



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**AYDIN İLİNDE *BARTONELLA HENSELAE* VE
BARTONELLA QUINTANA SEROPREVALANSI
VE RİSK FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. A. MELTEM AKSOY

DANIŞMAN

Prof. Dr. Neriman AYDIN

AYDIN – 2011

T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**AYDIN İLİNDE *BARTONELLA HENSELAE* VE
BARTONELLA QUINTANA SEROPREVALANSI
VE RİSK FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. A. MELTEM AKSOY

DANIŞMAN

Prof. Dr. Neriman AYDIN

AYDIN - 2011

Bu araştırma Bilimsel Araştırma Projesi kapsamında ADÜ Araştırma Fon
Saymanlığı tarafından TPF-09008 sayı ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Mikrobiyoloji alanında yetişmemde katkıda bulunan, uzmanlık eğitimim boyunca sundukları bilimsel, verimli ve destekleyici ortam için ve tezimin fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar olan süreçte değerli vaktiyle, bilimsel tecrübeleriyle beni yönlendiren, başta Anabilimdalı Başkanımız ve tez danışmanım Prof. Dr. Neriman AYDIN'a, tez çalışmamın özellikle mikroskobik değerlendirme aşamasında deneyimleriyle bana destek veren ve tüm örneklerin mikroskobik değerlendirmesini birlikte yaptığımız ve PZR aşamalarında da beni aydınlatan Yrd. Doç.Dr. Berna GÜLTEKİN'e, tez çalışmamda deneyimleriyle destek veren ve özellikle PZR aşamalarında yardımlarından dolayı Doç. Dr. Mete EYİĞÖR'e, çalışma sırasında bilimsel katkıları ile bana yardımcı olan, eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen, Doç. Dr. Bülent BOZDOĞAN, Doç. Dr. Sevin KIRDAR, Yrd. Doç.Dr. Murat TELLİ ve Prof. Dr. Sema ERTUĞ ile Prof.Dr. Hatice ERTABAKLAR'a teşekkür ederim. Ayrıca örneklerin alınacağı bölgeleri planlama ve örnek toplama aşamalarında bilimsel tecrübe ve deneyimleriyle katkıda bulunan Uzm. Dr. Nermin EROL'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Ayrıca yetişmemde emeği geçen Uzm. Dr. Gonca EVCİL'e, tez çalışmalarım süresince benden her konuda ilgi ve desteğini esirgemeyen, birlikte çalıştığım, isimlerini sayamadığım Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarının tüm çalışanlarına, özellikle değerli, arkadaşım Dr. Yavuz Okulu'ya teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, maddi ve manevi hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, değerli anneme, babama, kardeşlerim ve teyzeme sonsuz teşekkürler.

Dr. A. Meltem Aksoy

Aydın, 2011

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TABLO DİZİNİ	VII
RESİM DİZİNİ	VII
ŞEKİL DİZİNİ	VIII
EKLER DİZİNİ	IX
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
Sınıflandırma	5
İnsanda infeksiyon oluşturan diğer <i>Bartonella</i> türleri ve alttürleri	7
Genetik yapısı	7
Morfoloji ve boyanma özellikleri	8
Kültür ve üreme özellikleri	10
Biyokimyasal özellikler	11
Patogenez ve virülans faktörleri	13
İnsanlara bulaş ve kolonizasyon	13
Eritrosit parazitizmi	13
Endotelial hücre parazitizmi	13
Bakteriyel replikasyon ve persistans	13
İnfeksiyonları	16
Kedi tırmığı hastalığı	16
Basiller anjiyomatoz	18
Endokardit	19
Oküler lezyonlar	20
Siper ateşi (Trench fever)	21
Peliyoz	21
Bakteriyolojik tanı	21
Örnek alınması, taşınması ve saklanması	21
Mikroskopik inceleme	22
Kültür	22
Serolojik testler	23
Histopatolojik tanı	24
Moleküler yöntemler	25
In-vitro antimikrobiyal duyarlılık	25
Tedavi	27
Korunma	28
BÖLÜM II	31
MATERYAL VE YÖNTEM	31
Çalışma grubu	31
Örnek alınması ve saklanması	32
Serum örneklerinde IFA yöntemi ile antikor aranması	33
Polimeraz zincir reaksiyonu	35
İstatistiksel analiz	39
BÖLÜM III	40
BULGULAR	40
TARTIŞMA	50

SONUÇ	59
ÖZET	60
SUMMARY	62
KAYNAKLAR	65
EK- <i>BARTONELLA</i> SPP ARAŞTIRMASI ANKET FORMU	79

TABLO DİZİNİ

Sayfa no

Tablo I. <i>Rochalimae</i> ve <i>Bartonella</i> türlerinin sınıflandırılmasında değişiklikler (31)	6
Tablo II. Patojenik <i>Bartonella</i> türleri ile diğer bakterilerin 16S r RNA sekans analizine göre homolojileri(49)	8
Tablo III. <i>Bartonella</i> türleri , alttürleri ve <i>Brucella melitensis</i> ' in ayırıcı özellikleri (34)	12
Tablo V. <i>Bartonella</i> türlerinin insan infeksiyonlarıyla ilişkisi, dağılımı ve vektörleri (22)	30
Tablo VI. Araştırma evreni ve örnek seçiminin Aydın'da ilçelere göre dağılımı	32
Tablo VII. PZR çalışmasında kullanılan primerler (145)	35
Tablo VIII. Serum dilüsyon titresine göre <i>B. henselae</i> seropozitifliği	41
Tablo IX. Serum dilüsyon titresine göre <i>B. quintana</i> seropozitifliği	41
TabloX. <i>Bartonella henselae</i> ve <i>B.quintana</i> seropozitifliğinin ilişkisi	42
Tablo XI.Çalışma grubunun özellikleri	43
TabloXI. <i>Bartonella henselae</i> seropozitifliğinin cinsiyet, yaş, eğitim durumu ve kedi teması ile ilişkisi	44
TabloXII. <i>Bartonella quintana</i> seropozitifliğinin cinsiyet, yaş, eğitim durumu ve kedi teması ile ilişkisi	45
TabloXI. <i>Bartonella henselae</i> ve <i>B. quintana</i> seropozitifliğinin Aydın ilçelerine göre dağılımı	47
Tablo XV.Literatürde <i>Bartonella</i> seroprevalans çalışmaları (1996-2007) (122)	52

RESİM DİZİNİ

Sayfa No

Resim 1. <i>Bartonella bacilliformis</i> 'in Giemsa boyama ile eritrosit içinde kümeler halinde görüntüsü (100Xbüyütmeli objektif, ışık mikroskobu)	9
Resim 2. Whartin-Starry boyama ile <i>B.henselae</i> kümelerinin siyah görüntüsü (40Xbüyütmeli objektif, ışık mikroskobu)	10
Resim 3. <i>Bartonella</i> türlerinde Tip 4 sekresyon sisteminin (T4SS) şematik gösterimi	14
Resim 4. Focus <i>Bartonella henselae&quintana</i> IFA IgG (California, USA) test kiti	34
Resim 5. Vircell <i>Bartonella henselae&quintana</i> IFA IgG ile pozitif, negatif görüntü	48
Resim 6. Focus <i>Bartonella henselae&quintana</i> IFA IgG ile pozitif, negatif görüntü	48
Resim 7. Nükleik asit izolasyonu yapılan örneklerde Gap Junction PZR ürünlerinin %2'lik Agarozdaki görüntüsü	49
Resim 8. PZR çalışmalarının %2'lik agaroz jelde görüntüsü	49
Resim 9. Aydın ilinde <i>Bartonella henselae</i> seropozitifliğinin ilçelere göre dağılımı	57
Resim 10. Aydın ilinde <i>Bartonella quintana</i> seropozitifliğinin ilçelere göre dağılımı	57

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Bartonella türleri, alttürleri ve sınıf ilişkisi

5

Şekil 2. 16S-23S r RNA genler arası bölge, ‘intergenic spacer region’(its) ve primerlerin yerleri

37

EKLER DİZİNİ

Sayfa No

EK-1- *BARTONELLA* SPP. ARAŞTIRMASI ANKET FORMU

79

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ATCC	: American type culture collection (ABD kültür koleksiyonu)
ATP	: Adenosine triphosphate
BA	: Basiller anjiyomatoz
BAPMG	: Bartonella-alphaproteobacteria growth medium
BHI	: Brain-Heart Infusion
EDTA	: Etilendiamin tetraasetikasit
EIA	: Enzyme Immunoassay
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HSM	: Hepatosplenomegali
HSP	: Henoch Schonlein Purpurası
IFA	: Immunofluorescence Antibody
IFAT	: Immunofluorescence Antibody Technic
KS	: Kaposi Sarkomu
KTH	: Kedi Tırmığı Hastalığı
LAP	: Lenfadenopati
NAD	: Nicotinamide adenine dinucleotide,
NADP	: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate,
PBS	: Phosphate buffer saline
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SPSS	: Statistical package for the social science
TMP-SMZ	: Trimetoprim-sulfometoksazol,
T4SSs	: Tip IV sekresyon sistemi
BEP	: Bakteriyel efektör proteinler
TBE	: Tris Borik asit EDTA
GA3PD	: Gliseraldehid 3 fosfat dehigenaz

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ

Bartonella cinsi, küçük gram-negatif kokobasil/basil görünümünde bakteriler olup memeli eritrositlerini ve endotelyal hücrelerini tutarlar. Bu cinse ait bilinen tek tür 1993 yılına kadar, insanlarda Carrion hastalığına neden olan *Bartonella bacilliformis*'ti. 1993 yılında *Rochelima* cinsine ait olan dört tür, moleküler çalışmalar sonucunda, *Bartonellae* cinsine alınmış ve bu cinse yeni tanımlanan türler eklenerek bugün 23 türe ulaşmıştır (1,2).

Bartonella türleri, farklı coğrafik bölgelerdeki hayvan rezervuarlar ve artropod vektörler; kum sinekleri, insan vücut bitleri, kedi bit ve kenelerinde bulunabilirler. Doğadaki çeşitli rezervuarlardan insanlara vektörler aracılığıyla bulaşarak zoonotik infeksiyonlara neden olabilirler (3).

Bartonella 'lar asemptomatik infeksiyonların yanında, ciddi infeksiyonlara da yol açabilirler. İnsanlarda kedi tırmığı hastalığı (KTH), basiller anjiyomatoz (BA), basiller peliyoz, tekrarlayan ateş, endokardit, özellikle HIV (Human Immunodeficiency Virus) pozitif olgularda nörolojik sendromlar, Carrion hastalığı ve siper ateşine neden olabilirler (4).

İnsanlarda onüç tür ve alttür bartonelloza neden olmaktadır, bunlar; *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *B. vinsonii subsp. berkhoffi*, *B. henselae*, *B. elizabethae*, *B. grahamii*, *B. washoensis*, *B. koehlerae* ve daha nadir *B. rochalimae* ve *B. tamiae*'dir (2).

İnsanlar için patojen olan türlerden üçü daha sık olarak infeksiyonlara neden olmaktadır. Bunlardan *B. bacilliformis* Carrion hastalığına (Oroya fever ve verruga peruana), *B. quintana* siper ateşine neden olurken, *B. henselae* doğal rezervuarı olan kedilerden insanlara bulaşarak immün yetmezlikli ve immün yeterli bireylerde KTH'na, immün yetmezlikli bireylerde BA'a, basiller peliyoz ve özellikle HIV pozitif olgularda nörolojik sendromlara neden olmaktadır (5,6).

Kedi tırmığı hastalığı genellikle lenfadenopati, hafif ateş, halsizlik, yorgunluk ve baş ağrısıyla seyreden kendiliğinden iyileşen akut bir hastalıktır (5,7). Kedi tırmığı hastalığı ilk kez 1889 yılında Dr. Henri Parinaud tarafından tanımlanmış, hastalığın adı 1931 yılında Dr.

Robert Debré tarafından konulmuş, ancak etken 1980'li yılların sonuna kadar belirlenememiştir (8). Klinik olarak KTH şüpheli 10 hastanın lenf nodüllerinden 1988 yılında aynı özellikte bakteri izole edilmiş ve bu bakteriye 1991 yılında *Afipia felis* adı verilmiştir. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda KTH ile *A. felis* ilişkisi doğrulanamamıştır (8,9).

Slater ve arkadaşları uzun süreli ateşi olan HIV-pozitif bir hastada 1990 yılında *Rochalimaea* benzeri bir organizma izole etmişlerdir. Daha sonraki çalışmalarda; başka hastaların kanlarından ve lenf nodüllerinden de *Rochalimae* benzeri bakteri izole edilmiş ve yapılan genetik analizlerle bu bakterinin yeni bir tür olduğu belirlenmiştir (10). Bu türe, ilk izolasyondaki yoğun çabalarından dolayı Dr. Diane Hensel'in onuruna *Rochalimae henselae* ismi verilmiş, ancak yapılan yeni sınıflandırmada *Rochalimaea* cinsi *Bartonella* cinsi ile birleştirildiğinden *B. henselae* olarak isimlendirilmiştir (11).

Regnery ve arkadaşları 1992 yılında asemptomatik iki kediden *B. henselae* bakterisini izole etmişler ve insanlar için evcil kedilerin rezervuar olabileceğini öne sürmüşlerdir (11). Koehler ve arkadaşları, 1994 yılında BA'lu hastaların kedilerinden bakteriyi izole etmişler ve evcil kedilerin asemptomatik rezervuar olduğunu göstermişlerdir (12). Kedi tırmığı hastalığı bulunan kişilerin kedilerinin kan kültürlerinde *B. henselae* izolasyonu ve kanlarında antikorların saptanması, ayrıca insan örneklerinden kültür, serolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle elde edilmesi ile *B. henselae*'nin KTH etiyolojisindeki en önemli etken olduğu kabul edilmiştir. *Afipia felis* ve *B. clarridgeiae* ise sadece az sayıdaki olguda etken olarak tanımlanmıştır (13-15).

Dünya'da sağlıklı insanlar ve farklı risk gruplarında yapılan çalışmalar sonucu, *Bartonella* türlerinin epidemiyolojisi giderek önem kazanmıştır. Yapılan bir çalışmada *Bartonella* türleri, kan kültürü negatif endokarditlerden % 28 oranında izole edilmiş ve çoğunluğunu *B. quintana* (%75) ve *B. henselae*'nin (%24) oluşturduğu bildirilmiştir (16).

Sağlıklı kan donörlerinde farklı toplumlarda yapılan çalışmalarda, *B.henselae* seropozitiflik oranının %0,2 olduğu ancak %22'ye kadar yükselebildiği saptanmıştır (17).

Türkiye'de *Bartonella*'lara bağlı KTH ve BA olgu sunuları bulunmaktadır (18-20). Ayrıca Denizli'de kan donörlerinde yapılan bir çalışmada *B. henselae* IgG seropozitifliği % 6 olarak bulunmuştur (21). Ancak Türkiye'de *B. quintana* konusunda epidemiyolojik olarak insanlarda ve hayvanlarda yapılmış herhangi bir araştırma ve sonuçlarına literatürde rastlanılamamıştır.

Zoonoz kökenli bu bakterilerin vektörler yoluyla taşınabilmesi, ülkemizin iklimsel özelliklerinin vektörlerle yayılım açısından uygun olması ve bu bakterinin diğer hastalık tablolarıyla karışabilecek klinik tablolara yol açması nedeniyle *B.henselae* ve *B. quintana*'nın risk faktörleri ve yaygınlığı konusunda bilgilere ihtiyaç bulunmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, *B. henselae* ve *B. quintana* türlerinin erişkinlerde epidemiyolojik özellikleri, seroprevalansını, taşıyıcılığını belirlemek ve risk faktörlerini saptamaktır.

GENEL BİLGİLER

Bartonella'lar küçük, gram-negatif fakültatif intrasellüler basillerdir. Eritrositler, endotel hücreleri, kemik iliği hücreleri içinde yaşayabilmeleri, oluşturdukları infeksiyonların patogeneğinde önemli rol oynar (22,23).

Bartonellae cinsi bakteriler eritrositlerde invazyon ve lizis oluşturma, persistan bakteriyemi ve küçük damarların endotel hücrelerinde proliferasyona neden olma gibi patojenite özelliklerine sahiptir (24,25). *Bartonella* cinslerine karşı yanıt kişilerin bağışıklık durumuna göre değişmektedir. İmmünitesi sağlam bireylerde granülomatöz ve süpüratif bir tablo oluşurken, immün yetmezlikli hastalarda sıklıkla vasküloproliferatif cevap oluşmaktadır (26).

Tarihçe

Bartonella ismi, ilk defa 1909 yılında *B. bacilliformis*'i eritrosit içinde tanımlayan A. L. Barton tarafından verilmiştir, yakın zamandaki sınıflamaya kadar bu cinsteki tek üye olarak kabul edilmiştir (1,2). *Bartonella henselae* (*Rochalimaea henselae*) 1992'de izole edilmiş, 1993 yılında Brenner ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada *Rochalimaea* cinsinde yer alan türlerin *Bartonella*'lar ile sınıflandırılması önerilmiş ve yeni isimlendirmede *R. quintana*, *R. vinsonii*, *R. henselae*, ve *R. elizabethae* türleri *Bartonella* cinsine dahil edilmiştir (1). Daha önce *Rickettsiales* takımı *Rickettsiaceae* ailesinde yer alan *Bartonella* cinsi, 1993 yılında *Protobacteria* sınıfı, *Alphaproteobacteria* alt grubu, *Bartonellaceae* ailesi içinde sınıflandırılmıştır (Şekil-1). Birtles ve arkadaşları 1995 yılında yaptıkları genotipik ve fenotipik çalışmalar sonucu *Grahamella* genusunun *Bartonella* genusu ile birleşmesini önermişlerdir (2). Daha sonra rodentlerde beş *Bartonella* türü daha tanımlanmıştır. Bunlar; *Bartonella talpae*, *Bartonella peromysci*, *Bartonella taylorii*, *B. grahamii* ve *B. doshiae*'dir (27).

Drancourt ve arkadaşları 1996 yılında yaptıkları 16S rRNA sekans analizi sonucunda *B. henselae*'nin iki alt türü olan *B. henselae* *Houston* (16S tip I) kökeni ve *B. henselae* *marseilles* (16S tip II) kökeni olmak üzere iki altgruba ayırmayı önermişlerdir (28).

Bergmans ve arkadaşları Hollanda'da KTH olan kişilerden aldıkları örneklerle 16 S-23S r RNA gen bölgesi çoğaltılarak "polimeraz zincir reaksiyonu" (PZR) yapmışlar, DNA pozitif saptanan 27 örnekte AluI 'restriction fragment length polymorphism' (RFLP) paternine bakılmış ve *B. henselae* 'nin Tip I ve Tip II varyantlarını saptamışlardır (29).

Clarridge ve arkadaşları 1995'te iki KTH vakasından *B. henselae* izole ettiklerini, ancak hastalardan birine ait kedide yeni bir *Bartonella* türü izole edildiğini bildirmişlerdir. Bu yeni tür Dr. Jill Clarridge'in onuruna 1996 yılında *B. clarridgeiae* olarak adlandırılmıştır (30). Droz ve arkadaşlarının yaptıkları bir surveyans çalışmasında iki kedide yeni bir tür olarak *B. koehlerae*'yı bulmuşlardır (31). Utah ve Illinois'teki kedilerden 2000 yılında *B. weissii* bulunmuş, Kuzey Carolina'daki sığır etlerinde ise *B. bovis* bulunmuştur (32,33).

Bartonella'lara son yıllarda sürekli yeni izole edilen türler eklenmekte, 19 tür ve 3 alt tür bulunmaktadır. Bugüne kadar tanımlanan türlerden 10 tür ve alttürün insan için patojen olduğu bilinmektedir. Bu tür ve alttürlerin insanda infeksiyon yaptığı bildirilenler; *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *B. henselae*, *B. elizabethae*, *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, *B. vinsonii* subsp. *arupensis*, *B. grahamii*, *B. washoensis* ve *B. koehlerae*, *B. tamiae* türleridir. İzole edilen diğer *Bartonella* türleri ise *B. clarridgeiae*, *B. vinsonii* subsp. *vinsonii*, *B. birtlesii*, *B. tribocorum*, *B. alsatica*, *B. bovis*, *B. capreoli*, *B. schoenbuchensis*, *B. chomelii*, *B. rattimassilensis*, *B. phoceensis*, *Bartonella weissii*, *Bartonella australis*'dir (34).

Sınıflandırma

Rickettsiales takımından ayrılan *Bartonellaceae* ailesi içindeki tek cins *Bartonella*'dır. *Rickettsiaceae* ailesi: *Rickettsia* cinsi, *Coxiella* cinsi ve *Rochalimaea* cinsi olmak üzere üç cins içermektedir. *Bartonellaceae* ailesinde iki cins yer almaktadır: *Bartonella* ve *Grahamella* cinsleri (35).

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin 1984 basımına göre *Bartonella* cinsinde tek tür (*B. bacilliformis*), *Grahamella* cinsinde iki tür (*G. talpae* ve *G. peromysci*) ve *Rochalimae* cinsinde ise iki tür (*R. quintana* ve *R. vinsonii*) yer almaktadır (33) (Tablo-I).

Human Immundeficiency virus (HIV) enfeksiyonlu hastalarla 1990'lı yılların başlarında yapılan çalışmalarda, hastalardan alınan biyopsi materyallerinin incelemesinde zor üreyen bakteriler belirlenmiştir (36). Bu yeni bakterilerin moleküler ve genetik tekniklerle tanımlanması sonucu *Rochalimaea* cinsinin üyesi olan *R. quintana*'yla çok benzer olduğu görülmüştür (37). Bu yeni mikroorganizmalara *Rochalimaea henselae* ve *Rochalimae elizabethae* isimleri verilmiştir (38). Ancak 1993 yılında Brenner ve arkadaşlarının yaptığı taksonomik çalışmada *Rochalimae* cinsinin *Bartonella* cinsiyle birleştirilmesine karar verilmiştir (1) (Tablo-I).

Tablo I. *Rochalimae* ve *Bartonella* türlerinin sınıflandırılmasında değişiklikler (31)

BERGEY'S MANUAL, 1984	BRENNER ET AL, 1993; BIRTLES ET AL, 1995; BREITSCHWERDT ET AL 1995
<i>Rickettsiaceae</i> ailesi	<i>Rickettsiaceae</i> ailesi
<i>Rickettsia</i> cinsi	<i>Rickettsia</i> cinsi
<i>Rochalimaea</i> cinsi	
<i>R. quintana</i>	
<i>R. vinsonii</i>	
<i>Coxiella</i> cinsi	<i>Coxiella</i> cinsi
<i>Bartonellaceae</i> ailesi	<i>Bartonellaceae</i> ailesi
<i>Bartonella</i> cinsi	<i>Bartonella</i> cinsi
<i>B. bacilliformis</i>	<i>B. bacilliformis</i>
	<i>B. quintana</i>
	<i>B. vinsonii</i>
	<i>B. vinsonii</i> alttür <i>berkhoffii</i>
	<i>B. henselae</i>
	<i>B. elizabethae</i>
<i>Grahamella</i> cinsi	
<i>G. talpae</i>	<i>B. talpae</i>
<i>G. peromysci</i>	<i>B. peromysci</i>
	<i>B. grahamii</i>
	<i>B. taylorii</i>
	<i>B. dochiae</i>

***Proteobacteria* sınıfı**

***Alphaproteobacteria* alt grubu**

***Bartonellaceae* ailesi**

***Bartonella* cinsi**

İnsanda infeksiyon oluşturan

***Bartonella* türleri ve alttürleri**

B. bacilliformis
B. quintana
B. henselae
B. elizabethae,
B. vinsonii subsp. *berkhoffii*
B. vinsonii subsp. *arupensis*
B. grahamii
B. washoensis
B. koehlerae
B. tamiae

Diğer *Bartonella* türleri ve alttürleri

B. clarridgeiae
B. vinsonii subsp. *vinsonii*
B. birtlesii
B. tribocorum
B. alsatica
B. bovis
B. capreoli
B. schoenbuchensis
B. chomelii
B. rattimassilensis
B. phoceensis
B. weissii
B. australis

Şekil 1. *Bartonella* türleri, alttürleri ve sınıf ilişkisi

Genetik yapısı

Bartonella türlerinin genomları yaklaşık olarak 1.6×10^6 ile 2×10^6 bp uzunluğundadır (39,40). Genomlarının Guanin+Sitozin içeriği %39 ile %41 arasında değişmektedir (41,42). DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarında *Rickettsiae prowazekii* ile *B. quintana* ve *B. vinsonii* %30 yakın homolojide bulunmuştur (43,44). Birçok çalışmada *Bartonella*'larla *Rickettsiae* ve diğer bakterilerin filogenetik ve taksonomik ilişkilerini saptamak için 16S r RNA sekans analizi yapılmıştır (43). İlk olarak Weisburg ve ark. *B. quintana*, *B. abortus* ve *Agrobacterium tumefaciens*'i 16S r RNA sekans analizine göre benzer homolojide bulmuş ancak *Rickettsiae*

ile benzerlik bulmamıştır (45). *Bartonella* türlerinin tiplendirilmesi için 16S r RNA'ya ek olarak, 5S ve 23S r RNA gen dizileriyle de sekans analizi yapılmıştır (46,47).

