



**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

DİYARBAKIR YÖRESİNDE TULAREMİ SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI

**Dr. Hasan BOZDAĞ
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

DİYARBAKIR-2015



**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

DİYARBAKIR YÖRESİNDE TULAREMİ SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI

**Dr. Hasan BOZDAĞ
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Tuncer ÖZEKİNCİ**

DİYARBAKIR-2015

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince emeği olan, bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren tez hocam Doç.Dr. Tuncer ÖZEKİNCİ'ye, yine uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emeği olan, bilgi ve tecrübelerini bizlerle paylaşan başta Ana Bilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Kadri GÜL hocam olmak üzere Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT'a, Prof. Dr. Adnan SUAY'a, Prof. Dr. Mahmut METE'ye, Prof. Dr. Selahattin ATMACA'ya, Doç. Dr. Mutalip ÇİÇEK'e, Uzm. Dr. Nida ÖZCAN'a, her zaman birlikte çalışmayı çok sevdiğim diğer asistan arkadaşlarıma ve ismini yazamadığım tüm çalışma arkadaşlarıma,

Çalışmanın bilimsel verilerinin analizinde desteğini esirgemeyen Yrd.Doc. Dr. Yılmaz PALANCI 'ya

Tularemi antijeni ve pozitif kontrol serumunu temin eden Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nda görevli Doç.Dr. Selçuk KILIÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Beni bugünlere getiren her zaman destek olan sevgili anneme, babama ve diğer aile üyelerime saygılarımı, bana her zaman destek olan eşim Hatice BOZDAĞ'a ve kızım Hümeysra'ya sevgilerimi sunarım.

ÖZET

Tularemi hastalığı, küçük, hareketsiz, aerop ve gram negatif bir kokobasil olan *Francisella tularensis*'in etken olduğu zoonotik bir hastalıktır. Dünyada, kuzey yarım kürede 30-71 enlemleri arasında bulunan ülkelerde endemik olarak görülebilmektedir. Türkiyede ilk 1936 Lüleburgaz'daki epidemiden sonra birçok salgın bildirimi olmuştur. Biz, araştırmamızda etkenin bölgedeki seroprevalansını bulmayı amaçladık.

Çalışmaya Diyarbakır ve çevre illerden 1503 kişi dahil edilmiştir. Serumlar 1/20'lik dilüsyonlarda, mikroaglutinasyon yöntemi ile tularemi tarama protokolünden geçirilmiştir. Taramada pozitif saptanan serumlarda, Bruselloz ile çapraz reaksiyonu belirlemek için Rose Bengal lam aglutinasyon testi çalışılmıştır. Tarama pozitif ve Rose-Bengal testi negatif 19 seruma titrasyon işlemi yapılmıştır.

Çalışmamızda kadın erkek arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p=0.108$). Yaş grupları arasında da anlamlı bir fark bulunmamıştır($p=0,053$). Bölgemizdeki tularemi seroprevalansını %1,3 olarak saptanmıştır. Bu oran Türkiye'de yapılan bazı çalışmalara benzemektedir. Daha kapsamlı çalışmalar etken hakkında daha fazla epidemiyolojik verilerin elde edilmesini sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Diyarbakır, tularemi, seroprevalans

ABSTRACT

Tularemia is a zoonosis caused by *Francisella tularensis* which is a small, still, and gram-negative aerobic coccobacillus . It can be seen as endemic in countries between 30-71 latitudes of the Northern Hemisphere. After the first epidemic in Lüleburgaz statement in 1936, there have been many outbreaks in Turkey. In our research, we aimed to find the seroprevalence of tularemia in our region.

1503 people from Diyarbakir and neighboring provinces were included in the study. The sera of them were screened for tularemia by Microagglutination method with a dilution of 1/20. The positive sera were studied by Rose-Bengal slide agglutination test to determine the cross-reaction with Brucellosis. Screen test positive and Rose-Bengal test negative 19 sera were determined by titration.

In our study, there was no significant difference between men and women ($p = 0.108$). There was not a significant difference between age groups ($p = 0.053$). We found tularemia seroprevalence as 1.3% in our region. This rate is similar to some other studies in Turkey. More extensive studies will enable the acquisition of more epidemiological data.

Keywords: Diyarbakır, tularemia, seroprevalence

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Tulareminin Tarihçesi	2
2.2 Mikrobiyolojik Özellikler.....	3
2.2.1 Mikroskopik görünüm, boyanma ve biyokimyasal özellikler	3
2.2.2 Sınıflandırma ve alt türler	6
2.2.3 Dayanıklılık.....	7
2.3 Epidemiyoloji ve Coğrafik Dağılım	8
2.3.1 Dünya’da tularemi	8
2.3.2 Türkiye’de tularemi	10
2.3.3 Demografik özellikler.....	14
2.4 Risk Grupları	15
2.5 Vektör ve Doğal Rezervuarlar	16
2.6 Evcil Hayvanlarda Tularemi	18
2.7 Bulaş Yolları	18
2.7.1 Direkt bulaşma (deri ve mukozal yol)	19
2.7.2 Sindirim yolu ile bulaşma (oral yol)	19
2.7.3 Solunum yolu ile bulaşma.....	20
2.8 İmmunopatogenez ve Patoloji	20
2.9 Enfeksiyona Karşı İmmünite ve Konak Cevap.....	21
2.9.1 Doğal immünite	22
2.9.2 Adaptif immünite	23
2.10 Klinik Belirti ve Bulgular.....	23
2.10.1 Ülseroglandüler tularemi.....	24

2.10.2 Glandüler tularemi	24
2.10.3 Oküloglandüler tularemi	24
2.10.4 Pnömonik tularemi	25
2.10.5 Tifoidal tularemi	25
2.10.6 Orofaringeal tularemi	25
2.11 Laboratuvar Tanısı	26
2.11.1 Örneklerin alınması ve saklanması	28
2.11.2 Etkenin direkt olarak gösterilmesi: Mikroskopi ve DFA.....	29
2.11.3 Kültür	29
2.11.4 Moleküler tanı	31
2.11.5 Serolojik tanı.....	32
2.12 Bildirim	33
2.13 Vaka Algoritması.....	33
2.14 Tedavi	34
2.14.1 Antibiyotik direnci	34
2.14.2 Temas sonrası profilaksi	35
2.15 Korunma ve Kontrol	35
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1 Örneklerin Toplanması ve Çalışılması.....	36
3.2 Tularemi Antijeni ile Mikroaglutinasyon Tarama	37
3.3 Pozitif Bulunan Örneklerin Üst Titrelerinin Araştırılması	38
3.4 İstatistik	39
4. BULGULAR	40
5. TARTISMA	44
6. SONUÇ	48
7. EK-1.....	49
8. KAYNAKLAR.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Francisella tularensis'in gram boyamada görünümü.	3
Şekil 2. Kültürdeki görünümleri: A- BCYE, B- sisteinle zenginleştirilmiş cukolata agar, C- sisteinle zenginleştirilmiş koyun kanlı agar, D- CHAB.	5
Şekil 3. Dünyada Tulareminin görüldüğü bölgeler.	8
Şekil 4. Tularemi ulusal referans tanı laboratuvarları ve yetki alanları.	14
Şekil 5. Tularemidde A-ülser, B-glandüler tutulum görünümü	26
Şekil 6. Tularemidde A-Pnömonik akciğer, B-Orofaringeal tutulum görünümü	26
Şekil 7. Mikroaglutinasyon testi için 96 kuyucuklu U-mikroplate.	37



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Francisella türlerini ve alt türlerini birbirlerinden ayıran özellikler	6
Tablo 2. 1936-2005 yılları arasında Türkiye’de bildirilen tularemi salgınları.....	12
Tablo 3. Erişkinlerde ve çocuklarda tularemi tedavisinde önerilen antibiyotikler, dozu ve süreleri.....	34
Tablo 4. Kişilerin yerleşim yerlerine göre dağılımı	40
Tablo 5. Tularemi sıklığı.....	41
Tablo 6. Cinsiyet dağılımı.....	41
Tablo 7. Tularemi pozitif serumların cinsiyete göre dağılımı.....	41
Tablo 8. Yerleşim yerine göre tularemi dağılım	42
Tablo 9. Pozitif ve negatif bireylerin yaş ortalaması	43
Tablo 10. Tarama pozitif numunelerin titreleri	43

KISALTMALAR DİZİNİ

°C	:Santigrat Derece
ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
ARDS	:Akut Respiratuar Distres Sendromu
BCYE	:Buffered charcoal yeast extract
CHAP	:Sisteinli Kalp Agar Besiyeri
CRP	:C- Reaktif Protein
DFA	:Direk Floresan Antikor
DIC	:Dissemine İntravasküler Koagülasyon
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
EIA	:Enzim Immun Assay
ELISA	:Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ESR	:Eritrosit Sedimentasyon Hızı
Ig	:İmmünoglobulin
İFAT	:İndirek İmmün Floresan Antikor Testi
İFN	:İnterferon
İL	:İnterlökin
LAP	:Lenfadenopati
LPS	:Lipopolisakkarit
LVS	:Live Vaccine Strain
MAT	:Mikro Aglütinasyon Testi
MHC	:Major Histocompatibility Complex
NK	:Natural Killer
NO	:Nitrik Oksid
PCR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SSCB	:Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği
Subsp	:Subspecies
TNF	:Tümör Nekroz Faktör
TSİ	:Triple Sugar Iron Agar
WB	:Western Blot

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tularemi kuzey yarım kürede endemik olarak görülebilen zoonotik bir hastalıktır. Hastalığın etkeni *Francisella tularensis*'dir. *Francisella tularensis* gram-negatif, küçük kokobasil morfolojisinde bir bakteridir(1). Tularemi zoonotik bir hastalık olup, değişik zamanlarda salgınlar ortaya çıkabilmektedir. Rezervuarları olan sıçan, fare, kunduz, tavşan gibi kemirgenler, bu canlılarla teması olan kene gibi vektörler ile temas sonrası veya bakteriyi barındıran su kaynaklarının kullanımı, kontamine yiyeceklerin tüketilmesi ile insana bulaşabilmektedir(2).

