOD	-	BALB/c	I.M	Daha yüksek IgG ve IgG2a seviyeleri, korunma zamanında uzama	172	2017
SPATR	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında artma	173	2017
SAG5B, SAG5C ve SAG5B-SAG5C	-	BALB/c	I.M	Korunma zamanında uzama, beyin kistinde %75 azalma	174	2017
NTPase-II	-	BALB/c	E.P/I.M	Akut toksoplazmoza karşı koruma, beyin kistlerinde %70'e varan azalma, humoral ve hücreli yanıtta artma	175	2017
CPC1	α -GalCer	BALB/c	I.M	Korunma zamanında artma, humoral yanıtta artma	176	2017
GRA16	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta artma, beyin kistlerinde %43 azalma	177	2017
CDPK2	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta artma, korunma zamanında artma	178	2017
ROP2	Quil-A	<i>Felis catus</i>	I.N	Kedilerde ookist dökülmesinde azalma	179	2017
GRA17, GRA23 ve GRA17- GRA23	-	BALB/c	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, korunma zamanında uzama	180	2017
DOC2C	-	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	181	2018
HSP60	-	Kunming	I.M	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	182	2018
GRA2	MLPA	C57BL/6	S.C.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	183	2018
GRA7, ROP2 VE GRA7- ROP2	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	184	2018

Tablo 2. Devamı

Kullanılan antijen	Adjuvan	Model hayvan suşu	Aşılama yolu	Sonuçlar	Yazar	Yıl
GRA8	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	185	2018
ROP18, PLP1 ve ROP18-PLP1	IL-18	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %72,4 azalma	186	2018
ROP21	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	187	2018
ROP29	R848	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma	188	2018
ROP35	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	189	2018
SAG1 ^{76-192'} , SAG1 ^{25-41'} , SAG1 ^{72-80'} , SAG1 ^{21-35'} , AMA1 ^{1-9'} , AMA1 ^{197-204'} , ROP2 ^{220-228'} , GRA4 ^{209-221'} , GRA4 ^{278-286'}	PLGA, alum	BALB/c	I.P.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	190	2018
PF	IL-15	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %40,82 azalma	191	2018
PF-ROP16-ROP18-MIC6-CDPK3, ROP16-ROP18-MIC6-CDPK3 ve PF	-	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %80,22 azalma	192	2018
GRA24	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	193	2019
GRA24, GRA25, MIC6, GRA24-GRA25 ve GRA24-GRA25-MIC16	-	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde azalma ve her üç antijenin kombinasyonu ile %55,37 azalma	194	2019
GRA14, rGRA14 ve rGRA14-GRA14	Alum, CaPN	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	195	2019
GRA41	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	196	2019
ROP13	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	197	2019
MIC3, ROP9, SAG2, SAG2-ROP9, SAG2-MIC3, ROP9-MIC3 ve SAG2-ROP9-MIC3	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	198	2019
MYR1	-	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	199	2019
SAG1, GRA7 ve SAG1-GRA7	CpG-ODN	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	200	2019
SAG1, SAG3 VE SAG1-SAG3	Alum, MMT	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	201	2019
GRA8	CPG-ODN + escort	Swiss-webster	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	202	2019
GRA17, GRA23	-	Kunming	I.P.	Koruma zamanında uzama, kist yükünde azalma	203	2020
ROP8	-	BALB/c	S.C.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	204	2020
ROP8	IL-12	BALB/c	S.C.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	205	2020
SAG1-ROP2	HBsAg	Kunming	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	206	2020
GRA7, PF ve GRA7-PF	Freund	BALB/c	I.D.	İmmün yanıtta uyarılma, beyin kistlerinde %60 azalma	207	2021
MIC3-ROP8-SAG1	Freund, CaPNs	BALB/c	S.C.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	208	2021

Tablo 2. Devamı

Kullanılan antijen	Adjuvan	Model hayvan suşu	Aşılamaya yolu	Sonuçlar	Yazar	Yıl
ROP13-GRA14	Alum	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	209	2021
SAG1-SAG3-SAG5	CpG-ODN	BALB/c	S.C.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	210	2021
TgSIR2	Freund	BALB/c	I.M.	İmmün yanıtta uyarılma, koruma zamanında uzama	211	2021

I.M.: İntertranküler, kas içine, I.P.: İntertranküler, periton içine, S.C.: Subkütan, deri altına, I.N.: İntertranküler, burun içine, I.O.: İntertranküler, ağız içine, I.D.: İntertranküler, deri içine, G.G.: Genegun, gen tabancası, SAG: Yüzey antijeni, MIC: Mikronem, ROP: Rhoptyri bulbul, GRA: Granül antijeni, HSP: Isı şoku proteini, RON: Rhoptyri neck pGM-CSF: Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör, BCG: Bacille Calmette-Guérin, IL: İnterlökin, CpG-ODN: CpG- oligodeoksinükleotit, PLP1: Performans benzeri protein, IMP1: Bağışıklık haritalanmış protein-1, CTXA2/B: A 2/B kolera toksininin alt birimi, CDPK: Kalsiyuma bağımlı protein kinaz, eIF4A: Ökaryotik çeviri başlatma faktörü, IF2 α : ökaryotik başlatma faktörü-2 α , CyP: Siklofilin, sporoSAG: Sporozoite özgü yüzey proteini, α GalCer: Alfa-galaktosilseramid, DPA: Deoksiriboz fosfat aldolaz, GST: Glutatyon-S-transferaz, EF-1 α : Uzama faktörü 1-alfa, ESA10: Boşaltım-salgı antijeni, Poly I:C: Poliinosinik-polisitidilik asit, CaPn: Kalsiyum fosfat nanopartikül, MPLA: Monofosforil lipit A, IgG: İmmüoglobulin G, SOD: Süperoksit dismutaz, SPATR: Değiştirilmiş trombospondin tekrarı, TgNTPase-II: Nükleosit trifosfat hidrolaz-II, CPC: Katepsin C proteazları, PF: Profilin, HBsAg: HBV yüzey antijeni, SIR2: Sessiz bilgi düzenleyici 2

DC'lerin çekirdeğine yerleşerek hedef antijeni eksprese eder ve eksprese edilen antijenler MHC sınıf I ile kompleks oluşturarak CD4+ T-hücrelerine ve/veya MHC sınıf II ile kompleks oluşturarak CD8+ T-hücrelerine sunulur. 3) Plazmit DNA ile transfekte edilmiş somatik hücreler profesyonel APC'ler tarafından fagosite edilerek, antijenlerin hem CD4+ T-hücrelerine hem de CD8+ T-hücrelerine çapraz sunumu gerçekleşir. Hücrel bağışıklık tepkisine ek olarak, B hücre reseptörünün somatik hücrelerden salınan antijenleri tanıyarak kendi yüzeyinde antijene özgü CD4+ T-hücrelerine sunmasıyla humoral bir bağışıklık tepkisi indüklenebilir (71-73).

Canlı zayıflatılmış veya inaktive edilmiş patojenleri içermediklerinden virülan formlara geri dönüş riski taşımayan DNA aşıları sadece hedef antijeni kodlamakta ve ifade etmektedir, konak genomunda DNA entegrasyonuna, otoimmünite ya da antijen toleransına sebep olmamaktadır (10,74,75). Canlı vektörlere veya kompleks biyokimyasal üretim tekniklerine ihtiyaç duymadan hem hücrel hem de humoral bağışıklık tepkilerini indükleme yeteneğine sahip olan DNA aşılarında eksprese edilen immünize edici antijen aynı glikozilasyon ve translyasyon sonrası modifikasyonlara tabi tutulmaktadır (9,10,76). Ayrıca tek bir pDNA aşısına ilgili antijenin çoklu varyantları veya birden fazla farklı antijen varyantı eklenebilmekte ve bu şekilde oluşturulan multiepitop DNA aşıları farklı antijenik determinantlara karşı bireyi koruyabilmektedir (76,77). DNA aşıları; canlı zayıflatılmış, inaktive edilmiş, protein ya da peptid dizilerini içeren aşılar göre daha kolay üretilebilmeleri ve soğuk zincire ihtiyaç duyulmaması sebebiyle düşük üretim ve nakliye maliyetleri gibi lojistik avantajlara sahiptir (10,75,76).