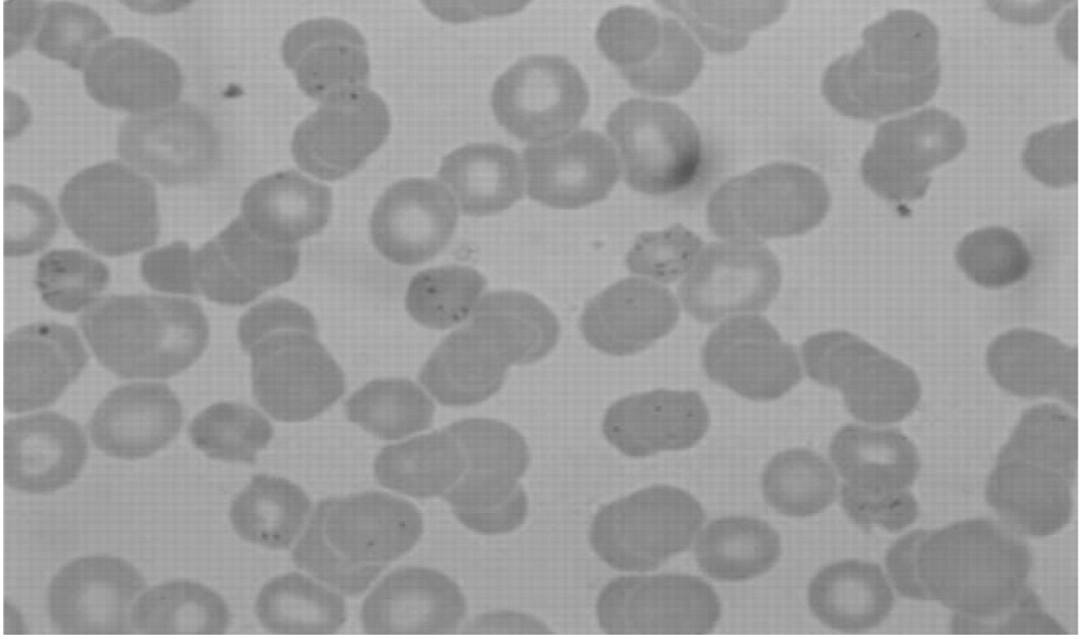
Tablo II. Patojenik *Bartonella* türleri ile diğer bakterilerin 16S r RNA sekans analizine göre homolojileri (49)

Türler	Benzerlik oranı %						
	<i>B.bacilliformis</i>	<i>B.elizabethae</i>	<i>B.henselae</i>	<i>B.quintana</i>	<i>Brucella abortus</i>	<i>Afipia felis</i>	<i>Rickettsia rickettsii</i>
<i>B.bacilliformis</i>	100						
<i>B.elizabethae</i>	97.7	100					
<i>B.henselae</i>	98.1	98.4	100				
<i>B.quintana</i>	97.6	98.3	98.7	100			
<i>Brucella abortus</i>	94.5	94.9	94.4	94.2	100		
<i>Afipia felis</i>	86.1	88.4	87.9	87.3	89.0	100	
<i>Rickettsia rickettsii</i>	83.4	85.1	84.9	85.0	84.3	82.9	100

Bartonella türlerinde henüz tanımlanmış plazmidler bulunmamaktadır. *B.bacilliformis* ve *B. henselae*'de bakteriyofaj parçaları tanımlanmıştır (48,49). Bu parça 40 nm çapında ve kuyruk benzeri yapısıyla elektron mikroskopta *B.bacilliformis*'te gösterilmiştir. Bu parçacıklar bakterinin kromozomal DNA'sının paketlenmesinden ve dışarı salınmasından sorumludur. Ancak infeksiyonlardaki rolü gösterilememiştir, bu nedenle defektif olduğu düşünülmektedir (46).

Morfoloji ve boyanma özellikleri

Bartonella cinsi bakteriler gram-negatif, hafif kıvrık, 0,5-1 µm boyutlarında, pleomorfik, genellikle kokobasil morfolojide, hücre içi bakterilerdir. Gram boyası ile zayıf, Romanowsky ve Giemsa boyası ile iyi boyanırlar (50).

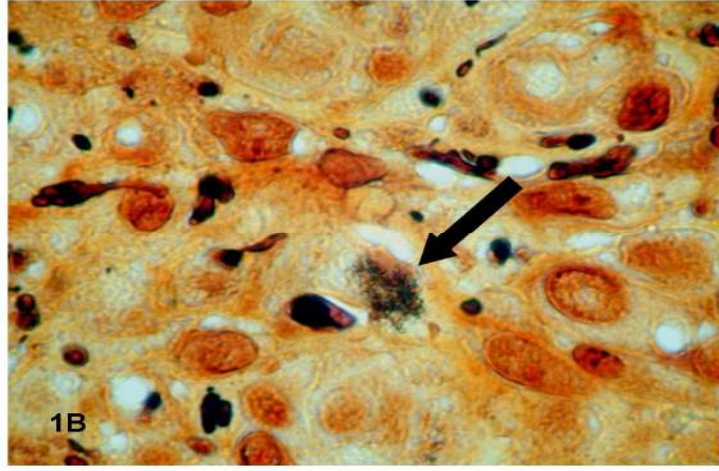


Resim 1. *Bartonella bacilliformis*' in Giemsa boyama ile eritrosit içerisinde kümeler halinde görüntüsü (100X büyütme objektif, ışık mikroskobu)(51)

Gram boyamada *B. henselae* ve *B. quintana* gram negatif, hafif yuvarlak çomak, *B. elizabethae*, *B. bacilliformis* ve *B. vinsonii* daha büyük ve düzgün şekilli görünürler. Otoaglutinasyon özelliklerinden dolayı Gram boyamada bir araya toplanarak kümeler şeklinde görülmektedirler (52).

Kanın yayma preparatlarında eritrositler içinde tek tek veya kümeler halinde yuvarlak, elips, silindir, düz veya eğri basiller olarak görünürler. Doku kesitlerinde Whartin-Starry gümüş boyası ile kümeler halinde görünürler. Eritrositik formları birçok anilin boyası ile parlak beyaz olarak görülür. Asidorezistan boyanma özellikleri yoktur (34).

Bazı türlerde kirpik bulunmakta, *B. bacilliformis* ve *B. clarridgeiae*'de hareket kirpik ile sağlanırken, *B. henselae*'de titreme hareketi görülmektedir (11).



Resim 2. Whartin-Starry boyama ile *B. henselae* kümeleri siyah olarak boyanmış. (40x) (53)

Kültür ve üreme özellikleri

Bartonella türleri zor üreyen bakterilerdir. İntraselüler mikroorganizmalar oldukları için kanla zenginleştirilmiş katı besiyerinde ve hücre kültüründe üreyebilirler. En iyi üredikleri besiyerleri %10 koyun kanı eklenmiş beyin-kalp infüzyon agar ve Kolombiya agarlardır. Katı besiyerinde üremeleri, nemli ortam, %5-10 CO₂ ve hemine bağımlı olması nedeniyle yavaş ve güçtür. Hücre kültüründen izolasyonları kanlı agarda üremelerine göre daha hızlı ve daha duyarlıdır (54).

Bartonella henselae, eritrosit içi yerleşim gösterdiğinden kan kültürü yapılabilir. Ancak insanda bakteriyemi yapmasına rağmen hücre içi bakteri olduğundan kandan izolasyonu zordur. İnsanlarda kültür için karaciğer, dalak, lenf nodülü ve deri biyopsi örnekleri kullanılabilir (55).

Bartonella henselae izolasyonu için, beyin-kalp infüzyon agar ve triptik soy besiyeri defibrinize tavşan, at veya koyun kanı eklenerek hazırlanmalıdır. Çukulatamsı agar da izolasyon için kullanılabilir. Kanlı agarda üreme yavaştır ve ilk izolasyonda üreme 5-15 günde görülebilsede, bu süre bazen 45 güne kadar uzayabilir (10). *Bartonella henselae* ilk izolasyonda beyazımsı, kuru, karnıbahar görünümünde, agara gömülmüş ve koloni kaldırıldığında agarda izi kalan R tipi koloni oluşturmaktadır. Bazen ilk izolasyonda çiğ

damlası gibi, yumuşak, agara gömülmeyen, agar üzerinde kayan S tipi koloni görünümü de oluşabilir, hatta bu iki form aynı anda aynı plakta görülebilir (10,11,50). İlk izolasyonda üreme uzun zaman alırken, tekrarlayan pasajlarda üreme süresi 3-5 güne düşmektedir. Kanlı agardaki hemolitik olmayan kolonilerin karamel kokusuna benzer bir kokusu bulunmaktadır (11,50).

Bartonella quintana, *B. vinsonii* ve *B. elizabethae* kolonileri düzgündür ve besiyerine yapışık değildir. İnkübasyon ortamlarına göre değişmekle birlikte 10 günlük kültürlerde *B. vinsonii* ve *B. elizabethae* kolonileri (0,6-3,7 mm), *B. henselae* ve *B. quintana* kolonilerinden (0,5-1,5 mm) 4 kat daha büyüktür. *Bartonella henselae* fetal sığır serumu eklenmiş buyyonda da üreyebilmektedir. *Bartonella henselae*'nin kandan izolasyon oranı, örnekte lökosit ve eritrosit lizisi yapıldığında artmaktadır. Ayrıca EDTA'lı (etilendiamin tetraasetikasit) kan örneklerinin -70 °C'de 24 saat dondurup çözülürldükten sonra kanlı agarda kültürü ile kandan *B.henselae* izolasyon oranının arttığı bildirilmiştir (34,56-58).

Bartonella henselae, *Rickettsia* ve *Coxiella* gibi hücre kültürlerinde de üreyebilir. Hücre kültürlerinde shell vial tekniği ile üreme süresi katı besiyerlerine göre daha kısa ve izolasyon oranı daha yüksektir (8). *Bartonella* türleri, hücre kültüründe ko-kültürasyon ile izole edilebilirler. Hücre kültürü insan endotelial hücre tabakası (ECV 304 hücre dizisi vb) veya diğer hücre tiplerini (örn: Vero hücreleri, HELA hücreleri, L292 hücreleri) içeren "shell vial" veya "flask" içinde yapılabilir (59-61). Drancourt ve arkadaşları *B.quintana*'yı üretmede ECV 304 (devamlı insan endotel hücre dizisi) hücrelerini kullanmışlardır (62). Endotelial hücre kullanılarak yapılan kültür izolasyon oranını artırır ve izolasyon süresini kısaltır, ancak sık kullanılan bir yöntem değildir (63).

Biyokimyasal özellikler

Bartonella cinsindeki bakteriler, oksidaz, katalaz, üreaz, indol, dekarboksilaz ve nitrat redüktaz testlerinin de dahil olduğu biyokimyasal testlerin çoğunda negatiftir (11,15). Voges Proskauer testi pozitifdir. Karbonhidratlardan asit oluşturmazlar, biyokimyasal testlere peptidazlar dışında genellikle etkisizdir (34). Tablo-III'de *Bartonella* türleri ve *Brucella melitensis*'in ayırıcı özellikleri verilmektedir.

Tablo III. *Bartonella* türleri , alttürleri ve *Brucella melitensis*’ in ayırıcı özellikleri (34)

Özellik	<i>B. bacilliformis</i>	<i>B. elizabethae</i>	<i>B. grahamii</i>	<i>B. henselae</i>	<i>B. koehlerae</i>	<i>B. quintana</i>	<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>vinsonii</i>	<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>arupensis</i>	<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>berkoffii</i>	<i>B. melitensis</i>
Optimal üreme ısısı, C	25-30	35-37	35-37	35-37	35	35-37	35-37	35-37	35-37	36-38
Hemoliz	-	V		-		-	-	-	-	-
Oksidaz	-	-		-		V	V	-	-	+
Katalaz	+	-		V		-	V	-	V	+
Nitrat redüksiyonu	-	-		-		-	-	-	-	+
İndol	-	-		-		-	-	-	-	-
Üreaz	-	-		-		-	-	-	-	+
Glikoz oksidasyonu/ fermentasyonu	-	-	-	-		-	-	-	-	+
Voges-Proskauer	-	-	+	-		-	-			-
Bis p-nitrofenil-fosfataz	+	+		+	+	v	+	+	+	-
L-Lösin-Beta naftilamidaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
DL-Methiyonin-Beta- naftil-amidaz	+	+		+	+	+	+	W	+	+
L-Lizin-Beta naftilamidaz (alkali)	+	+		+	+	+	+	+	+	+
L-Lizin-Beta naftilamidaz (asid)	+	W		+	-	-	-	-	+	-
Glisilglisin-beta- naftilamidaz	+	+		+	+	+	+	+	+	+
Glisin-beta- naftilamidaz	+	+		+	+	+	+	+	+	+
L-Prolin-beta- naftilamidaz	-	-	+	+	-	+	V	-	+	+
L-Arginin-Beta- naftilamidaz	+	+		+	+	+	+	+	+	+
L-Prolidonil-Beta- naftilamidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Triptofan-Beta- naftilamidaz	+	+		+	+	+	+	+	+	-
Kirpik	+	-		-	-	-	-	-	-	-
Kıpırdama hareketi (twitching motility)		-		+	-	+	-	-	-	

Patogeneze ve virölans faktörleri

Bartonella cinsi bakteriler eritrosit, kemik iliği hücreleri ve endotel hücrelerini tutabilen fakültatif hücre içi bakterilerdir (7). Memelilere bulaş artropodların kan emmesi ya da direk teması ile olmaktadır. Patogeneze eritrosit, endotelyal hücre ve makrofajlarla olan etkileşim önemlidir (64). İnsanlar için patojenik olan on *Bartonella* türünden en çok üçü enfeksiyona neden olur (*B.bacilliformis*, *B.quintana* ve *B.henselae*). Bu patojenler intraeritrositik bakteriyemi, patolojik anjiogeneze ve multisistemik tutulumu neden olabilirler (7,64).

İnsanlara bulaş ve kolonizasyon

Bartonella türleri insan vücut biti, kedi piresi, tatarcık sineği ve kenelerin kan emmesi ile ya da rezervuar hayvanların tırmalama, ısırması sonucu travmaya bağlı bulaşır. Dolaşım sistemine geçen *Bartonella*'lar ikincil odaklara giderler, bu odaklar kalp kapakçıkları, karaciğer, dalak (*B. quintana*, *B. henselae*) ve derinin damar yatakları (*B.bacilliformis*) 'dır (65,66).

Eritrosit parazitizmi

Bütün *Bartonella* türleri eritrositleri infekte eder. Eritrosit tropizmini sağlayan faktörler flagella ilişkili hareket ve *trw* gen bölgesi ile kodlanan tip IV sekresyon sistemi ile ilişkili yüzey proteinleridir. Flagella ilişkili hareketi daha çok *B.bacilliformis* kullanırken, flagellasız *B.henselae* ve *B. quintana* *trw* ile kodlanan Tip IV sekresyon sistemi ilişkili yolu kullanırlar (67,68). *B. bacilliformis* ve *B.henselae* eritrosit hücre membranında hasar oluşturup, içine girmeyi sağlayan hidrofobik faktör deformin salgırlar. Eritrosit invazyonuna aracılık eden diğer proteinler, *B. bacilliformis* ile yapılan bir çalışmada *ialA* ve *ialB* genlerince kodlanan protein yapıdaki invazinerler olarak bulunmuş ancak tam rolleri anlaşılamamıştır (69). Ayrıca eritrositlere invazyonda hemolitik proteinler hemolizin ve kohemolizinler de rol oynar. Hemolizin konak hücrelerden ve vakuollerden korunmayı sağlarken, kohemolizin hemoliz reaksiyonunu artırıcı sinerjistik etki gösterir (70).

Endotelyal hücre parazitizmi

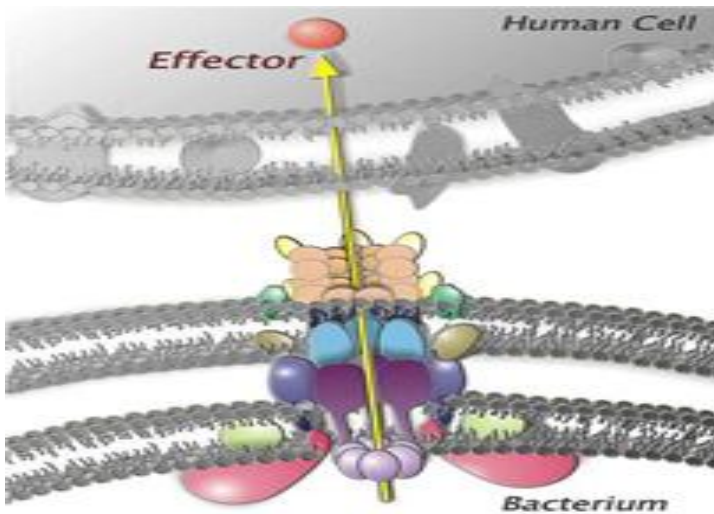
Bartonella'ların endotel hücrelerine tutunup girmesinde etkili protein 'trimetric autotransporter adhesins' (TAAs) olarak adlandırılan dış membran proteinleri (*outer membran proteins:omp*) etkilidir. *Bartonella henselae*'de bulunan TAA (BadA) endotel

hücrelerinde bulunan $\beta 1$ -integrinlere ve birçok ekstraselüler matriks proteinlerine bağlanan adezinlerdir. BadA proteini ayrıca makrofajlarda fagositozu inhibe eder ve otoagregasyona neden olur (71,72). *Bartonella quintana*'da bulunan TAA' lar ise tip IV kollajene bağlanırlar, otoagregasyona ve kronik bakteriyeminin artışına neden olurlar (73). *Bartonella bacilliformis*'in endotelial hücrelere girmesinde aktin iskeletinde deformasyona neden olan aktin GTPaz'lar, Cdc42, Rho ve Rac gibi GTP'e bağlanan proteinleri kullanır (74).

Konak hücre hasarı

Bartonella'ların virülansında Tip IV sekresyon sistemi (T4SSs), bakteriyel efektör proteinlerin (Bep) konak hücreye girmesinde etkilidir (75). Tip IV sekresyon sistemi, gram negatif bakterilerde bulunan, bakteriler arası DNA aktarımına konjugasyonla aracılık eden ve ökaryotik konak hücrelere virülans faktörlerinin geçmesini sağlayan taşıyıcı sistemdir. Multiprotein kanalları içeren T4SSs, bu bakterilerden salınan bakteriyel proteinleri enfekte endotelial hücrelere taşırlar (64).

Bartonella henselae ve *B. quintana* T4SSs'ni kullanarak Bep'lerin konak hücreye geçişine neden olurlar. Bu proteinler konak hücreye geçerek endotelial hücrelerin aktin iskeletinde değişikliğe neden olurlar ve bu hücrelerin ölümünü inhibe ederler (76). Tip IV sekresyon sistemi *Bartonella*'larda *virB*, *virD*, *trw* gen bölgelerinde kodlanmaktadır (64,77). Bu gen bölgelerinden efektör proteinlerin konak hücreye geçişini sağlayan 11 farklı protein molekülünü *vir B* gen bölgesi kodlar. Pilus ve pore kompleksini *vir D* gen bölgesi kodlar, *trw* gen bölgesi ise eritrositlerle bakteri etkileşimiyle ilgili proteinleri kodlar (64).



Resim 3. *Bartonella* türlerinde Tip 4 sekresyon sisteminin (T4SS) şematik gösterimi (64).

Anjiogenez

Bartonella infeksiyonlarının patogeneğinde anjiogenez önemli bir süreçtir. Anjiogenez yeni kan damarlarının oluşumu demektir, vücutta üretilen bazı kimyasalların etkisi ile ya hasar görmüş kan damarları onarılır ya da yenileri oluşturulur (78). *Bartonella bacilliformis*'in insan umbilical ven hücrelerinin (HUVECs) çoğalmasını uyaran solubl protein sentezlediği *invivo* olarak gösterilmiştir. Bu protein GroEL olarak adlandırılmaktadır, ekstraselüller GroEL proteinin HUVECs çoğalmasını uyardığı, intraselüler olarak ise apoptozisi tetiklediği saptanmıştır (78,79). *Bartonella henselae* ise TAA aracılığıyla 'hypoxia-inducible factor' (HIF)-1'ü aktive eder ve proanjiogenik regülatör olan BadA ekspresyonuna neden olur (80). HeLa229 hücreleri *B. henselae* ile infekte edilmiş ve HIF-1 aktivasyonunun VEGF ve IL-8 salınımını arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca BepA ve BepD proteinlerinin anjiogenezi stimüle ettiği, Bep G'nin ise inhibe ettiği gösterilmiştir (81).

Bakteriyel replikasyon ve persistans

Bartonella'lar ihtiyacı olan protoporfirin IX (PPIX) ve hem (Fe^{+2} -PPIX)'i sentezleyemedikleri için bunları hemoglobin ve hemi içeren eritrositlerden alırlar, bu nedenle konak hücre olarak eritrositleri seçerler. Konak hücre hemine bağlanan Hbps (Hem binding proteins) bakteri yüzeyine hemi bağlar ve yüzeyde antioksidan bir bariyer oluşmasını sağlar (82). Oluşan bu bariyer sayesinde hücre içine giren *Bartonella*'lar ortamın ısı değişikliklerinden, reaktif oksijen ürünlerinden, pH değişikliklerinden ve osmolarite dalgalanmalarından korunmuş olur. Hemine bağlanmayı sağlayan Hbps *B. bacilliformis* 'de üç, *B. quintana* ve *B. henselae*'de beş olmak üzere *Bartonella* grup 3 omp gen ailesi tarafından kodlanır (64).

Tablo IV. *Bartonella*'ların patojenik faktörleri (64)

Virülans faktörleri	Fonksiyonları
Anjiogenik faktör	Endotelial hücre proliferasyonunu stimüle eder
Deformin	Eritrosit membranında deformasyon oluşturur
Flagella	Hareket, eritrositlere bağlanma ve invazyon
Hemolizin	Hemoliz
Hbp/Pap 31	Omp ailesi, hemin bağlayan proteinler
IalA-B	Eritrosit invazinleri
Iba	Ototransporterler, adhezinler
LPS	Lipopolisakkarit
Omp43	Endotel hücreleri için adezin
pili	Type IV-like pili, seyirme hareketi, hücre adezyonu
Trw	T4SS, eritrositik hücre infeksiyonu
VirB-D4-Bep	T4SS, endotel hücre fonksiyonlarının tahribi

İnfeksiyonları

Bartonella türleri için birçok hayvan rezervuardır ve tipik olarak bu hayvanlarda hastalık oluşturmazlar. *Bartonella* türlerinin hayvanlar arasında ve insana yayılımı, kolonize olduğu hayvanlardan ya doğrudan temasla ya da vektörlerin ısırması ile (kum piresi, bit, pire gibi) olmaktadır. *Bartonella* infeksiyonlarının çoğu tekrarlayan ateş veya anjiyoproliferatif lezyonlar ile karakterizedir.

Kedi Tırmığı Hastalığı

Kedi tırmığı hastalığı çocuk ve erişkinlerde bölgesel lenfadenopati (LAP) ile seyreden bir hastalıktır. İnfeksiyon insanlara kedi piresi (*Ctenocephalides felis*) feçesiyle kontamine olmuş kedi tırnakları ya da dişleri ile yaralanma sonrası bütünlüğü bozulmuş deriden *B.*

henselae'nın geçişi ile bulaşır. Hastaların %75-90'ında kediyile temas öyküsü vardır. Kedi tırmığı hastalarının %55-80'nini 20 yaşın altındaki bireyler oluşturmaktadır (83-85).

Kedi tırmığı hastalığı tipik ve atipik form olmak üzere iki formda gelişir. Tipik formda tırmalama veya ısırma yerinde 3-12 gün içinde 2-10 mm çapında ağrısız eritematöz papül veya püstül şeklinde bir primer lezyon ortaya çıkar ve genellikle iz bırakmadan 2-4 hafta içinde iyileşir. Takiben gelişen bölgesel lenfadenopati en önemli klinik belirtidir (14).

Lenfadenopatiler etkenle temastan sonra %90 1-7 hafta içinde gelişir, tek taraflı ve sıklıkla ağrısızdır. Primer olarak aksiller bölgede ve daha az oranda servikal ve inguinal bölgede görölmektedir. Olguların %50'sinde tek, %30'unda birden çok bölgede ve %20'inde aynı bölgede birden fazla LAP şeklinde görölmektedir. Lenfadenit genellikle 2-4 ay kadar devam eder ancak bazı olgularda daha uzun süre kalabilir. Olguların %10-30'nda lenf bezlerinde süpürasyon gelişir, nadiren jeneralize LAP görölür (86).

Kedi tırmığı hastalığında düşük derece ateş, titreme, halsizlik, anoreksi, bulantı ve baş ağrısı gibi semptomlar görölebilir. Bazı KTH olgularında tanımlanan abdominal ağrının hastalık esnasında gelişen granümatöz karakterdeki hepatit/splenite bağlı olduğu düşünölmektedir (14). Fizik muayenede, bakterinin konağa giriş yerinde gelişen eritematöz, papül veya püstüller ile olguların %30-60'ında düşük derece ateş ve gövdede geçici makülopapüler döküntü (%5) saptanabilir (87). Hastalık sırasında ağır belirtiler görölebilmesine karşın kendiliğinden iyileşen bir klinik seyir ortaya çıkmaktadır. İmmünitesi sağlam bireylerde KTH spontan olarak 2-5 ay içerisinde nadiren bir sekel bırakarak iyileşmektedir. Ancak AIDS, malignite, immün süpresif ilaç kullanımı gibi immün sistemi baskılanmış hastalarda yaygın lenfadenopati ve yaşamı tehdit eden klinik tablolar gelişebilir (8,14). Son yıllarda olgularda %10-25 KTH'nın atipik formunun geliştiği bildirilmiştir (87).