Tularemi, kuzey yarım kürede olduğu gibi ülkemizde de endemik olarak görülen bir hastalıktır. Türkiye'de ilk tularemi salgınında 1936 yılında Lüleburgaz'da 150 vaka görülmüştür(3). İlerleyen yıllarda farklı illerden (Lüleburgaz, Antalya, Van, Bursa) bildirimler olmuştur. Sağlık Bakanlığı tularemiyi 2005 yılında "bildirimi zorunlu hastalıklar" listesine almasından sonra Türkiye'de salgın bildirimleri artmış ve 2005 yılından 2008 yılına kadar ülkemizin 31 ilinde tularemi olgularının olduğu rapor edilmiştir(4-7).

Diyarbakır da tularemi vaka bildirimi nadir olup seroprevalans ile ilgili yeterli bir çalışma ve epidemiyolojik veri bulunmamaktadır. Biz bu çalışmada Diyarbakır ve çevre illerde bulunan insanların tularemi seropozitifliğinin prevalansını bularak hastalığın toplum sağlığını ne ölçüde etkilediğini göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tulareminin Tarihçesi

Tularemi ilk McCoy ve Chapin tarafından 1911'de Kaliforniya'nın Tulare şehrinde veba benzeri hastalıktan ölen sincaplardan salgın bir hastalık etkeni olarak tanımlanmıştır. Etken *Bacterium tularensis* olarak adlandırılmıştır. 1914 yılında *Francisella tularensis*'in insandan ilk izolasyonu ise Lamb ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. 1920 yılında Edward Francis'in çalışmaları ile hastalığın klinik bulguları, tanısı ve epidemiyolojik özellikleri ortaya konmuştur. 1947 yılında *Bacterium tularensis* adı Edward Francis'in anısına *Francisella tularensis* olarak değiştirilmiştir (1, 8).

Tularemi dünyada farklı isimlerle de bilinmektedir bunlar; ABD'de veba benzeri hastalık, geyik sineği ateşi, pazarcı hastalığı ve tavşan ateşi hastalığı, Rusya'da su sıçanı avcı hastalığı, Japonya'da ise Ohara hastalığı ve yabani tavşan ateşi olarak adlandırılmaktadır(1, 8-10). Türkiye'de halk arasında şiş hastalığı, top hastalığı, pirinç hastalığı olarak isimlendirilmiştir(11).

Tularemi eski SSCB'de ve Amerika'da önemli bir çevre sağlığı sorunu etkenidir. Amerika'da; 1990-2000 yılları arasında 1.400, 1920-1945 yılları arasında 14.000 den daha fazla olgu bildirilmiştir. Tularemi, eski SSCB'de İkinci Dünya Savaşı zamanlarında geniş çaplı salgınlar meydana getirmiştir. 1941-42 kış mevsiminde Rostov-on-Don bölgesinde 67.000 vaka bildirimi olmuştur(12).

İnhalasyonla alınan 10 bakterinin hastalık yapabilmesi nedeni ile enfektif dozu çok düşük bakteriler arasındadır. Virülansı ve mortalitesi oldukça yüksek olan *Francisella tularensis*, olası biyolojik savaş etkenidir. 1940 ve 1950'li yıllarda Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Sovyet Rusya'nın saldırı politikalarında önemli sıralarda yer almıştır. 1960'larda ABD biyolojik silah olarak *Francisella tularensis*'i depolamıştır(13). Bildirimi zorunlu hastalıklar arasında Kategori A'da yer alır. Kategori A'da yer alan *Francisella tularensis* Dünya Sağlık Örgütü

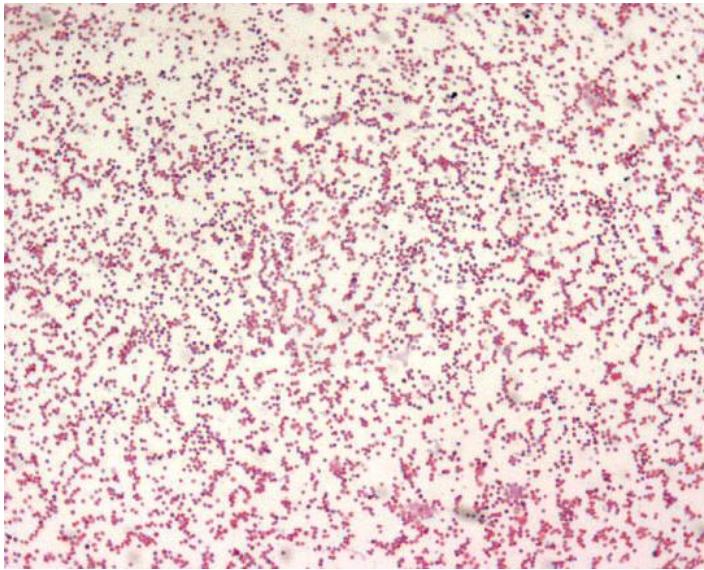
uzmanları, *Francisella tularensis*'in 50 kg aerosolunun 5 milyon nüfuslu bir kentte 250.000 kişinin hastalanmasına, 19.000 kişinin ölmesine yol açacağını tahmin etmişlerdir(14). *Francisella tularensis* ile biyoterörizm saldırılarının çok yüksek maliyetlere yol açacağı sonucuna varılmıştır (100.000 kişi başına 5,4 milyar \$)(13).

Tularemi hastalığı ülkemizde ilk kez 1936 yılında Çorlu Askeri Hastanesi ile Gülhane Hastanesi doktorları tarafından bildirilmiştir. Hüseyin Kemal tarafından hastalardan *F.tularensis* izole edilerek gösterilmiştir(3, 15). Sağlık Bakanlığı bilgilerine göre 2005 yılına kadar Türkiye’de 1.000’den fazla tularemi olgusu bildirimi olmuştur. 2005 yılında bildirimi zorunlu hastalıklar için yapılan değişikliklerden sonra 2005-2009 yılları arasında 1091 olgu bildirilmiştir(16).

2.2 Mikrobiyolojik Özellikler

2.2.1 Mikroskopik görünüm, boyanma ve biyokimyasal özellikler

Francisella tularensis aerop, sporsuz, hareketsiz ve gram olumsuz, fakültatif intrasellüler küçük bir kokobasildir. *Francisella tularensis* ortalama 0,2-0,7 µm boyutlarındadır. Gram boyası ile zayıf gram negatif boyanır(şekil-1). Gram veya Giemsa boyası ile bipolar boyanma gösterirler ve kok/kokobasil şeklinde görünürler(8, 17, 18).



Şekil 1. Francisella tularensis'in gram boyamada görünümü(18).

F. tularensis vahsi suşları ve canlı aşı suşlarının (LVS -live vaccine strain) yüzeyinde eksopolisakkarid bir kapsül bulunmaktadır. Kapsülün bileşimi tam olarak bilinmemektedir. Yapılan biyokimyasal analizlerde kapsülün karbonhidratlar, amino asitler ve α - OH 14:0 ve 16:0 yağ asitlerine sahip olduğu gösterilmiştir. *F.tularensis*'in kapsülünün bakteriyi serum komplemanının öldürücü etkisinden koruduğu bilinmektedir. Kapsülü çıkartılmış bakterilerin deney hayvanlarında hastalık yapmaması kapsülün virülans faktörü olduğunu göstermektedir(19).

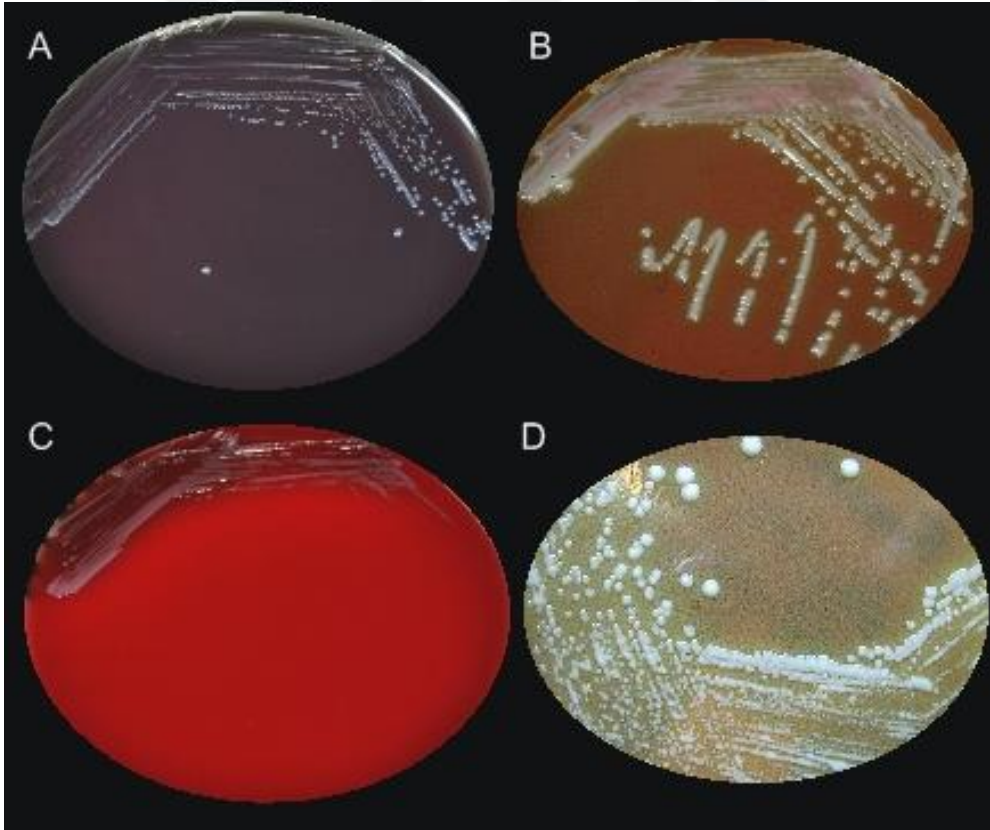
Lipoolisakkarit (LPS) tüm gram negatif bakterilerin dış membranının ana bileşeni olduğu gibi *F. Tularensis*'in de ana bileşenidir. Bu LPS yapılar yangısal sitokinler açığa çıkmaktadırlar ancak *F. tularensis* polisakkariti diğer enterik bakterilerinkine göre 1000 kez daha az etkilidir(19).