Diğer aşı platformlarına göre birçok avantaja sahip olsa da toksoplazmozise karşı henüz klinik çalışma sonucunda onay almış bir DNA aşısı bulunmamaktadır. Bunun başlıca sebebi DNA aşılarının düşük immünojenisiteye sahip olmalarıdır (12). Bu dezavantajı ortadan kaldırmak ve DNA aşılarının etkinliğini artırmak amacıyla antijen kodon optimizasyonu, adjuvanlar, DC hedeflenmesi, *prime-boost* immünizasyonu, gen tabancası, elektroporasyon, mikroigneler, mukozal verme gibi çeşitli stratejiler kullanılmaktadır (10,71,78-82). Aşı aday antijenlerin, konağın immün sistemi ile etkileşime giren antijenleri ve bu etkileşimde yer alan potansiyel mekanizmaları açıklayan immünojenik ve patojen yüzeyinde salgılanan ya da ifade edilen antijen repertuarının tamamının tanımlanabilmesini sağlayan

ters aşılamaya gibi teknoloji odaklı araştırmalarla seçilmesi daha etkili aşıların tasarlanabilmesini mümkün kılmaktadır (83,84). Aşı geliştirilmesinde genom bazlı ters aşılamaya tekniklerinin uygulanması aşılamaya ile oluşturulacak immün yanıtın başarı şansını artırabilmektedir. Aşıların etkililiğini artırmak için antijenler doğuştan gelen bağışıklık sistemini aktive ederek profesyonel APC tarafından antijen alınımı ve sunumunu sağlayabilen adjuvanlarla birlikte uygulanabilmektedir (10).

T. gondii'ye karşı hayvanlarda ve insanlarda koruyucu bağışıklığın sağlanabilmesi için etkili ve güvenli bir aşıya ihtiyaç vardır (4). Bu ihtiyacın karşılanabilmesi için kolay üretilebilmeleri, güvenli olmaları, soğuk zincire ihtiyaç duymamaları hem humoral hem de hücrel immün yanıtı uyarabilmeleri gibi birçok avantaja sahip olan DNA aşıları toksoplazmozise karşı umut vadeden bir aşı platformu olmuştur ve bu konuda yapılan çalışmalar 1999 yılından sonra hız kazanmıştır (Tablo 2) (10,76).

Tablo 2'de görüldüğü üzere geçmişten günümüze aşı çalışmalarında en çok SAG1, SAG2, GRA1, GRA7, ROP2, MIC3 ve HSP70 antijenlerini kodlayan DNA aşıları kullanılmıştır. *T. gondii*'ye karşı etkili aşı geliştirmeye yönelik yapılan ve tek bir antijen ifade eden aşıların parazite karşı kısmi koruma sağladığını ortaya konmuştur. Bu nedenle alternatif olarak parazitin yaşam döngüsünün birden çok aşamasında yer alan antijenleri ifade eden aşı çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Tablo 2'de, 5'i sadece SAG1 kodlayan ve 21'i farklı antijenler ile kombine SAG1 kokteyl aşılarını içeren toplamda 26 aşı çalışması yer almaktadır. SAG1 kodlayan plazmit DNA aşısı ile aşılanan farklı fare suşlarının yer aldığı bir çalışmada aşının IgG ve alt sınıf antikolar, CD8, CD4 ve IFN- γ seviyelerinde artış sağladığı ve bu aşının koruyuculuğunun %80-100 arasında olduğu belirtilmiştir (85). Başka bir çalışmada ağırlıklı olarak IgG yanıtına yol açan ve IFN- γ ile IL-2 seviyelerinde önemli bir artış sağlayan SAG1 DNA aşısının koruyuculuğu %90 olarak belirlenmiştir. Ek olarak kontrol grubuna kıyasla beyin kistlerinde azalma olduğu gözlenmiştir (86). Couper ve ark. (91) tarafından 2003 yılında yapılan çalışmada SAG1 kodlayan DNA aşısının beyin kistlerinde azalma ve erişkinlerde edinilmiş *T. gondii* enfeksiyonuna karşı %66,7 oranında koruma sağladığı fakat konjenital geçişi azaltmadığı belirtilmiştir. Güçlü bir IFN- γ indükleyici faktör olan ve Th1 yanıtının oluşmasını kolaylaştıran IL-18'in adjuvan olarak kullanıldığı SAG1 kodlayan DNA aşısı daha yüksek T-lenfosit yanıt ve koruma oranı sağlamıştır. Bu çalışma aşı potansiyelini güçlendirmede IL-18'in güçlü bir adjuvan olduğunu

göstermiştir. IL-12'nin adjuvan olarak kullanıldığı SAG1/ROP2 kodlayan çoklu antijenik DNA aşısının farelerde benzer korunma sağladığı bildirilmiştir (100,108).

Takizoit, bradizoit ve sporozoitlerde ortak olarak salgılanan antijenlerin hedeflendiği aşuların yer aldığı çalışmaların diğer çalışmalara kıyasla daha yüksek oranda koruma sağladığı belirlenmiştir. Rezaei ve ark. (58) tarafından yapılan bir incelemede MIC3, MIC4, MIC13, RON5, ROP2, GRA1, GRA6, GRA8 ve GRA14 proteinlerinin parazitin her üç döneminde de mevcut olduğu ve bu proteinlerin toksoplazmozise karşı koruyucu bağışıklığı sağlayacak bir aşı antijeni olarak umut vadettiği belirtilmektedir. Parazitin tüm evrelerinde yer alan GRA1, ROP2 ve MIC3 antijenleri Tablo 2'de görüldüğü gibi birçok çalışmada kullanılmıştır. GRA1 kodlayan DNA aşısı ile aşılanan farelerde akut enfeksiyona karşı CD8 T-hücrelerinin etkili olduğu ve beyin kisti yükünün azalmasında CD4 T-hücrelerinin etkili olduğu saptanmıştır. Geliştirilen aşının koruyuculuğunun %75-100 arasında olduğu belirtilmiştir (90). Vaşî tip DNA aşularının uyardığı bağışıklık tepkisindeki sınırlayıcı faktörlerden biri düşük miktarda protein ekspresyonudur. Klonlanmış genlerde nadir bulunan kodonların varlığı mRNA ve plazmit stabilitesinin yanı sıra protein ekspresyon seviyesini de etkilemektedir. Hedef genin kodon kullanımı memeli hücrelerinden farklı olduğunda yetersiz protein ekspresyonu ortaya çıkmaktadır. Yapılan bir çalışmada memeli hücrelerinde ekspresyon için kodon optimize edilmiş GRA1 kodlayan DNA aşısının sağladığı bağışıklık tepkisi ve korumanın vaşî tip GRA1 kodlayan DNA aşısından daha iyi olduğu saptanmıştır (96). Son zamanlarda çoğu araştırmacı parazit kokteyl antijenlerine odaklanmıştır. GRA1 ile MIC3'ü birleştiren bir kokteyl DNA aşısının, tek genli aşular ve kontrol gruplarına kıyasla IgG ve IFN- γ seviyelerinde daha fazla artış ve daha uzun süre koruma sağladığı gözlenmiştir (158).

Antijenik epitoplara belirlemek için biyoinformatik çalışmaların yapılması, tek bir antijende çoklu epitoplara düzenlenmesi veya birden fazla antijene ait farklı epitoplara bir araya getirilerek çok epitoplulu DNA aşularının tasarlanabilmesini mümkün kılmıştır. MIC3₃₀₋₁₈₀/ROP8₈₅₋₁₈₅/SAG1₈₅₋₂₃₅ kodlayan çok epitoplulu DNA aşısı farelerde güçlü humoral ve Th1 hücre yanıtını uyardığı gösterilmiştir (208).

Sonuç olarak *T. gondii*'ye karşı DNA aşı çalışmalarında Tablo 1'de bahsedilen antijenik grupların birçoğunun denendiği ve bunların bir kısmının %50-70 koruma sağladığı gözlenmiştir. Bu aşı antijenleri ile fare modelinde henüz yüksek oranda korunma sağlanamaması bu aşuların kedi, koyun gibi hayvan gruplarına uygulanması veya insanlarda gerçekleştirilecek klinik çalışmalara geçilmesi önündeki en büyük engeldir.

SONUÇ

Ciddi klinik tablo ve ekonomik kayıplara yol açan *T. gondii*'ye karşı insanlarda ve hayvanlarda kullanılmak üzere koruyucu bağışıklığı sağlayabilecek etkili, güvenli ve dayanıklı bir aşıya ihtiyaç duyulmaktadır. DNA aşuları kolay üretilebilmeleri, güvenli olmaları, soğuk zincire ihtiyaç duymamaları hem humoral hem de hücrel immün yanıtı uyatabilmeleri gibi birçok avantaja sahiptir.

1990'lardan sonra toksoplazmozise karşı yapılan DNA aşı çalışmaları hız kazanmış olsa da günümüzde insanların kullanıma uygun bir DNA aşısı bulunmamaktadır. Bunun başlıca sebebi parazitin karmaşık yaşam döngüsüne sahip olması, konak hücrede yaşamını devam ettirebilmek için çeşitli stratejiler geliştirmesi

ve bu stratejilerin net olarak açıklanamamasıdır. Bunun yanı sıra aşı çalışmalarının hedefinde başlıca kediler ya da koyunlar bulunduğu için insan aşısı ikinci planda kalmaktadır. Bu sebeple insanlardan ziyade koyun ve sığır gibi büyük hayvanlarda ya da kedilerde denenmiş aşular bulunmaktadır.