Atipik form, uzun süreli ateş, Parinaud oküloglandüler sendrom (%5-6), nöroretinit, endokardit, ensefalit, eklem ağrısı, artrit, sinoviyit, osteomyelit (%0-3), pnömoni (%0-2) ve granümatöz hepatit olarak ortaya çıkabilir (88-90).

Kedi tırmığı hastalarında %1-7 oranında nörolojik semptomlar görölmektedir (84). En sık tanımlanan nörolojik komplikasyon olan ensefelopati, KTH hastalarının %2-4'ünde bildirilmiştir. Genellikle LAP geliştikten 1-3 hafta sonra görölen ensefalit tablosu, baş ağrısı, konvülsiyon, konfüzyon, huzursuzluk, irritasyon, dezoryantasyon, kranial sinir felci, ataksi ve koma gibi nörolojik bozukluklarla seyretmektedir (8,84). Tanıda nörolojik muayenede ense sertliği sıklıkla saptanabilir. BOS költürü ve biyokimyası ise tanıya yardımcı değildir.

Genellikle ensefalit kendiliğinden sınırlanan bir tablo olduğu için özgül tedaviye gerek yoktur. Nadiren kalıcı kas güçsüzlüğü ve zayıflık görülebilir (8).

Kedi tırmığı hastalığı olgularının %1-2'sinde sıklıkla LAP veya influenza benzeri bir tabloyu takiben nöroretinit gelişir, ağrısız, tek taraflı ani görme kaybı ile karakterizedir. Göz dibi muayenesinde yıldız patlaması görünümü ile birlikte papil ödemi gözlenir (87). Ancak bu bulgular KTH için patognomonik olmadığından *B.henselae*'ya karşı antikor titre artışının gösterilmesiyle tanı doğrulanabilir. Nöroretinit, immün sistemi yeterli olgularda kendiliğinden iyileşir. Kedi tırmığı hastalarında panüveit, subakut orbital apse, koriodit, optik sinir büyümesi, retinal arter tıkanması ve peripapiller anjioma gibi oküler patolojiler de bildirilmiştir (87,89).

Kedi tırmığı hastalığının en önemli ve bazen tek bulgusu olan LAP, lenf nodüllerinde büyümeye neden olan lenfoma, sarkoidoz, tüberküloz, veba, toksoplazmoz, tularemi, histoplazmoz ve sifiliz gibi enfeksiyonlarla karışabildiğinden ayırıcı tanıda dikkate alınmalıdır (14,87). Kedi tırmığı hastalığı kendiliğinden iyileşen bir hastalık olması ve *B.henselae*'nın invitro olarak birçok antimikrobik ajana duyarlı olmasına rağmen, antimikrobiklerin KTH tedavisinde kullanımı yararlı olmamıştır. Ancak süpüratif komplikasyonlarının tedavisinde aminoglikozidler, özellikle de gentamisin etkili olarak gösterilmiştir (88-90).

Basiller Anjiyomatoz

Basiller anjiyomatoz (BA) ilk olarak 1983'te tanımlanmıştır, *B.henselae* ve *B.quintana*'nın neden olduğu yaygın vasküler proliferasyon ile sonuçlanan bakteriyel enfeksiyondur. *İn-vitro* çalışmalarda bu hastalıktaki etkenlerin, yeni kan damarlarının oluşumunu ve endotelial hücrelerin çoğalmasını ve göçünü etkilediği gösterilmiştir (91). Özellikle HIV pozitif olgularda olmak üzere immün yetmezlikli bireylerde deri, bölgesel lenf nodülleri, karaciğer, dalak, kemik, beyin, akciğer ve bağırsaklar gibi organ ve dokularda anjiogenezi stimüle ederek BA tablosunun gelişimine neden olmaktadır (14). Kutanöz BA en sık görülen formdur. Vasküler proliferasyona bağlı olarak gelişen BA, deri ve deri altı dokuda etrafı normal deri renginde veya açık-parlak kırmızı renkte, boyutları milimetreden santimetreye kadar değişen seröz veya kanlı sıvı içeren tek veya çok sayıda (>100) nodülle karakterizedir (8). Benzer lezyonlar muköz membranlar ve yumuşak dokularda da görülebilir. Deri tutulumu ile Kaposi sarkomuna benzemekle birlikte, yapılan histolojik inceleme sonucunda epitelooid hemanjiomlar görülür (14,87).

Basiller anjiyomatozda kemik ve kemikiliği tutulumuna bağıli geniş osteolitik lezyonlar oluşabilir. Visseral tutulumda basiller hepatik peliyoz veya dissemine vasküler lezyon oluşabilir. Basiller anjiyomatozun lezyonları konjonktiva, orbita, kalp, diyafram, biliyer sistem, kaslar, karaciğer, dalak, lenf nodları, genital yol, santral sinir sistemi, üst ve alt solunum yolu, gastrointestinal yolun mukozal yüzeylerinde de gösterilmiştir (30). Basiller anjiyomatozda semptom ve bulgular tutulan anatomik bölgeye göre değişim gösterir, ateş, lenf nodüllerinde hassasiyet, deri lezyonları, anemi ve hepatosplenomegali gibi özgün olmayan belirti ve bulgular ortaya çıkabilir (91).

Basiller anjiomatoz tanısında histopatolojik deri veya diğer organ biyopsilerinin incelenmesinde anjiyoproliferatif lezyonlar ve Whartin-Starry boyası ile kümeler halinde bakterilerin görülmesi ile konmaktadır. Basiller anjiyomatozlu hastaların büyük çoğunluğu immün yetmezlikli olması nedeniyle tanıda serolojik testlerin kullanımı sınırlıdır (34).

Kutanöz BA, oral ya da parenteral tedavi ile sağaltılabilir. Eritromisin, rifampin, tetrasiklinler, gentamisin tedavide kullanılmaktadır. Ancak tedavinin kesilmesini takiben relapslar sık oluşmaktadır. Lezyonların deri ile sınırlı olduğu durumda, cerrahi olarak eksizyon ile çıkarılabilir (92).

Endokardit

Kalp kapakçıkları ve endokardın enfeksiyonu olan endokardit birçok mikroorganizma ile meydana gelmektedir. En sık endokardit etkenleri % 60-80 streptokoklar, %20-35 stafilokoklar, %5-20 kültür negatif endokardit etkenleri, %2-4 mantarlar ve %1-3 gram negatif basillerdir. *Bartonella* türü bakteriler, *Coxiella burnetti*, *Brucella spp.* vb. bakteriler gibi kültür negatif endokarditlere neden olurlar (93,94). Kültür negatif endokardit; infektif endokardit kriterlerine uyan bir hastada, birbirinden bağımsız üç kan kültüründe yedi günlük inkübasyon sonunda üreme saptanamaması ve etyolojisinin bulunamaması durumudur (95,96).

Kültür negatif endokarditte tanı koymak zor olduğundan diğer kültür negatif endokardit etkenleri (*Legionellozis*, *Haemophilus aphrophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* ve *Kingella kingae* enfeksiyonları) ile geç ve yavaş üreyen streptokoklarla birlikte *Bartonella spp.*'de düşünölmelidir (88,97).

Bartonella türleri %28 oranında kan kültürü negatif endokarditlerden izole edilmektedir. Bu türler; *B. quintana* (%75), *B. henselae* (%24), *B. koehlerae*, *B. elizabethae*, *B. vinsonii subsp. Berkhoffii*, *B. vinsonii subsp. arupensis*. olarak bildirilmiştir. *B.henselae*'nın neden olduğu, mortalite oranının %7'ye ulaştığı bildirilmektedir (34,88).

Kan kültürünün Gram boyalı preparatlarında değişken boyanan, pleomorfik, eğri bakteriler görülmesi halinde etkenin *Bartonella* olabileceği düşünülmelidir (16,34). Endokardit tanısı genellikle antikor varlığının gösterilmesi ile konulmaktadır. Kalp kapak tutulumu olguların yaklaşık %80'inde görülmesine rağmen, çoğunlukla prognozu iyi olup olguların %80'inden fazlası hayatta kalır (97).

Oküler Lezyonlar

Bartonella'ların oluşturduğu göz infeksiyonları sıklıkla unilateral nöroretinit şeklindedir. Nöroretinite en sık *B. henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae* ve *B. grahamii* neden olur. Nadir olarak retina ya da optik diskin fokal inflamatuvar tutulumu da görülebilir (98,99). Görme alanında santral ya da parasantral skotom, ya da fizyolojik kör nokta genişlemesi gibi değişiklikler saptanır, floresan anjiyografide ise retinal damarlardan sızıntı görülebilir. Bartonellozda ayrıca anterior üveit, intermediate üveit ve göz apseside görülebilir. Basiller anjimatozlu HIV-seropozitif hastalarda subretinal neovasküler granülom bildirilmiştir (100,101).

Oroya Ateşi ve Verruga Peruana

(Carrion Hastalığı)

Carrion hastalığının akut form Oroya ateşi ve kronik form Verruga Peruana olmak üzere iki formu vardır. İnfekte kum sineklerinin (*Lutzomyia verrucarum*) insanlardan kan emerken *B. bacilliformis*'i bulaştırmasıyla, kapiller endotel hücrelerinde lokal infeksiyon sonucu asemptomatik primer infeksiyon oluşur (102). Asemptomatik bakteriyemi 15 aya kadar uzayabilir. Bazı vakalarda ise bakterilerin eritrositlere girip, ekstravasküler hemolizlerine yol açması ve eritrositlerin makrofajlarca fagositozuna bağlı hemolitik anemiyle karakterize Oroya ateşi gelişir. Oroya ateşinde bakteri bulunan eritrositlerin oranı ile ilişkili derin anemi ve nadiren ölüm görülür. Mortalite tedavi edilmeyen hastalarda %40'lara kadar çıkmaktadır (102, 103).

Hastalığın Verruga Peruana olarak da adlandırılan kronik döneminde verrugalar ve nodüler anjiyoproliferatif kutanöz lezyonlar görülür. Lezyonlar mukozal ve visseral olabilir, aylarca kalabilir, ancak prognoz iyidir. Bu hastalar bakterinin olası rezervuarlarıdır (104).

Siper Ateşi (Trench fever)

Siper ateşi *Bartonella quintana* 'nın neden olduğu, baş ağrısı ve peritibial ağrı ile akut olarak başlar, rekürren ateş epizodlarıyla seyreden klinik tablo oluşturur. Epizod sayısı üç ile beş, bazen daha fazla olabilir. Ateş epizodları dört ile beş gün sürmekte ve her epizod 15-25 günlük inkübasyon süresi sonunda meydana gelmektedir. Akut belirtiler genellikle kendiliğinden geçer. Uzamış bakteriyemili hastalarda endokardit ve basiller angiyomatozis oluşumu ilişkili bulunmuştur (105).

İnfeksiyonun hafif formu ve asemptomatik taşıyıcılar rapor edilmiştir. Siper ateşi vücut biti *Pediculus humanus* 'un bağırsaklarına geçen bakterinin burada çoğalması, dışkıında yüksek konsantrasyona ulaşması ve bitin insanları ısırıldığı yerlerdeki kaşıntı ile oluşan çiziklerden deriyi geçmesiyle insanlara bulaşmaktadır (106, 107).

Peliyoz

Hepatik peliyoz, karaciğer parankimine dağılan kistik, kan ile dolu lezyonlar ile karakterizedir. Hepatik peliyoz *B.henselae* infeksiyonu ile ilişkilendirilmektedir ve BA'un karaciğer tutulumu olduğu düşünülmektedir. HIV infeksiyonunun artmasıyla karaciğer ve dalağı tutan peliyoz vakalarının da sayılarının arttığı bildirilmiştir. Diğer iç organların parankimal basiller peliyozu (dalak, kalp, larinks, akciğerler, adrenal bezler, serviks, overler, pineal bez ve koroid pleksus gibi) de bildirilmiştir (108).

Bakteriyolojik Tanı

Örnek alınması, taşınması ve saklanması

Bartonella 'ların izolasyonu için genellikle kan ve doku örnekleri alınmaktadır. Ancak bu mikroorganizmanın hassas yapısı nedeniyle, örnek alındıktan sonra en kısa sürede işleme alınmalıdır. *Bartonella* türlerinin immünitesi yeterli bireylerde, immün sistemi baskılanmış bireylerden alınan kan örneklerine göre izolasyonu oldukça zordur. Kan örnekleri; lizis solusyonu içeren tüplere, sodyum sitrat içeren tüplere veya etilendiamin tetraasetik asit

(EDTA) içeren tüplere alınmalıdır. Eğer kültür yapılmadan önce örneğin saklanması gerekiyorsa, örnekler mutlaka dondurularak (en az -20 °C) saklanmalıdır. *Bartonella* türleri birçok antibiyotiğe duyarlı olduğundan örnek mutlaka antibiyotik tedavisine başlanmadan önce alınmalıdır (34,109).

Doku örnekleri, kutanöz lezyonlardan, büyümüş lenf nodlarından, karaciğer, dalak, kalpten, çeşitli organlardan alınabilir. Alınan doku örnekleri homojenize edildikten sonra kültürü yapılabilirdi gibi, bu örnekler ile moleküler testler çalışılabilir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) amplifikasyonu için taze doku örnekleri uygundur; ayrıca parafinde saklanmış doku örnekleri de bu amaçla kullanılabilir (109).

Mikroskopik inceleme

Bartonella'lara bağlı oluşan infeksiyonlarda hastalardan alınan doku yayma örnekleri Brown-Hopp doku, Gram boyama ve Whartin-Starry gümüş boyama yöntemleriyle boyanarak küçük, kıvrık, çomak şeklinde bakteriler görülebilir. Doku yaymalarının Whartin-Starry gümüş boyası ile boyanması ise *Bartonella* türlerinin saptanmasında yüksek özgüllüğe sahip bir yöntem değildir (14,34).

Kedi tırmığı hastalığında, lenfadenopatinin histopatolojik incelemesinde, merkezinde mikroapse ve polimorf çekirdekli lökositler içeren nekrotizan granülomların görülmesi karakteristiktir. Kedi tırmığı hastalığında Whartin-Starry gümüş boyası yöntemi ile basilin saptanması, lenfadenopatinin erken dönemlerinde mümkün olabilmekte ancak enflamasyonun granümatöz safhasında faydalı olmamaktadır (40,110). Bir vasküler tümör olan BA'da mikroskopik olarak yeni vasküler proliferasyon görülmesi tanıda önemlidir. İmmün baskılanmış bireylerde anjiogenez olmaksızın karaciğer, dalak, lenf nodları, kalp, akciğer, kemik ve kas dokusunda lenfositik infiltrasyonlar ve merkezi nekroz odakları gözlenir. Gümüşleme boyaması ile bakteri topluluğu saptanabilir (8,111). Peliyozda içi kanla dolu, birkaç milimetre çapta kistik lezyonlar görülebilir. Lezyonların karaciğerde bulunması peliozis için karakteristiktir, ancak nadiren dalakta da bulunabilir. Elektron mikroskopik inceleme ile doku örneklerinde bakteri saptanabilir (110).

Kültür

Bartonella 'ların üretilmelerinde besiyeri olarak tavşan, at ya da koyun kanı eklenmiş beyin-kalp infüzyon agar, Kolombiya agar, çukulatamsı agar ve kanlı agar kullanılabilir.

Ancak üreme süreleri oldukça uzundur, ilk kültürlerde 10-12 günde görülürler, süre bazen 45 güne kadar uzayabilir. *Bartonella* türleri aksenik ortamda %5 CO₂ ve 37⁰C’de daha iyi üremektedir. *Bartonella bacilliformis* ise 30⁰C’de, nemli ortamda daha iyi ürer (50,55).

Bartonella türlerinin hücre içi bakteri olmalarından dolayı kanlı agara ekimden önce kan örneğinin lizisi ve sanrifüjlenmesi ya da dondurulması işlemleri sık kullanılmaktadır. Kültür için sıvı besiyeri de geliştirilmiştir, %5 CO₂ içeren nemli ortamda 35 derecede 7-12 gün boyunca sürekli çalkalanarak inkübe edilmesi önerilmektedir (111). ‘Bartonella-Alphaproteobacteria growth medium-BAPMG’ olarak adlandırılan bu sıvı besiyeri insektler için besiyeri olan DS2 (Mediatech, Herndon,VA) üzerine birçok amino asit, NAD (Nicotinamide adenine dinucleotide), NADP (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate), ATP (Adenosine triphosphate), sodyum pirüvat, maya ekstresi ve %5 koyun kanı ilave edilerek yapılmaktadır (34,112).

Serolojik testler

Bartonella infeksiyonlarının laboratuvar tanısında, kültür ve diğer izolasyon tekniklerinin zaman alıcı ve zor olması, ayrıca sonuçların alınabilmesi için haftalar süren bir zamana gerek duyulmasından dolayı, serolojik yöntemler daha faydalıdır. Ancak, serolojik testler kullanıldığında *Bartonella* türleri arasında çapraz reaksiyonlar olabildiği gibi, *C. burnetti* ve *Chlamydoiphilia* türleri gibi diğer patojenik bakterilerle de çapraz reaksiyonlar oluşabileceği bildirilmiştir (110, 113).

Bartonella’lara karşı oluşan antikorların saptanması için sıklıkla indirekt floresan antikor (IFA) yöntemi ve enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), yöntemleri kullanılmaktadır. Özellikle IFA yöntemi CDC tarafından BA tanısı için geliştirilmiştir (13,87). *Bartonella* türleri için IFA testinin duyarlılığı %84-88, özgüllüğü %94-96 olarak bildirilmiş, ELISA yönteminin ise IgM $\geq 1/250$ titreleri için duyarlılığının %83-95, özgüllüğünün %95’e ulaştığı belirtilmektedir (114).

İndirekt floresan antikor tekniğinde yüzeyi spesifik antijenle kaplanmış lamaların üzerine antikor içeren serum örneği eklenir, daha sonra bağlanmayan immünglobinleri uzaklaştırmak için yapılan yıkama işleminden sonra oluşan antijen-antikor kompleksine bağlanıp görünür hale getirilebilmesi için floresanla işaretlenmiş anti-human globülin eklenir ve immünfloresan mikroskopta inceleme yapılır. Antijen olarak bakteri suşuyla infekte Vero hücreleri ya da Vero hücrelerinde üretilmiş bakteriler kullanılmaktadır. Bu yöntemde serum

örnekleri sulandırılarak uygulanmalıdır. En yüksek dilüsyondaki pozitifliğe göre pozitiflik saptanır, elma yeşili renginde basil morfolojisinin görülmesi pozitifliği göstermektedir (8).

Akut infeksiyonlarda daha önce IgM (ilk 2-3 ayda) olmak üzere IgG’de de pozitiflik saptanır, IgM titrelerinin $\geq 1/16$ olması infeksiyonun erken döneminin göstergesidir. Tekrarlayan infeksiyonlarda ise IgM genellikle pozitif saptanmazken, IgG’de pozitiflik saptanır. IgG için $\geq 1/256$ titreler geçirilmekte olan infeksiyonu ifade ederken 1/64 ve 1/128 titreler şüpheli kabul edilmektedir, $\geq 1/512$ dilüsyonlar ise tanı koydurucudur (8). Düşük antikor titreleri hastalığın başlangıç dönemlerinde, hastalığın sonunda ya da sadece etkenle karşılaşma durumunda saptanabilir (8,114,115).

Hastalarda ilk başvuru anında çok yüksek düzeyde IgG antikorlarının varlığı, IgG antikorlarının uzun süre yüksek düzeylerde kalabilmesi ve bazı hastalarda antikor yanıtının gelişmemesi infeksiyonun serolojik olarak tanısını güçleştirebilir (87). İdeal olarak akut infeksiyon tanısı, akut ve konvelesan serum örneklerindeki IgG titre artışının gösterilmesi ile konulmaktadır. Antikor tıresinde 4 kat artış olması da KTH lehinedir (8,107,108).

Merkezi sinir sistemi ve göz infeksiyonları gibi atipik KTH formlarında serolojik testler tanıda oldukça faydalıdır (8).

Bartonella henselae antikorları için *B.quintana*, *Chlamydia* spp. ve *Coxiella burnetii* arasında çapraz reaksiyonlar nedeniyle yalancı pozitiflikler söz konusudur (12). Kedi tırmığı hastalığı şüpheli olgularda *B.henselae* antikorlarının negatif bulunması durumunda, etkenin *B.clarridgeiae* veya *Afipia felis* olabileceği düşünülmelidir (54).

Histopatolojik Tanı

Kedi tırmığı hastalığında lenfadenopatinin histopatolojik incelemesinde, epiteloid, eozinofil ve dev hücrelerin çevrelediği merkezi nekrozlu çok sayıda uydu abselerin görülmesi karakteristiktir. Brown-Hopp doku boyama ve Warthin-Starry gümüş boyama yöntemleriyle küçük, kıvrık, çomak şeklinde bakteriler görülebilir (63).

Basiller anjiyomatoz’da mikroskobik olarak yeni vasküler proliferasyonların görülmesi tanıda önemlidir. İmmün yetmezlikli bireylerde anjiyogenez olmaksızın çeşitli iç organlarda lenfositik infiltrasyonlar ve merkezi nekroz odakları gözlenir. Peliyozda içi kanla dolu milimetrik çaptaki lezyonların karaciğerde veya dalakta bulunması karakteristiktir. Elektron mikroskobik inceleme ile doku örneklerinde de bakteri saptanabilir (8,55).

Moleküler yöntemler

Bartonella izolatlarını tanımlamada moleküler teknikler de kullanılmaktadır. Moleküler teknikler ile tür düzeyinde tanımlama yapılabilmekte, aynı tür içindeki farklı genotipler saptanabilmektedir. Bu yöntemler: Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), Southern blotting, deoksiribonükleik asit (DNA) hibridizasyonu, “restriction fragment length polimorfizm” (RFLP), sekans analizi olarak sayılabilir (116-119).

Bu sistemlerde kullanılan hedef gen bölgeleri; sitrat sentazı kodlayan gen bölgesi (*glc A*), ısı şok proteinleri (*gro EL*), riboflavin sentazı kodlayan gen bölgesi (*rib C*), hücre bölünme proteini (*fts Z*) sayılabilir (82,93). Ayrıca *Bartonella* türlerinin tanımlanmasında 16S r RNA ve 23S r RNA arasında kalan gen bölgesinin sekansı da kullanılabilmektedir (120-121). ‘Multilocus sequence typing’ (MLST) sistemi, *B.henselae* izolatlarında farklı genlerdeki polimorfizm dağılımını saptamak amacıyla kullanılmaktadır. Bu sistem ile çeşitli sekans tipleri belirlenmiş ve üç farklı köken olduğu saptanmıştır. Bu verilere dayanarak tür içinde bulunan klonal popülasyon yapıları çözümlenmiştir (122, 123).

In-vitro Antimikrobiyal Duyarlılık

Bartonella izolatlarında antimikrobiyal duyarlılık testleri, antibiyotiklerin kanlı veya çukolata agara eklenmesi ile, kan ile zenginleştirilmiş besiyeri kullanılarak mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılabilir (124,125).

Antibiyotik duyarlılığını saptamada E test de (AB Biodisk, Solna, İsveç) uygulanabilir (126,127). *Bartonella* türlerinin antibiyotik duyarlılıkları hücre kültüründe veya besiyerleri kullanılarak saptanmıştır. Kullanılan bu çeşitli yöntemlerde antimikrobiyal ajanların *Bartonella* türleri üzerindeki bakteriyostatik etkisi benzer bulunmuştur (128,129). Antimikrobiyal duyarlılık testlerinde *Bartonella*’nın üremesi için gerekli olan koşullar Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü’nün kriterlerine uymamaktadır. Katı besiyerlerinin kullanıldığı durumlarda pek çok antibiyotiğe duyarlı bulunmuşlardır. Bu antimikrobiyal ajanlar; beta laktamlar, aminoglikozidler, kloramfenikol, tetrasiklinler, makrolidler (telitromisin de dahil), rifampin, florokinolonlar ve trimetoprim-sulfometoksazol olarak sayılabilir (128,130,131).

Fransa’da yapılan çalışmada 14 *Bartonella* türü için 28 antibiyotik kullanılarak MİK değerleri saptanmıştır. *B.quintana*, *B. vinsonii*, *B.henselae* ve *B.elizabethae*’nin antibiyotik duyarlılıkları benzer bulunmuştur (128).

Suşların %90'nının inhibe olduğu minimal konsantrasyon (MIK90) (MIK 90 değerleri 0.06 µg/ml olan antibiyotikler için), sırasıyla penisilin için 0.015-0.06 µg/ml, amoksisilin için 0.03-0.12 µg/ml (Amoksisilin betalaktamaz inhibitörleri ile kombine edildiğinde MIK değerleri değişmemiştir.), tikarsilin için 0.25 µg/ml, sefotetan için 1.0 µg/ml olarak bildirilmiştir. Oksasilin ve sefalotinin etkisi düşük olarak bulunmuş ve MIK90 değerleri sırasıyla 4 ve 16 µg/ml olarak bildirilmiştir. Geniş spektrumlu sefalosporinlerin MIK90 değerleri 0.06-0.5 µg/ml arası saptanmıştır. İmipenem MIK90 değeri 1 µg/ml, Aminoglikozidlerin MIK90 değerleri ise 0.12-8 µg/ml arasında bulunurken, aminoglikozidler arasında en etkili gentamisin bulunmuştur (128).