Bakterinin yapısındaki Tip 4 pilusları, konak hücreye adezyonuna, titreşim hareketi yapmasına, DNA'nın içeriye alınmasına ve biofilm yapımına aracılık etmektedir(19).

Katalaz reaksiyonu zayıf pozitif olan *F.tularensis*'de oksidaz ve üreaz testleri negatiftir(12). Az sayıda karbonhidratı fermente ederler. *Francisella* cinsindeki birçok alt türü sadece çok az sayıda karbonhidratı (glukoz, maltoz, sükroz ve gliserol) kullanır. Asit oluştururlar fakat gaz oluşturmazlar. Tek yağ asitleri, türle ilişkilidir. Etkenin sık kullanılan besiyerlerinde üremesi güçtür. Üretebilmek için antibiyotik katılmış sisteinli beyin-kalp infüzyon agar veya sisteinli-glukozlu kanlı agar kullanılabilir. Nadiren ilk izolasyonda kanlı agar gibi genel kullanım besiyerlerinde üreyebilir. Koloniler oksijenli ortamda sülfidril içeren sistein kanlı agar, modifiye Thayer-Martin besiyeri gibi besiyerlerinde 37°C'de 2-4 gün içerisinde görünebilir.(Şekil-2). Laboratuvara transport için kömürlü taşıma besiyerleri kullanılabilir(8, 18, 20).

Francisella'ların iki türü olan *F. philomiragia*, *F. tularensis* birbirine çok benzer. *F. philomiragia*, *F. tularensis*' ten biyokimyasal olarak daha reaktiftir; maltoza etki eder ve oksidaz pozitifliği ile ayrılır. Biyovaryaların ayırımında gliserol fermentasyonu ve glukoz kullanımı gibi biyokimyasal farklılıklar kullanılır. En

virülan alt tür olan *F. tularensis* subsp. *tularensis*, Tip A olarak tanımlanmıştır ve laboratuvar fare ve tavşanları için <10 bakteri %50 ölümcül doza sahiptir. *F. tularensis* subsp. *tularensis* ve *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*'nın gliserol kullanımı birbirine benzer olup, sitrülin reidaz aktivitesine sahiptir. *F. Tularensis* subsp. *mediasiatica* glukoza kullanamaması ve oldukça düşük virülanslı olmasıyla farklılık gösterir. Tip B *F. tularensis* subsp. *holarctica* gliserol kullanmamaları, sitrülin reidaz aktivitesi göstermemeleri ile diğerklerinden ayrılabilir. *F. tularensis* subsp. *holarctica*, orta düzey virülansa sahiptir ve laboratuvar hayvanları için %50 ölümcül dozu <1000 bakteridir. *F. tularensis* subsp. *novicida*, sistein içermeyen ortamlarda üreyebilmesi ve büyük hücre boyutu ile diğerk alt türlerden ayrılabilir. *F. tularensis* subsp. *novicida*, *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* ve *F. philomiragia* gibi düşük virülanslı olarak düşünülebilir, fakat farklı bir şekilde *F. tularensis* subsp. *tularensis* ile benzer genetik özellikleri paylaşırlar(20).



Şekil 2. Kültürdeki görünümleri: A- BCYE, B- sisteinle zenginleştirilmiş cukolata agar, C- sisteinle zenginleştirilmiş koyun kanlı agar, D- CHAB(18).

Tablo 1. Francisella türlerini ve alt türlerini birbirlerinden ayıran özellikler(21).

Özellik	<i>F.tularensis</i> alt tür				
	<i>tularensis</i>	<i>holarctica</i>	<i>mediaasiatica</i>	<i>novicida</i>	<i>F.philomiragia</i>
Sistin, Sistein ihtiyacı	+	+	+	-	-
Maltoz fermentasyonu	+	+	-	zayıf	-
Sükroz fermentasyonu	-	-	-	+	+
D-Glukoz fermentasyonu	+	+	-	+	zayıf
Gliserol	+	-	+	zayıf	-
Sitrülin üreidaz üretimi	+	-	+	+	Test edilmedi
Oksidaz üretimi*	-	-	-	-	+
TSI'da** H ₂ S üretimi	+				
Hücre büyüklüğü	0.2–0.7x0.2	0.2–0.7x0.2	0.2–0.7x0.2	0.7x1.7	0.7x1.7
* Kovak's ayırıcı ile ** Triple Sugar Iron Agar					

2.2.2 Sınıflandırma ve alt türler

İlk zamanlarda *Francisella* cinsi içerisinde bulunan bakteriler *Bacterium*, *Brucella* ve *Pasteurella* türleri ile birlikte sınıflandırılmıştır. 1960'lı yıllarda yapılan fenotipik, genetik ve hücre duvarı analizleri sonucunda *Francisella* cinsi *Francisellaceae* ailesinin yeni bir tek cinsi olarak kabul edilmiştir(22).

Francisella cinsi; *F.tularensis* ve *F.philomiragia* olmak üzere iki türden oluşmaktadır. Hayvanlardan ve sulardan izole edilen *F.philomiragia* türü, *F.tularensis*'e göre daha az virülandır. Çoğunlukla immünsüpressif vakalar veya yakın temasla oluşan doku zedelenmelerinde hastalarda nekrotizan pnömoni, bakteriyemi ve menenjit yapabildiği gösterilmiştir(23). *F.tularensis* insanlarda ve tavşanlardaki virülansına, 16S dizilimine, biyokimyasal reaksiyonlarına ve epidemiyolojik özelliklerine göre dört alt türe ayrılmaktadır(1, 8, 12, 24). Bu tür ve alt türlerin sınıflandırılması aşağıda görüldüğü gibidir.

2.2.2.1 *F. tularensis alttür tularensis* (biyovar tip A)

İnsanlar ve tavşanlar için en virülan suştur. 10 bakterinin vücuda solunum yoluyla alınması enfeksiyon gelişimi için yeterlidir. Kuzey Amerika’da endemik olarak görülebilirken Avrupa’da yaygın değildir(1, 8, 12, 24).

2.2.2.2 *F.tularensis subsp. holarctica* (biyovar tip B)

Kuzey Amerika, Avrupa, Asya Türkiye ve Japonya’da görülürken, *F.tularensis subsp. holarctica biovar japonica* Japonya’da izole edilmiştir. İnsanlarda virülansı orta düzey iken tavşanlardaki virülansı düşüktür(1, 8, 12, 24).

2.2.2.3 *F. tularensis alttür mediasiatica*

Kazakistan ve Türkmenistan’da izole edilmiştir ve orta derecede virülandır. İnsan ve tavşanlarda hafif seyirli bir hastalık yapar(1, 8, 12, 24).

2.2.2.4 *F. tularensis alttür novicida*

Kuzey Amerika’da ve Avustralya’da tespit edilmiştir. Ölü misk fareleri ve bunlarla kontamine sulardan ve nadir insan olgularından izole edilmiştir. İnsanlarda nadiren (sadece immünsüpressif vakalarda) enfeksiyon oluşturur. İnsandan insana bulaş gösterilmemiş olduğundan hasta ile temas edilmesi veya ortak alan kullanılması riskli olmadığı kabul edilmektedir(1, 8, 12, 24).

2.2.3 Dayanıklılık

F.tularensis ölmüş hayvan cesetlerinde, suda, toprakta ve hayvan atıklarında aylarca, samanda altı ay ve - 15°C’de dondurulmuş tavşan etinde yıllarca canlı kalabilmektedir. Besiyerinde üretilen bakteriler uygun saklama koşullarında (buzdolabında) saklamak şartıyla 4 ay canlı kalabilirler. Yüksek derecedeki ısıya ve kloro dayanıksızdır. Klorlanmış veya kaynatılmış suda canlı kalamazlar. Klorlanmamış suda 90 güne kadar canlı kalabildiği gösterilmiştir. Dış etmenlere, kimyasal dezenfektanlara, standart sterilizasyon uygulamalarına ve UV ışınlarına karşı duyarlıdır. *F.tularensis subsp. holarctica* su birikintilerinde ve toprakta aylarca canlı kalabilmektedir. Doğal şartlarda *F.tularensis* su ve çamurda aylarca canlı kalabilmektedir(1, 12, 15, 25, 26).

Alan temizliği yapılması ve dezenfekte edilmesinde, %5 NaOCl kullanılması yeterlidir. Kuaterner amonyum bileşikleri de kullanılabilir. Fakat aerosolizasyon olmamasına özen gösterilmelidir(27).

2.3 Epidemiyoloji ve Coğrafi Dağılım

2.3.1 Dünya’da tularemi

Tularemi vakaları dünya da daha çok kuzey yarımkürede (sıklıkla 30-71° kuzey enlemleri arası) görülebilen bir hastalıktır(Şekil-3)(1, 12, 28).



Şekil 3. Dünyada Tulareminin görüldüğü bölgeler(12).