T. gondii DNA aşı çalışmalarının en önemli limitasyonlarından biri de aşı adayları antijenlerin seçiminde genellikle enzimler ve yapısal proteinlerin kullanılmasıdır. Bu aşı adayları immün yanıtı uyarmış olsalar da hastalığa karşı koruma sağlayamamıştır. Bunun yanı sıra aşı çalışmalarında, araştırmacılar genellikle aşuların koruyuculuğunu belirlemek için yapılan öldürücü dozla muamelede doz değişikliklerine gitmektedir, bu da koruyucu etkinin doğru bir şekilde belirlenmesini etkilemektedir. Etkili bir aşının geliştirilmesi, *T. gondii*'nin immünopatogenezinin tam olarak anlaşılmasına, parazitin her üç formunda bulunan antijenlerin hedeflenmesine ve uygun hayvan modellerinde etkililiğin test edilmesine bağlıdır.

Teknoloji odaklı araştırmalar daha fazla immünojenik aşı adayının belirlenebilmesinin yoludur. Ters aşılama ve immünojenik analizler, hedeflenen antijen keşfi ve akılcı aşı tasarımı için yenilikçi fırsatlar sunmaktadır. Genom bazlı ters aşı tekniklerinin toksoplazmozise karşı aşı geliştirilmesinde uygulanması etkili bir aşının üretilme şansını artırabilir. Aşılama başarısını etkileyebilecek başka bir faktör ise aşı dağılım mekanizmasıdır. Kas içine yapılan enjeksiyonlar aşının kan dolaşımına hızlı bir şekilde geçişini sağlamaktadır. Derialtına yapılan enjeksiyon antijen sunan hücrelerin aşıya maruz kalma oranını attırarak daha iyi bağışıklık tepkileri uyandırabilir. Burun içinden yapılan aşı mukozal ve sistemik bağışıklık tepkilerini indüklemesi için etkili bir yoldur. Dendritik hücrelerin hedeflenmesi, *prime-boost* uygulama, gen tabancası, elektroporasyon, mikroigneler, mukozal uygulama, doğuştan gelen bağışıklık sistemini aktive ederek profesyonel antijen sunan hücreler tarafından antijen alınımı ve sunumunu artıran adjuvanlar kullanımı gibi yaklaşımlar DNA aşularının etkililiğini artırmak için kullanılabilir önemli stratejilerdir. Sonuç olarak biyoteknolojik aşı yaklaşımlarının hızla geliştiği çağımızda DNA aşuları parazite karşı etkili ve güvenli aşuların geliştirilebilmesi için umut vadetmektedir.

*Etik

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

*Yazarlık Katkıları

Dizayn: C.G., T.K., M.K., H.C., S.E.A., A.Y.G., M.D., Veri Toplama veya İşleme: C.G., T.K., M.K., H.C., M.D., Analiz veya Yorumlama: C.G., T.K., A.D.D., A.G., S.E.A., A.Y.G., C.Ü., M.D., Literatür Arama: C.G., T.K., M.K., H.C., A.D.D., A.G., A.Y.G., C.Ü., M.D., Yazan: C.G., T.K., M.D.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Loh FK, Nathan S, Chow SC, Fang CM. Vaccination challenges and strategies against long-lived *Toxoplasma gondii*. *Vaccine* 2019; 37: 3989-4000.
2. Sibley LD, Khan A, Ajioka JW, Rosenthal BM. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals and humans. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2009; 364: 2749-61.

3. Gürüz AY, Delibaş SB. Toksoplazmozis ve İmmunolojisi. Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji, Özcel MA, İnci A, Turgay N, Köroğlu E. Editors. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları. İzmir; 2007.p.167-94.
4. Wang JL, Zhang NZ, Li TT, He JJ, Elsheikha HM, Zhu XQ. Advances in the development of anti-*Toxoplasma gondii* vaccines: challenges, opportunities, and perspectives. Trends Parasitol 2019; 35: 239-53.
5. Lori A, Avramopoulos D, Wang AW, Mülle J, Massa N, Duncan EJ, et al. Polygenic risk scores differentiate schizophrenia patients with *Toxoplasma gondii* compared to toxoplasma seronegative patients. Compr Psychiatry 2021; 152236.
6. Azizy B, Hamid N, Hamidynejat H. Study the Relationship Between *Toxoplasma gondii* Infection and Autism Disorder in Children. Journal of Veterinary Research 2021; 75: 413-7.
7. Hodge JM, Coghill AE, Kim Y, Bender N, Smith-Warner SA, Gapstur S, et al. *Toxoplasma gondii* infection and the risk of adult glioma in two prospective studies. Int J Cancer 2021.
8. Buxton, D, Innes EA. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. Parasitology 1995; 110(Suppl 1): S11-6.
9. Gurunathan S, Wu CY, Freidag BL, Seder RA. DNA vaccines: a key for inducing long-term cellular immunity. Curr Opin Immunol 2000; 12: 442-7.
10. Sefidi-Heris Y, Jahangiri A, Mokhtarzadeh A, Shahbazi MA, Khalili S, Baradaran B, et al. Recent progress in the design of DNA vaccines against tuberculosis. Drug Discov Today 2020; 25: 1359-6446(20)30345-7.
11. Coban C, Koyama S, Takeshita F, Akira S, Ishii KJ. Molecular and cellular mechanisms of DNA vaccines. Hum Vaccin 2008; 4: 453-6.
12. Duong HTT, Kim NW, Thambi T, Phan VG, Lee MS, Yin Y, et al. Microneedle arrays coated with charge reversal pH-sensitive copolymers improve antigen presenting cells-homing DNA vaccine delivery and immune responses. J Control Release 2018; 269: 225-34.
13. Chavda VP, Pandya R, Apostolopoulos V. DNA vaccines for SARS-CoV-2: toward third-generation vaccination era. Expert Rev Vaccines 2021; 20: 1549-60.
14. Weiss LM, Dubey JP. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. Int J Parasitol 2009; 39: 895-901.
15. Dubey JP. *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis*, and other tissue cyst forming *Coccidia* of humans and animals. Parasitic Protozoa 1993; 6: 5-57.
16. Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press Inc; 1988.p.220.
17. Altıntaş K. Tıbbi Parazitoloji. Ankara: Nobel Tıp Yayınları; 2002.
18. Döşkaya M, Caner A, Ajzenberg D, Değirmenci A, Dardé ML, Can H, et al. Isolation of *Toxoplasma gondii* strains similar to Africa 1 genotype in Turkey. Parasitol Int 2013; 62: 471-4.
19. Pagheh AS, Sarvi S, Sharif M, Rezaei F, Ahmadpour E, Dodangeh S, et al. *Toxoplasma gondii* surface antigen 1 (SAG1) as a potential candidate to develop vaccine against toxoplasmosis: A systematic review. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2020; 69: 101414.
20. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol 2000; 30: 1217-58.
21. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 267-99.
22. Montoya JG, Remington JS. *Toxoplasma gondii*. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone Inc; 2000.p.2858-88.
23. Ferguson DJP. Use of molecular and ultrastructural markers to evaluate stage conversion of *Toxoplasma gondii* in both the intermediate and definitive host. Int J Parasitol 2004; 34: 347-60.
24. Kasper LH, Boothroyd JC. *Toxoplasma gondii* and toxoplasmosis. Immunology and Molecular Biology of Parasitic Infections 1993; 269-301.
25. Beghetto E, Nielsen HV, Porto PD, Buffolano W, Guglietta S, Felici F, et al. A combination of antigenic regions of *Toxoplasma gondii* microneme proteins induces protective immunity against oral infection with parasite cysts. J Infect Dis 2005; 191: 637-45.
26. Montoya J, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet 2004; 363: 1965-76.
27. Jones JL, Lopez A, Wilson M. Congenital toxoplasmosis. Am Fam Physician 2003; 67: 2131-8.
28. Minkoff H, Remington JS, Holman S, Ramirez R, Goodwin S, Landesman S. Vertical transmission of *toxoplasma* by human immunodeficiency virus-infected women. Am J Obstet Gynecol 1997; 176: 555-9.
29. Dupont CD, Christian DA, Hunter CA. Immune response and immunopathology during toxoplasmosis. Semin Immunopathol 2012; 34: 793-813.
30. Guo M, Dubey JP, Hill D, Buchanan RL, Gamble H, Jones JL, et al. Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in meat animals and meat products destined for human consumption. J Food Prot 2015; 78: 457-76.
31. Dubey JP. The history of *Toxoplasma gondii*--the first 100 years. J Eukaryot Microbiol 2008; 55: 467-75.
32. Beaman M, Wong SY, Remington JS. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles. Practice of Infectious Diseases Churchill Livingstone; 1994p.2455-75.
33. Halici-Ozturk F, Yakut K, Öcal FD, Erol A, Gökay S, Çağlar AT, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infections in Syrian pregnant refugee women in Turkey. Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio 2021; 256: 91-4.
34. Wiengcharoen J, Thompson RA, Nakthong C, Rattanakorn P, Sukthana Y. Transplacental transmission in cattle: is *Toxoplasma gondii* less potent than *Neospora caninum*?. Parasitol Res 2011; 108: 1235-41.
35. Dubey JP, Gamble HR, Hill D, Sreekumar C, Romand S, Thulliez P. High prevalence of viable *Toxoplasma gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. J Parasitol 2002; 88: 1234-8.
36. Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, McQuillan G, Navin T, McAuley JB. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. Am J Epidemiol 2001; 154: 357-65.
37. Owusu-Domney A, Pogreba-Brown K, Villa-Zapata L. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the US: Evidence from a representative cross-sectional survey. Parasitol Int 2020; 79: 102175.
38. El Bissati K, Levigne P, Lykins J, Adlaoui EB, Barkat A, Berraho A, et al. Global initiative for congenital toxoplasmosis: an observational and international comparative clinical analysis. Emerg Microbes Infect 2018; 7: 165.
39. Holland GN. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment: Part I: epidemiology and course of disease. Am J Ophthalmol 2003; 136: 973-88.
40. Jenum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Kapperud G, Whitelaw A, Eskild A, et al. Incidence of *Toxoplasma gondii* infection in 35,940 pregnant women in Norway and pregnancy outcome for infected women. J Clin Microbiol 1998; 36: 2900-6.
41. Ekmen H. Koyun ve Sığırlarda Toksoplazma Antikorları. Mikrobiyoloji Bülteni 1967; 1: 243-8.
42. Aslantaş O, Ozdemir V, Kiliç S, Babür C. Seroepidemiology of leptospirosis, toxoplasmosis, and leishmaniasis among dogs in Ankara, Turkey. Vet Parasitol 2005; 129: 187-91.
43. Babür C, İnci A, Karaer Z. Detection on seropositivity of *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in around of Çankiri using Sabin-Feldman dye test. Türkiye Parazit Derg 1997; 21: 409-12.
44. Tekay F, Özbek E. Çiğ köftenin yaygın tüketildiği Şanlıurfa ilinde kadınlarda *Toxoplasma gondii* seroprevalansı. Türkiye Parazit Derg 2007; 31: 176-9.
45. Mor N, Arslan MO. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep in Kars Province. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2007; 13: 165-70.
46. Karabulut A, Polat Y, Türk M, Balci YI. Evaluation of rubella, *Toxoplasma gondii*, and cytomegalovirus seroprevalences among pregnant women in Denizli province. Turkish Journal of Medical Sciences 2011; 41: 159-64.