Makrolidlerin bakteriyostatik etkisi yüksek olarak bulunmuş, eritromisin MIK90 0.25 µg/ml, roksitromisin MIK90 0.06 µg/ml, azitromisin 0.03 µg/ml ve klaritromisin 0.03 µg/ml bildirilmiştir. Klindamisin MIK değeri ise 2-16 µg/ml arasında bulunmuştur. Doksisiklin ve rifampin için ise MIK90 0.25 µg/ml olarak bulunmuştur. Trimetoprim sulfometaksazol MIK90 değeri ise 1-5 µg/ml arasında bulunmuştur. Florokinolonlara hassasiyet ise değişken saptanmış olup perfloksasin, siprofloksasin, sparfloksasin için sırasıyla MIK 90 değerleri 8,2,0.12 µg/ml bildirilmiştir. Fosfomisin, vankomisin, kolitsin için ise sırasıyla 16-64, 2-16, 4-16 µg/ml olarak saptanmıştır (128,130).

Bartonella izolatları betalaktamlar, aminoglikozidler, makrolidler, doksisiklin ve rifampine yüksek oranda hassas bulunmuştur. Oksasilin ve sefalotin ise düşük etkili bulunmuştur. Klindamisin ve kolistin ise bakteriyostatik etkisi düşük olarak bildirilmiştir. Florokinolonlar ve trimetoprim-sulfametoksazole duyarlılık ise değişkenlik göstermiştir (128,130). Ancak *in-vivo* ve *in-vitro* duyarlılık çalışmaları uyumlu bulunmamıştır. Örnek olarak *Bartonella* türleri *in-vivo* penisiline dirençli bulunmuş, *in-vitro* MIK değeri oldukça düşük olarak bulunmuştur (130).

In-vitro antibiyotik duyarlılık testleri *Bartonella* türleri için hücre kültürü kullanılarak da yapılmıştır. Azitromisin, klaritromisin, diritromisin, eritromisin ve roksitromisinin *Bartonella* ve *Rickettsia* spp. için Vero hücre kültürlerinde 12 farklı konsantrasyonda yapılan çalışmada etkili antibiyotik dilüsyon konsantrasyonu floresan vermeyen hücre kültür katmanına göre değerlendirilmiştir. Sonuçta test edilen çoğu antibiyotik *Bartonella* organizmalarına etkili bulunmuştur (132,133). Ancak tüm bu antibiyotikler bakteriyostatik etkili bulunmuştur (132). *Bartonella*'lar üzerinde sadece aminoglikozidlerin sıvı besiyerinde (124), endotel

hücrelerinde (131) veya eritrositlerle kokültürü yapıldığında in-vitro bakterisidal etki saptanmıştır (134).

Tedavi

Bartonella bakterilerine bağlı infeksiyonların farklı olması nedeniyle, her bir tür için farklı tedavi yaklaşımı önerilmektedir (14).

Kedi tırmığı hastalığında azitromisin tedavisi plasebo kontrollerle farklı bulunmamıştır. Hafif ve orta dereceli KTH kliniği olanlarda, immün sistemi normalse antibiyotik tedavisi önerilmemekte, analjezik ve antipiretikler ile destek tedavisi yeterli görülmektedir. Belirgin lenfadenopatili hastalarda iyileşmeyi hızlandırmak ve mikrobiyolojik, histolojik inceleme için örnek alınması açısından pürülan LAP'lerin cerrahi direnaji önerilmektedir (55). Antibiyotik tedavisi, atipik ve tipik KTH'nda iğne aspirasyonu ile tedaviye yanıt vermeyen olgularda ve ağırlı LAP'li olgularda yaygın komplikasyonların gelişimini önlenmek amacıyla erken dönemde önerilmektedir. Farklı antibiyotiklerle yapılan çalışmalar olmasına rağmen KTH için ortak bir tedavi protokolü oluşturulamamıştır. Ağır lenfadenopatili hastalarda 1.gün 500 mg, 2-5. günlerde ise 250 mg azitromisin tedavisi önerilmektedir (14,55).

Atipik KTH olgularında hastalığın şiddetine göre antibiyotik seçiminin yapılması; hafif ve orta şiddetli infeksiyonlarda azitromisin, siprofloksasin ve trimetoprim-sulfometoksazol (TMP-SMZ), ağır olgularda ise gentamisin tedavisi önerilmektedir. Merkezi sinir sistemi infeksiyonu veya nöroretinit varlığında kan-beyin bariyeri aşan ve oküler dokulara penetre olan doksisisiklin veya azitromisin ile rifampin kombinasyonu, klaritromisin veya yeni kinolon antibiyotikler kullanılabilir. Tek ilaç kullanımıyla başarı sağlanamaması ve daha hızlı klinik iyileşmenin sağlanması amacıyla kombinasyon tedavisi uygulanmalıdır. Tedavi süresi en az 3 hafta olarak önerilmektedir. Nöroretinitli veya hepatosplenik KTH olgularında, antibiyotik tedavisine ek olarak steroid uygulamasının etkili olduğu da gösterilmiştir (135,136).

Basiller anjiomatoz, yaygın hastalık veya peliozis hepatis olgularında; doksisisiklin (200 mg/gün) veya azitromisin (250 mg/gün) ya da siprofloksasin (1000-1500 mg/gün) ile immün yeterli bireylerde 10-28 gün ve immün yetmezlikli bireylerde en az 2 ay süreyle tedavi önerilmektedir (137).

Siper ateşi ve endokardit gibi ciddi infeksiyonlarda ise *in-vivo* etkinliği yüksek olan ve birinin gentamisin olduğu ikili antibiyotik tedavisi önerilmektedir. Siper ateşinde 2 hafta 3 mg/kg/gün gentamisin ve 4 hafta günde 1 kez 200 mg doksisisiklin kullanılmaktadır. Endokardit tedavisinde 2 hafta 3 mg/kg/gün gentamisin ve 6 hafta günde iki kez 100 mg doksisisiklin/seftriakson kullanılmaktadır. Tedavi yetersizliğinde cerrahi girişim gerekebilmektedir (106, 107).

Korunma

Bartonella türlerinin doğada yaygın bulunması ve bazı türlerde bulaşma yolların kesin bilinmemesinden dolayı korunma yolları da açık değildir. Siper ateşi etkeni olan *B. quintana* insan vücut bitiyle (*Pediculus humanus*) bulaştığından, evsizlerde daha sık görülmektedir. Bu nedenle vücut bitiyle karşılaşma durumunda Dünya Sağlık örgütü (WHO) tedavi için erişkinlerde %1 permetrin (30-50g/kg erişkin dozu) giysiler için ise soğuk suda, (125-205mg/m²) %1 permetrin önerilmiştir. Tedavi altı haftada bir tekrarlanmalıdır (138).

Ev hayvanları veteriner hekim kontrolüne alınmalı, bu konuda yasal düzenlemelerin yapılmalı ve uygulanmalıdır. Özellikle immünyetmezliği olan kişiler, çocuklar ve genç erişkinler kedilerle temaslarında tırmalama ve ısırmaya yol açacak davranışlardan kaçınılmalıdırlar. Pireli kedilerle temastan sonra eller yıkanmalıdır. İmmünyetmezlikli kişiler, kedi sahibi olmak istediklerinde seronegatif kedileri tercih etmelidir. Etkenin kediler arasında taşınmasında pireler önemli rol oynadığından, kene, pire temizliği kedilerin infeksiyondan korunmasında esas önlem olmalıdır (63,138).

Epidemiyoloji

Bartonella türlerinin büyük çoğunluğu, vektör kaynaklı mikroorganizmalardır. Bazı *Bartonella* türleri, sınırlı coğrafik bölgelerde bulunmaktadır. Örneğin, *B. bacilliformis*'in vektörü olan kum sineği *Lutzomyia verrucarum*, sadece Güney Amerika'da bulunan Andes Dağları'nda yaşadığı için, *B. bacilliformis*'e daha çok bu bölgede rastlanır. *Bartonella henselae* ve *B. elizabethae* gibi diğer türler ise tüm Dünya'da görülebilmektedir. *Bartonella quintana* 'nın neden olduğu salgınlar ile ilgili en önemli raporlar I. ve II. Dünya Savaşları sırasında Avrupa'dan bildirilmiştir. Bu yıllarda özellikle *B. quintana*'nın neden olduğu siper ateşi vakaları sık görülmüştür. Bu salgınlar savaş yıllarında sanitasyon ve kişisel hijyenin yeterli olmaması ile yakın ilişkilidir (55).

Özellikle evsiz ve sokakta yaşayan kişilerde insan vücut biti *Pediculus humanus* ile enfestasyon sonucunda artropodun salgısında bulunan *Bartonella quintana*'nın bütünlüğü bozulmuş deriden girebileceği ve enfeksiyona neden olabileceğine dikkat çekilmektedir (55,139,140). *Bartonella henselae* ve *B. quintana*'nın oluşturduğu basiller anjiyomatoz için riskli gruplar ve risk faktörleri kronik alkolizm, HIV enfeksiyonu, intravenöz ilaç kullanımı, eroin bağımlılığı, düşük sosyoekonomik durum, vücut ve saç bitine maruz kalma, evsiz sokakta yaşam, kedi sahibi olma, kedi ısırması ve kedi tırmalamasına maruz kalma, kronik lenfositik lösemi, kemoterapi ve transplantasyon öyküsünün oluşturduğu bildirilmiştir. Genellikle immün yetmezlikli bireylerde görülmesine karşın immünitesi sağlam kişilerde de görülebilmektedir (87).

Evde beslenen kediler, *B. henselae*, *B. clarridgeiae* ve *B. koehlerae* için en önemli kaynağı oluştururlar. *Bartonella henselae*, kedi piresi *Ctenocephalides felis* ile kediden kediye bulaştırılır. Ancak kedi piresinin insanlarda meydana gelen enfeksiyonlardaki rolü kısıtlıdır. İnsanlarda meydana gelen enfeksiyon, enfekte kedi dışkısının kedi tırmalaması sırasında insana bulaşmasıyla meydana gelmektedir (54,140).

Enfeksiyon prevalansı, kedi pirelerinin bol bulunduğu ılık ve nemli iklimlerde sıklıkla daha yüksektir. Yapılan çalışmalar *B. henselae* 'nın Dünya genelinde kedilerde en yaygın *Bartonella* türü olduğu ortaya koymaktadır. Ayrıca moleküler yöntemler ile kedi pirelerinde *B. quintana*, *B. koehlerae* ve *B. clarridgeiae* saptanmış; bu verilere dayanarak bu organizmalar için kedi piresinin vektör görevi gördüğü söylenmektedir (141).

Bartonella henselae'nin insanlara bulaşında kenelerinde vektör olabileceği bildirilmektedir. *B. vinsonii subsp. berkhoffi* için en önemli kaynağı, tropik bölgelerde evde beslenen ve doğada yaşayan köpekler oluşturmaktadır. *B. vinsonii subsp. berkhoffi* 'nin köpeklerdeki yüksek antikör prevalansı bu bilgiyi desteklemektedir, keneler *B. vinsonii subsp. berkhoffi*'nin köpeklere bulaşmasında rol alabilir (54).

Ayrıca Kaliforniya'da yapılan bir çalışmada *Ixodes pacificus* kenelerinde *Bartonella* DNA'sı saptanmıştır. İtalya'da yapılan benzer bir çalışmada da *Ixodes ricinus* kenelerinde ise *B. henselae* DNA'sı saptanmıştır (142,143).

Hayvanlarda oluşan *Bartonella* enfeksiyonlarında ısırarak sinekler, vektör rolü üstlenmektedir. Birçok çalışmada farklı kemirici türlerinin *Bartonella* türleri ile enfekte olduğu rapor edilmiştir (54). Ayrıca doğada yaşayan ya da evcil geniş getiren hayvanlardan da *Bartonella* türleri izole edilmiştir (Tablo-V).

Tablo IV. *Bartonella* türlerinin insan infeksiyonlarıyla ilişkisi, dağılımı ve vektörleri (22)

TÜRLER	HASTALIKLAR	DAĞILIM	VEKTÖR
<i>B. bacilliformis</i>	Carrion hastalığı	Güney Amerika	Kum sineği (<i>Lutzomyia verrucarum</i>) Bilinmiyor
<i>B. rochalimae</i>	Bakteriyemi, ateş, kutanöz lezyonlar ve splenomegali	Peru	
<i>B. quintana</i>	Endokardit, siper ateşi, KTH, BA, peliyoz	Güney Amerika, Avrupa, USA, Afrika	İnsan vücut biti (<i>Pediculus humanus corporis</i>), kedi piresi, <i>Ixodes pacificus</i> kenesi
<i>B. henselae</i>	KTH, oküler belirtiler, ensefalopati, aseptik menenjit, akut hemipleji, demans, akut psikiyatrik semptomlar, NBA, hepatosplenik apse, asemptomatik bakteriyemi, osteomyelit, BA, pelyoz, eritema nodosum, diğer deri lezyonları Endokardit	Güney Amerika, Avrupa, USA, Afrika, Asya	Kedi piresi (<i>Ctenocephalides felis</i>), <i>Ixodes ricinus</i> kenesi, <i>Ixodes pacificus</i> kenesi, <i>Rhipicephalus sanguineus</i> kenesi (köpek)
<i>B. elizabethae</i>	endokardit	Avrupa, USA, Asya	Sıçan piresi (genera <i>Rattus</i> ve <i>Mus</i>), vahşi kemirgen pireleri
<i>B. clarridgeiae</i>	KTH, sepsis, endokardit	Avrupa, USA, Asya	Kedi piresi (<i>C. Felis</i>), kemirgen piresi, köpek ekzoparazitleri (?), gri fok ekzoparazitleri Bilinmeyen
<i>B. clarridgeiae-like</i>	Ateş ve splenomegali	Peru	
<i>B. koehlerae</i>	Endokardit ,KTH	USA	Kedi ve kemirgen piresi
<i>B. vinsonii subsp. berkhoffi</i>	Endokardit, atralji/miyalji/baş ağrısı/halsizlik	Avrupa, USA	<i>Ixodes pacificus</i> kenesi, gri fok ekzoparazitler
<i>B. washoensis</i>	Ateş ve myokardit	USA	<i>Ixodes pacificus</i> kenesi, sincap piresi
<i>B. tamiae</i>	Ateş	Tayland	Bilinmiyor
<i>B. grahamii</i>	Nöroretinit	Avrupa, Kanada, Asya	Kemirgen piresi
<i>B. doshiae</i>	KTH	Avrupa	Sıçan piresi
<i>B. taylorii</i>	Bilinmiyor	Avrupa	Gerbil ve vole piresi
<i>B. alsatica</i>	Bilinmiyor	Avrupa	Bilinmiyor
<i>B. bovis</i>	Bilinmiyor	Amerika	kene

BÖLÜM II

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma 1 Nisan 2009-15 Mart 2011 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Çalışma için Aydın İl Sağlık Müdürlüğü'nden ve Adnan Menderes Üniversitesi Tıbbi Etik Kurul Başkanlığı'ndan onay alınmıştır.

Çalışma grubu

Aydın İli için 18 yaş üstü insanları yansıtacak şekilde örneklem oluşturularak, kesitsel alan çalışması olarak planlanmıştır. Aydın'da 18 yaş üstü yaklaşık 651,926 kişi yaşamaktadır. Hesaplama sonucu örnek büyüklüğü 344 kişi ve her ilçenin evren içindeki oranına göre de ilçelerin örnek sayıları bulunmuştur (Tablo VI).

Tablo VI. Araştırma evreni ve örnek seçiminin Aydın’da ilçelere göre dağılımı

İlçeler	Evren	Örnek sayısı	Evren içindeki oran
Merkez	159978	84	24,5
Kuşadası	47752	25	7,3
Nazilli	99375	52	15,2
Buharkent	9591	5	1,3
Bozdoğan	25073	13	3,8
Çine	39073	20	6,0
Germencik	28261	15	4,3
Incirliova	30387	16	4,7
Karacasu	14552	7	2,2
Karpuzlu	10619	6	1,5
Koçarlı	18471	10	2,8
Köşk	20133	11	3,1
Kuyucak	20653	11	3,2
Söke	79315	42	12,2
Sultanhisar	15131	8	2,3
Didim	25117	14	3,9
Yenipazar	10445	5	1,6
Toplam	651926	344	100,0

Eylül 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında Aydın merkez ve ilçelerindeki sağlık ocaklarına başvuran 18 yaş üstü sağlıklı 344 kişi çalışma grubunu oluşturmuştur.

Örnek alınması ve saklanması

Kan örnekleri Aydın merkez ve ilçelerinden hesaplanan örnek sayısı doğrultusunda alınmıştır. Gönüllü olan sağlıklı bireylere yapılacak işlem ve sonuçları konusunda bilgi verilmiş ve kan örneklerinin alınması için bilgilendirilmiş olur metni okutularak ve anket formu doldurularak, kendi istekleri ile çalışmaya katıldıklarına dair imzaları alınmıştır. Doldurulan anket formunda yaş, ev, adres, telefon gibi bilgilerin yanısıra bartonelloz semptomları ile ilgili sorular ayrıca risk grubuna yönelik sorular yöneltilmiştir.

Gönüllülerin ön kol yüzeyel venlerinden biri EDTA’lı diğeri düz tüpe olmak üzere iki kan örneği alınmış, alınan kanlar buz torbaları içinde en kısa sürede laboratuvara ulaştırılarak kanlar 4000 devirde beş dakika satrifüj edildikten sonra, serumlar üç steril tüpe ayrılarak -20 °C’de, EDTA’lı tüpteki olarak -20 °C’de çalışma zamanına kadar saklanmıştır.

Serum örneklerinde IFA yöntemi ile antikor aranması

Çalışma grubunda yer alan serumlarda Vircell *Bartonella henselae&quintana* IFA IgG (Granada, SPAIN) ve Focus *Bartonella henselae&quintana* IFA IgG (California, USA) ticari test kitleri kullanılarak indirekt immunfloresan antikor yöntemi ile *Bartonella henselae* IgG ve *Bartonella quintana* IgG araştırılmıştır. Vircell *Bartonella henselae&quintana* IFA IgG (Granada, SPAIN) test kitinin lamplarındaki kuyucuklar Vero hücrelerinde üretilmiş *B. henselae*, cepa Houston-1 (ATCC49882) ve *B. quintana* (N CIP 1070271) bakterilerini içerirken, Focus *Bartonella henselae&quintana* IFA IgG (California, USA) kiti *B. henselae* ve *B. quintana* bakterileri ile infekte olmuş Vero hücrelerini içermektedir.



Resim 4. Focus *Bartonella henselae&quintana* IFA IgG (California, USA) test kiti

Floresan mikroskop ile, belirlenmiş iki ayrı araştırmacı tarafından $\times 400$ büyütme ile incelenerek floresans (+1)-(+4) olarak skorlanıp, (+2) ve üzerinde pozitiflik saptanan örnekler pozitif diğer örnekler negatif olarak değerlendirilmiştir. 1:64 titrede pozitif saptanan örnekler 1:64, 1:128, 1:256, 1:512 dilüsyonda sulandırılarak tekrar hem Vircell *Bartonella henselae&quintana* IFA IgG (Granada, SPAIN) hem de Focus *Bartonella henselae&quintana* IFA IgG (California, USA) çalışılmış ve titrasyon belirlenmiştir. Her çalışmada pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır.

Vircell *Bartonella henselae&quintana* IFA IgG (Granada, SPAIN) test kiti ile çalışma

- 1- Bütün malzemeler oda ısısına getirildi.
- 2- 10 μ l serum, 630 μ l PBS ile vorteksle karıştırılıp 1:64 dilüsyon hazırlandı. Buradan alınan 50 μ l karışım 50 μ l PBS ile karıştırılarak 1:128 dilüsyon, 1:128 dilüsyondaki karışım dan 50 μ l 50 μ l PBS ile karıştırılıp 1:256 dilüsyon ve 1:256 dilüsyondaki karışımdan alınan 50 μ l 50 μ l PBS ile karıştırılarak 1:512 dilüsyon elde edildi.
- 3- Her bir dilüsyondaki serumlar 5'er μ l olacak şekilde lamplar üzerindeki kuyucuklara damlatıldı.

- 4- Pozitif ve negatif kontroller sulandırılmadan direk lamalar üzerindeki kuyucuklara damlatıldı.
- 5- Lamlar nemli ortamda 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi.
- 6- Lamlar PBS ile nazikçe çalkalanıp 10 dakika PBS dolu şalede bekletildi.
- 7- Lamlar distile su ile yıkanıp havada kurutuldu.
- 8- Her kuyucuğa 5 µl anti-human IgG FITC (floresan izotiyosiyanat) konjugat damlatıldı.
- 9- Lamlar nemli ortamda 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi.
- 10- Lamlar PBS ile nazikçe çalkalanıp 10 dakika PBS dolu şalede bekletildi.
- 11- Lamlar distile su ile yıkanıp havada kurutuldu
- 12- Birer damla “mounting medium” her kuyucuğa damlatıldı, üzeri 24 x50 mm boyutunda lamel ile kapatıldı.
- 13- Floresan mikroskopta 400x büyütmede iki ayrı araştırmacı tarafından incelendi.

Focus Bartonella henselae&quintana IFA IgG (Granada, SPAIN) test kiti ile çalışma

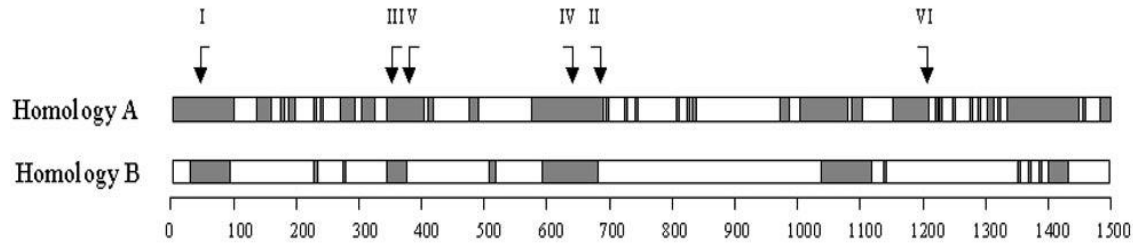
- 1- Bütün malzemeler oda ısısına getirildi.
- 2- Sol taraftan ilk lam kuyucuğuna 20 µl pozitif kontrol (sulandırılmamış) damlatıldı.
- 3- Sol taraftan lam kuyucuğuna 20 µl negatif kontrol damlatıldı.
- 4- Her hasta örneği örnek sulandırıcısı ile 1:64 oranında sulandırıldıktan sonra kuyucuklara 20'şer µl kondu.
- 5- Lamlar 35-37 °C'de nemli ortamda 30 dakika bekletildi.
- 6- Lamlar PBS ile yıkandı, daha sonra 10 dakika PBS içeren şalede bekletildi.
- 7- Lamlar distile suya daldırılıp çıkarıldı ve havada kurumaya bırakıldı.
- 8- Her kuyucuğa 20 µl IgG konjugat eklendi.
- 9- Lamlar tekrar 35-37 °C'de nemli ortamda 30 dakika bekletildi.
- 10- Nemli ortamdan alınan lamalar PBS ile yıkandı, daha sonra 10 dakika PBS içeren şalede bekletildi.
- 11- Daha sonra lamalar distile suya daldırılıp çıkarıldı ve havada kurumaya bırakıldı.

12-Her kuyucuğa birer damla “mounting medium” kondu, 24 x50 mm boyutunda lamelle kapatıldı.

13-Floresan mikroskopta 400x büyütmede iki ayrı araştırmacı tarafından incelendi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

İndirekt floresan antikor yöntemi ile antikor saptanan kişilerden alınan kan örneklerinde nükleik asit izolasyonununundan sonra ilk önce DNA varlığını belirlemek amacıyla internal kontrol olarak Gliseraldehid 3-fosfat dehidrogenazın kullanıldığı (GA3PD) gap junction PZR , ardından 21 pozitif örnek için nested PZR ile tüm *Bartonella* türleri için spesifik gen bölgeleri aranmıştır. Bu amaçla Örneklerde 16S-23S genler arası bölge ‘*intergenic spacer region*’(its) tüm türler için uygun olan 4 primer kullanılarak PZR ile çoğaltılmıştır (Şekil IV ve Tablo-VII). Pozitif kontrol liyofilize halde satın alınan *Bartonella henselae* ATCC 49882 suşu kullanılmıştır.



Şekil 4.16S-23S genler arası bölge ‘*intergenic spacer region*’(its) ve primerlerin yerleri:

Bartonella türleri (homology A) ve *Bartonella* ve *Mesorhizobium* türleri (homology B) dizi eşleştirmeleri. Kullanılan primerlerin yerleri: I, I, H56s; II, H493as; III, J1; IV, J2; V, 321s; VI, 983as (144)

Tablo VII. PZR çalışmasında kullanılan primerler (145)

PZR	Primer	Dizi (5'-3')
1	H56s	GGGGAACCTGTGGCTGGATCAC
2	H493AS	TGAACCTCCGACCTCACGCTTATC
3	321s	AGATGATGATCCCAAGCCTTCTGG
4	983as	TGTTCTYACAACAATGATGATG

Nükleik asit izolasyonu

Kan örneklerinin ve pozitif kontroldeken DNA ekstraksiyonu *Magna Pure Compact* (Roche, Germany) nükleik asit izolasyon kiti kullanılarak otomatik cihaz ile yapılmıştır. Liyofilize haldeki pozitif kontrol için ve kan örnekleri için ayrı protokoller seçilmiştir.

Bakteri nükleik asit izolasyonu aşağıdaki basamaklar izlenerek yapıldı;

- a. Liyofilize haldeki *Bartonella henselae* ATCC 49882 süspansiyonu 400 µl olacak şekilde *MagNA pure compact* örnek tüpüne konuldu.
- b. DNA ekstraksiyonu *MagNA pure compact* cihazında, *MagNA pure compact* nükleik asit izolasyon kiti kullanılarak (Roche) yapıldı.
- c. DNA ekstraksiyonunu başlatmak için cihaz otomatik olarak IC ekledi.
- d. *Bartonella henselae* DNA'sını ekstrakte etmek için, DNA bakteri saflaştırma protokolü seçildi.
- e. Elüsyon volümü 50 µl olarak kuruldu.