Tularemi, başta kuzey yarım kürede bulunan Kuzey Amerika’da, Orta ve Kuzey Avrupa’da özellikle İskandinav ülkelerinde ve Asya’da genellikle sporadik vakalar şeklinde görülmekte, arada sırada da epidemiler oluşturmaktadır. En yüksek tularemi insidansı bildirimleri dünyada İsveç ve Finlandiya’nın bir kısım alanlarından olmaktadır. Tularemi Kuzey Yarım Kürede düzenli bir dağılım göstermez, yer yer bazı alanlarda yoğun görülebilenken hemen komşu alanlarda görülmeyebilir. Sıklıkla temizlik koşullarının yeterince uygun olmadığı kırsal alanlar ve hayvan temasının olduğu hayvancılık ve avcılık ile uğraşanlarda görülmekle birlikte, nadir olarak şehirlerde yaşayanlarda da tularemi olguları görülmektedir. Bir yılda Dünya’da ortalama 500.000 tularemi vakası olduğu düşünülmektedir(12, 13, 29, 30).

Tularemi ABD’de dağlık yerlerde endemik olarak görülmektedir. ABD’de 1950’ye kadar her yıl yüzlerce vaka bildirimi olmuş iken, 1965’den sonra vaka sayısında belirgin bir düşme olmuştur. Son yıllarda vaka bildirimi yılda ortalama 100-200 vaka civarındadır (insidans: 0.15/100.000). SSCB’de II. Dünya Savaşından sonra tularemi yaygın olarak tespit edilmiş olup, günümüzde ise yılda 100 vakadan daha az tespit edilmektedir(13).

İspanya’da 1990’lı yıllara kadar hiç tularemi olgusunun bildirilmemiş, 1997-1998 yıllarında Castilla Leon’da 559 kişinin etkilendiği bir salgın g r lm ştur. Salgın ortaya çıkmadan önce alınan serumlarla yapılmış bir seroprevalans çalışmasında 4825 kişiden %0.2’sinde antikor seropozitifliği bulunmuştur(31).

İsveç’te tulareminin ana bulaş yolu sivrisinek ısırmasıdır. Bununla beraber keneler ve sinekler ile de bulaş bildirilmektedir(29).

Amerika kıtasında hastalık ABD, Kanada ve Meksika’da yaygındır. ABD’de hastalık Havai hariç tüm bölgelerden bildirilmektedir. *F.tularensis subsp. tularensis* ABD’deki vakaların %80’ininde etkendir(32).

Günümüzde Tularemi, Avrupa kıtasında Finlandiya ve İsveç’te endemik olarak bulunmakta olup bu ülkelerden bildirilen olgu sayısı 50’den azdır. 1973–1985 yılları arasında İsveç’te senelik 5-500 vaka bildirimi olmuştur. 1924-1987 yıllarında Japonya’da toplam 1.335 tularemi olgusu saptanmıştır. Almanya, Avusturya, İspanya ve Bulgaristan’da arada sırada sporadik vakalar, bazen de küçük salgınlar şeklinde tularemi vakaları bildirilmektedir(13).

Son zamanlarda iklim değişiklikleri rezervuar ve vektör sayısının değişimine neden olmuştur. İnsanların doğa ile teması, savaş ve g  ler nedeniyle yetersiz hijyen şartlarına bağlı olarak dünyada tularemi epidemiyolojisi belirgin bir şekilde değişime uğramış, olgu sayılarında ciddi artışlar izlenmiştir. Örneğin; 2000 ve 2003 yılları arasında Kosova’da savaştan sonra 300’den fazla olgunun bildirildiği iki tularemi salgını bildirilmiştir(33).

Asya kıtasında daha önceleri SSCB’de yüksek prevalansta bildirimler olmuş, 2005 Ağustos ayında ise Rusya’nın farklı yerlerinden 334 kişinin etkilendiği tularemi salgını bildirilmiştir(34).

F.tularensis subsp. tularensis Francisellaceae ailesi içinde insanlar için en virülen alt türdür. Genellikle Kuzey Amerika'da görülebilen bir etkindir. *F.tularensis subsp. holarctica* ise Kuzey Amerika, Asya ve Avrupa'da görülmektedir(33).

F.tularensis subsp. mediasiatica olguları sadece Orta Asya'da (Kazakistan ve Türkmenistan'da), *F.tularensis subsp. novicida* ise Kuzey Avustralya'dan bildirilmiştir. Kanada, Meksika ve ABD'nin hemen tüm eyaletlerinden yıllık ortalama bir milyonda 0,5-5 yeni vaka bildirimi olmuştur(28).

Japonya'da 1950'lerde yabani tavşan tüketimiyle ilişkili olarak görülen bir pikten sonra tularemi olgu bildirimi yılda 10 olguya kadar gerilemiştir (35).

Bulgaristan'da 1998-2003 yılları arasında iki salgın meydana gelmiş, oluşan salgınlardan birinin su kaynaklı olduğu tespit edilmiştir. Bu salgında 262 tularemi olgusu bildirimi olmuştur(33).

Kuzey Amerika ve İsveç'te tularemi seroprevalansı %0-1,8 arasında değişmekte iken, Avrupa'da salgınların olduğu bölgelerde bu oranın %9,7-19,7 civarında olduğu öngörülmektedir(28, 36).

2.3.2 Türkiye'de tularemi

Epidemiyolojik risk faktörleri arasında avcılık ve yabani tavşan eti yenmesi, kaynak ve kuyu suyu tüketimi, kemirici çıkartılarıyla temas, hijyenik olmayan gıda tüketilmesi, ev ve çevresinde kemirici sayısında artış gözlenmesi ve doğayla ilişkili aktiviteler yer almaktadır. Dünyada en sık bulaş yolu enfekte hayvan ve kene ile temas iken, ülkemizde kaynak suyu veya klorlanmamış içme suyu tüketilmesi en önemli bulaş yolunu oluşturmaktadır(30, 37).

Türkiye'de ilk tularemi salgını 1936 yılında Lüleburgaz'dan bildirilmiştir. İlerleyen yıllarda farklı bölgelerden sporadik vakalar ve ufak salgınlar olmuştur(37).

Gürcan ve arkadaşlarını 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada Bolu-Gerede-Yazıkara köyündeki salgın sırasında tüm köylülerin (108 kişi) serumları incelenmiş ve tularemi antikor pozitifliği %16.7 olarak bulunmuştur(37).

Ülkemizdeki en geniş çaplı tularemi salgını 1953 yılında Antalya'nın Bademağacı Köyü'nde yaşanmıştır. İki yüzden fazla olgunun saptandığı bu salgının, köy çeşmesine üstü açık şekilde gelen suyun kontamine olmasıyla geliştiği bildirilmiştir. 35 yıl sonra 1988 yılında Bursa ili Karacabey Harası ve Badırğa köyünde 64 olguluk bir salgın saptanmasıyla tularemi hastalığı tekrar gündeme gelmiştir(37).

1988'den sonra Bursa, Çanakkale, Susurluk ve çevrelerinde 1080 yeni olgu saptanmıştır. Yapılan araştırmalara göre ülkemizdeki tularemi salgınlarının su kaynaklı olduğunu tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında Karadeniz ve Marmara Bölgesi başta olmak üzere ülkemizde tulareminin endemik olarak bulunabildiği ve ufak salgınlara neden olduğunu görülmektedir. 2005 yılına kadar görülen bazı salgınlar Tablo 1'de gösterilmiştir(30, 38).

Bursa Bölgesi'nde 1988 yılında çıkan salgından sonra Türkiye'de ilk olarak tularemi seroprevalansı ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. İncelenen 393 serum örneğinde tularemi antikor pozitifliği %20,9 olarak saptanmıştır(39).

Tularemi 2005'e kadar bildirim zorunlu hastalıklar listesinde bulunmamaktadır. Son yıllarda artan olgu sayısı ve farklı bölgelerden olguların bildirilmesi ile 2005'te "Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi"nde C grubu hastalıklar listesine konulmuştur. Bu şekilde tularemi için standardizasyon geliştirilmiş; örnek alma ve gönderme kuralları, tanı için laboratuvar kriterleri, vaka tanımı oluşturulmuştur.

Tablo 2. 1936-2005 yılları arasında Türkiye’de bildirilen tularemi salgınları(40).

Yıl	Bölge	Vaka	Mevsim	Bulaşma
1936	Lüleburgaz	150	Yaz	Su kaynaklı
1937	Tatvan	6	Kış	Gıda
1945	Lüleburgaz	18	İlkbahar	Su kaynaklı
1953	Antalya	200	Sonbahar	Su kaynaklı
1988 - 2002	Bursa	205	Kış	Su kaynaklı
1997	Ankara	16	Kış	Su kaynaklı
2000	Düzce	21	Sonbahar	Su kaynaklı
2001	Bolu	14	Sonbahar	Su kaynaklı
2002	Balıkesir	115	Kış	Su kaynaklı
2004	Suluova	43	Sonbahar	Su kaynaklı
2004 - 2005	Zonguldak	61	Kış	Su kaynaklı
2004 - 2005	Koceli	145	Kış -İlkbahar	Su kaynaklı
2004 - 2005	Kars	56	Kış-ilkbahar	Su kaynaklı
2005	Kocaeli	129	Kış	Su kaynaklı
2005	Tokat	8	Kış	Su kaynaklı
2005	Edirne	10	Kış	Su kaynaklı
2005	Düzce	11	Kış	Su kaynaklı

Tulareminin “Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi” alınmasının ardından, 2005-2013 yılları arasında 5.200 yeni olgu bildirim olmuştur. Vakaların coğrafik dağılımı Batı Karadeniz ve Marmara Bölge’sinden başta İç Anadolu Bölgesi olmak üzere diğer bölgelere doğru kaymıştır(41).

2005 yılında Edirne-Lalapaşa-Demirköy’de çıkan bir salgın sırasında 400 köylünün 266’sı ve çevre köylerden gelen 124 ilköğretim okulu öğrencisinde tularemi antikor pozitifliği incelenmiş toplam 390 kişiden %2,6’sında seropozitiflik bulunmuştur(42).