47. Ertug S, Okyay P, Turkmen M, Yuksel H. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma* infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. BMC Public Health 2005; 5: 66.
48. Cevizci S, Bakar C. Halk Sağlığı bakışıyla *Toxoplasma gondii*. Türkiye Halk Sağlığı Dergisi 2013; 11: 45-58.
49. Benenson MW, Takafuji ET, Lemon SM, Greenup RL, Sulzer AJ. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. N Engl J Med 1982; 307: 666-9.
50. Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. Anim Health Res Rev 2005; 6: 41-61.
51. Doganci L, Tanyuksel M, Araz ER, Besirbellioglu BA, Erdem U, Ozoguz CA, et al. A probable outbreak of toxoplasmosis among boarding school students in Turkey. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 672-4.
52. Balasundaram MB, Andavar R, Palaniswamy M, Venkatapathy N. Outbreak of acquired ocular toxoplasmosis involving 248 patients. Arch Ophthalmol 2010; 128: 28-32.
53. Palanisamy M, Madhavan B, Balasundaram MB, Andavar R, Venkatapathy N. Outbreak of ocular toxoplasmosis in Coimbatore, India. Indian J Ophthalmol 2006; 54: 129-31.
54. da Costa MA, Pinto-Ferreira F, de Almeida RPA, Martins FDC, Pires AL, Mareze M, et al. Artisan fresh cheese from raw cow's milk as a possible route of transmission in a toxoplasmosis outbreak, in Brazil. Zoonoses Public Health 2020; 67: 122-9.
55. Ajioka JW, Fitzpatrick JM, Reitter CP. *Toxoplasma gondii* genomics: shedding light on pathogenesis and chemotherapy. Expert Rev Mol Med 2001; 3: 1-19.
56. Alexander DL, Mital J, Ward GE, Bradley P, Boothroyd JC. Identification of the moving junction complex of *Toxoplasma gondii*: a collaboration between distinct secretory organelles. PLoS Pathog 2005; 1: e17.
57. Zhang Y, Lai BS, Juhas M, Zhang Y. *Toxoplasma gondii* secretory proteins and their role in invasion and pathogenesis. Microbiol Res 2019; 227: 126293.
58. Rezaei F, Sarvi S, Sharif M, Hejazi SH, Pagheh SA, Aghayan SA, Daryani A. A systematic review of *Toxoplasma gondii* antigens to find the best vaccine candidates for immunization. Microbial Pathog 2019; 126: 172-84.
59. Weiss LM, Kim, editors. In: *Toxoplasma gondii*: the model apicomplexan. Perspectives and methods. Elsevier; 2011.p.611.
60. Wang HL, Zhang TE, Yin LT, Pang M, Guan L, Liu HL, et al. Partial protective effect of intranasal immunization with recombinant *Toxoplasma gondii* rhoptry protein 17 against toxoplasmosis in mice. PLoS One 2014; 9: e108377.
61. Zhao XY, Ewald, SE. The molecular biology and immune control of chronic *Toxoplasma gondii* infection. J Clin Invest 2020; 130: 3370-80.
62. Denkers EY. From cells to signaling cascades: manipulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii*. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 39: 193-203.
63. Henriquez FL, Woods S, Cong H, McLeod R, Roberts CW. Immunogenetics of *Toxoplasma gondii* informs vaccine design. Trends Parasitol 2010; 26: 550-5.
64. Filisetti D, Candolfi E. Immune response to *Toxoplasma gondii*. Ann Ist Super Sanita 2004; 40: 71-80.
65. Innes EA, Hamilton C, Garcia JL, Chryssafidis A, Smith D. A one health approach to vaccines against *Toxoplasma gondii*. Food Waterborne Parasitol 2019; 15: e00053.
66. Pier GB, Lyczak JB, Wetzler LM. Immunology, infection, and immunity. American Society for Microbiology, Washington D.C.; 2004.p.697.
67. Bonenfant C, Dimier-Poisson I, Velge-Roussel F, Buzoni-Gatel, D, Del Giudice G, Rappuoli R et al. Intranasal immunization with SAG1 and nontoxic mutant heat-labile enterotoxins protects mice against *Toxoplasma gondii*. Infect Immun 2001; 69: 1605-12.
68. İz SG, Döşkaya M, Caner A, Döşkaya AD, Rodriguez F, Gürüz Y, et al. A novel dual promoter DNA vaccine induces CD8+ response against *Toxoplasma gondii* sporozoite specific surface protein "sporoSAG" through non-apoptotic cells. Trials in Vaccinology 2014; 3: 81-8.
69. Henderson LM. Overview of marker vaccine and differential diagnostic test technology. Biologicals 2005; 33: 203-9.
70. Liu MA. DNA vaccines: a review. J Intern Med 2003; 253: 402-10.
71. Kutzler MA, Weiner DB. DNA vaccines: ready for prime time?. Nat Rev Genet 2008; 9: 776-88.
72. Qin F, Xia F, Chen H, Cui B, Feng Y, Zhang P, et al. A Guide to Nucleic Acid Vaccines in the Prevention and Treatment of Infectious Diseases and Cancers: From Basic Principles to Current Applications. Front Cell Dev Biol 2021; 9: 633776.
73. Siegrist CA. Vaccine immunology. Vaccines 2008; 5: 17-36.
74. Quan JH, Chu JQ, Ismail HAHA, Zhou W, Jo EK, Cha GH, et al. Induction of protective immune responses by a multiantigenic DNA vaccine encoding GRA7 and ROP1 of *Toxoplasma gondii*. Clin Vaccine Immunol 2012; 19: 666-74.
75. Liu MA. DNA vaccines: an historical perspective and view to the future. Immunol Rev 2010; 239: 62-84.
76. Hasson SSA, Al-Busaidi JKZ, Sallam TA. The past, current and future trends in DNA vaccine immunisations. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2015; 5: 344-53.
77. Doria-Rose NA, Haigwood NL. DNA vaccine strategies: candidates for immune modulation and immunization regimens. Methods 2003; 31: 207-16.
78. Chen MC, Lin ZW, Ling MH. Near-infrared light-activatable microneedle system for treating superficial tumors by combination of chemotherapy and photothermal therapy. ACS Nano 2016; 10: 93-101.
79. Gary EN, Weiner DB. DNA vaccines: prime time is now. Curr Opin Immunol 2020; 65: 21-7.
80. Luxembourg A, Evans CF, Hannaman, D. Electroporation-based DNA immunisation: translation to the clinic. Expert Opin Biol Ther 2007; 7: 1647-64.
81. Saade F, Petrovsky N. Technologies for enhanced efficacy of DNA vaccines. Expert Rev Vaccines 2012; 11: 189-209.
82. Xie X, Pascual C, Lieu C, Oh S, Wang J, Zou B, et al. Analgesic microneedle patch for neuropathic pain therapy. ACS Nano 2017; 11: 395-406.
83. Kassegne K, Abe EM, Chen, JH, Zhou XN. Immunomic approaches for antigen discovery of human parasites. Expert Rev Proteomics 2016; 13: 1091-101.
84. Sette A, Rappuoli R. Reverse vaccinology: developing vaccines in the era of genomics. Immunity 2010; 33: 530-41.
85. Nielsen HV, Lauemøller SL, Christiansen L, Buus S, Fomsgaard A, Petersen E. Complete protection against lethal *Toxoplasma gondii* infection in mice immunized with a plasmid encoding the SAG1 gene. Infect Immun 1999; 67: 6358-63.
86. Angus CW, Klivington-Evans D, Dubey JP, Kovacs JA. Immunization with a DNA plasmid encoding the SAG1 (P30) protein of *Toxoplasma gondii* is immunogenic and protective in rodents. J Infect Dis 2000; 181: 317-24.
87. Vercammen M, Scorza T, Huygen K, De Braekeleer J, Diet R, Jacobs D, et al. DNA vaccination with genes Encoding *Toxoplasma gondii* antigens GRA1, GRA7, and ROP2 induces partially protective immunity against lethal challenge in mice. Infect Immun 2000; 68: 38-45.
88. Leyva R, Héron P, Saavedra R. Genetic immunization with plasmid DNA coding for the ROP2 protein of *Toxoplasma gondii*. Parasitol Res 2001; 87: 70-9.
89. Machado A, Rodriguez A, Angel SO, Pinto DC, Vila I, Acosta A, et al. Protective effect of a naked DNA vaccine cocktail against lethal toxoplasmosis in mice. Vaccine 2003; 21: 1327-35.
90. Scorza T, D'souza S, Laloup M, Dewit J, De Braekeleer J, Verschuere H, et al. A GRA1 DNA vaccine primes cytolytic CD8+ T cells to control acute *Toxoplasma gondii* infection. Infect Immun 2003; 71: 309-16.
91. Couper KN, Nielsen HV, Petersen E, Roberts F, Roberts CW, Alexander J. DNA vaccination with the immunodominant tachyzoite surface antigen