Kan örneklerinden nükleik asit izolasyonu aşağıdaki basamaklar izlenerek yapıldı;

- a. Kan örnekleri için ise EDTA'lı tüplerde bulunan kan örnekleri 400 µl olacak şekilde *MagNA pure compact* örnek tüpüne kondu.
- b. DNA ekstraksiyonu *MagNA pure compact* cihazında (Roche), *MagNA pure compact* nükleik asit izolasyon kiti kullanılarak (Roche) yapıldı.
- c. DNA ekstraksiyonunu başlatmak için cihaz otomatik olarak IC ekledi.
- d. Kan örneklerinin ekstraksiyonu için DNA tam kan saflaştırma protokolü seçildi
- e. Elüsyon volümü 100 µl olarak kuruldu.

Gap Junction PZR

İndirekt floresan antikor (IFA) testi pozitif bulunan örneklerde nükleik asit izolasyonununundan sonra DNA varlığını kontrol etmek için '*Gap Junction*' (GJB) PZR yapılmıştır. PZR için total volüm 47 µl olacak şekilde karışım aşağıda gösterildiği gibi hazırlanmış, primer olarak *GAP3Ds* ve *GAP3Dr* kullanıldı, ısı döngü cihazında (Eppendorf Mastercycler Gradient) amplifikasyon için 10 dk 94 °C sonrası, her siklus 94 °C'de 30 sn denaturasyon, bağlanma aşaması 50 °C'de 30 sn, 72 °C'de 30 sentez basamaklarından oluşan 35 siklus halinde uygulanmıştır (144). Negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır. (144).

PZR Bufer (10x konsantrasyonda) (Fermentas, Kanada)	5	μ l
MgCl ₂ (25 mM) (Fermentas, Kanada)	5	μ l
dNTP (10 mM) (Fermentas, Kanada)	1	μ l
Primer 1 (10 pmol/ μ l) (invitrogen, A.B.D.)	1	μ l
Primer 2 (10 pmol/ μ l) (invitrogen, A.B.D.)	1	μ l
Taq polimeraz (5 U/ μ l) (Fermentas, Kanada)	0,25	μ l
Distile su	31,75	μ l
<u>Örnek</u>	2	<u>μl</u>
Toplam hacim	47	<u>μl</u>

Birinci Amplifikasyon

Polimeraz zincir reaksiyonu için aşağıda gösterildiği şekilde total volüm 25 μ l olacak şekilde karışım hazırlanmış ısı döngü cihazında (Eppendorf Mastercycler Gradient) ilk amplifikasyon için 5 dakikada 95 °C sonrası, her siklus 95 °C'de 30 sn denaturasyon, bağlanma aşaması 60 °C'de 30 sn, 72 °C'de 45 sentez basamaklarından oluşan 45 siklus halinde uygulanmıştır(145). Pozitif kontrol olarak *B. henselae* ATCC (49882) kökeni ve negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır.

PZR Bufer (10x konsantrasyonda) (Fermentas, Kanada)	2,5	μ l
MgCl ₂ (25 mM) (Fermentas, Kanada)	2,5	μ l
dNTP (10 mM) (Fermentas, Kanada)	0,5	μ l
Primer 1 (10 pmol/ μ l) (invitrogen, A.B.D.)	0,25	μ l
Primer 2 (10 pmol/ μ l) (invitrogen, A.B.D.)	0,25	μ l
Taq polimeraz (5 U/ μ l) (Fermentas, Kanada)	0,2	μ l
Distile su	16,8	μ l
<u>Örnek DNA</u>	2	<u>μl</u>
Toplam hacim	25	<u>μl</u>

İkinci amplifikasyon

Polimeraz zincir reaksiyonu için aşağıda gösterildiği şekilde total volüm 25 µl olacak şekilde karışım hazırlanmış ısı döngü cihazında (Eppendorf Mastercycler Gradient) ikinci amplifikasyon için 5 dk 95 °C sonrası, her siklus 95 °C’de 45 sn denaturasyon, bağlanma aşaması 54 °C’de 45 sn, 72 °C’de 45 sentez basamaklarından oluşan 45 siklus halinde uygulanmıştır (145).

PZR Bufer (10x konsantrasyonda) (Fermentas, Kanada)	2,5	µl
MgCl ₂ (25 mM) (Fermentas, Kanada)	2,5	µl
dNTP (10 mM) (Fermentas, Kanada)	0,5	µl
Primer 1 (10 pmol/ul) (invitrogen, A.B.D.)	0,25	µl
Primer 2 (10 pmol/ul) (invitrogen, A.B.D.)	0,25	µl
Taq polimeraz (5 U/ µl) (Fermentas, Kanada)	0,2	µl
Distile su	16,8	µl
Birinci amplifikasyon ürünü	2	µl
Toplam hacim	25	<u>µl</u>

TBE Tampon solusyonunun hazırlanması

Stok 10x TBE (Tris Borik asit EDTA) buffer 50 gr Tris base, 27,5 gr Borik asit, 20 ml 0,5 M EDTA (pH:8,0)’nın 1 litre distile suda eritilerek hazırlanmıştır. Hazırlanan 10x TBE stok solusyonun distile su ile 1/20 oranında sulandırılması ile 0,5x TBE buffer kullanma solüsyonu hazırlanmıştır.

Agaroz Jelin hazırlanması

Üç gram (% 2’lik agaroz jel için) agaroz (Basica Le, Prona, İspanya) tartılıp 150 ml 0,5 x TBE tampon solüsyonuna eklenerek karıştırılmıştır. Agaroz mikrodalga fırında (Regal, Türkiye) 400 watt ısıda, arada bir karıştırılarak bir dakika eritilmiştir. Agaroz jelin soğuması beklenmiş ve 50°C civarına kadar soğuyan 150 ml’lik agaroz solusyonuna floresan boya içeren 15 µl Syber Safe (invitrogen, A.B.D.) eklenmiştir. Agaroz jel plak üzerine dökülmüş bir kenarına tarak yerleştirilmiştir. Agaroz jel donduktan sonra (yaklaşık 30 dakika oda ısısında) plağın iki tarafındaki lastikler ve tarak çıkarılmıştır.

PZR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi

Herbir PZR'dan sonra her örnek için parafin film üzerine 1 µl yükleme solüsyonu (250 mg Bromophenol blue, 3 ml gliserol, 7 ml distile su) 6x Loading dye (Fermentas, Kanada) konmuştur. 10 µl PZR ürünü yükleme solüsyonu ile karıştırıldıktan sonra sırayla agaroz jele yüklenmiştir. Bantların moleküler ağırlıklarını tespit etmek için 100 bp DNA ladder (Fermentas, Kanada) kullanılmıştır. Jel plağında PZR ürünleri 100 voltta 40 dakika elektroforez cihazında (Thermo, ABD) yürütülmüştür. Elektroforez tamamlandıktan sonra jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat, Almanya) ile görüntülenmiş ve görüntü bilgisayara aktarılmıştır. Oluşan bantlar Bio1D jel analiz programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

İstatiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için istatistik SPSS 14.0 paket programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Ortalama, Standart Sapma) yanı sıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-kare testi kullanılmıştır. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında iki grup durumunda, normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Bağımsız Örnekler (*Independent Samples*) t testi kullanılmıştır. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

BÖLÜM III

BULGULAR

Aydın merkez ve ilçe sağlık ocaklarına Eylül 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında başvuran 18 yaş üstü sağlıklı erişkinlerden alınan 344 kan örneği çalışmaya alındı. Çalışmaya katılan 344 gönüllünün, 134'ü (%39) kadın, 210'u (%61) erkekti. Çalışma grubunun yaşları 18-90 (yaş ortalaması 42,80±15,44) olarak bulundu. Çalışmaya katılan gönüllülerin eğitim durumlarına göre dağılımlarında en fazla 141 (%41,0) ilkokul mezunu, en az okur yazar olmayan 15 (%4,4) kişi bulunmaktaydı (Tablo XI).

Çalışmaya alınan serumlar Adnan Menderes Üniversite Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında IFA yöntemi ile değerlendirildi, $\geq 1/64$ dilüsyonda 21 (%6,1) örnekte *B.henselae*, $\geq 1/64$ dilüsyonda 7 (%2,0) örnekte *B. quintana* seropozitifliği saptandı (Tablo VIII, IX).

Kadın ve erkek arasında, kadınlarda *B. henselae* seropozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p= 0.036$), *B.quintana* seropozitifliği yönünden anlamlı fark saptanmadı ($p= 0.831$) (Tablo-XII, XIII). Çalışmaya alınan serumlar 1/64, 1/128, 1/256 ve 1/512 dilüsyonlarda çalışıldı, 1/64 dilüsyonda *B.henselae*'ya karşı antikor pozitifliği saptanan 21 serum örneğinin 9'unun 1/128 ve 1/256 dilüsyonda *B.henselae*'ya karşı antikor pozitifliği bulundu, 1/512 dilüsyonda antikor pozitifliği saptanmadı (Tablo VIII). *Bartonella quintana*'ya karşı antikor pozitifliği 1/64 dilüsyonda saptanan 7 serum örneğinin 1'inin 1/128 ve 1/256 dilüsyonda karşı *B.quintana*'ya antikor pozitifliği bulundu, ancak 1/512 dilüsyonda antikor pozitifliği saptanmadı (Tablo IX). Ancak *Bartonella quintana* IgG 1/64 dilüsyonda pozitif saptanan 7 örneğin tümünde *Bartonella henselae* IgG 1/64 ve üzeri dilüsyonda pozitif olarak bulundu (Tablo. X).

Tablo VIII. Serum dilüsyon titresine göre *B. henselae* seropozitifliği

Dilüsyon oranı	<i>B. henselae</i> IgG		<i>B. henselae</i> IgG	
	Pozitif	(%)	Negatif	(%)
1/64 dilüsyon	21	6,1	323	93,9
1/128 dilüsyon	9	2,6	335	97,4
1/256 dilüsyon	9	2,6	335	97,4
1/512 dilüsyon	0	0	0	0

Tablo IX. Serum dilüsyon titresine göre *B. quintana* seropozitifliği

Dilüsyon oranı	<i>B. quintana</i> IgG		<i>B. quintana</i> IgG	
	Pozitif	(%)	Negatif	(%)
1/64 dilüsyon	7	2,0	337	98,0
1/128 dilüsyon	1	0,3	343	99,7
1/256 dilüsyon	1	0,3	343	99,7
1/512 dilüsyon	0	0	344	100

Tablo X. *B.henselae* ve *B. quintana* seropozitifliğinin ilişkisi

Pozitif saptanan örnek no	1/64 dilüsyonda	
	<i>B. henselae</i> IgG pozitifliği	<i>B. quintana</i> IgG pozitifliği
5	+3	+2
11	+2	negatif
35	+2	negatif
36	+2	negatif
39	+2	negatif
53	+2	negatif
56	+2	negatif
79	+3	+2
81	+2	negatif
83	+4	+3
148	+2	negatif
154	+2	+2
165	+2	negatif
234	+3	negatif
235	+3	+2
239	+2	negatif
243	+2	negatif
244	+3	+2
282	+3	+2
314	+3	negatif
323	+2	negatif

Çalışmaya katılanların doldurdıkları anket sorularına verdikleri cevaplara göre yaşam özellikleri, demografik verileri istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo XI, XII, XIII)

Tablo VIII. Çalışma grubunun özellikleri

Özellik	n	%
Cinsiyet		
kadın	134	39
erkek	210	61
Yaş		
20 yaş ve altı	25	7,26
21-30 yaş	67	19,47
31-40 yaş	61	17,73
41-50 yaş	90	26,16
51 yaş ve üzeri	101	29,36
Eğitim durumu		
Okur yazar değil	15	4,4
Okur yazar	6	1,7
İlkokul	141	41,0
Ortaokul	54	15,7
Lise	92	26,7
Yüksekokul	36	10,5
Kullanılan su		
Şebeke suyu	336	97,7
Kuyu suyu	8	2,3
Ev türü		
Apartman	147	42,7
Betonarme müstakil ev	193	56,1
Ahşap	3	0,9
Yığma	1	0,3
Gelir durumu		
Yüksek	3	0,9
Orta	310	90,1
Düşük	31	9,0

Tablo IXII. *Bartonella henselae* seropozitifliğinin cinsiyet, yaş, eğitim durumu ve kedi teması ile ilişkisi

Özellik	n	<i>B. henselae</i> IgG		<i>B. henselae</i> IgG		p
		(+)	(%)	(-)	(%)	
Cinsiyet						
Kadın	134	13	9,7	121	90,3	0.036
Erkek	210	8	3,8	202	96,2	
Yaş						
20 ve altı	25	4	16,0	21	84,0	0.046
21-30	67	7	10,4	60	89,6	
31-40	61	4	6,6	57	93,4	
41-50	90	2	2,2	88	97,8	
50 ve üzeri	101	4	4,0	97	96,0	
Eğitim durumu						
İlkokul ve altı	162	8	4,9	154	95,1	0.5
Ortaokul ve üzeri	182	13	7,1	169	92,9	
Kedi köpek teması						
Var	130	14	10,8	116	89,2	0.009
Yok	214	7	3,3	207	96,7	
Evde hayvan besleme						
Var	49	7	14,3	42	85,7	0,01
Yok	395	14	4,7	281	95,3	
Bahçede hayvan besleme						
Var	126	8	6,3	118	93,7	1,00
Yok	218	13	6,0	205	94,0	
Kedi tırmalaması öyküsü						
Var	13	5	38,5	8	61,5	0.02
Yok	331	16	4,8	315	95,2	
Doğada uğraş öyküsü						
Var	11	3	27,3	8	72,7	0.03
Yok	333	18	5,4	315	94,6	

Tablo XII . *Bartonella quintana* seropozitifliğinin cinsiyet, yaş, eğitim durumu ve kedi teması ile ilişkisi

Özellik	n	<i>B. quintana</i> IgG		<i>B. quintana</i> IgG		p
		(+)	(%)	(-)	(%)	
Cinsiyet						
Kadın	134	3	2,2	131	97,8	0.831
Erkek	210	4	1,9	206	98,1	
Yaş						
20 ve altı	25	2	8,0	23	92,0	0.292
21-30	67	1	1,5	66	98,5	
31-40	61	1	1,6	60	98,4	
41-50	90	1	1,1	89	98,9	
50 ve üzeri	101	2	2,0	99	98,0	
Eğitim durumu						
İlkokul ve altı	162	3	1,9	159	98,1	0.5
Ortaokul ve üzeri	182	4	2,2	178	97,8	
Kedi köpek teması						
Var	130	6	4,6	124	95,4	0.008
Yok	214	1	0,5	213	99,5	
Evde hayvan besleme						
Var	49	3	6,1	46	93,9	0,029
Yok	295	4	1,4	291	98,6	
Bahçede hayvan besleme						
Var	126	4	6,1	122	96,8	0,265
Yok	218	3	1,4	215	98,6	
Kedi tırmalaması öyküsü						
Var	13	2	15,4	11	84,6	0,01
Yok	331	5	1,5	326	98,5	
Doğada uğraş öyküsü						
Var	11	2	18,2	9	81,8	0,018
Yok	333	5	1,5	328	98,5	

Bartonella henselae'ya karşı antikor pozitifliği saptanan 21 kişinin yaş ortalaması 34,57 ($\pm 11,34$), negatif olarak saptanan 323 kişinin yaş ortalaması 43,33 ($\pm 11,16$) olarak bulundu. *B. henselae*'ya karşı antikor pozitifliği 20 yaş ve altındaki grupta $\geq 1/64$ dilüsyonda 4 (% 16,0) kişide pozitif bulunurken, yaş artışıyla birlikte pozitiflik oranı genel olarak azalmış ve

50 yaş ve üzeri grupta 4 (%4,0) olarak saptandı (Tablo XII). 20 yaş ve altındaki grupta *B.henselae*'ya karşı antikor pozitifliği ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.046$),

Bartonella quintana'ya karşı antikor pozitifliği saptanan 7 kişinin yaş ortalaması 38,29 ($\pm 11,62$), negatif saptanan 337 kişinin ise 42,89 ($\pm 10,83$) olarak bulundu. *B.quintana*'ya karşı antikor pozitifliği 20 yaş ve altındaki grupta $\geq 1/64$ dilüsyonda ise 2 (%8,0) kişide pozitif bulunurken, 50 yaş ve üzeri grupta 2(%2,0) olarak saptandı (Tablo XII). Yaş gruplarıyla *B.quintana*'ya karşı antikor pozitifliği ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.292$) (Tablo XIII).

Çalışma yapılan gruptaki eğitim durumuna göre *B.henselae*'ya, *B.quintana*'ya karşı antikor pozitifliği karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo XII, XIII).

B.henselae'ya ($p=0.009$) ve *B.quintana*'ya ($p=0.008$) karşı antikor pozitifliğinin kedi ve köpek teması öyküsü olan ve olmayan bireylerde karşılaştırıldığında temas öyküsü olanlarda her iki türe karşı pozitiflik istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo XII, XIII). Kedi tırmalama öyküsü olanlar ve olmayanlarda *B.henselae*'ya ($p=0.02$) ve *B.quintana*'ya ($p=0.01$) karşı antikor pozitifliği karşılaştırıldığında kedi tırmalaması öyküsü istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu. Evde hayvan besleme öyküsü ile *B.henselae*'ya ($p=0.01$) ve *B.quintana*'ya ($p=0.029$) karşı antikor pozitifliği karşılaştırıldığında evde hayvan besleme ile ilişki istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu (Tablo XII, XIII). Buna karşın bahçede hayvan besleme öyküsü olanlarda *B.henselae*'ya ($p=1.00$) ve *B.quintana*'ya ($p=0.265$) karşı antikor pozitifliği karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo XII, XIII).

Bireylerde *B.henselae*'ya ($p=0.03$) ve *B.quintana*'ya ($p=0.018$) karşı antikor pozitifliğinin doğada uğraş öyküsü olanlarda ise karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (Tablo XII, XIII).

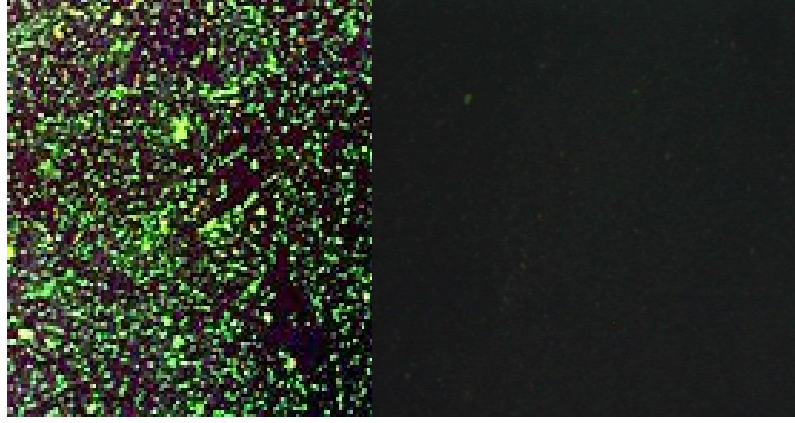
Çalışmaya katılan grubun özgeçmiş ve yaşam özellikleri ile *B.henselae* ve *B.quintana* seropozitifliği ile ilişkisi değerlendirildiğinde sırasıyla; gelir durumu ($p=0.202, p=0.298$), koyun teması ($p=0.811, p=0.548$), inek teması ($p=0.987, p=0.108$), fare teması öyküsü ($p=0.495, p=0.700$), avlanma öyküsü ($p=0.281, p=0.542$), su kullanımı öyküsü ($p=0.466, p=0.680$) ile *B.henselae* ve *B.quintana* seropozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Tablo XIV. *Bartonella henselae* ve *B. quintana* seropozitifliğinin Aydın ilçelerine göre dağılımı

İlçeler	Örnek sayısı	<i>B. henselae</i> IgG		<i>B. quintana</i> IgG	
		Pozitif	(%)	Pozitif	(%)
Merkez	84	10	11,9	3	3,57
Kuşadası	25	-	0,0	-	0,0
Nazilli	52	1	1,9	1	1,92
Buharkent	5	-	0,0	-	0,0
Bozdoğan	13	-	0,0	-	0,0
Çine	20	4	20,0	1	5,0
Germencik	15	-	0,0	-	0,0
İncirliova	16	2	12,5	1	6,25
Karacasu	7	-	0,0	-	0,0
Karpuzlu	6	1	16,6	-	0,0
Koçarlı	10	1	10,0	-	0,0
Köşk	11	1	9,09	1	9,09
Kuyucak	11	-	0,0	-	0,0
Söke	42	1	2,38	-	0,0
Sultanhisar	8	-	0,0	-	0,0
Didim	14	-	0,0	-	0,0
Yenipazar	5	-	0,0	-	0,0
Toplam	344	21	6.1	7	2.0

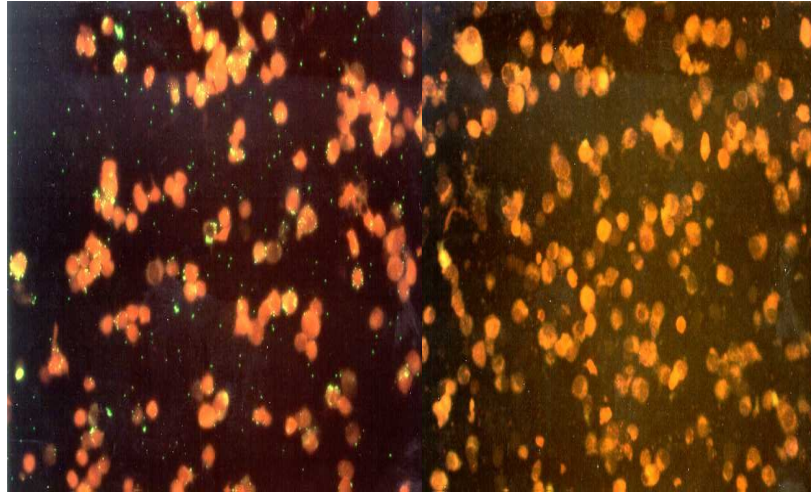
Bartonella henselae seropozitifliği ilçelere göre dağılımı değişmekteydi. En fazla seropozitiflik Çine’de (%20), Karpuzlu’da (%16,6), merkezde ise (%11,9) olarak saptandı. Kuşadası, Buharkent, Bozdoğan, Germencik, Karacasu, Kuyucak, Sultanhisar, Didim ve Yenipazar’da ise seropozitiflik saptanmadı (Tablo XIV).

Bartonella quintana seropozitifliğinin ilçelere göre dağılımı *Bartonella henselae* seropozitifliğinde olduğu farklılık gösterdi. En fazla seropozitiflik Köşk’de (%9,09) olmak üzere, İncirliova’da (%6,25), Çine’de (%5), merkezde ise (%3,57) olarak saptandı. Kuşadası, Buharkent, Bozdoğan, Germencik, Karacasu, Karpuzlu, Koçarlı, Kuyucak, Sultanhisar, Söke, Didim ve Yenipazar’da ise seropozitiflik bulunmadı (Tablo XIV).



Resim 5. Vircell *Bartonella henselae*&*quintana* IFA IgG (146)

(Sol resim pozitif örnek, sağ resim negatif örnek)



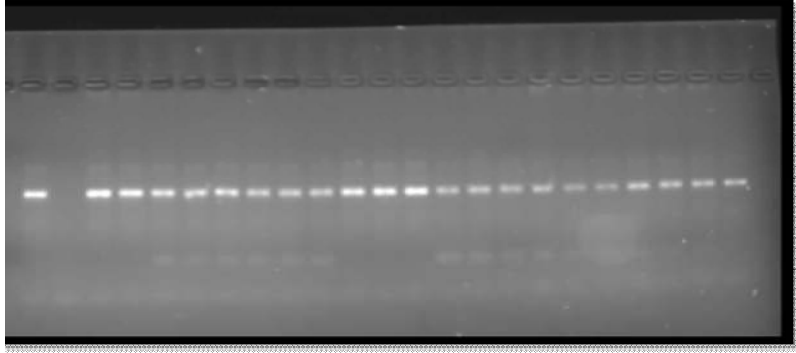
Resim 6. Focus *Bartonella henselae*&*quintana* IFA IgG (147)

(Sol resim pozitif örnek, sağ resim negatif örnek)

Serum örneklerinden IFA yöntemiyle $\geq 1/64$ dilüsyonda *Bartonella henselae* ve *Bartonella quintana*'ya karşı antikor pozitifliği saptanan serum örneklerine PZR yapılmıştır. (Resim I) Polimeraz zincir reaksiyonu ile;

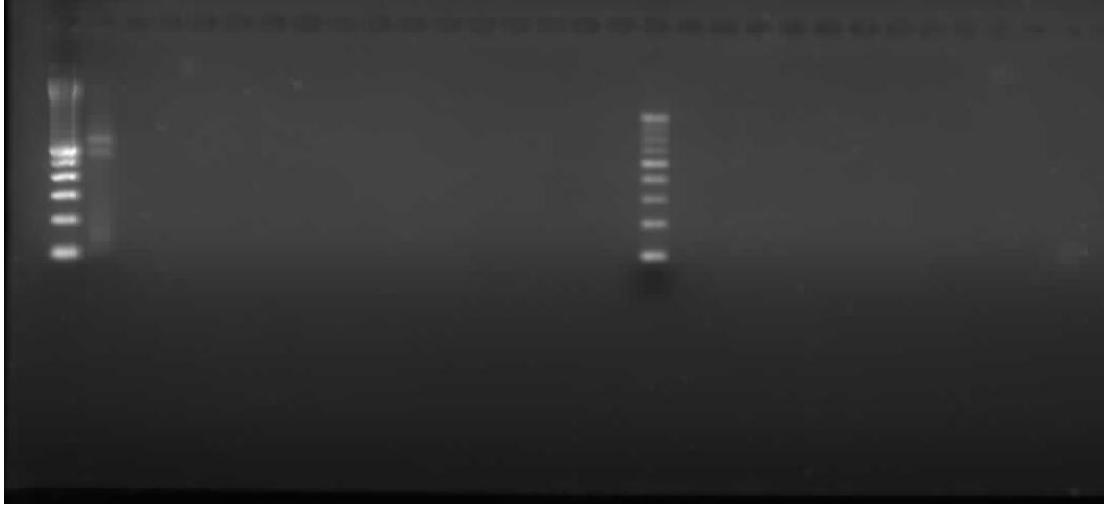
Bartonella türleri için 16S-23S r RNA 'intergenic transcribed spacer'(ITS) bölgesi çoğaltıldı. Pozitif kontrol olarak kullanılan *Bartonella henselae* (ATCC 49882) amplicon boyutuna göre GenBank tarafından saptanan boyut ile (684 bp) uyumlu saptandı. Polimeraz

zincir reaksiyonu çalışması sonucunda *Bartonella* türlerine ait spesifik gen bölgesi hiçbir örnekte saptanmadı.