Ülkemizde seroprevalans çalışmaları genellikle salgın bölgesi ve çevresindeki alanlarda yapılmış, daha geniş bölgeler üzerinde seroprevalans çalışmaları yapılmamıştır. 2006 yılında Kılınç ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, Trakya Bölgesi’nde (Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerinin 90 köyünde) 1.782 kişiden 5’inde (%0.3) 1/20-1/160 arasında değişen titrelerde tularemi antikorları

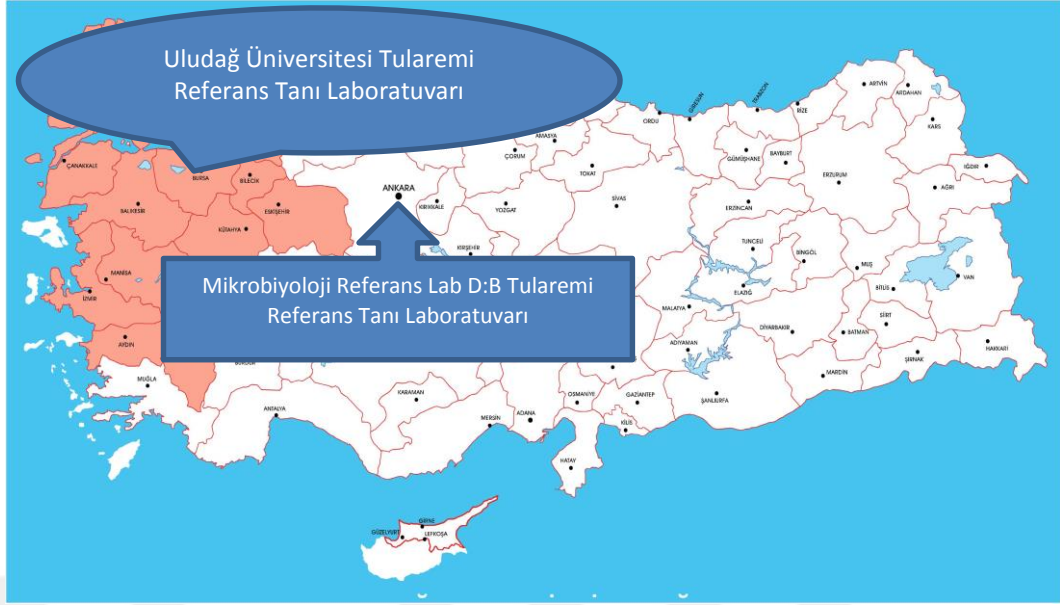
saptanmıştır. Bu sebeple Trakya Bölgesi'nde etkenin hala var olduğunu tahmin edilmektedir(37, 43).

Son zamanlarda tularemi vakalarındaki artışın, değişen iklim ve çevresel şartlara bağlı olduğu düşünülmüştür. Kemiricilerin yağışlı mevsimlerden sonra artışının tularemi olgu sayısında artışa neden olduğu tahmin edilmektedir. Ülkemizde sıklıkla, su kaynaklı küçük çaplı salgınlar tarzında tularemi olguları görülmektedir. Bunda en önemli faktörün kemiricilerin su kaynağına teması olduğu düşünülmektedir. Tularemi; 2005 yılı öncesinde Marmara ve Batı Karadeniz Bölgelerinde yaygın olarak bildirimi olurken, 2009-2010 yıllarında İç Anadolu Bölgesi olmak üzere farklı bölgelerden de yeni olgular bildirilmiştir(37, 44).

Ülkemizdeki tularemi vakaları mevsimsel farklılıklar göstermektedir. Sonbahar ve kış aylarında sıklıkla *F.tularensis* subsp. *holarctica*' ya ilişkili salgınlar görülmektedir. 2005 -2012 yıllarındaki olgular incelendiğinde olgu sayısı kasım ayından itibaren artmakta; şubat-mart aylarında en yüksek noktaya ulaşmaktadır. Olguların coğrafik dağılımında %42,1'i İç Anadolu Bölgesi'nde %29,4'ü Karadeniz Bölgesi'nde, %17'sinin Marmara Bölgesi'nde izlenmektedir(41).

Ülkemizdeki ilk salgının görüldüğü Trakya Bölgesi'nde hastalananlardan sadece biri ölmüştür, diğer salgınlarda ölüm görülmemiştir. Ülkemizde orofarengeal formun daha çok görülmesi ve mortalitenin düşük olması ülkemizde tularemiye neden olan alt türün *F. tularensis* subsp. *holarctica* olduğunu tahmin ettirmektedir(3, 6, 37, 41, 45-50).

F.tularensis subsp. *tularensis* en sık ülseroglandüler tabloya neden olur. *F.tularensis* subsp. *holarctica* Avrupa'daki en önemli tularemi hastalığının etkenidir ve virülansı düşük olan bu etken çok nadiren ölümlere neden olur. Bu alt tür esas olarak orofarengeal tularemi etkenidir. Ülkemizde de sıklıkla orofarengeal formda tularemi vakaları görülmektedir(6, 37, 41, 45-49).



Şekil 4. Tularemi ulusal referans tanı laboratuvarları ve yetki alanları(51).

2.3.3 Demografik özellikler

Genel olarak enfeksiyonun ana nedeni; kontamine su ve gıdaların tüketilmesidir. Bakımı yapılmamış su depoları, köy çeşmeleri ve düzenli klorlama yapılmayan su kaynakları kırsal alanlarda tularemi için risk etmenleridir. Bu sebeple kadın ve erkek tüm yaş gruplarında tularemi enfeksiyonuna aynı derecede maruz kalırlar. Erişkin dönemde hastalığın kadınlarda daha sık tespit edildiği görülmüştür. Bunun nedeni kadınların yaşam alanlarında etkeni taşıyan rezervuar hayvan çıkartılarına daha fazla maruz kalmaları ve ev ortamında kontamine su ve gıda ile daha fazla temasta olmaları şeklinde tahmin edilmektedir(13, 30, 37, 38).

Morbidite oranları toplu yaşam alanlarında, kalabalık gruplar halinde yaşayanlarda, sosyoekonomik düzeyi düşük toplumlarda, uygun olmayan hijyenik koşullarda, dengesiz ve kötü beslenmelerde artmaktadır. Ülkemizde tularemi salgınlarının su kaynaklı olması nedeniyle vakalarda sıklıkla kırsal bölgelerde çoğunlukla hayvancılıkla uğraşanlarda, çiftçi ailelerinde, orman işçilerinde ve ev hanımları, çocuklar, avcılarda rastlanmaktadır(38).

2005-2010 yıllarında tanı alan tularemi olgularının cinsiyet ve yaşa göre dağılımı analiz edildiğinde; tulareminin tüm yaş gruplarında görülebildiği, ancak risk

grubu davranışları çoğunlukla yetişkinlerin (özellikle >30 yaş) yaptığı ve kadınların erkeklere göre daha fazla maruz kaldığı saptanmıştır(38).

Tulareminin, çocuk yaş grubunda tanı konulamamasına bağlı olarak bildirimi daha az oranda olmaktadır. Ülkemizde, son zamanlarda bildirilen çocuk vaka sayısında artış izlenmektedir. Bu vakalar tularemi vakalarının ortalama %10'unu oluşturmaktadır(38).

2.4 Risk Grupları

Tularemi hastalığı için riskli olan meslekler; doğa yürüyüşü yapanlar, avcılar, veteriner hekimler, laboratuvar çalışanları, çiftçiler, orman görevlileri, kırsal alanlarda yaşayanlar, hayvancılıkla uğraşanlar, kasaplar ve aşçılardır(1, 36).

Tularemi her mevsimde tespit edilebilirken, avcılıkla ilişkili kemiricilere bağlı enfeksiyonlar kışın, kene ile ilgili enfeksiyonlar ise sıklıkla yaz aylarında rastlanmaktadır(52, 53).

2000 yılında ABD'nde "Martha's Vineyard"da solunumsal bir tularemi salgını görülmüştür. Bu salgında çim biçme makinası kullanmak veya çim kesme işi yapmak yüksek riskli davranışlar olarak belirlenmiştir(36).

Martha's Vineyard'da yapılan seroprevalans çalışmasında, normal popülasyonda %1'in altında olan seropozitivite peyzaj meslek grubunda %9,1 olarak saptanmış. Peyzajla uğraşanlarda seropozitivite oranının yüksek olması peyzaj işçilerinin çim kesmeleri ve kuvvetli üfleyicilerle yaprak temizliği yapmalarından dolayı tularemi etkeniyle karşılaşma ihtimalinin çok daha yüksek olmasına bağlanmıştır(36).

2013 yılında İran'da yapılan bir çalışmada tilki avcıları ve tilki eti yiyenlerde tularemi seroprevalansı anlamlı olarak daha yüksek (%25) bulunmuştur(54).

2.5 Vektör ve Doğal Rezervuarlar

F.tularensis enfeksiyonu; lagomorflar, kemirgenler, insektivorlar, etobur hayvanlar, toynaklı hayvanlar, keseli hayvanlar, kuşlar, amfibiler, balıklar, omurgasız hayvanlar gibi çok çeşitli vahşi yaşam türünde gösterilmiştir(2).

Tavşan ve kemiriciler gibi hayvanların hastalığı olan tularemi doğada fark edilmeyen odaklar halinde bulunabilmektedir. Çevresel şartların değişmesi, iklimsel değişiklikler epidemilerin asıl nedenlerindendir ve hastalık ancak insan maruziyetinde fark edilebilmektedir. *F.tularensis* için 25 kuş, bazı sürüngen, amfibiyenler, kene, sinek türleri ve 1000'den fazla yabani ve evcil memeli türünün rezervuar olduğu tahmin edilmektedir. Kara kemiricilerinden sincap, fare, sıçan hem *F. tularensis* subsp. *tularensis* tip A hem de *F. tularensis* subsp. *holarctica* tip B ile oluşan enfeksiyonda rezervuar olarak görev yapmaktadır. Su kemiricilerinden ise su sıçanları, kunduz, vizon *F. tularensis* subsp. *holarctica* tip B için rezervuardır ve suya bağlı salgınlara sebep olur. Tüm elde edilen verilere rağmen enfeksiyona neden olan *F.tularensis*'in ana konağı (asıl rezervuarı) hakkında elimizde yeterli bir veri yoktur(1, 2, 12, 55).