- (SAG-1) protects against adult acquired *Toxoplasma gondii* infection but does not prevent maternofetal transmission. *Vaccine* 2003; 21: 2813-20.
92. Mohamed RM, Aosai F, Chen M, Mun HS, Norose K, Belal US, et al. Induction of protective immunity by DNA vaccination with *Toxoplasma gondii* HSP70, HSP30 and SAG1 genes. *Vaccine* 2003; 21: 2852-61.
 93. Ismael AB, Sekkai D, Collin C, Bout D, Mévélec MN. The MIC3 gene of *Toxoplasma gondii* is a novel potent vaccine candidate against toxoplasmosis. *Infect Immun* 2003; 71: 6222-8.
 94. Yang CD, Chang GN, Chao D. Protective immunity against *Toxoplasma gondii* in mice induced by a chimeric protein rSAG1/2. *Parasitol Res* 2004; 92: 58-64.
 95. Nielsen HV, Di Cristina M, Beghetto E, Spadoni A, Petersen E, Gargano N. *Toxoplasma gondii*: DNA vaccination with bradyzoite antigens induces protective immunity in mice against oral infection with parasite cysts. *Exp Parasitol* 2006; 112: 274-9.
 96. Döşkaya M, Kalantari-Dehaghi M, Walsh CM, Hiszczyńska-Sawicka E, Davies DH, Felgner PL, et al. GRA1 protein vaccine confers better immune response compared to codon-optimized GRA1 DNA vaccine. *Vaccine* 2007; 25: 1824-37.
 97. Jongert E, De Craeye S, Dewit J, Huygen K. GRA7 provides protective immunity in cocktail DNA vaccines against *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol* 2007; 29: 445-53.
 98. Wang H, Liu Q, Liu K, Zhong W, Gao S, Jiang L, et al. Immune response induced by recombinant *Mycobacterium bovis* BCG expressing ROP2 gene of *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Int* 2007; 56: 263-8.
 99. Dautu G, Munyaka B, Carmen G, Zhang G, Omata Y, Xuenan X, et al. *Toxoplasma gondii*: DNA vaccination with genes encoding antigens MIC2, M2AP, AMA1 and BAG1 and evaluation of their immunogenic potential. *Exp Parasitol* 2007; 116: 273-82.
 100. Zhang J, He S, Jiang H, Yang T, Cong H, Zhou H, et al. Evaluation of the immune response induced by multiantigenic DNA vaccine encoding SAG1 and ROP2 of *Toxoplasma gondii* and the adjuvant properties of murine interleukin-12 plasmid in BALB/c mice. *Parasitol Res* 2007; 101: 331-8.
 101. Jongert E, Melkebeek V, De Craeye S, Dewit J, Verhelst D, Cox, E. An enhanced GRA1–GRA7 cocktail DNA vaccine primes anti-*Toxoplasma* immune responses in pigs. *Vaccine* 2008; 26: 1025-31.
 102. Peng GH, Yuan ZG, Zhou DH, He XH, Liu MM, Yan C, et al. *Toxoplasma gondii* microneme protein 6 (MIC6) is a potential vaccine candidate against toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 2009; 27: 6570-4.
 103. Fang R, Nie H, Wang Z, Tu P, Zhou D, Wang L, et al. Protective immune response in BALB/c mice induced by a suicidal DNA vaccine of the MIC3 gene of *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol* 2009; 164: 134-40.
 104. Liu S, Shi L, Cheng YB, Fan GX, Ren HX, Yuan YK. Evaluation of protective effect of multi-epitope DNA vaccine encoding six antigen segments of *Toxoplasma gondii* in mice. *Parasitol Res* 2009; 105: 267-74.
 105. Fang R, Feng H, Nie H, Wang L, Tu P, Song Q, et al. Construction and immunogenicity of pseudotype baculovirus expressing *Toxoplasma gondii* SAG1 protein in BALB/c mice model. *Vaccine* 2010; 28: 1803-7.
 106. Hiszczyńska-Sawicka E, Li H, Xu JB, Ołędzka G, Kur J, Bickerstaffe R, Stankiewicz M. Comparison of immune response in sheep immunized with DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* GRA7 antigen in different adjuvant formulations. *Exp Parasitol* 2010; 124: 365-72.
 107. Liu MM, Yuan ZG, Peng GH, Zhou DH, He XH, Yan C, et al. *Toxoplasma gondii* microneme protein 8 (MIC8) is a potential vaccine candidate against toxoplasmosis. *Parasitol Res* 2010; 106: 1079-84.
 108. Liu Q, Shang L, Jin H, Wei F, Zhu XQ, Gao H. The protective effect of a *Toxoplasma gondii* SAG1 plasmid DNA vaccine in mice is enhanced with IL-18. *Res Vet Sci* 2010; 89: 93-7.
 109. Machado AV, Caetano BC, Barbosa RP, Salgado APC, Rabelo RH, Garcia CC, et al. Prime and boost immunization with influenza and adenovirus encoding the *Toxoplasma gondii* surface antigen 2 (SAG2) induces strong protective immunity. *Vaccine* 2010; 28: 3247-56.
 110. Kikumura A, Fang H, Mun HS, Uemura N, Makino M, Sayama Y, et al. Protective immunity against lethal anaphylactic reaction in *Toxoplasma gondii*-infected mice by DNA vaccination with T. *gondii*-derived heat shock protein 70 gene. *Parasitol Int* 2010; 59: 105-11.
 111. Yuan ZG, Zhang XX, He XH, Petersen E, Zhou DH, He Y, et al. Protective immunity induced by *Toxoplasma gondii* rhostry protein 16 against toxoplasmosis in mice. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 119-24.
 112. Yuan ZG, Zhang XX, Lin RQ, Petersen E, He S, Yu M, et al. Protective effect against toxoplasmosis in mice induced by DNA immunization with gene encoding *Toxoplasma gondii* ROP18. *Vaccine* 2011; 29: 6614-9.
 113. Rashid I, Hedhli D, Moiré N, Pierre J, Debierre-Grockiego F, Dimier-Poisson I, Mévélec MN. Immunological responses induced by a DNA vaccine expressing RON4 and by immunogenic recombinant protein RON4 failed to protect mice against chronic toxoplasmosis. *Vaccine* 2011; 29: 8838-46.
 114. Khosroshahi KH, Ghaffarifar F, D'Souza S, Sharifi Z, Dalimi A. Evaluation of the immune response induced by DNA vaccine cocktail expressing complete SAG1 and ROP2 genes against toxoplasmosis. *Vaccine* 2011; 29: 778-83.
 115. Makino M, Uemura N, Moroda M, Kikumura A, Piao LX, Mohamed RM, Aosai F. Innate immunity in DNA vaccine with *Toxoplasma gondii*-heat shock protein 70 gene that induces DC activation and Th1 polarization. *Vaccine* 2011; 29: 1899-905.
 116. Yan HK, Yuan ZG, Petersen E, Zhang XX, Zhou DH, Liu Q, et al. *Toxoplasma gondii*: protective immunity against experimental toxoplasmosis induced by a DNA vaccine encoding the perforin-like protein 1. *Exp Parasitol* 2011; 128: 38-43.
 117. Sun XM, Zou J, AA ES, Yan WC, Liu XY, Suo X, et al. DNA vaccination with a gene encoding *Toxoplasma gondii* GRA6 induces partial protection against toxoplasmosis in BALB/c mice. *Parasit Vectors* 2011; 4: 213.
 118. Cui X, Lei T, Yang D, Hao P, Li B, Liu Q. *Toxoplasma gondii* immune mapped protein-1 (TgIMP1) is a novel vaccine candidate against toxoplasmosis. *Vaccine* 2012; 30: 2282-7.
 119. Fang R, Feng H, Hu M, Khan MK, Wang L, Zhou Y, et al. Evaluation of immune responses induced by SAG1 and MIC3 vaccine cocktails against *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol* 2012; 187: 140-6.
 120. Wu XN, Lin J, Lin X, Chen J, Chen ZL, Lin JY. Multicomponent DNA vaccine-encoding *Toxoplasma gondii* GRA1 and SAG1 primes: anti-*Toxoplasma* immune response in mice. *Parasitol Res* 2012; 111: 2001-9.
 121. Wang PY, Yuan ZG, Petersen E, Li J, Zhang XX, Li XZ, et al. Protective efficacy of a *Toxoplasma gondii* rhostry protein 13 plasmid DNA vaccine in mice. *Clin Vaccine Immunol* 2012; 19: 1916-20.
 122. Meng M, He S, Zhao G, Bai Y, Zhou H, Cong H, et al. Evaluation of protective immune responses induced by DNA vaccines encoding *Toxoplasma gondii* surface antigen 1 (SAG1) and 14-3-3 protein in BALB/c mice. *Parasit Vectors* 2012; 5: 273.
 123. Zhou H, Min J, Zhao Q, Gu Q, Cong H, Li Y, et al. Protective immune response against *Toxoplasma gondii* elicited by a recombinant DNA vaccine with a novel genetic adjuvant. *Vaccine* 2012; 30: 1800-6.
 124. Yu L, Yamagishi J, Zhang S, Jin C, Aboge GO, Zhang H, et al. Protective effect of a prime-boost strategy with plasmid DNA followed by recombinant adenovirus expressing TgAMA1 as vaccines against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Parasitol Int* 2012; 61: 481-6.
 125. Li J, Han Q, Gong P, Yang T, Ren B, Li S, Zhang X. *Toxoplasma gondii* rhomboid protein 1 (TgROM1) is a potential vaccine candidate against toxoplasmosis. *Vet Parasitol* 2012; 184: 154-60.
 126. Yan HK, Yuan ZG, Song HQ, Petersen E, Zhou Y, Ren D, et al. Vaccination with a DNA vaccine coding for perforin-like protein 1 and MIC6 induces significant protective immunity against *Toxoplasma gondii*. *Clin Vaccine Immunol* 2012; 19: 684-9.
 127. Parthasarathy S, Fong MY, Ramaswamy K, Lau YL. Protective immune response in BALB/c mice induced by DNA vaccine of the ROP8 gene of *Toxoplasma gondii*. *Amk J Trop Med Hyg* 2013; 88: 883-7.
 128. Cong H, Zhang M, Xin Q, Wang Z, Li Y, Zhao Q, et al. Compound DNA vaccine encoding SAG1/SAG3 with A 2/B subunit of cholera toxin as a genetic adjuvant protects BALB/c mice against *Toxoplasma gondii*. *Parasit Vectors* 2013; 6: 63.