Resim 7. Nükleik asit izolasyonu yapılan örneklerde Gap Junction PZR ürünlerinin %2'lik agarozdaki görüntüsü

1: marker, 2: negatif kontrol, 3-23 ekstre edilmiş GJP PZR uygulanmış ürünler



Resim 8. *Bartonella* PZR yapılan örneklerin %2'lik agarozdaki görüntüsü.

1, 18: Marker, 2: Pozitif kontrol, 3: Negatif kontrol, 4-17, 19-21: Çalışılan örnekler

BÖLÜM IV

TARTIŞMA

Çalışmada, Aydın merkez ve ilçelerinde *B.henselae* seroprevalansı % 6,1, *B.quintana* seroprevalansı %2,0 olarak bulunmuştur. Bulunan seroprevalans oranları bu bölgede yapılan ilk epidemiyolojik çalışma olarak önemlidir.

Ülkemizde geçmiş yıllarda *B.henselae* infeksiyonlarına ilişkin klinik ve patolojik bulgulara dayanan sporadik bildirimler bulunmaktadır. Bu çalışmanın yapıldığı merkezde yürütülen bir araştırmada *B.henselae* seropozitifliği evcil kedi-köpek besleyenlerde %26,7, sokak kedi-köpeği besleyenlerde %6,18 ve kedilerde %36,2 bulunmuştur. Son zamanlarda Denizli’de 800 sağlıklı kan donöründe IFA yöntemiyle yapılan çalışmada kan donörlerinin %6’sında *B.henselae* seropozitifliği saptanmıştır (21).

Komşu iki ilde benzer oranların bulunması bu bölgede *B. henselae* infeksiyonlarının geçirildiğini düşündürmektedir. Kedilerde *B.henselae* bakteriyemisi ve seropozitifliğine ilişkin ilk bildirimde, Ankara bölgesindeki kedilerde *B. henselae* IgG antikor pozitifliği % 18,6 oranında, bakteri prevalansı % 8,2 olarak bildirilmiştir (148).

Türkiye’de 10 ili kapsayan başka bir çalışmada köpeklerde *B. vinsonii subsp. berkhoffi*’e karşı antikor pozitifliği % 6,6 olarak bildirilmiştir (149).

Çalışmamızda *B. henselae* seroprevalansı $\geq 1/64$ dilüsyonda %6,1 olarak bulunmuştur. Dünya’da diğer ülkelerde sağlıklı erişkinlerde ve kan donörlerinde yapılan çalışmalarda *B. henselae* seroprevalansı Almanya’da %30, Yunanistan’da %19,8, İsviçre’de %1,2, İngiltere’de %1,5, Tayland’da %5,5, Yeni Zellanda’da %5, Danimarka’da %0,6, Brezilya’da %13,7 oranında saptanmıştır (150-157).

Bu çalışma’da *B.henselae* IgG antikor pozitifliğinin Yunanistan, Brezilya ve Almanya’da yapılan çalışmalardan daha düşük, İsviçre, İngiltere ve Danimarka’dan yüksek olmasının nedeni; çalışmalarda kullanılan yöntemlerin aynı olmasına rağmen, iklim farklılıkları, vektörlerle temastaki sıklık, toplumsal yaşam alışkanlıklarındaki farklılık, hayvanlarda kene pire temizliğine yeterince dikkat edilmemesi, vektörler ile mücadelenin yetersiz olması ve kullanılan kitler arasındaki duyarlılıktaki farklılıklardan kaynaklanabilir.

Bu çalışmada, *B. quintana* seroprevalansı ise %2 olarak bulunmuş olup, Türkiye’de bu konuda yapılmış epidemiyolojik bir çalışma ve veriye rastlanılamamıştır. Dünya’da diğer ülkelerde sağlıklı erişkinlerde yapılan çalışmalarda *B. quintana* seroprevalansı USA’da %2, Fransa’da % 2, Yunanistan’da %15, İngiltere’de %1,5 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada *B. quintana* seroprevalansı USA, Fransa ve İngiltere’de yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (151,153,158-0).

Yunanistan’da yapılan çalışmadan düşük bulunmasının nedeni bu çalışmada çocukların yer almaması, toplumsal yaşam alışkanlıklarındaki farklılıktan, iklimsel ve coğrafik farklılıklardan, kullanılan kitin duyarlılığındaki farklılıktan kaynaklanabilir. Ayrıca Aydın ilinin Türkiye’nin Batı bölgesinde yer alması, sosyokültürel açıdan gelişmiş olması, eğitim, hijyen koşullarının iyi olması nedeniyle *B. quintana* seropozitifliği düşük bulunmuş olabilir. Diğer taraftan *B. henselae* ve *B. quintana* IFA testlerinde çapraz pozitifliğin olduğu bilinmektedir. *Bartonella henselae* pozitif bulunan 21 örneğin 7’sinde (%33,3) *B. quintana* pozitif 14’ünde negatif (% 66,7) bulunmuştur. Bu bulgular *Bartonella türleri* arasındaki çapraz pozitifliğe bağlı olduğunu düşündürmektedir (122,151,161). Ancak *Bartonella henselae* ve *Bartonella quintana* risk faktörleri benzer olduğundan, bulaş yolları vektörler aracılığıyla olduğundan aynı anda pozitiflikleri de görülebilmektedir. Bunun yanında her iki bakteri için ayrı ayrı risk faktörleri değerlendirildiğinde kedi-köpek teması öyküsü, evde hayvan besleme öyküsü, doğada uğraş öyküsü, kedi tırmalaması öyküsü her iki bakteri seropozitifliği içinde anlamlı ilişkili bulunmuş fakat kadın cinsiyette olma ve 20 yaş ve altında olma ile sadece *B. henselae* seropozitifliğiyle anlamlı ilişkili bulunmuştur.

Bartonella quintana’a karşı antikor pozitifliği Seattle’da 192 evsiz erkekde %20, Los Angeles-California’da 200 evsiz kişide %9,5 oranında pozitif olarak saptanmıştır (158,160). Bu çalışmada evsiz-sokakta yaşayan kişilerin olmaması nedeniyle karşılaştırma yapılamamaktadır. Ancak *B. quintana* insanlara vücut bitleriyle bulaştığından, evsizlerde hijyen koşullarının yetersiz olmasından dolayı bu gruplarda *B. quintana* seropozitifliğinin daha yüksek oranda bulunması beklenen bir durumdur.

Çeşitli ülkelerde sağlıklı bireyler ve farklı risk gruplarındaki *Bartonella spp.* seropozitifliği % 0,2-38,9 arasında bildirilmiştir. İmmüdüşkün bireylerde %40’e varan oranlar bulunmuştur. Dünya’da son on yılda seçilmiş gruplarda ve risk gruplarında seroepidemiolojik çalışmalar artmıştır. Son on yıldaki seroepidemiyojik bazı çalışmalar, kronolojik yayın sırasına göre Tablo-XV’de özetlenmiştir (TabloXV).

Tablo XI. Literatürde *Bartonella* seroprevalans çalışmaları (1996-2007) (17)

Ülke	Birey sayısı	Popülasyon / <i>Bartonella</i> türleri	Pozitiflik yüzdesi (%)	Referans
USA	192	Klinik hastaları (evsiz, alkolik, HIVnegatif)/ <i>B. quintana</i>	20	Jackson et al. (1996)
USA	199	Yaş ve cinsiyet karışık donörler/ <i>B. quintana</i>	2	Jackson et al. (1996)
USA	630	Baltimor'daki IV ilaç bağımlıları/ <i>Bartonella spp/B.elizabethae</i> <i>/B. henselae/B. quintana</i>	37,5/22,9/ 1,4/1,6	Comer et al. (1996)
USA	351	Veterinerler, veteriner teknisyenleri/ <i>B. henselae</i> ve <i>B. quintana</i>	7,1	Noah et al. (1997)
USA	146	NBA'lı çocuklar/ <i>B. henselae</i>	4,8	Jacobs et al. (1998)
USA	204	New york'tan IV ilaç bağımlıları. <i>/B.elizabethae/B. henselae/B. quintana</i>	46 /10/ 2	Comer et al. (2001)
USA	200	Klinik hastaları/ <i>B.elizabethae/B. henselae/B. quintana</i>	12,5/ 9,5/ 3,5	Smith et al. (2002)
USA	382	Ateşli HIV-pozitif hastalar/ <i>Bartonella spp.</i>	17	Koehler et al. (2003)
Fransa	71	Evsiz hastalar/ <i>B. quintana</i>	30	Brouqoi et al.(1996)
Fransa	57	Deri lezyonlu evsiz erişkinler/ <i>B. quintana</i>	54	Guibal et al. (2001)
Fransa	53	Kan donörleri/ <i>B. quintana</i>	2	Guibal et al. (2001)
Fransa, Doğu Avrupa, Kuzey Afrika	930	Fransa'dan evsizler/ <i>B. quintana</i>	7,5	Brouqui et al. (2005)
Almanya	270	Sağlıklı erişkinler/ <i>B. henselae</i>	30	Sander et al. (1998)
Yunanistan	500	Sağlıklı erişkinler/ <i>B. henselae, B. quintana</i>	19,8/ 15	Tea et al. (2003)
Yunanistan	63	Sağlıklı çocuklar/ <i>Bartonella spp.</i>	15,9	Antoniou et al. (2002)
İtalya	508	Sağlıklı çocuklar/ <i>B. henselae</i>	61,6	Massei et al. (2004)
İspanya	83 85	Kedi sahibi kan donörleri/ <i>B. henselae</i>	28,9 5,9	Blanco Ramos Jr et al. (1998)
İspanya	147	HIV-pozitif İVİK HIV-negatif İVİK/ <i>Bartonella spp.</i>	14	Ramos AJ et al. (2002)

Ülke	Birey sayısı	Popülasyon / Bartonella türleri	Pozitiflik yüzdesi (%)	Referans
		HIV-pozitif IVIK		
İspanya	94	HIV-negatif IVIK/ <i>Bartonella spp.</i>	15	Ramos AJ et al. (2002)
İspanya	146	Sağlıklı bireyler/ <i>Bartonella spp.</i>	24,7	Garcia-Garcia et al. (2005)
		Kan donörleri/ <i>B.elizabethae, B.grahamii, B.henselea, B. quintana</i>	14,1/ 2,6/ 1,2/ 0,2	McGill et al. (2005)
İngiltere	200	Kan donörler/ <i>B. henselae, B. quintana</i>	1,5	Harrison and Dosh (1999)
Ürdün	482	Çocuklar/ <i>B. henselae, B. quintana</i>	11/4,1	Al-Majali et al.(2004)
Japonya	233	Veterinerler/ <i>B. henselae</i>	15	Kumasaka et al. (2001)
Japonya	159	Kardivasküler sistem hastaları, veterinerlik öğrencileri/ <i>B. henselae</i>	3,1	Kikuchi et al. (2002)
Japonya	129	Kardivasküler sistem hastaları, veterinerlik öğrencileri/ <i>B. henselae</i>	10,1	Kikuchi et al. (2002)
Japonya	151	Evsiz, kan donörleri/ <i>B. quintana</i>	57	Seki et al. (2006)
Japonya	200	Evsiz, kan donörleri/ <i>B. quintana</i>	51	Seki et al. (2006)
Tayland	163	Sağlıklı bireyler/ <i>B. henselae</i>	5.5	Maruyama et al. (2000)
Yeni Zelanda	140	Sağlıklı kan donörleri/ <i>B.henselae</i>	5	Zarkovic et al. (2007)
Brezilya	125	HIV-seropozitif asemptomatik erişkinler/ <i>B.henselae, B. quintana</i>	40,8	Lamas et al. (2006)
Şili	181	Kedi sahibi çocuk ve adölesanlar/ <i>B.henselae</i>	13,3	Ferrés et al. (2006)
Şili	107	Kedi sahibi çocuk ve adölesanlar/ <i>B.henselae</i>	10,3	Ferrés et al. (2006)
Ekvador	213	Carrion hastalığı vakaları ile yakın ilişkili/ <i>B.bacilliformis</i>	18,5	Amano et al. (1997)
Peru	544	Carrion hastalığının sık olduğu bölgede yaşayan çocuk ve erişkinler/ <i>B. bacilliformis</i>	77,5	Kosek et al. (2000)
Peru	690	Endemik bölgedeki çocuk ve erişkinler/ <i>B. bacilliformis</i>	45	Chamberlin et al.(2002)

Bu çalışmada *B. henselae* seropozitifliğinin yaş ve cinsiyet ile ilişkisinin değerlendirilmesiyle elde edilen verilere göre kadın cinsiyette *B. henselae* seropozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. *Bartonella* seropozitifliği için bazı araştırmalarda cinsiyet açısından farklılıklar bildirilirken, bazı araştırmalarda farklılık saptanamamıştır (162).

Japonya’da yapılan bir çalışmada, KTH şüphesi olan hastaların kadın cinsiyete sahip olanlarda erkeklere göre daha yüksek oranda *B.henselae* seropozitifliği saptanmıştır (159). Bu çalışmada da *B.henselae* seropozitifliği kadınlarda daha yüksek saptanmasının kadınların hayvanların beslenme, temizliğinde daha çok daha çok rol alması olabilir. Bu çalışmada *B. quintana* seropozitifliğiyle cinsiyet arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Çalışmamızda *B.henselae* seropozitifliği en fazla 20 yaş ve altındaki grupta (%16,0), en az 41-50 yaş ve üzerindeki grupta (%2,2) olarak bulunmuştur. *Bartonella henselae* seropozitifliği Yunanistan’da yapılan çalışmada en fazla 2-14 yaş arasında, Japonya’da yapılan çalışmada genç yaş grubundakilerde, Ürdün’de yapılan çalışmada 7-10 yaş arasındaki çocuklarda daha küçük ve daha büyük yaş gruplarına göre yüksek olarak bildirilmiştir (151,164,165).

İtalya’da yapılan çalışmada, yaşamının ilk yılındaki çocuklarda saptanan *B.henselae* seropozitifliğinin anneden bebeğe geçen antikorlarla olabileceği; 2-12 yaş arasındaki çocuklarda seropozitifliğin anlamlı derecede yüksek olduğu, buna evde beslenen kedilerden geçen mikroorganizmaların neden olabileceği belirtilmiştir (166).

Bu çalışmada çocuk yaş grubu bulunmamaktadır. Ancak genç yaş grubunda *B.henselae* seropozitifliğinin diğer yaş gruplarından fazla görülmesinin nedeni bu ve çocuk yaş gruplarında hayvanla temasın daha fazla olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca yaş gruplarına bakıldığında yaşın ilerlemesiyle antikor pozitifliğinin azalması, temasın azalması ve antikor titresinin düşmesine bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Kedi tırmığı hastalığı olgularının yaş dağılımını araştıran çalışmalarda, olguların yarısından fazlasının <20 yaş (<10 yaş çocukların oranı daha yüksek olmak koşuluyla), %33-43’ünün ≥ 21 yaş ve %17’sinin ≥ 41 yaş olduğu bildirilmektedir (86, 167).

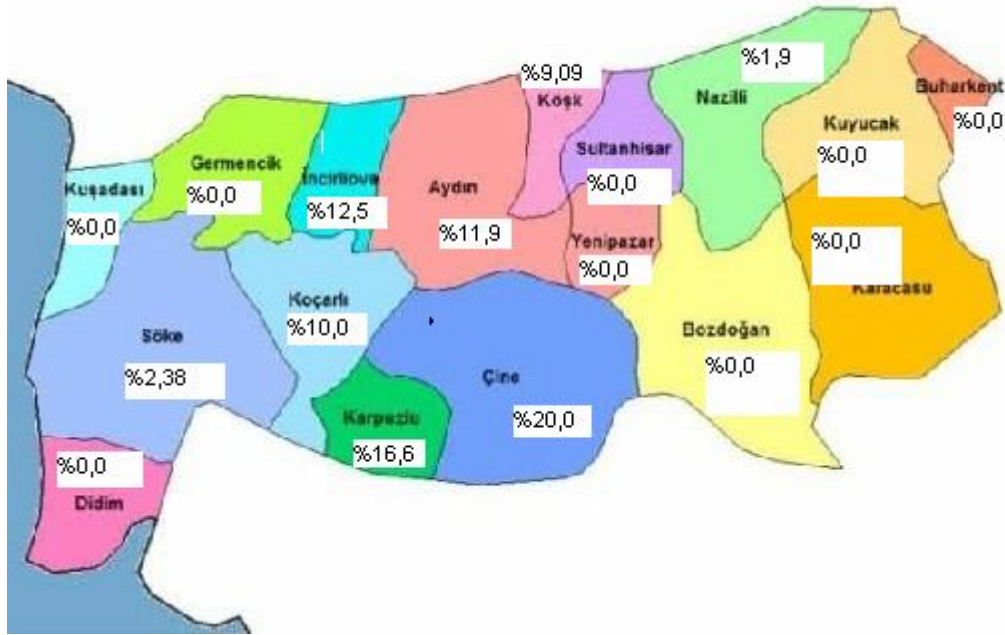
Bu çalışmada sağlıklı gönüllülerin kedi teması, kedi tırmalaması, evde hayvan besleme ile *B. henselae*, *B.quintana* seropozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuş, fare temasıyla anlamlı ilişki bulunamamıştır. Kedi temasıyla ilişkili birçok

Çalışmada da istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmuştur, ülkemizde de kedi temasıyla ilişkili olgu sunumları bulunmaktadır (152,166,168,169).

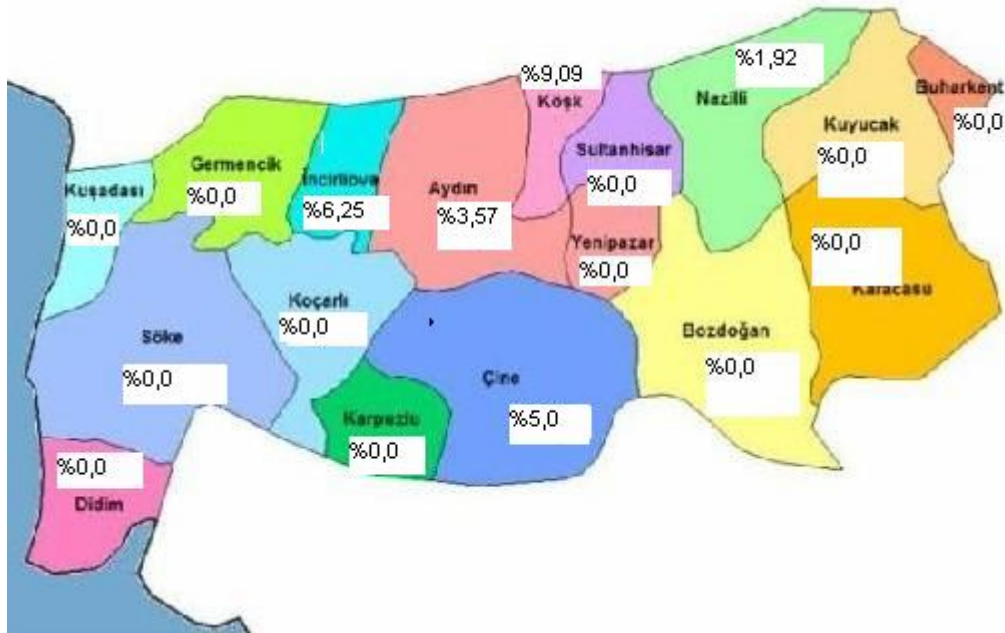
Bu çalışmada doğada uğraş öyküsü olan bireylerde *B.henselae* ve *B.quintana* seropozitifliğiyle ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. İsveç'te yapılan çalışmada her hafta yabancı hayvanların yaşadığı ortamda bulunanlarda ve dış ortamda çalışanlarda *Bartonella* spp. antikor seropozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, yabancı fare ve yabancı tavşan avcılığı yapan kişilerde *B.henselae* antikor pozitifliği yönünden anlamlı farklılık görülmemesine karşın, *B.elizabethae*'ya karşı antikor pozitifliğinin anlamlı fark oluşturduğu saptanmıştır (152). Denizli'de kan donörlerinde *B.henselae* antikor pozitifliğiyle tavşan yetiştiriciliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (21). Doğadaki yabancı hayvanlar *Bartonella* türleri yönünden rezervuar olabilmekte ve bu hayvanlardan direkt olarak veya vektörler yoluyla insanlara bulaşabilmekte ve dış ortamda çalışmanın bartonelloz yönünden risk oluşturabilmektedir.

Kedilerde *B. henselae* seropozitifliğinin, ılıman ve nemli bölgelerde yüksek, soğuk ve kurak bölgelerde düşük olduğu görülmektedir. Bu da ılıman iklimlerde kedi pirelerinin çoğalmalarının artmalarından kaynaklanmaktadır, dolayısıyla nemli, ılıman iklim şartlarında kedi pireleri kedilerde yoğun enfestasyon oluşturmakta ve *B. henselae* prevalansı yüksek olmaktadır, çok sıcak veya çok soğuk bölgelerde ise *B. henselae* prevalansı düşük olmaktadır (170-172).

Aydın ili nemli ve ılıman iklime sahip olduğundan *Bartonella* seropozitifliği beklenen bir durumdur. Ancak seropozitifliğin ilçelere göre dağılımına bakıldığında seropozitifliğin komşu ilçelerde, (Karpuzlu, Çine, Koçarlı, Merkez ilçe, İncirliova, Köşk) toplanmasının iklim benzerliği ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Diğer taraftan deniz kenarı ve iç kesimlerdeki ilçelerde bulunmaması da bu görüşü desteklemektedir (Resim9,10).



Resim 9. Aydın İlinde *Bartonella henselae* seropozitifliğinin ilçelere göre dağılım oranları



Resim 10. Aydın İlinde *Bartonella quintana* seropozitifliğinin ilçelere göre dağılım oranları

Kedilerin barınma ve yaşam tarzındaki farklılıklar vektör pire enfestasyonuna yakalanma olasılığını etkilediğinden, bu faktörlere bağlı olarak pozitiflik oranlarında da önemli farklılıklar bildirilmektedir. Aynı bölgedeki sokak kedileri ev kedilerine göre daha seropozitif olarak bulunmuştur (172). Ülkemizde ev kedileri genellikle evde beslenseler de

sokakta ta yaşamaktadır. Bu çalışmada evde hayvan besleyen grupta hem *B. henselae* hem de *B. quintana* seropozitifliği arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. KTH'lı hastalarında yapılan bir çalışmada hastaların tırmalandığı veya ısırıldığı bilgileri olan kedilerinin %81'inde, kontrol grubu kedilerin ise %38'inde *B.henselae* karşı antikor varlığının gösterilmesi kedi ile temasın önemini göstermektedir (6).

Bartonella türlerinin laboratuvar tanıları, kültürlerde üreme sürelerinin uzun olması ve PZR'nin özel laboratuvar ekipmanı ve şartları gerektirmesi nedeniyle zordur. Serolojik testler ise uygulaması kolay, sıklıkla tanıda kullanılan yöntemdir (123). Bu çalışmada *B. henselae* ve *B. quintana* seropozitifliği IFA yöntemi ile belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda kedi tırmağı hastalığını saptamada IFA yöntemlerinin duyarlılığı %84-95 arasında değişirken, sağlıklı erişkinlerde %3 oranında *B.henselae* seropozitifliği saptanmıştır. İndirek floresan antikor yönteminde *Bartonella* türleriyle, *Coxiella* ve *Chlamidya* türleriyle çapraz reaksiyon olduğu bildirilmektedir. Ancak tüm bunlara rağmen IFA var olan ve geçmişteki enfeksiyonu saptama da altın standart tanı yöntemidir (17).