F.tularensis subsp. *tularensis* lagomorflar gibi belirli bazı memeliler için daha yüksek virülansa sahiptir. Yaptığı klinik tablolar daha kötü seyreder ve mortalitesi daha yüksektir. Antibiyotik tedavisi yapılmayan vakalarda mortalite oranı %5-60 arasında olabilmektedir. En sık görülen klinik tablo ülseroglandüler formdur(2).

Francisella tularensis'in karasal ve su döngüsü olmak üzere iki farklı döngüsü belirtilmiştir. Su döngüsünde su samuru, kunduz, misk sıçanı gibi sıçan türleri bulunmaktadır. Karasal döngüde ise başlıca vektörler yabani tavşanlar, tilkiler, keneler ve bazı sinek türleridir. İnsan rastlantısal olarak bu döngülerde etken ile temas ederek organizmayı kazanan konak olarak tanımlanmaktadır(56, 57).

Sudan kaynaklanan salgınlar sıklıkla kış ve ilkbahar aylarında görülürken kene, sinek ısırmasına bağlı veya avcılıkla ilişkili olgular yaz aylarında görülmektedir(8, 12).

1926'da yapılan bir çalışmada *F.tularensis*'in sağlam deriden girebileceği ve enfeksiyon oluşturabileceği belirtilmiştir(58). Lagomorflar, sincap, fare gibi kemirgenler ve domuz gibi hayvanlarla temas önemli bir risk faktörüdür. Hasta hayvanlarla temas yolu ile bulaş da risk en fazla avcılar ve av hayvanı ile teması olan bireylerde rastlanmaktadır(35, 59).

Tularemi etkeni farklı türde ve sayıda omurgalı ve omurgasız hayvan türlerinde enfeksiyona neden olabilir. Artropodlarla etkenin bulaşı İskandinav ülkelerinde, ABD'de ve Rusya gibi ülkelerde izlenmektedir. Ancak Avrupa'nın orta ve güney kısmında bulaşda artropodların etkisi çok azdır. Artropodlar arasından; tahtakurusu, kene, bit, pire, tatarcık, sivrisinek ve sinek gibi türlerden etken izole edilebilmektedir ve enfeksiyonun yayılmasında da önemlidir. Keneler tularemi için biyolojik bir vektördür. *F.tularensis*'i uzun bir zaman taşırlar ve hayvanlardan hayvanlara, hayvanlardan insanlara kan emerken bıraktıkları dışkılarıyla etkenin bulaşmasında rol alırlar(2).

F.tularensis pireler ve akarlarda kısa bir süre canlı olarak bulunabilir. Akarlar sık konakçı değiştirdikleri için konakçılarda uzun süreli enfeksiyona neden olabilirler. Pireler hastalıktan sonra kısa bir süre mekanik taşıyıcı olarak görev yapar. Etkeni bulaştırmada önemli bir yeri olmadığı gözlemlenmiştir(2).

Soğukkanlı hayvanlar olan göl kurbağası, gece kurbağası ve kaplumbağalar üzerine çalışmalar yapılmıştır. Kaplumbağaların tularemi enfeksiyonuna karşı dirençli olduğunu, serumlarında tularemiye karşı antikor oluşturdukları tespit edilmiştir. Etkeni dışkı ve idrarları ile doğaya yaydıkları için kaplumbağaların rezervuar olarak bulaşta rol alabileceği tahmin edilmektedir. Göl kurbağası ve gece kurbağası da tularemi ile enfekte olabilir. Kurbağaların göletlerin, kaynak sularının ve derelerin kontaminasyonunda rol alabileceği düşünülmektedir. Salyangozlar ise kontamine sulardan etken ile enfekte olabilmektedirler. Doğada yaşam döngüsünde tularemiyi diğer canlılara aktarmada önemli bir rol alabilirler(2).

2.6 Evcil Hayvanlarda Tularemi

Sığır, kedi, köpek, koyun gibi evcil ve maymun, çakal, ayı, tilkiler gibi yabani hayvanlar tularemiyle enfekte olabilirler. Rezervuarlardan kene, akar ve sivri sinekler gibi vektörler aracılığıyla yabani hayvanlardan, evcil hayvan ve insanlara tularemi etkeninin aktarıldığı gösterilmiştir(60).

Sığırlarda klinik bir enfeksiyon tablosu tespit edilmemiştir. Fakat tularemiye karşı değişen titrasyonlarda seropozitivite bulunmuştur. Sığırların tularemi hastalığına karşı diğer evcil hayvanlara göre daha dirençli olduğu tahmin edilmektedir(60).

Çiftlik hayvanları içinden koyunlar diğer türlere göre hastalığa en hassas olan türdür. Tokgöz ve Golem etkenin bir koyuna sistemik yolla verilmesinden itibaren 9 gün sonra öldüğünü, başka bir koyunda ise deri altından verildiğinde ölüm olmadığı ve serumunda 20. günde 1/160 titrede tularemi antikor titresini bulunduğunu bildirmişlerdir. Keçilerde de benzer sonuçlar gözlemlenmiştir. Tularemi keneye bağlı olarak mevsimsel olarak değişebilir. Gebe hayvanlarda gebelik abortusla sonuçlanabilir. Morbidite ortalama %20–40 olup, kuzularda mortalite % 50 ye kadar çıkabilir(15, 60).

Tokgöz ve Golem, bir merkebe sistemik olarak tularemi etkeni verildiğinde hayvanın 4. günde öldüğünü, serumunda 1/80 titrede antikor bulunduğunu saptamışlardır(15).

Kedi ve köpekler de tularemi hastalığından etkilenir ancak klinik bulgular daha çok kedilerde görülür. Tularemi kedilerde hafif seyirli bir enfeksiyondan ölümcül tabloya kadar değişen bir klinikte görülebilir. Hastalık etkeni taşıyan vektörler aracılığıyla veya temas sonrası bulaşabilir(60).

2.7 Bulaş Yolları

Etken karasal döngü ve su döngüsü olmak üzere iki döngüyle doğada yayılır. Karasal döngüde; vahşi tavşanlar, küçük kara kemiricileri ile artropodlar (keneler ve

akarlar) *F. tularensis* için ana rezervuardırlar. Bazı keneler hem vektör olarak hemde bakteriyi vücudunda ömür boyu (1-2 yıl) taşıyarak (rezervuar olarak da) rol oynamaktadırlar(13, 34, 37).

F. tularensis alt tür *holarctica*'nın doğadaki ana rezervuarı su ile ilişkili kemirgenler; kunduz, misk sıçanı ve diğer sıçan türleri olduğu tahmin edilmektedir. *F. tularensis* çevre şartlarına oldukça dayanıklı olup, özellikle suda yaşayan amipler (*Acanthamoeba castellanii*) içinde yaşayabilmekte, bu amipler hastalığın devamında rol almakta ve su kaynaklı salgınlara neden olabilmektedir(13, 34).

F. tularensis insan ve evcil hayvanlara rastlantısal konak olarak bulaşabilmektedir. İnsanlara hastalık başlıca üç yol ile bulaşmaktadır(13, 61).

2.7.1 Direkt bulaşma (deri ve mukozal yol)

Hasta kene veya sinek gibi vektörlerin ısırmasıyla, hasta hayvan ısırmasıyla veya idrar, dışkı hayvan çıkartılarıyla dokunma insana bulaş söz konusu olabilmektedir. Bu yol Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa ülkeleri ile Kuzey Avrasya'da en sık görülen geçiş türüdür. Deri ve mukozal yol ile bulaşma gelişimi için 10-50 etken yeterlidir(13, 34, 62).

1925 yılında Ohara eşinin eli üzerinde yaptığı deneyle hastalığın sağlam deriden bulaşabileceğini kanıtlamıştır. Bit, pire, kene ve sinek gibi insektler hasta kedi, tavşan veya sincap gibi hayvanları ısırıktan sonra insanları da ısırırsa hastalığı insanlara bulaştırabilirler(34, 58, 61).

2.7.2 Sindirim yolu ile bulaşma (oral yol)

Hasta hayvan dokusu veya çıkartıları ile bulaşma olmuş sularla veya hasta hayvanların etlerinin tam pişmeden yenmesiyle olur. Günümüzde ABD ve Kuzey Avrupa'da çok nadiren görülmekte iken, ülkemizdeki asıl bulaşma yolunu oluşturur. Oral yolla enfeksiyon gelişebilmesi için en az 10^8 etken gereklidir(13, 34, 62).

Kontamine olmuş sulardan içilerek tularemi salgınları özellikle Güney Avrupa ve Türkiye’de görülmektedir. Düzce’de 2000 yılında dere suyuna bağlı olarak bir tularemi salgını meydana gelmiştir. Suların kontaminasyonundan kunduzlar, tarla faresi ve su fareleri sorumlu tutulmaktadır. Enfekte hayvanların çıkartılarıyla veya bu hayvanların ölüsüyle, karada yaşayan hayvanların sulara girip çıkması ile kirlenen sular tularemi açısından risklidir. Hasta bir su faresi veya sıçan 500.000 litre suyu kontamine edebilir(13, 34, 62).

Alt yapı yetersizliği, sel, deprem gibi doğal afetler, savaşlar gibi insan yaşamını ve refahını olumsuz etkileyen olaylar, hijyen şartlarının yetersizliği insanlarda tulareminin bulaşmasında önemli hazırlayıcı faktörler olarak görülmektedirler(13, 34, 62).