129. Meng M, Zhou A, Lu G, Wang L, Zhao G, Han Y, et al. DNA prime and peptide boost immunization protocol encoding the *Toxoplasma gondii* GRA4 induces strong protective immunity in BALB/c mice. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 494.
130. Yuan ZG, Ren D, Zhou DH, Zhang XX, Petersen E, Li XZ, et al. Evaluation of protective effect of pVAX-TgMIC13 plasmid against acute and chronic *Toxoplasma gondii* infection in a murine model. *Vaccine* 2013; 31: 3135-9.
131. Tao Q, Fang R, Zhang W, Wang Y, Cheng J, Li Y, et al. Protective immunity induced by a DNA vaccine-encoding *Toxoplasma gondii* microneme protein 11 against acute toxoplasmosis in BALB/c mice. *Parasitol Res* 2013; 112: 2871-7.
132. Zhang NZ, Huang SY, Zhou DH, Chen J, Xu Y, Tian WP, et al. Protective immunity against *Toxoplasma gondii* induced by DNA immunization with the gene encoding a novel vaccine candidate: calcium-dependent protein kinase 3. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 512.
133. Zhang M, Zhao L, Song J, Li Y, Zhao Q, He S, Cong H. DNA vaccine encoding the *Toxoplasma gondii* bradyzoite-specific surface antigens SAG2CDX protect BALB/c mice against type II parasite infection. *Vaccine* 2013; 31: 4536-40.
134. Chen J, Huang SY, Li ZY, Yuan ZG, Zhou DH, Petersen E, et al. Protective immunity induced by a DNA vaccine expressing eIF4A of *Toxoplasma gondii* against acute toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 2013; 31: 1734-9.
135. Chen J, Huang SY, Zhou DH, Li ZY, Petersen E, Song HQ, Zhu XQ. DNA immunization with eukaryotic initiation factor-2 α of *Toxoplasma gondii* induces protective immunity against acute and chronic toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 2013; 31: 6225-31.
136. Gong P, Huang X, Yu Q, Li Y, Huang J, Li J, et al. The protective effect of a DNA vaccine encoding the *Toxoplasma gondii* cyclophilin gene in BALB/c mice. *Parasite Immunol* 2013; 35: 140-6.
137. Zhao G, Zhou A, Lu G, Meng M, Sun M, Bai Y, et al. Identification and characterization of *Toxoplasma gondii* aspartic protease 1 as a novel vaccine candidate against toxoplasmosis. *Parasit Vectors* 2013; 6: 175.
138. Zhao G, Zhou A, Lv G, Meng M, Sun M, Bai Y, et al. *Toxoplasma gondii* cathepsin proteases are undeveloped prominent vaccine antigens against toxoplasmosis. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 207.
139. Zhao HG, Huang FY, Guo JL, Tan GH. Evaluation on the immune response induced by DNA vaccine encoding MIC8 co-immunized with IL-12 genetic adjuvant against *Toxoplasma gondii* infection. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi* 2013; 31: 284-9.
140. Liu Q, Wang F, Wang G, Zhao Q, Min J, Wang S, et al. *Toxoplasma gondii*: immune response and protective efficacy induced by ROP16/GRA7 multicomponent DNA vaccine with a genetic adjuvant B7-2. *Hum Vaccin Immunother* 2014; 10: 184-91.
141. Chen J, Zhou DH, Li ZY, Petersen E, Huang SY, Song HQ, et al. *Toxoplasma gondii*: protective immunity induced by rhoptry protein 9 (TgROP9) against acute toxoplasmosis. *Exp Parasitol* 2014; 139: 42-8.
142. Li ZY, Chen J, Petersen E, Zhou DH, Huang SY, Song HQ, et al. Synergy of mL-21 and mL-15 in enhancing DNA vaccine efficacy against acute and chronic *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Vaccine* 2014; 32: 3058-65.
143. Zhang NZ, Huang SY, Xu Y, Chen J, Wang JL, Tian WP, Zhu XQ. Evaluation of immune responses in mice after DNA immunization with putative *Toxoplasma gondii* calcium-dependent protein kinase 5. *Clin Vaccine Immunol* 2014; 21: 924-9.
144. Lu G, Zhou A, Meng M, Wang L, Han Y, Guo J, et al. Alpha-galactosylceramide enhances protective immunity induced by DNA vaccine of the SAG5D gene of *Toxoplasma gondii*. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 3862.
145. Hassan IA, Wang S, Xu L, Yan R, Song X, Li X. DNA vaccination with a gene encoding *Toxoplasma gondii* Deoxyribose Phosphate Aldolase (TgDPA) induces partial protective immunity against lethal challenge in mice. *Parasit Vectors* 2014; 7: 431.
146. Cong H, Yuan Q, Zhao Q, Zhao L, Yin H, Zhou H, et al. Comparative efficacy of a multi-epitope DNA vaccine via intranasal, peroral, and intramuscular delivery against lethal *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Parasit Vectors* 2014; 7: 145.
147. Xu Y, Zhang NZ, Tan QD, Chen J, Lu J, Xu QM, et al. Evaluation of immuno-efficacy of a novel DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* rhoptry protein 38 (TgROP38) against chronic toxoplasmosis in a murine model. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 525.
148. Wang S, Hassan IA, Liu X, Xu L, Yan R, Song X, Li X. Immunological changes induced by *Toxoplasma gondii* Glutathione-S-Transferase (TgGST) delivered as a DNA vaccine. *Res Vet Sci* 2015; 99: 157-64.
149. Wang S, Wang Y, Sun X, Zhang Z, Liu T, Gadahi JA, et al. Protective immunity against acute toxoplasmosis in BALB/c mice induced by a DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* elongation factor 1-alpha. *BMC Infect Dis* 2015; 15: 448.
150. Wang S, Wang Y, Sun X, Zhang Z, Liu T, Gadahi JA, et al. Protective immunity against acute toxoplasmosis in BALB/c mice induced by a DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* 10 kDa excretory-secretory antigen (TgESA10). *Vet Parasitol* 2015; 214: 40-8.
151. Cao A, Liu Y, Wang J, Li X, Wang S, Zhao Q, et al. *Toxoplasma gondii*: vaccination with a DNA vaccine encoding T- and B-cell epitopes of SAG1, GRA2, GRA7 and ROP16 elicits protection against acute toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 2015; 33: 6757-62.
152. Lu G, Wang L, Zhou A, Han Y, Guo J, Song P, et al. Epitope analysis, expression and protection of SAG5A vaccine against *Toxoplasma gondii*. *Acta Trop* 2015; 146: 66-72.
153. Chen J, Li ZY, Petersen E, Huang SY, Zhou DH, Zhu XQ. DNA vaccination with genes encoding *Toxoplasma gondii* antigens ROP5 and GRA15 induces protective immunity against toxoplasmosis in Kunming mice. *Expert Rev Vaccines* 2015; 14: 617-24.
154. Grzybowski MM, Dziadek B, Gatkowska JM, Dzitko K, Długowska H. Towards vaccine against toxoplasmosis: evaluation of the immunogenic and protective activity of recombinant ROP5 and ROP18 *Toxoplasma gondii* proteins. *Parasitol Res* 2015; 114: 4553-63.
155. Zhang NZ, Xu Y, Wang M, Petersen E, Chen J, Huang SY, Zhu XQ. Protective efficacy of two novel DNA vaccines expressing *Toxoplasma gondii* rhomboid 4 and rhomboid 5 proteins against acute and chronic toxoplasmosis in mice. *Expert Rev Vaccines* 2015; 14: 1289-97.
156. Zhou J, Wang L, Lu G, Zhou A, Zhu M, Li Q, et al. Epitope analysis and protection by a ROP19 DNA vaccine against *Toxoplasma gondii*. *Parasite* 2016; 23: 17.
157. Chen J, Li ZY, Petersen E, Liu WG, Zhu XQ. Co-administration of interleukins 7 and 15 with DNA vaccine improves protective immunity against *Toxoplasma gondii*. *Exp Parasitol* 2016; 162: 18-23.
158. Gong P, Cao L, Guo Y, Dong H, Yuan S, Yao X, et al. *Toxoplasma gondii*: Protective immunity induced by a DNA vaccine expressing GRA1 and MIC3 against toxoplasmosis in BALB/c mice. *Exp Parasitol* 2016; 166: 131-6.
159. Wang L, Lu G, Zhou A, Han Y, Guo J, Zhou H, et al. Evaluation of immune responses induced by rhoptry protein 5 and rhoptry protein 7 DNA vaccines against *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol* 2016; 38: 209-17.
160. Wang HL, Wang YJ, Pei YJ, Bai JZ, Yin LT, Guo R, et al. DNA vaccination with a gene encoding *Toxoplasma gondii* Rhoptry Protein 17 induces partial protective immunity against lethal challenge in mice. *Parasite* 2016; 23: 4.
161. Sonaimuthu P, Ching XT, Fong MY, Kalyanasundaram R, Lau YL. Induction of protective immunity against toxoplasmosis in BALB/c mice vaccinated with *Toxoplasma gondii* Rhoptry-1. *Front Microbiol* 2016; 7: 808.
162. Tang X, Yin G, Qin M, Tao G, Suo J, Liu X, Suo X. Transgenic *Eimeria tenella* as a vaccine vehicle: expressing TgSAG1 elicits protective immunity against *Toxoplasma gondii* infections in chickens and mice. *Sci Rep* 2016; 6: 29379.
163. Rashid I, Moiré N, Héraud B, Dimier-Poisson I, Mévélec MN. Enhancement of the protective efficacy of a ROP18 vaccine against chronic toxoplasmosis by nasal route. *Med Microbiol Immunol* 2016; 206: 53-62.