Ticari olarak geliştirilen IFAT kitlerinde lamlarda ya bakteri kültüründen elde edilen *Bartonella*'lar ya da bakteri ile infekte hücreler kullanılmaktadır. Bu çalışmada iki farklı ticari kit kullanılmıştır. Öncelikle bütün serumlar *Bartonella henselae&quintana* IFA IgG (Vircell, SPAIN) kitiyle 1/64 dilüsyonda çalışılmıştır. Ardından pozitiflik saptanan serumlar *Bartonella* IFA IgG (Focus, USA) kitiyle de çalışılmıştır. Bu iki kit arasında ki fark, tarama amaçlı kullanılan test kitinin lamlarındaki kuyucuklar Vero hücrelerinde üretilmiş *B. henselae*, cepa Houston-1 (ATCC49882) ve *B.quintana* (N CIP 1070271) bakterilerini içerirken, diğer kit bakteri ile infekte olmuş Vero hücrelerini içermektedir. Kitlerin üretim şekilleri farklı olduğundan, maliyet açısından da farklar bulunmaktadır. Bu çalışmada kullanılan her iki kitde de direk ve dilüsyonlardaki pozitiflik uyumlu bulunmuştur.

Bu çalışmada, IFAT ile *B.henselae*, *B.quintana* seropozitifliği 1/64 dilüsyon ve üzerinde pozitiflik kabul edilmiştir, Regnery ve ark. KTH serolojisinde *B.henselae* ile infekte Vero hücrelerini antijen olarak kullanmışlardır. Vero hücrelerinin kullanılması ile etkenin otoaglutinasyonunun engellendiğini ve test alanına yayıldığını gözlemişlerdir. Bu yöntemi kullanarak hazırlanan antijen ile yapılan IFAT ile 1/64 ve üzeri değerlerini pozitif olarak değerlendirilmiştir. Bir çok araştırmacı Regnery ve ark. çalışmalarını temel alınarak IFAT antijeni olarak *B.henseale* ile enfekte Vero hücrelerini kullanmışlardır (9).

Güney İspanya’da 146 sağlıklı kişide ticari bir IFA kiti kullanılarak yaptıkları çalışmada *Bartonella* spp. seropozitifliğini %24,7 olarak saptamışlardır ancak 1/128 dilüsyondaki *Bartonella* spp. IgG pozitifliğini seropozitiflik olarak kabul etmişlerdir. Bu çalışmada sağlıklı insanlarda asemptomatik taşıyıcılık sıklığında artış olduğu öne sürülmüştür (156).

Bartonella infeksiyonlarının tanısında alınan doku örneklerinden ya da kan örneklerinde PZR yöntemi kullanılmaktadır. *Bartonella* türlerinin tanımlanmasında DNA-DNA hibridizasyon testlerinden alınan sonuçlar, elde edilen *gltA* ve *rpoB* (RNA polimeraz beta alt ünitesi) gen sekansları ile uyumlu bulunmuştur (54,173).

Örneklerde nested PZR yöntemi Maggi ve ark. önerilerine göre *Bartonella* türleri için spesifik olan 16S-23S rRNA’ intergenin spacer region’ bölgesine spesifik primerler kullanılmıştır. *H56s*, *H493as* birinci aşamada ve *321s* ve *983as* primerleri ikinci aşamada kullanılmıştır (145).

Sonuçta hiçbir örnekte pozitiflik saptanmamıştır. Bu çalışmada moleküler yöntemle pozitiflik saptanamamasının sağlıklı gönüllülerde aktif infeksiyonun ve kanda bakterinin bulunmaması, dolayısıyla asemptomatik taşıyıcılığın da olmadığını düşündürmektedir. Ancak kedi tırmığı hastalığıyla uyumlu 18 hastada yapılan bir çalışmada, hastalarda Real-time PZR ile *B. henselae* DNA’sı araştırılmış, sadece 3 hastada saptanabilmiş, kedi tırmığı hastalığını saptamada PZR düşük duyarlılıkta bulunmuştur. Bu sonuç santrifüj ve -20 derecede kanın dondurulmasının bakteriyel DNA’da azalmaya yol açmasından ve *B.henselae*’nin eritrositler içinde bulunmasından dolayı olabileceği bildirilmiştir (174).

Sonuç olarak Aydın merkez ve ilçelerindeki *B. henselae* ve *B.quintana* antikor seropozitifliği bulunmaktadır. *Bartonella* türleriyle (*B.henselae*, *B.quintana*,) oluşan infeksiyonlarda kedi teması, hayvanlar tarafından ısırılma ve tırmalanma öyküsü, orman ve açık alanda aktivitede bulunma risk faktörleri arasında yer almaktadır. Aydın ve çevresinde özellikle çocuklarda ve genç yaş grubunda *Bartonella* türlerinin neden olduğu infeksiyonlar tanıda düşünülmeli diğer benzeri infeksiyonların ayırıcı tanısında göz önünde tutulmalıdır.

SONUÇ

Bu çalışmada Eylül 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında 18 yaş üstü sağlıklı erişkinlerden alınan 344 kan örneği ile yapılan ilk epidemiyolojik çalışmada elde edilen verilere göre sonuç olarak;

- 1) Serum örneklerinde *Bartonella henselae* IgG antikoru % 6,1 oranında saptandı.
- 2) Serum örneklerinde *Bartonella quintana* IgG antikoru % 2,0 oranında saptandı ancak *Bartonella henselae* ile çapraz pozitiflik olabileceği düşünüldü.
- 3) Aydın ilinde orta kesimde yer alan ilçelerde seropozitiflik yüksek bulundu.
- 4) Seropozitif olarak saptanan olgularda taşıyıcılık saptanmadı.
- 5) *Bartonella henselae* seropozitifliğiyle; kadın cinsiyette olma, 20 yaş altında olma, kedi-köpek teması öyküsü, evde hayvan besleme öyküsü, kedi tırmalaması öyküsü ve doğada uğraş öyküsü olanlar arasında anlamlı ilişki bulundu.
- 6) *Bartonella quintana* seropozitifliğiyle; kedi-köpek teması öyküsü, evde hayvan besleme öyküsü, kedi tırmalaması öyküsü ve doğada uğraş öyküsü olanlarda anlamlı ilişki bulundu.
- 7) Aydın ve çevresinde özellikle çocuklarda ve genç yaş grubunda *Bartonella* türlerinin neden olduğu infeksiyonlar tanıda düşünülmeli diğer benzeri infeksiyonların ayırıcı tanısında göz önünde tutulmalıdır.

ÖZET

AYDIN İLİNDE *BARTONELLA HENSELAE* VE *BARTONELLA QUINTANA* SEROPREVALANSI VE RİSK FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç ve hipotez: *Bartonella henselae*, *B. quintana* bakterileri önemli halk sağlığı sorunlarına neden olmaktadır. Aydın ilinde *Bartonella henselae*, *B. quintana* seroprevalansı bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı *Bartonella henselae*, *B. quintana* türlerinin erişkinlerde epidemiyolojik özellikleri, seroprevalansı, taşıyıcılığını belirlemek ve risk faktörlerini saptamaktır.

Yöntem: Bu çalışma Nisan 2009-Mart 2011 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılmıştır. Aydın merkez ve ilçe sağlık ocaklarına başvuran 18 yaş üstü 344 erişkinden alınan kan örnekleri IFA yöntemi ile incelenmiştir. Alınan serum örneklerinde *Bartonella henselae* ve *Bartonella quintana* IgG antikor pozitifliği araştırılmıştır. Seropozitif saptanan serum örneklerinde PZR ile *Bartonella* türleri aranmıştır.

Bulgular: Serum örneklerinde *Bartonella henselae* IgG antikor 1/64 dilüsyonda %6,1, 1/128 dilüsyonda %2,6, 1/256 dilüsyonda %2,6 olarak, *Bartonella quintana* IgG antikor 1/64 dilüsyonda %2,0, 1/128 dilüsyonda %0,3, 1/256 dilüsyonda %0,3 olarak saptanmıştır. *Bartonella quintana* IgG 1/64 dilüsyonda pozitif saptanan 7 örneğin tümünde *Bartonella henselae* IgG 1/64 ve üzeri dilüsyon pozitif olarak bulundu. Seropozitif olarak saptanan serum örneklerinde PZR yöntemiyle pozitiflik saptanmamıştır. Araştırmaya katılan kişilerin yaşam özellikleri ve demografik verileri seropozitiflikle karşılaştırıldığında; *Bartonella henselae* seropozitifliğiyle; kadın cinsiyette olma, 20 yaş altında olma, kedi-köpek teması öyküsü, evde hayvan besleme öyküsü, kedi tırmalaması öyküsü ve doğada uğraş öyküsü olanlarda anlamlı ilişki ($p<0.05$), *Bartonella quintana* seropozitifliğiyle; kedi-köpek teması öyküsü, evde hayvan besleme öyküsü, kedi tırmalaması öyküsü ve doğada uğraş öyküsü olanlarda anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0.05$).

Sonuç: Aydın ve çevresinde özellikle çocuklarda ve genç yaş grubunda *Bartonella* türlerinin neden olduğu infeksiyonlar tanıda düşünülmeli diğer benzeri infeksiyonların ayırıcı tanısında göz önünde tutulmalıdır.

Anahtar kelimeler: *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, seroprevalans, IFA, PZR

Yazışma adresi: Dr.A. Meltem Aksoy

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, AYDIN

Tel:(+90)(256)4441256/3382

E-posta:a.meltemaksoy@hotmail.com

SUMMARY

THE RESEARCH OF *BARTONELLA HENSELAE* AND *BARTONELLA QUINTANA* SEROPREVALANCE AND RISK FACTORS IN AYDIN

Aim ve hypotesis: *Bartonella henselae*, *B. quintana* microorganisms cause important public health problems. The seroprevalance of *Bartonella henselae*, *B. quintana* in Aydın is unknown. The purpose of this study was to determine the seroprevalance, epidemiologic characteristics in adults, carriage set and risk factors of *Bartonella henselae*, *B. quintana* in Aydın.

Method: This study was conducted between April 2009-March 2011 in Laboratory of Department of Medical Microbiology, Adnan Menderes University Faculty of Medicine. The blood samples taken over 344 heathy individuals 18-90 years old from central and district health centers of Aydın. All sera were examined using both the *Bartonella henselae* IgG and *Bartonella quintana* IgG indirect immunofluorescent antibody (IFA) test kits according to the manufacturer's instructions. And the seropositive serum samples examined for the *Bartonella* species by PCR.

Result: Titers of 1/64, 1/128, 1/256 and 1/512 for IgG antibodies to *Bartonella henselae* were found 6,1%, 2,6%, 2,6% and 0% of the subjects examined, respectively. This titers for IgG antibodies to *Bartonella quintana* were found in 2,0%, 0,3%, 0,3% and 0% of the subjects, examined. There was no positivity in PCR.

There was statistically significant differences in titers to *B.henselae* in females, ages 20 and younger group, close contact with cats-dogs, pet owners, story of scratching by cats and going to urban areas (<0.05). And there was statistically significant differences in titers to *B.quintana* in close contact with cats-dogs, pet owners, story of scratching by cats and going to urban areas (<0.05).

Conclusion: Just because of the *Bartonella* seropozitivity in Aydın, especially in childs and young age groups infections caused by *Bartonella* species should be considered and in the differantial diagnosis should be considered in similar infections.

Keywords: *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, seroprevalance, IFA, PCR

Correspondence Author: Dr.A. Meltem Aksoy

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, AYDIN

Tel:(+90)(256)4441256/3382

E-mail:a.meltemaksoy@hotmail.com

KAYNAKLAR

1. Brenner DJ, O'Connor SP, Winkler HH, Steigerwalt AG. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb.nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov., and to remove the family *Bartonellaceae* from the order *Rickettsiales*. Int J Syst Bacteriol 1993; 43: 777-78.
2. Birtles RJ, Harrison TG, Saunders NA, Molyneux DH. Proposals to unify the genera *Grahamella* and *Bartonella*, with descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov., *Bartonella peromysci* comb. nov., and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov., *Bartonella taylorii* sp. nov., and *Bartonella doshiae* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1995; 45: 1-3.
3. Wikswo ME, Hu R, Metzger ME, Ereemeeva ME. Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from California. J Med Entomol 2007; 44: 158-62.
4. Tomkins LS, *Bartonella* Infections, including cat-scratch disease. Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL(eds). In: Harrison's Principles of Internal Medicine, 14th edition. New York: McGraw-Hill, 1998: 983-6
5. Pitassi LH, Magalhaes RF, Barjas-Castro ML, Paula EV, Ferreira MR, Velho PE, *Bartonella henselae* infects human erythrocytes. Ultrastruct Pathol 2007; 31: 369-72.
6. Zangwill KM, Hamilton DH, Perkins BA. Cat scratch disease in Connecticut: Epidemiology, risk factors, and evaluation of a new diagnostic test. N Eng J Med 1993; 329: 8-13.
7. Kordick DL, Breitschwerdt EB. Intraerythrocytic presence of *Bartonella henselae*. J Clin Microbiol 1995; 33: 1655-6.
8. Anderson BE, Neuman MA. *Bartonella spp.* as emerging human pathogens. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 203-19.
9. Regnery RL, Olson JG, Perkins BA, Bibb W. Serological response to '*Rochalimaea henselae*' antigen in suspected cat-scratch disease. Lancet 1992; 339: 1443-6.

10. Slater LN, Welch DF, Hensel D, Coody DW. A newly recognized fastidious gram-negative pathogen as a cause of fever and bacteremia. *N Engl J Med* 1990; 323: 1587-93.
11. Regnery RL, Anderson BE, Clarridge JE, Barradas MCR, Jones DC, Carr JH. Characterization of a novel *Rochalimaea* species, *R.henselae* sp. nov., isolated from blood of a febrile, human immunodeficiency virus-positive patient. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 265-74.
12. Koehler JE, Glaser CA, Tappero JW. *Rochalimaea henselae* infection, a new zoonosis with the domestic cat as reservoir. *JAMA* 1994; 271: 531-54.
13. Regnery RL, Martin M, Olson J. Naturally occurring ‘‘*Rochalimaea henselae*’’ infection in domestic cat. *Lancet* 1992; 340: 557-8.
14. Krauss H, Weber A, Appel M. *Bartonellosis*, including cat scratch disease. Krauss H, Weber A, Appel M. *Zoonoses: Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans*’da. 3. Baskı. Washington DC: ASM Press, 2003: 176-78.
15. Kordick DL, Wilson K, Sexton DJ, Handfield TL, Berkhoff HA, Breitschwerdt EB. Prolonged *Bartonella* bacteremia in cats associated with cat-scratch disease patients. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 3245-51.
16. Houpihan P, Raoult D. Blood culture-negative endocarditis in a reference center: etiologic diagnosis of 348 cases. *Medicine* 2005; 84: 162-73.
17. Lamas C, Curi A, Boia MN, Lemos ER. Human *Bartonellosis*: seroepidemiological and clinical features with an emphasis on data from Brazil-AReview. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2008; 103: 221-235.
18. Çelebi B, Yalçın E, Babür C. *Bartonella henselae* gingivostomatitli bir kedinin sahibinde nedeni bilinmeyen ateş öyküsü ve *B.henselae* IgG seropozitifliğinin saptanması. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44: 489-494.
19. Köksal Y, İnce E, Ulukol B, Çiftçi E, Azık F, Kuzu I, Yavuz G, Doğru Ü, Bir olgu nedeniyle kedi tırmığı hastalığı, *Ankara Üniv Tıp Fak Mec* 2001; 54: 177-80.
20. Böyük A, Üstün C, Solmaz Ö, Altınsoy H, Banlı O. Meme kanseri ile karışabilen nadir bir olgu: kedi tırmığı hastalığı. *Fırat Tıp Dergisi* 2009; 14: 268-270
21. Yılmaz C, Ergin Ç, Kaleli İ. Pamukkale Üniversitesi Kan Merkezine Başvuran Donörlerde *Bartonella henselae* seroprevalansının araştırılması ve risk faktörlerinin irdelenmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2009; 43: 391-401.

22. Benson LA, Kar S, McLaughlin G, Ihler GM. Entry of *Bartonella bacilliformis* into erythrocytes. *Infect Immun* 1986; 54: 347-353.
23. Battierman HJ, Peek JA, Loutit JS, Falkow S, Tompkins LS. *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* adherence to and entry into cultured human epithelial cells. *Infect Immun* 1995; 63: 4553-4556.
24. Garcia FU, Wojta J, Broadley KN, Davidson JM, Hoover RL. *Bartonella bacilliformis* stimulates endothelial cells in vitro and is angiogenic in vivo. *Am J Pathol* 1990; 136: 1125-1135.
25. Brouqui P, Raoult D. *Bartonella quintana* invades and multiplies with endothelial cells in vitro and in vivo and forms intracellular blebs. *Clin Microbiol Rev* 1996; 14: 177-207.
26. Resto-Ruiz S, Burgess A, Anderson BE. The role of host immune response in pathogenesis of *Bartonella henselae*. *DNA Cell Biol* 2003; 22: 431-440.
27. O'Connor SP, Dorsch M, Steigerwalt AG. 16S r RNA sequences of *Bartonella bacilliformis* and cat-scratch disease bacillus reveal phylogenetic relationships with the alfa-2 subgroup of the class *Proteobacteria*. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2144-50.
28. Drauncourt M, Birtles R, Chaumentin G. New serotype of *Bartonella henselae* in endocarditis ve cat-scratch disease. *Lancet* 1996; 347: 441-3.
29. Bergmans AM, Schellekens JF, Embden JD, Shoulds LM. Predominance of two *Bartonella henselae* variants among cat-scratch disease patients in Netherlands. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 254-60.
30. Miscellaneous Fastidious Gram-Negative Bacilli. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G (eds). In: *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th edition. Philadelphia: Lippincott; A Wolters Kuwer Company, 2006: 497-510.
31. Bermond D, Boulouis HJ, Heller R. *Bartonella bovis* sp. nov. and *Bartonella capreoli* sp. nov., isolated from European ruminants. *Int J Syst Evol Microbiol* 2002; 52: 383-90.
32. Breitschwerdt EB, Sontakke S, Cannedy A. Infection with *Bartonella weissii* and detection of Nanobacterium antigens in North Carolina beef herd. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 879-82.

33. Bermond D, Boulouis HJ, Heller R. *Bartonella bovis* sp. nov. and *Bartonella capreoli* sp. nov., isolated from European ruminants. Int J Syst Evol Microbiol 2002; 52: 383-90.
34. Aydın N. *Bartonella* türleri. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon hastalıkları Mikrobiyolojisi kitabında, 3.baskı. İstanbul; 2008:2266-73
35. Ristic M, Kreirer JP: Family II. Bartonellaceae Gieszczykiewicz In Krieg NR, Holt JG (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, first edition, Baltimore: Williams &Wilkins, 1984; 717-719.
36. Schwartzman WA. Infections due to *Rochalimae*: the expanding clinical spectrum. Clin Infect Dis 1992; 15: 893-902.
37. Daly JS, Worthington MG. Brenner DJ et al: *Rochalimaea elizabethae* sp. nov., isolated from a patient with endocarditis. J Clin Microbiol 1993; 31: 872-881.
38. Daly JS, Worthington MG, Brenner DJ, Moss CW, Hollis DG, Weyant RS, Steigerwalt AG, Weaver RE, Daneshvar MI, O'Connor SP 1993. *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. isolated from a patient with endocarditis. J Clin Microbiol; 31: 872-881.
39. Kreuger CM, Marks KL, Ihler GM. Physical map of the *Bartonella bacilliformis* genome. J. Bacteriol 1995; 177: 7271-74.
40. Weiss E, Moulder JW. Order I. *Rickettsiales*. N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 1th edition. Baltimore: The Williams & Wilkins Co. 1984: 687-701
41. Brenner DJ, O'Connor SP, Hollis DG, Weaver RE, Steigerwalt AG. Molecular characterization and proposal of a neotype strain for *Bartonella bacilliformis*. J Clin Microbiol 1991; 29: 1299-1302.
42. Daly JS, Worthington MG, Brenner DJ, Moss CW, Hollis DG, Weyant RS, Steigerwalt AG, Weaver RE, Daneshvar MI, O'Connor SP. *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. isolated from a patient with endocarditis. J. Clin. Microbiol 1993; 31: 872-881
43. Myers WF, Wisseman CL. Genetic relatedness among the typhus group of rickettsiae. Int J Syst Bacteriol 1980; 30: 143-150.
44. Myers WF, Wisseman CL, Fiset P, Oaks EV, Smith JF. Taxonomic relationship of the vole agent to *Rochalimaea quintana*. Infect Immun 1979; 26: 976-983.

45. Weisburg WG, Woese CR, Dobson ME, Weiss E. A common origin of *rickettsiae* and certain plant pathogens. *Science* 1985; 230: 556-558.
46. Minnick MF, Steigler GL. Nucleotide sequence and comparison of the 5S ribosomal RNA genes of *Rochalimaea henselae*, *R. quintana*, and *Brucella abortus*. *Nucleic Acids Res.* 1993; 21: 2518-32.
47. Minnick MF, Strange JC, Wllimas KF. Characterization of the 16S-23S rRNA intergenic spacer of *Bartonella bacilliformis*. *Gene* 1994; 143: 149-150.
48. Umemori E, Sasaki Y, Amano K. A phage in *Bartonella bacilliformis*. *Microbiol Immunol* 1992; 36: 731-736
49. Anderson B, Goldsmith C, Johnson A, Padmalayam I, Baumstark B. Bacteriophage-like particle of *Rochalimaea henselae*. *Mol Microbiol* 1994; 13: 67-73.
50. Welch DF, Pickett DA, Slater LN, Steigerwalt AG, Brenner DJ. *Rochalimaea henselae* sp. nov., cause of septicemia, basillary angiomatosis, and parenchymal bacillary peliosis. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 275-805.
51. Maguina C, Garcia PJ, Gotuzzo E, Cordero L, Spach DH. Bartonellosis (Carrión's Disease) in the Modern Era. *Clin Infect Dis.* 2001; 33: 772-9.
52. Clarridge JE III, Raich T, Pirwani D, Simon B. Strategy To Detect and Identify *Bartonella* Species in Routine Clinical Laboratory Yields *Bartonella henselae* from Human Immunodeficiency Virus-Positive Patient and Unique *Bartonella* Strain from His Cat, *Journal of Clin Microbiol* 1995; 33: 2107–2113.
53. Rovey C, Rolain JM, Lepidi H, Zandotti C, Moreau J, Brouqui P. Bartonella quintana coinfection with Mycobacterium avium complex and CMV in an AIDS patient: case presentation. *BMC Infectious Diseases* 2006; 6: 89.
54. Boulouis HJ, Chang CC, Henn JB. Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections. *Vet Res* 2005; 36: 383-410.
55. Jacomo V, Kelly PJ, Raoult D. Natural history of *Bartonella* infections (an exception to Koch's postulate). *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 8-18.
56. Maruyama S, Nakamura Y, Kabeya H, et al. Prevalence of *Bartonella henselae*, *Bartonella clarridgeiae* and the 16S rRNA gene types of *Bartonella henselae* among pet cats in Japan. *J Vet Med Sci* 2000; 62: 273-9.
57. Chomel BB, Abbott RC, Kasten RW, et al. *Bartonella henselae* prevalence in domestic cat in California: risk factors and association between bacteremia and antibody titers. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2445-50.

58. Cabassi CS, Farnetti E, Casali B, et al. Isolation of *Bartonella henselae* from domestic cats in an Italian urban area. *New Microbiol* 2002; 25: 253-7.
59. Schulte B, Linke D, Klumpp S, et al. *Bartonella quintana* variably expressed outer membrane proteins mediate vascular endothelial growth factor secretion but not host cell adherence. *Infect Immun* 2006; 74: 5003-13.
60. Koehler JE, Quinn FD, Berger TG, et al. Isolation of *Rochalimaea* species from cutaneous and osseous lesions of bacillary angiomatosis. *N Engl J Med* 1992; 325: 1625-31.
61. McGill S, Wesslén L, Hjelm E. *Bartonella* spp. Seroprevalence in healthy Swedish blood donors. *Scand J Infect Dis* 2005; 37: 723-30.
62. Drancourt M, Mainardi JL, Brouqui P. *Bartonella (Rochalimaea) quintana* endocarditis in three homeless men. *N Engl J Med* 1995; 332: 419-23.
63. Çelebi B. *Bartonella henselae* ve enfeksiyonları. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2008; 42: 163-175
64. Dehio C. Molecular and cellular basis of *Bartonella* Pathogenesis. *Annu Rev Microbiol* 2004; 58: 365-90.
65. Billeter SA, Levy MG, Chomel BB, Breitschwerdt EB. Vector transmission of *Bartonella* species with emphasis on the potential for tick transmission. *Med Vet Entomol* 2008; 22: 1-15.
66. Minnick MF, Battisti JM. Pestilence, persistence and pathogenicity: infection strategies of *Bartonella*. *Future Microbiol.* 2009; 4: 743-758.
67. Dehio C. Infection-associated type IV secretion systems of *Bartonella* and their diverse roles in host cell interaction. *Cell Microbiol* 2008; 10: 1591–1598.
68. Saenz HL, Engel P, Stoeckli MC. Genomic analysis of *Bartonella* identifies type IV secretion systems as host adaptability factors. *Nat Genet* 2007; 39: 1469–1476.
69. Coleman SA, Minnick MF. Establishing a direct role for the *Bartonella bacilliformis* invasion associated locus B (IalB) protein in human erythrocyte parasitism. *Infect Immun* 2001; 69: 4373–4381.
70. Hendrix LR. Contact-dependent hemolytic activity distinct from deforming factor of *Bartonella bacilliformis*. *FEMS Microbiol Lett* 2000; 182: 119-124.
71. Riess T, Andersson SGE, Lupas A. *Bartonella* adhesin A mediates a proangiogenic host cell response. *J Exp Med* 2004; 200: 1267-1278.