2.7.3 Solunum yolu ile bulaşma

Solunum yolu ile bulaş da aerosol halinde bulunan kontamine su veya toz partiküllerinin solunması ile olur. Çevrede hasta hayvanların dışkı, idrar gibi çıkartılarıyla bulaş olmuş saman, ot ve tahılların hasatı sırasında veya depolarda çalışanların bakteriyi tozlarla soluması sonucu solunum sisteminde enfeksiyon gelişir. Solunum yolu ile bulaşta enfektif doz 10-50 etken olarak kabul edilmektedir. Laboratuvar çalışanları da solunum yolu ile bulaş açısından yüksek risk grupları arasında bulunmaktadır. Bu yüzden tanısal amaçlı yapılan işlemler sırasında gerekli güvenlik önlemleri alınmalıdır. Bu yol ile sıklıkla İskandinav ülkelerinde çiftçilerde ve ABD’de peyzaj işiyle uğraşanlarda görülmektedir. Solunum yolu ile bulaş riski ve enfektif dozunun düşük olması nedeniyle biyoterörizm ile ilişkili etkenler arasında sayılmaktadır(13, 34, 61, 62).

2.8 İmmunopatogenez ve Patoloji

Francisella tularensis, enfektif dozu çok düşük, virulan bir etkindir. Etkenin enfektif dozu vücuda girdiği yere göre ve bakteri türüne göre farklılık bulunmaktadır. Ciltaltı veya solunum yolu ile 10-50 bakteri hastalık oluşturabilirken, sindirim sisteminde enfeksiyon olabilmesi için 10^8 ’den fazla bakteri gereklidir(13, 34, 62).

Etken önce konağın giriş yerinde çoğalır ve en yakın lenf nodlarına geçer. Bakteri burada tüberkülozdaki gibi kazeöz nekroz ve granülom oluşumuna neden olur. Ayrıca lenfatik ve hematojen yayılım ile karaciğer, dalak, kemik iliği tutulumu ve bakteriyemiye neden olabilir(61).

F. tularensis'in çok yaygın olmasının nedeni birçok farklı konak hücre tipinde yaşayabilmesi ve çoğalabilmesidir. Bu etken monosit ve doku makrofajlarına afinite göstererek bu hücrelerde çoğalabilirler. Nötrofiller, dentritik hücreler, hepatositler ve akciğer tip 2 alveolar epitelyum hücreleri gibi immün sistem hücrelerini enfekte edebilirler(63).

Bakteri, makrofajlarda asimetrik psödopod oluşumunu uyararak konak hücre içerisine girer. Bu süreç fosfatidilinositol 3-kinaz aktivasyonu ile başlatılır ve kompleman faktör C3 ile ilintilidir. *Francisella* hücrelere mannoz reseptörleri ve Fc γ reseptörleri ile de girebilir. Konakçı hücrede respiratuvar patlamanın aktivasyonunu engeller oksijenin zararlı yan ürünlerinden kendini korur. Fagozom maturasyonunu etkiler. Bakteri içeren vakuoller asit hidrolaz katepsin D'yi içerisine alamaz ve lizozomlar ile birleşemez. Ayrıca *F. tularensis* fagozomlardan kaçıp sitozole geçebilir(63).

Bulaştan yaklaşık 12 saat sonra etken, konak hücre sitozolünde çoğalmaya başlar ve konak hücre ölümüne neden olur. Hücre dışına çıkan bakteriler komşu hücreleri efekte eder. *F. tularensis*'in fagozomdan kaçışı ve konakçı hücre sitozolünde çoğalması önemli patojenite faktörlerindendir. *Francisella*'nın hücre dışı faz sergileyebileceği gösterilmiş olup, bu ilişkinin insanlarda da olup olmayacağı veya nasıl bir etkisi olacağını görmek için ileri çalışmalar gerektirmektedir(63).

2.9 Enfeksiyona Karşı İmmünite ve Konak Cevap

Organizmanın tularemiye karşı geliştirdiği immün cevabı diğer hücre içi etkenlere verdiği cevaba benzemektedir. Şimdiye kadar yapılan araştırmalar genellikle düşük virülanslı *F. tularensis subsp. novicida* veya atenüe canlı aşı formu (LVS) ile olmuştur. Bazı sıçan çalışmalarında düşük dozlardaki LVS konağın doğal

savunma sisteminde egale edilebilirken, yüksek virulan tip A ve tip B türlerinde konak immün bir yanıt oluşturmada konakı öldürebilmektedir(64).

2.9.1 Doğal immünite

Birçok Francisella türleri taşıdıkları kapsülleri sayesinde aktif kompleman içeren serumlarla direkt öldürülmeye duyarlı değildir. Francisellanın kapsülü immünojenik ve toksik değildir. Kapsülünü bulunmayan LVS suşları ile yapılan araştırmalarda etkenin virulansının azaldığı ve serumun öldürücü etkisine karşı duyarlılığının arttığı bulunmuştur. Serumun öldürücü etkisinden kaçabilen opsonizasyonla işaretli bu bakteriler (LVS'ler) immün sistem hücrelerinin içine girebilirler. Fakat nötrofil içindeki LVS suşları solunumsal patlama ve oksijen metabolitlerinin üretimini engelleyememektedir. Sitozole de geçebilen bu bakteriler burada 12 saat canlı kalabilmektedir(65-68).

Makrofajlar, dentritik hücreler, ve natürel killer (NK) hücreleri sitokin salınımı yaparlar. Yapılan araştırmalarda farelerde nötrofil eksikliği sistemik enfeksiyona duyarlılığı arttırdığı, solunum hastalıklarına ise çok bir etkisinin olmadığı görülmüştür(63).

Tularemi enfeksiyonunda IFN- γ ve TNF- α salgılanmaktadır. Bazı çalışmalarda gösterilmiştir ki IFN- γ delesyonu olan konaklar LVS enfeksiyonuna duyarlılığı artmıştır. TNF- α 'nın salgılanmamasının ise enfeksiyonun ölümcül olmasına neden olduğu gözlemlenmiştir. IFN- γ ile etkileşim içerisinde olan IL-12 enfeksiyon eliminasyonunda görev alır(69, 70).

Bazı çalışmalarda LVS'nin insan dentritik hücrelerinde IL-10, TNF- α ve IL-1 β üretilmesini sağladığı, yüzey reseptörleri olan MHC-I, CD-40 ve B7.1 moleküllerini arttırdığı ve bu moleküllerin T hücre aktivasyonunda rol aldığı bulunmuştur. Tularemi NK hücrelerinin önemi tam olarak netlik kazanmamıştır. Fakat NK hücrelerinden sentezlenen IFN- γ ve TNF- α 'nın hücre içinde NO sentezini arttırarak bakterinin çoğalmasını engellediği bulunmuştur(71).

2.9.2 Adaptif immunité

Tulareminin ölümcül olmayan hastalığında tekrar enfeksiyonu için kuvvetli bir bağışıklık oluşur. *Francisella* spesifik antikorları çok hızlı bir şekilde saptanabilir(63).

Enfekte olan insanlarda spesifik *Francisella* IgG, IgM ve IgA antikorları semptomların görülmesinden sonra yaklaşık bir hafta sonra tespit edilebilir, enfeksiyonu takiben 1-2 ayda en yüksek seviyeye ulaşır. Ortalama 10 yıl bu antikorlar saptanabilir. Hayvanlardan elde edilen antikorlarla yapılan pasif immünizasyon çalışmaları daha az virülan türlerde etkili olmuştur. Tulareminin tam olarak kontrol edebilmek için etkin bir hücresel cevaba da gereksinim vardır(63, 71).

Tularemi enfeksiyonunda adaptif immünite diğer hücre içi etkenlere karşı gelişen immünitedeki gibi T hücreli immüniteye özellikle de CD4 ve CD8 T hücre ile ilişkili immüniteyle bağlantılıdır. Tularemi antijeni ile uyarılan mononükleer hücrelerde antijene özgül T lenfositleri hastalığın 2. haftasında görülmüştür. Tularemi hastalığını geçiren bireylerde tularemiye özgül T hücrelerinin 25 yıla kadar konakta bulunduğu tespit edilmiştir(71). Yapılan çalışmalarda farelerde *F. tularensis subsp. novicida* veya LVS ile immünize edilmiştir. Enfeksiyon kontrolünde CD4 veya CD8 T hücrelerin birtanesi mücadelede yeterli iken yüksek virülanslı tip A için hem CD4 T hücrelerine hem de CD8 T hücrelerine gereksinim vardır(63).

2.10 Klinik Belirti ve Bulgular

Klinik tablo etkenin vücuda giriş yoluna, bakterinin virülansına, ve konağın immün durumuna göre değişmektedir. Hastalığın kuluçka süresi ortalama 3-5 gündür. Fakat kuluçka süresi 1-21 gün arasında değişebilmektedir. Hastalık asemptomatik görülebileceği gibi bakteriyemi ile sonuçlanan vakalar da vardır. Hastalık ülseroglandüler, glandüler, oküloglandüler, pnömonik, tifoidal ve orofarengeal, tularemi olmak üzere 6 farklı şekilde ortaya çıkabilir(12, 27, 40).

Hastalık halsizlik, iştahsızlık, yorgunluk, ateş, üşüme, titreme, baş ağrısı, gibi bulgularla başlar. Ateş 38 °C'nin üstüne çıkabilir ve tedavi almamış vakalarda ateş

30 günden uzun sürebilir. Diğer bulgular; öksürük, kas ağrısı, göğüste rahatsızlık hissi, kusma, boğaz ağrısı, boyunda şişlik, karın ağrısı ve diyare görülebilir. 1936 yılında Türkiye’de tularemiye bağlı tek ölüm vakası Trakya salgınında bildirilmiştir(3, 12, 27, 40).