164. Zhao Y, Li ZY, Chen J, Sun XL, Liu SS, Zhu XQ, Zhou DH. Protective efficacy of pVAX-RON5p against acute and chronic infections of *Toxoplasma gondii* in BALB/c mice. *Exp Parasitol* 2016; 163: 24-30.
165. Ahmadpour E, Sarvi S, Hashemi Soteh MB, Sharif M, Rahimi MT, Valadan R, et al. Evaluation of the immune response in BALB/c mice induced by a novel DNA vaccine expressing GRA 14 against *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol* 2017; 39.
166. Ahmadpour E, Sarvi S, Soteh MBH, Sharif M, Rahimi MT, Valadan R, et al. Enhancing immune responses to a DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* GRA14 by calcium phosphate nanoparticles as an adjuvant. *Immunol Lett* 2017; 185: 40-7.
167. Han Y, Zhou A, Lu G, Zhao G, Wang L, Guo J, et al. Protection via a ROM4 DNA vaccine and peptide against *Toxoplasma gondii* in BALB/c mice. *BMC Infect Dis* 2017; 17: 59.
168. Yang WB, Zhou DH, Zou Y, Chen K, Liu Q, Wang JL, et al. Vaccination with a DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* ROP54 induces protective immunity against toxoplasmosis in mice. *Acta Trop* 2017; 176: 427-32.
169. Zhou J, Wang L. SAG4 DNA and peptide vaccination provides partial protection against *T. gondii* infection in BALB/c mice. *Front Microbiol* 2017; 8: 1733.
170. Rahimi MT, Sarvi S, Sharif M, Abediankenari S, Ahmadpour E, Valadan R, et al. Immunological evaluation of a DNA cocktail vaccine with co-delivery of calcium phosphate nanoparticles (CaPNs) against the *Toxoplasma gondii* RH strain in BALB/c mice. *Parasitol Res* 2017; 116: 609-16.
171. Song P, He S, Zhou A, Lv G, Guo J, Zhou J et al. Vaccination with toxofilin DNA in combination with an alum-monophosphoryl lipid A mixed adjuvant induces significant protective immunity against *Toxoplasma gondii*. *BMC Infect Dis* 2017; 17: 19.
172. Liu Y, Cao A, Li Y, Li X, Cong H, He S, Zhou H. Immunization with a DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* Superoxide dismutase (TgSOD) induces partial immune protection against acute toxoplasmosis in BALB/c mice. *BMC Infect Dis* 2017; 17: 403.
173. Zheng B, Ding J, Chen X, Yu H, Lou D, Tong Q, et al. Immuno-efficacy of a *T. gondii* secreted protein with an altered thrombospondin repeat (TgSPATR) as a novel DNA vaccine candidate against acute toxoplasmosis in BALB/c mice. *Front Microbiol* 2017; 8: 216.
174. Lu G, Zhou J, Zhou A, Han Y, Guo J, Song P, et al. SAG5B and SAG5C combined vaccine protects mice against *Toxoplasma gondii* infection. *Parasitol Int* 2017; 66: 596-602.
175. Zheng L, Hu Y, Hua Q, Luo F, Xie G, Li X, et al. Protective immune response in mice induced by a suicidal DNA vaccine encoding NTPase-II gene of *Toxoplasma gondii*. *Acta Trop* 2017; 166: 336-42.
176. Han Y, Zhou A, Lu G, Zhao G, Sha W, Wang L, et al. DNA vaccines encoding *Toxoplasma gondii* cathepsin C 1 induce protection against toxoplasmosis in mice. *Korean J Parasitol* 2017; 55: 505-12.
177. Hu LY, Zhang NZ, Zhang FK, Wang M, Gao Q, Wang JL, et al. Resistance to Chronic *Toxoplasma gondii* infection induced by a DNA vaccine expressing GRA16. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 1295038.
178. Chen K, Wang JL, Huang SY, Yang WB, Zhu WN, Zhu XQ. Immune responses and protection after DNA vaccination against *Toxoplasma gondii* calcium-dependent protein kinase 2 (TgCDPK2). *Parasite* 2017; 24: 41.
179. Zulpo DL, Igarashi M, Sammi AS, Santos JRD, Sasse JP, Cunha IALD, et al. rROP2 from *Toxoplasma gondii* as a potential vaccine against oocyst shedding in domestic cats. *Rev Bras Parasitol Vet* 2017; 26: 67-73.
180. Zhu WN, Wang JL, Chen K, Yue DM, Zhang XX, Huang SY, et al. Evaluation of protective immunity induced by DNA vaccination with genes encoding *Toxoplasma gondii* GRA17 and GRA23 against acute toxoplasmosis in mice. *Exp Parasitol* 2017; 179: 20-7.
181. Zhang NZ, Gao Q, Wang M, Hou JL, Zhang FK, Hu LY, Zhu XQ. Protective efficacy against acute and chronic *Toxoplasma gondii* infection induced by immunization with the DNA vaccine TgDOC2C. *Front Microbiol* 2018; 9: 2965.
182. Li ZY, Lu J, Zhang NZ, Chen J, Zhu XQ. Immune responses induced by HSP60 DNA vaccine against *Toxoplasma gondii* infection in Kunming mice. *Korean J Parasitol* 2018; 56: 237-45.
183. Babaie J, Amiri S, Homayoun R, Azimi E, Mohabati R, Berizi M, et al. Immunization of C57BL/6 mice with GRA2 combined with MPL conferred partial immune protection against *Toxoplasma gondii*. *Iran Biomed J* 2018; 22: 22-32.
184. Vazini H, Ghafarifar F, Sharifi Z, Dalimi A. Evaluation of immune responses induced by GRA7 and ROP2 genes by DNA vaccine cocktails against acute toxoplasmosis in BALB/c mice. *Avicenna J Med Biotechnol* 2018; 10: 2-8.
185. Chu JQ, Huang S, Ye W, Fan XY, Huang R, Ye SC, et al. Evaluation of protective immune response induced by a DNA vaccine encoding GRA8 against acute toxoplasmosis in a murine model. *Korean J Parasitol* 2018; 56: 325-34.
186. Chen Y, Yu M, Hernandez JA, Li J, Yuan ZG, Yan H. Immuno-efficacy of DNA vaccines encoding PLP1 and ROP18 against experimental *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Exp Parasitol* 2018; 188: 73-8.
187. Zhang Z, Li Y, Wang M, Xie Q, Li P, Zuo S, et al. Immune protection of rhoptry protein 21 (ROP21) of *Toxoplasma gondii* as a DNA vaccine against toxoplasmosis. *Front Microbiol* 2018; 9: 909.
188. Lu G, Zhou J, Zhao YH, Wang L. DNA vaccine ROP 29 from *Toxoplasma gondii* containing R848 enhances protective immunity in mice. *Parasite Immunol* 2018; 40: e12578.
189. Zhang Z, Li Y, Liang Y, Wang S, Xie Q, Nan X, et al. Molecular characterization and protective immunity of rhoptry protein 35 (ROP35) of *Toxoplasma gondii* as a DNA Vaccine. *Vet Parasitol* 2018; 260: 12-21.
190. Roozbehani M, Falak R, Mohammadi M, Hemphill A, Razmjou E, reza Meamar A, et al. Characterization of a multi-epitope peptide with selective MHC-binding capabilities encapsulated in PLGA nanoparticles as a novel vaccine candidate against *Toxoplasma gondii* infection. *Vaccine* 2018; 36: 6124-32.
191. Gao Q, Zhang NZ, Zhang FK, Wang M, Hu LY, Zhu XQ. Immune response and protective effect against chronic *Toxoplasma gondii* infection induced by vaccination with a DNA vaccine encoding profilin. *BMC Infect Dis* 2018; 18: 117.
192. Zhang NZ, Gao Q, Wang M, Elsheikha HM, Wang B, Wang JL, et al. Immunization with a DNA vaccine cocktail encoding TgPF, TgROP16, TgROP18, TgMIC6, and TgCDPK3 genes protects mice against chronic toxoplasmosis. *Front Immunol* 2018; 9: 1505.
193. Zheng B, Lou D, Ding J, Zhuo X, Ding H, Kong Q, et al. GRA24-based DNA vaccine prolongs survival in mice challenged with a virulent *Toxoplasma gondii* strain. *Front Immunol* 2019; 10: 418.
194. Xu XP, Liu WG, Xu QM, Zhu XQ, Chen J. Evaluation of immune protection against *Toxoplasma gondii* infection in mice induced by a multi-antigenic DNA vaccine containing TgGRA24, TgGRA25 and TgMIC6. *Parasite* 2019; 26: 58.
195. Pagheh AS, Sarvi S, Gholami S, Asgarian-Omran H, Valadan R, Hassannia H, et al. Protective efficacy induced by DNA prime and recombinant protein boost vaccination with *Toxoplasma gondii* GRA14 in mice. *Microb Pathog* 2019; 134: 103601.
196. Zhou J, Li C, Luo Y, Wang L. Antigenic Epitope Analysis and Efficacy Evaluation of GRA41 DNA Vaccine Against *T. gondii* Infection. *Acta Parasitol* 2019; 64: 471-8.
197. Alizadeh P, Ahmadpour E, Daryani A, Kazemi T, Spotin A, Mahami-Oskouei M, et al. IL-17 and IL-22 elicited by a DNA vaccine encoding ROP13 associated with protection against *Toxoplasma gondii* in BALB/c mice. *J Cell Physiol* 2019; 234: 10782-8.
198. Zhang D, Jiang N, Chen Q. Vaccination with recombinant adenoviruses expressing *Toxoplasma gondii* MIC3, ROP9, and SAG2 provide protective immunity against acute toxoplasmosis in mice. *Vaccine* 2019; 37: 1118-25.
199. Zheng B, Ding J, Lou D, Tong Q, Zhuo X, Ding H, et al. The virulence-related MYR1 protein of *Toxoplasma gondii* as a novel DNA vaccine against toxoplasmosis in mice. *Front Microbiol* 2019; 10: 734.