72. Riess T, Raddatz G, Linke D, Schäfer A, Kempf VAJ. Analysis of *Bartonella* adhesin A expression reveals differences between various *B. henselae* strains. *Infect Immun* 2007; 75: 35-43.
73. MacKichan JK, Gerns HL, Chen YT, Zhang P, Koehler JE. A SacB mutagenesis strategy reveals that the *Bartonella quintana* variably expressed outer membrane proteins are required for bloodstream infection of the host. *Infect Immun* 2008; 76: 788-795.
74. Verma A, Davis GE, Ihler GM. Infection of human endothelial cells with *Bartonella bacilliformis* is dependent on Rho and results in activation of Rho. *Infect Immun* 2000; 68: 5960-5969.
75. Juhas M, Crook DW, Hood DW. Type IV secretion systems: tools of bacterial horizontal gene transfer and virulence. *Cell Microbiol* 2008; 10: 2377–2386.
76. Schmid MC, Schulein R, Dehio M, Denecker G, Carena I, Dehio C. The VirB type IV secretion system of *Bartonella henselae* mediates invasion, proinflammatory activation and antiapoptotic protection of endothelial cells. *Mol Microbiol* 2004; 52: 81-92.
77. Greub G, Raoult D. *Bartonella*: new explanations for old diseases. *J Med Microbiol* 2002;51: 915-23.
78. Garcia FU, Wojta J, Broadley KN, Davidson JM, Hoover RL. *Bartonella bacilliformis* stimulates endothelial cells *in vitro* and is angiogenic *in vivo*. *Am J Pathol* 1990; 136: 1125-1135.
79. Garcia FU, Wojta J, Hoover RL. Interactions between live *Bartonella bacilliformis* and endothelial cells. *J Infect Dis* 1992; 165: 1138-1141.
80. Riess T, Andersson SGE, Lupas A. *Bartonella* adhesin A mediates a proangiogenic host cell response. *J Exp Med* 2004; 200: 1267-1278.
81. Kaiser PO, Riess T, Wagner CL, et al. The head of *Bartonella* adhesin A is crucial for host cell interaction of *Bartonella henselae*. *Cell Microbiol* 2008; 10: 2223-2234.
82. Battisti JM, Smitherman LS, Sappington KN, Parrow NL, Raghavan R, Minnick MF. Transcriptional regulation of the heme binding protein gene family of *Bartonella quintana* is accomplished by a novel promoter element and iron response regulator. *Infect Immun* 2007; 75: 4373-4385.
83. Regnery BD, Plikaytis JL, Hadler ML, Cartterve J. Cat scratch disease in Connecticut. Epidemiology, risk factors, and evaluation of a new diagnostic test. *N Eng J Med*. 1993; 329: 8-13.

84. Kordick DL, Hilyard EJ, Hadfield TL, Wilson KH, Steigerwalt AG, Brenner DJ, Breitschwerdt B. *Bartonella clarridgeiae*, a newly recognized zoonotic pathogen causing inoculation papules, fever, and lymphadenopathy (cat scratch disease). J Clin Microbiol. 1997; 35: 1813-1818.
85. Margileth AM, Baehren DF. Chest-wall abscess due to cat-scratch disease (CSD) in an adult with antibodies to *Bartonella clarridgeiae*: case report and review of the thoracopulmonary manifestations of CSD. Clin Infect Dis 1998; 27: 353-357.
86. Hamilton DH, Zangwill KM, Hadler J L, Cartter ML. Cat-scratch disease - Connecticut, 1992-1993. Infect Dis 1995; 172: 570-3.
87. Windsor J. Cat-scratch disease: epidemiology, aetiology and treatment. Br J Biomed Sci 2001; 58: 101-10.
88. Gouriet F, Lepidi H, Habib G, Collart F, Raoult D. From cat scratch disease to endocarditis, the possible natural history of *Bartonella henselae* infection. BMC Infect Dis 2007; 7: 30.
89. Gray AV, Michels KS, Lauer AK, Samples JR. *Bartonella henselae* infection associated with neuroretinitis, central retinal artery and vein occlusion, neovascular glaucoma and severe vision loss. Am J Ophthalmol 2004; 137:187-9.
90. Hipp SJ, O'Shield A, Fordham LA, Blatt J, Hamrick HJ, Henderson FW. Multifocal bone marrow involvement in cat-scratch disease. Ped Infect Dis J 2005; 24: 472-4.
91. Koehler JE, Sanchez MA, Garrido CS, Whitfield MJ, Chen FM, Berger TG, Rodriguez-Barradas MC, LeBoit PE, Tappero JW. Molecular epidemiology of *Bartonella* infections in patients with bacillary angiomatosis-peliosis. N Engl J Med 1997; 337: 1876-1883
92. Aydoğan İ, Parlak AH, Alper M, Aksoy KA. HIV seronegatif bir olguda gelişen basiller anjiomatozis. Türkderm Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi 2004; 38: 71-4.
93. Fournier PE, Lelievre H, Eykyn SJ, Mainardi JL, Marrie TJ, Bruneel F, Roure C, Nash J, Clave D, James E, Benoit-Lemercier C, Deforges L, Tissot-Dupont H, Raoult D. Epidemiologic and clinical characteristics of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae* endocarditis: a study of 48 patients. Medicine 2001; 80: 245-251.
94. Raoult D, Fournier PE, Drancourt M, Marrie TJ, Etienne J, Cosserat J, Cacoub P, Poinsignon Y, Leclercq P, Sefton AM. Diagnosis of 22 new cases of *Bartonella* endocarditis. Ann Intern Med 1996; 125: 646-652.

95. Raoult D, Fournier PE, Vandenesch F, Mainardi JL, Eykyn SJ, Nash J, James E, Benoir-Lemercier C, Marrie TJ. Outcome and treatment of *Bartonella* endocarditis. Arch Intern Med 2003; 163: 226-230.
96. Raoult D, Casalta JP, Richet H, Khan M, Bernit E, Rovey C, Branger S, Gouriet F, Imbert G, Bothello E, Collart F, Habib G Contribution of systematic serological testing in diagnosis of infective endocarditis J Clin Microbiol. 2005; 43: 5238.
97. Albrich WC, Kraft C, Fisk T, Albrecht H. A mechanic with a bad valve: blood-culture-negative endocarditis. Lancet Infect Dis 2004; 4: 777-84.
98. Massimo A. Ocular Bartonellosis. Int J Med Sci 2009; 6: 131-132.
99. Suhler EB, Lauer AK, Rosenbaum JT. Prevalence of serologic evidence of cat scratch disease in patients with neuroretinitis. Ophthalmology 2000; 107: 871-876.
100. Kodama T, Masuda H, Ohira A. Neuroretinitis associated with cat-scratch disease in Japanese patients. Acta Ophthalmol Scand 2003; 81: 653-657.
101. Yamashita CA, Mielle A, Shhessarenko N, Nascimento S, Gilio A, Pahl M, Ejzenberg B, Baldacci E, Okay Y. Parinaud syndrome caused by *Bartonella henselae*: case report. Rev Inst Med Trop S Paulo 1996; 38: 437-440.
102. Chamberlin J, Laughlin L, Romero S, Solorzano N, Gordon S, Andre RG, Pachas Friedman H. Epidemiology of endemic *Bartonella bacilliformis*: a prospective cohort study in a Peruvian mountain valley community. J Infect Dis 2000; 186: 983-990.
103. Kosek M, Lavarello R, Gilman RH, Delgado J, Maguina C, Verastegui M, Recavarren S, Cabrera L. Natural history of infection with *Bartonella bacilliformis* in a non-endemic population. J Infect Dis 2000; 182: 865-872.
104. Ricketts WE. Clinical manifestations of Carrion's disease. Arch Intern Med 1949; 84: 751-781.
105. Spach DH, Koehler JE. Bartons-associated infections. Infect Dis Clin N Am 1998; 12: 137-155.
106. Broqui P, La Scola B, Roux V, Raoult D. Chronic *Bartonella quintana* bacteremia in homeless patients. N Engl J Med 1999; 340: 184-189.
107. Jackson LA, Spach DH. Emergence of *Bartonella quintana* infection among homeless persons. Emerg Infect Dis 1996; 2: 141-144.
108. Tappero JW, Mohle-Boetani JC, Koehler JE, Swaminathan B, Berger TG, LeBoit PE, Smith LL, Wenger JD, Pinner RW, Kemper CA. The epidemiology of bacillary angiomatosis and bacillary peliosis. JAMA 1993; 269: 770-775.

109. Fenollar F, Raoult D. Molecular genetic methods for the diagnosis of fastidious microorganisms. *APMIS* 2004; 112:785-807.
110. Rolain JM, Foucault R, Guieu R, La Scola B, Brouqui P ve Raoult D. *Bartonella quintana* in human erythrocytes. *Lancet* 2002; 360: 226-228.
111. Schulein R, Seubert A, Gille C, Lanz C, Hansmann Y, Piemont Y ve Dehio C. Invasion and persistent intracellular colonization of erythrocytes. A unique parasitic strategy of the emerging pathogen *Bartonella*. *J Exp Med* 2001; 193: 1077-1081.
112. Maggi RG, Duncan AW, Breitschwerdt EB. Novel chemically modified liquid medium that will support the growth of seven bartonella species. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2651-5.
113. Foucault C, Rolain JM, Raoult D ve Brouqui P. Detection *Bartonella quintana* by direct immunofluorescence examination of blood smears of a patient with trench fever. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4904-4906.
114. Bergmans AM, Peeters MF, Schellekens JF. Pitfalls and fallacies of cat scratch disease serology: evaluation of *Bartonella henselae*-based indirect fluorescence assay and enzymelinked immunoassay. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1931-7.
115. Liang Z, La SB, Lepidi H, Raoult D. Production of *Bartonella* genus-specific monoclonal antibodies. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8: 847-9.
116. Agan BK ve Dolan MJ. Laboratory diagnosis of *Bartonella* infections. *Clin. Lab. Med.* 2002; 22: 937-962.
117. Rolain JM, Gouriet F, Enea M, Aboud M ve Raoult D. Detection by immunofluorescence assay of *Bartonella henselae* in lymph nodes from patients with cat scratch disease. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003; 10: 686-691.
118. Roux V, Raoult D. The 16S-23S r RNA intergenic spacer region of *Bartonella (Rochalimae)* species is longer than usually described in other bacteria. *Gene* 1995; 156:107-111
119. Qian X, Jin L, Hayden RT, Macon WR, Lloyd RV. Diagnosis of cat scratch disease with *Bartonella henselae* infection in formalin-fixed paraffin-embedded tissues by two different PCR assays. *Diagn Mol Pathol* 2005; 14: 146-51.
120. Roux V, Raoult D. The 16S-23S r RNA intergenic spacer region of *Bartonella (Rochalimae)* species is longer than usually described in other bacteria. *Gene* 1995; 156: 107-111.

121. Qian X, Jin L, Hayden RT, Macon WR, Lloyd RV. Diagnosis of cat scratch disease with *Bartonella henselae* infection in formalin-fixed paraffin-embedded tissues by two different PCR assays. *Diagn Mol Pathol* 2005; 14: 146-51.
122. Foucault C, La Scola B, Lindroos H, Anderson SG, Raoult D. Multispacer typing technique for sequence-based typing of *Bartonella quintana*. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 41-48.
123. Iredell J, Blanckenberg D, Arvand M, Grauling S, Feil EJ. Characterization of the Natural Population of *Bartonella henselae* by Multilocus Sequence Typing. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41: 5071-5079.
124. Rolain JM, Maurin M, Raoult D. Bactericidal effect of antibiotics on *Bartonella* and *Brucella* spp.; clinical implications. *J Antimicrob Chemother.* 2000; 46: 811-814.
125. Sobraques M, Maurin M, Birtles R, Raoult D. In vitro susceptibilities of four *Bartonella bacilliformis* strains to 30 antibiotic compounds. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43: 2090-92.
126. Wolfson C, Branley J, Gottlieb T. The E test for antimicrobial susceptibility testing of *Bartonella henselae*. *J Antimicrob Chemother.* 1996; 38: 963-8.
127. Chomel BB, Rolain JM. *Bartonella*. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, In: *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington DC: ASM press, 2007: 850-61.
128. Maurin M, Gasquet S, Ducco C. MICs of 28 antibiotic compounds for 14 *Bartonella* (formerly *Rochalimaea*) isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 2387-91.
129. Sobraques M, Maurin M, Birtles R, Raoult D. In vitro susceptibilities of four *Bartonella bacilliformis* strains to 30 antibiotic compounds. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43: 2090-92.
130. Maurin M, Raoult D. Antimicrobial susceptibility of *Rochalimaea quintana*, *Rochalimaea vinsonii*, and the newly recognised *Rochalimaea henselae*. *J Antimicrob Chemother* 1993; 32: 587-94.
131. Musso D, Drancourt M, Raoult D. Lack of bactericidal effect of antibiotics except aminoglycosides on *Bartonella henselae*. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36: 299-304.
132. Ives TJ, Manzwitsch P, Regnery RL. In vitro susceptibilities of *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae*, *Rickettsia rickettsii*, *R. conorii*, *R. akari* and *R. prowazekii* to macrolide antibiotics as determined by immunofluorescent-antibody analysis of infected Vero cell monolayers. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 578-82.

- 133.Ives TJ, Marston EL, Regnery RL. Invitro susceptibilities of *Rickettsia* and *Bartonella* spp. to 14-hydroxy-clarithromycin as determined by immunofluorescent antibody analysis of infected Vero cell monolayers. J Antimicrob Chemother 2000; 45: 305-10.
- 134.Rolain JM, Maurin M, Mallet MN, Parzy D, Raoult D. Culture and antimicrobial susceptibility of *Bartonella quintana* in human erythrocytes. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 614-9.
- 135.Kordick DL, Papich MG, Breitschwerdt EB. Efficacy of enrofloxacin and doxycycline for treatment of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* infection in cats. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 2448-55.
- 136.Pendle S, Ginn A, Iredell J. Antimicrobial susceptibility of *Bartonella henselae* using Etest methodology. J Antimicrob Chemother 2006; 57: 761-3.
- 137.Bryant K, Marshall GS. Hepatosplenic cat scratch disease treated with corticosteroids. Arch Dis Child 2003; 88: 345-6.
- 138.Foucalt C, Brouqui P, Raoult D. *Bartonella quintana* Characteristics and Clinical Management. Emerg Infect Dis 2006; 12: 217-223.
- 139.Ketring KL, Zuckerman EE, Hardy WD. *Bartonella*: a new etiological agent of feline ocular disease. J Am Anim Hosp Assoc 2004; 40: 6-12.
- 140.Chomel BB, Kasten RW, Floyd-Hawkins A, Chi B, Yamamoto K, Roberts-Wilson, Gurfield AN, Abbott RC. Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. J Clin Microbiol 1996; 34: 1952-1956.
- 141.Rolain JM, Franc M, Davous B, Raoult D. Molecular detection of *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B.clarridgeiae*, *Rickettsia felis* and *Wolbachia pipiensis* in cat fleas, France. Emerg Infect Dis 2003; 9: 338-342.
- 142.Chang CC, Chomel BB, Kasten RW, Romano V, Tietze N. Molecular evidence of *Bartonella* spp. In questing adult *Ixodes pacificus* ticks in California. J Clin Microbiol 2001; 39: 1221-1226.
- 143.Sanogo YO, Zeaiter Z, Caruso G, Merola E, Shpynov S, Broqui P, Raoult D. *Bartonella henselae* in *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodida) removed from humans, Belluno province. Italy Emerg Infect Dis 2003; 9: 329-332.
- 144.Johnson BJ, McMurray D. Cytokine gene expression by cultures of human lymphocytes with autologous mycobacterium tuberculosis-infected monocytes. Infection and Immunity. 1994; 62: 1444-50.

145. Maggi RG, Breitschwerdt EB. Potential Limitations of the 16S-23S rRNA intergenic region for molecular detection of *Bartonella* species. J Clin Microbiol. 2005; 43: 1171-76
146. Rolain JM, Gouriet F, Enea M, Aboud M, Raoult D. Detection by Immunofluorescence assay of *Bartonella henselae* in lymph nodes from patients with cat scratch disease. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 2003; 10: 686-691.
147. www.vircell.com
148. Celebi B, Kilic S, Aydin N, Tarhan G, Carhan A, Babur C. Investigation of *Bartonella henselae* in cats in Ankara, Turkey. Zoonoses Public Health 2009; 56: 169-75.
149. Celebi B, Carhan A, Kilic S, Babur C. Detection and Genetic Diversity of *Bartonella vinsonii* Subsp. *berkhoffii* Strains Isolated from Dogs in Ankara, Turkey. J Vet Med Sci 2010; 72: 969-973.
150. Sander A, Posselt M, Oberle K, Bredt W. Seroprevalence of antibodies to *Bartonella henselae* in patients with cat-scratch disease and in healthy controls: evaluation and comparison of two commercial serological tests. Clin Diagn Lab Immunol 1998; 5: 486-490.
151. Tea A, Aleixiou-Daniel S, Arvanitidou M, Diza E, Antoniadis A. Occurrence of *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* in a healthy Greek population. Am J Trop Med Hyg 2003; 68: 554-556.
152. McGill S, Wesslen L, Hjelm E, Holmberg M, Auvinen MK, Berggren K, Grandin-Jarl B, Johnson U, Wikstrom S, Friman G. *Bartonella* spp. seroprevalence in healthy Swedish blood donors. Scand J Infect Dis 2005; 37: 723-730.
153. Harrison TG, Doshi N. Serological evidence of *Bartonella* spp. infection in the UK. Epidemiol Infect 1999; 23: 233-244.
154. Maruyama S, Boonmar S, Morita Y, Sakai T, Tanaka S, Yamaguchi F, Kabeya H, Katsube Y. Seroprevalence of *Bartonella henselae* and *Toxoplasma gondii* among healthy individuals in Thailand. J Vet Med Sci 2000; 62: 635-637.
155. Zarkovic A, McMurray C, Deva N, Ghosh S, Whitley D, Guest S. Seropositivity rates for *Bartonella henselae*, *Toxocara canis* and *Toxoplasma gondii* in New Zealand blood donors. Clin Experiment Ophthalmol 2007; 35: 131-134.
156. Garcia-Garcia JA, Baquerizo R, Vargas J. Prevalence of serum antibodies against *Bartonella ssp.* in a health population from the south area of the Seville province. Rev Clin Esp 2005; 205: 541-4.

157. Schiellerup P, Dyhr T, Rolain JM. Low seroprevalence of *Bartonella* species in danish elite orienteers. Scand J Infect Dis 2004; 36: 604-6.
158. Jackson LA, Spach DH, Kippen DA. Seroprevalence of *Bartonella quintana* among patients at a community clinic in downtown Seattle. J Infect Dis 1996; 173: 1023-1026.
159. Guibal F, La Salmoniere P, Rybojad M, Hadjrabia S, Dehen L, Arlet G. High seroprevalence to *Bartonella quintana* in homeless patients with cutaneous parasitic infestations in downtown Paris. J Am Acad Dermatol 2001; 44: 219-223.
160. Smith HM, Reporter R, Rood MP, Linscott AJ, Mascola LM, Hogrefe W, Purcell RH. Prevalence study of antibody to rat-borne pathogens and other agents among patients using a free clinic in Downtown Los Angeles. J Infect Dis 2002; 186: 1673-1676.
161. Banneth G, Kordick DL, Hegarty BC. Comparative seroreactivity to *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* among cats from Israel and North Carolina. Vet Microbiol 1996; 50: 95-103.
162. Breitschwerdt EB, Kordick DL. *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. Clin Microbiol Rev 2000; 13: 428-38.
163. Kikuchi E, Maruyama S, Sakai T, Tanaka S, Yamaguchi F, Hagiwara T, Katsube Y, Mikami T. Serological investigation of *Bartonella henselae* infections in clinically cat-scratch disease-suspected patients, patients with cardiovascular diseases, and healthy veterinary students in Japan. Microbiol Immunol 2002; 46: 313-316.
164. Seki N, Sasaki T, Sawabe K, Sasaki T, Matsuoka M, Arakawa Y, Marui E, Kobayashi M. Epidemiological studies on *Bartonella quintana* infections among homeless people in Tokyo, Japan. Jpn J Infect Dis 2006; 59: 31-35.
165. Al-Majali AM, Al-Qudah KM. Seroprevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* infections in children from Central and Northern Jordan. Saudi Med J 2004; 25: 1664-1669.
166. Massei F, Messina F, Gori L, Macchia P, Maggiore. High prevalence of antibodies to *Bartonella henselae* among Italian children without evidence of cat scratch disease. Clin Infect Dis 2004; 38: 145-148.
167. Sander A, Posselt M, Böhm N, Michael R, Altwegg M. Detection of *Bartonella henselae* DNA by two different PCR assay and determination of the genotypes of strains involved in histologically defined cat scratch disease. J Clin Microbiol 1999; 37: 993-7.

- 168.Eroglu C, Candir N, Dervisoglu A, Kefeli M. A case of cat scratch disease. Mikrobiyol Bul 2007; 41: 603-6.
- 169.Çelebi B,Yalçın E, Babür C. *Bartonella henselae* gingivostomatitli bir kedinin sahibinde nedeni bilinmeyen ateş öyküsü ve *B.henselae* IgG seropozitifliğinin saptanması. Mikrobiyol Bul 2010; 44: 489-494.
- 170.Maruyama S, Nakamura Y, Kabeya H, Tanaka S, Sakai T, Katsube Y. Prevalence of *Bartonella henselae*, *Bartonella clarridgeiae* and the 16S rRNA gene types of *Bartonella henselae* among pet cats in Japan. J Vet Med Sci 2000; 62: 273-9.
- 171.Jameson P, Greene C, Regnery R. Prevalence of *Bartonella henselae* antibodies in pet cats throughout regions of North America. J Infect Dis 1995; 172: 1145-9.
- 172.Chomel BB, Abbott RC, Kasten RW, Floyd-Hawkins KA. *Bartonella henselae* prevalence in domestic cat in California: risk factors and association between bacteremia and antibody titers. J Clin Microbiol 1995; 33: 2445-50.
- 173.La Scola B, Zeatier Z, Khamis A ve Raoult D. Gene-sequence-based criteria for species definition in bacteriology: the *Bartonella* paradigm. Trends Microbiol 2003; 11: 318-321.
- 174.Vermeulen MJ, Diederer MW, Verbakel H, Peeters F. Low sensitivity of *Bartonella henselae* PCR in serum samples of patients with cat-scratch disease lymphadenitis. J Med Microbiol 2008; 57: 1049-1050.

EK- *BARTONELLA* SPP ARAŞTIRMASI ANKET FORMU

Çalışma sıra no

Tarih

Ad Soyad

Adres

Yaş

Cinsiyet

Telefon

Meslek

Ev halkı nüfusu

Bağlı bulunduğunuz Sağlık Ocağı:

Öğrenim durumunuz;

Yaşadığınız ev türü

☐ 1) Okur-yazar değil

☐ 1) apartman katı

☐ 2) Okur-yazar

☐ 2) Betonarme müstakil ev

☐ 3) İlkokul mezunu

☐ 3) Ahşap ev

☐ 4) Ortaokul mezunu

☐ 4) Yığma (kerpiç) bina

☐ 5) Lise mezunu

☐ 5) Gecekondu

☐ 6) Yüksekokul mezunu

Evde kullanılan su

Gelir durumunuz

☐ 1) Şebeke suyu

☐ 1) çok yüksek

☐ 2) Kuyu suyu

☐ 2) yüksek

☐ 3) Ortak kullanılan çeşme

☐ 3) orta

☐ 4) Taşıma su

☐ 4) düşük

☐ 5) Depo suyu

☐ 5) çok düşük

		VAR	YOK	Cevap Var ise Ek açıklama
1	Hayvan teması (koyun , keçi)	☐	☐	
2	Hayvan teması (inek)	☐	☐	
3	Hayvan teması (kedi, köpek)	☐	☐	
4	Evde hayvan besleme	☐	☐	Ne zamandır?
5	Bahçede hayvan besleme	☐	☐	
6	Ev hayvanlarında ölüm	☐	☐	
7	Ev hayvanlarında kene, pire temizliği	☐	☐	
8	Hayvan Doğum yardımı	☐	☐	
9	Hayvan kesme, yüzmeye	☐	☐	
10	Kedi, köpek tırmalaması	☐	☐	Sıklığı?
11	Fare ile temas (ölü veya canlı)	☐	☐	
12	Farelerde artış	☐	☐	
13	Fare dışkısı ile temas	☐	☐	
14	Av hayvanı yeme	☐	☐	
15	Av hayvanı temizleme, kesme	☐	☐	
16	Taze peynir yeme	☐	☐	
17	Çiğ süt içimi	☐	☐	
18	Çevrede zoonoz	☐	☐	
19	Doğada uğraş	☐	☐	Bahçe (), Orman (), Yayla ()
20	Eklem ağrısı	☐	☐	
21	Baş ağrısı	☐	☐	
22	Ateş	☐	☐	
23	Öksürük	☐	☐	
24	Balgam	☐	☐	
25	İshal	☐	☐	
26	Konjunktivit	☐	☐	
27	Ülser-yara	☐	☐	
28	Döküntü-eritem	☐	☐	
29	Boğaz ağrısı	☐	☐	
30	Lenfadenopati	☐	☐	
31	Çarpıntı	☐	☐	
32	Çabuk yorulma	☐	☐	
33	Kilo kaybı	☐	☐	
34	Altta yatan hastalık	☐	☐	DM (), KBY (), KOAH (), Malignite ()
35	Zoonotik ineksiyon tanısı	☐	☐	
	Varsa diğer özellikler			
36		☐	☐	
37		☐	☐	
38		☐	☐	
39		☐	☐	