200. Mavi SA, Modarressi MH, Mohebbali M, Shojaee S, Zeraati H, Teimouri A, et al. Assessment of the immunogenicity and protective efficiency of a novel dual-promoter DNA vaccine, harboring SAG1 and GRA7 genes, from RH strain of *Toxoplasma gondii* in BALB/c mice. *Infect Drug Resist* 2019; 12: 2519-30.
201. Sobati H, Dalimi A, Kazemi, B, Ghaffarifar, F. Evaluation of Anti-*Toxoplasma gondii* Immune Responses in BALB/c Mice Induced by DNA Vaccines Encoding Surface Antigen 1 (SAG1) and 3 (SAG3). *Molecular Genetics Microbiology and Virology* 2019; 34: 59-66.
202. Karakavuk M, Can H, Gül A, Döşkaya AD, Alak SE, Ün C, et al. GRA8 DNA vaccine formulations protect against chronic toxoplasmosis. *Microb Pathog* 2021; 158: 105016.
203. Li TT, Wang JL, Liang QL, Sun LX, Zhang HS, Zhang ZW, et al. Effect of deletion of *gra17* and *gra23* genes on the growth, virulence, and immunogenicity of type II *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Res* 2020; 119: 2907-16.
204. Foroutan M, Ghaffarifar F, Sharifi Z, Dalimi A. Vaccination with a novel multi-epitope ROP8 DNA vaccine against acute *Toxoplasma gondii* infection induces strong B and T cell responses in mice. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2020; 69: 101413.
205. Foroutan M, Barati M, Ghaffarifar F. Enhancing immune responses by a novel multi-epitope ROP8 DNA vaccine plus interleukin-12 plasmid as a genetic adjuvant against acute *Toxoplasma gondii* infection in BALB/c mice. *Microb Pathog* 2020; 147: 104435.
206. Sun H, Li J, Xiao T, Huang XD, Wang LJ, Huang BC, et al. Protective immunity induced by a DNA vaccine cocktail expressing TgSAG1, TgROP2, and the genetic adjuvant HBsAg against *Toxoplasma gondii* infection. *Microb Pathog* 2020; 147: 104441.
207. Arcon N, Picchio MS, Fenoy IM, Moretta RE, Soto AS, Sibia MDP, et al. Synergistic effect of GRA7 and profilin proteins in vaccination against chronic *Toxoplasma gondii* infection. *Vaccine* 2021; 39: 933-42.
208. Dodangeh S, Fasihi-Ramandi M, Daryani A, Valadan R, Asgarian-Omran H, Hosseini Z, et al. Protective efficacy by a novel multi-epitope vaccine, including MIC3, ROP8, and SAG1, against acute *Toxoplasma gondii* infection in BALB/c mice. *Microb Pathog* 2021; 153: 104764.
209. Pagheh AS, Daryani A, Alizadeh P, Hassannia H, Oliveira SMR, Kazemi T, et al. Protective effect of a DNA vaccine cocktail encoding ROP13 and GRA14 with Alum nano-adjuvant against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *Int J Biochem Cell Biol* 2021; 132: 105920.
210. Khodadadi M, Ghaffarifar F, Dalimi A, Ahmadpour E. Immunogenicity of in-silico designed multi-epitope DNA vaccine encoding SAG1, SAG3 and SAG5 of *Toxoplasma gondii* adjuvanted with CpG-ODN against acute toxoplasmosis in BALB/c mice. *Acta Trop* 2021; 216: 105836.
211. Yu Z, Chen S, Aleem M, He S, Yang Y, Zhou T, et al. Histone deacetylase SIR2 in *Toxoplasma gondii* modulates functions of murine macrophages in vitro and protects mice against acute toxoplasmosis in vivo. *Microb Pathog* 2021; 154: 104835.