2.10.1 Ülseroglandüler tularemi

Ülseroglandüler form özellikle *F.tularensis subsp. tularensis* enfeksiyonu ile görülür. Dünyada enfeksiyonların %21-78’inde bu şekilde görülmektedir. Genellikle sivrisinek sokması, kene ısırması ve enfekte hayvan dokularına temas sonrası etken bulaşır. Bakteri vücuda cilt yolu ile girer ve bu giriş yerinin lenf bezlerini tutar. Cilt lezyonu kırmızı ve ağrılı bir papül şeklinde başlar. Papül daha sonra nekroza uğrar ve ülserleşir. Kuzey Amerika’da görülen vakalarda en sık ülseroglandüler tularemi formu sıklıkla kene ısırmasına bağlı olarak gözlemlenmektedir. Kuzey Avrupa’da ise sivrisinek ısırmasına bağlı olarak gözlenmektedir(72, 73).

2.10.2 Glandüler tularemi

Glandüler tularemi formu ağrılı lenfadenopati ile karakterizedir ve deride ülser gözlenmez. Cilt lezyonu yoktur. Japonya’da vakaların %62’sinde ABD’de ise %3-20’sinde, bu form görülmektedir. Cilt lezyonunun çok küçük veya atipik olması nedeniyle fark edilmeyebilir. Lenf bezleri uzun süre büyük kalabilir(72, 73).

2.10.3 Oküloglandüler tularemi

Etkenin gözdeki enfeksiyon formudur. Kontamine olmuş suyun veya kontamine ellerle göze teması ile ortaya çıkar. Su kaynaklı tularemi olguları ülkemizde siktir ve su ile göze bulaş olabilir. Sıklıkla tek tarafı tutan pürülan bir konjonktivit vardır ve aynı tarafta preauriküler lenfadenopati(LAP) mevcuttur. Gözde fotofobi, hiperemi, ağrı, kaşıntı ve periorbital ödem bulunmaktadır(73).

2.10.4 Pnömonik tularemi

Etkenin solunum yoluyla vücuda alınması ile veya diğer formların komplikasyonu olarak hematojen yolla gelişebilir. Hastalarda baş ağrısı, yüksek ateş, akciğerlerde infiltran görüntüler, hiler LAP ve plörezi tespit edilebilir. Tulareminin pnömonik formu ölümcül olarak seyredebilmektedir. Pnömonik tularemi tularemilerin %7-20'sini oluşturur(72-74).

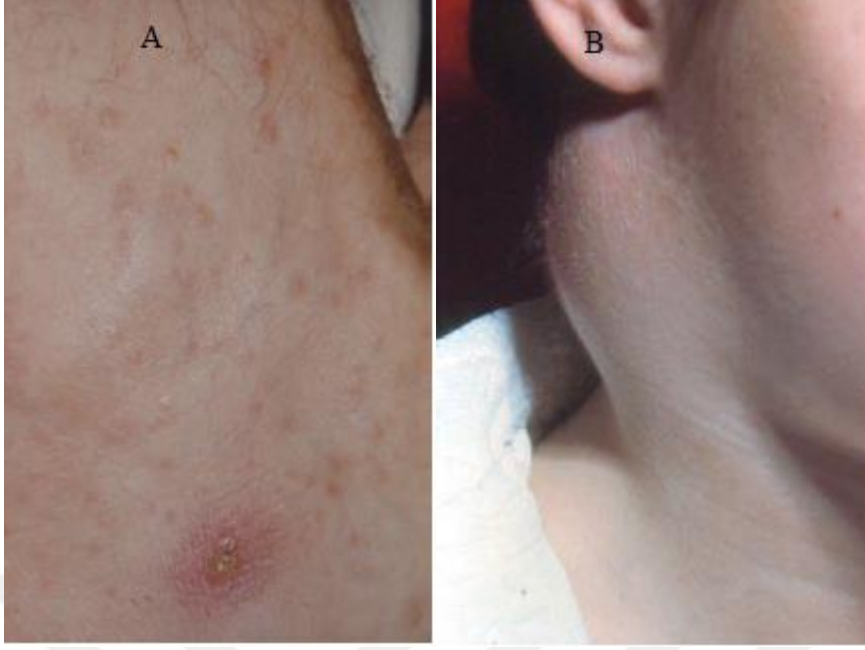
2.10.5 Tifoidal tularemi

İmmün sistemi bozuk veya baskılanmış olanlarda çok sayıda etkenin vücuda alınması ile oluşabilir. En ağır tularemi kliniğidir. Bakterinin vücuda giriş yeri genellikle bulunamaz. Hastalarda yüksek ateş, üşüme, baş ağrısı, halsizlik, kusma, karın ağrısı, diyare ve toksik görünüm görülmektedir. Vakaların %5-30'unda görülen bu klinik tablonun tanısını koymak diğer klinik formlara göre daha zordur(72, 73).

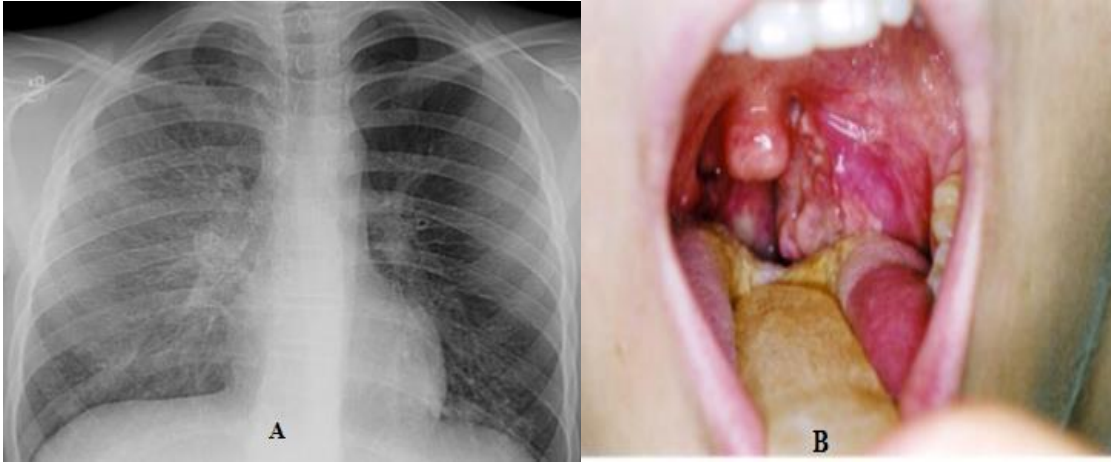
2.10.6 Orofaringeal tularemi

Etken kontamine su, gıdalar ve damlacıklar ile oral yoldan alınır. En sık görülen semptomlar ateş ve şiddetli boğaz ağrısıdır. Vakalarda eksüdatif farenjit veya tonsillit bulunur. Tek taraflı veya bilateral lenfadenopati gelişebilir ülser görülebilir. Lenf nodları büyüyerek birleşebilir ve 4-6 cm civarında ağrılı bir kitle yapabilir. Lenf nodları zamanla drene olabilmektedir. Ülkemizde görülen tularemi vakalarının büyük çoğunluğu kontamine su ve gıda alınmasına bağlı olarak orofarengeal formda olmaktadır. Bu form sıklıkla *F.tularensis subsp. holarctica* ile oluşmaktadır(45, 73).

Sıklıkla tek taraflı olarak lenfadenit olabilir. Ağız ve farinks mukozasında kızarıklık ve püstüller görülebilir. Bu bulgular tüberküloz lenfadenit, streptokokkal tonsillit ve enfeksiyöz mononükleoz ile karışabilmektedir(47).



Şekil 5. Tularemi A-Ülser, B-Glandüler tutulum görünümü(21).



Şekil 6. Tularemi A-Pnömonik akciğer, B-Orofaringeal tutulum görünümü(21).

2.11 Laboratuvar Tanısı

İnsandan insana geçiş görülmemiştir. Fakat tularemi şüphesinden tanı işlemlerinin bitmesine kadar bireyler standart temas önlemlerine dikkat etmelidirler. Bu önlemler; aerosolizasyon ihtimaline karşı maske ve gözlük takılması, önlük ve eldiven giyilmesi, işlem bitiminde ellerin temizlenmesi gibi işlemlerdir(75).

Tulareminin sık görüldüğü yerlerde hastalığın tanısını koymak için önce hastalığın akla gelmesi gerekir. Değişken klinik seyirlerinin bulunması nedeniyle

birçok farklı hastalık ile karışabilir. Tulareminin tanısında; hastalığın akla gelmesi, iyi bir anamnez, tulareminin antijen veya antikorunun tespit edilmesi, kültüründe etkenin üretilmesi veya tulareminin genomik yapısının saptanması önemlidir. Şüpheli tularemi olgularının laboratuvar ile tespit edilmesi klinik tanıyı kuvvetlendirir. Aynı zamanda gerçek prevalans ve sürveyans verileri sağlar. Tularemi teşhisinde direkt ve indirekt tanı yöntemleri vardır(76).

Tularemi şüpheli vakalarda yapılan ilk test tam kan sayımıdır. Akut tularemi vakalarında eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve C-Reaktif Protein (CRP) düzeyleri artar(76).

Tularemiden şüphelenilen vakalarda gönderilen hasta numuneleri laboratuvara önceden bildirilmelidir. Çünkü yapılacak bazı testlerin (kültür ve sonrasında yapılan işlemler) biogüvenlik düzeyi-3 olan referans laboratuvarlarında yapılması gereklidir. Laboratuvar personeli bulaş riski açısından uyarılmış olup, etkenin üremesi için gerekli ortam (zenginleştirilmiş besiyerleri) sağlanır. Tularemi, virülansı yüksek ve laboratuvar maruziyetlerine sıkça neden olan etkenlerdendir (75).

Tularemi tanısında kullanılan yöntemler;

1. Etkenin direkt olarak gösterilmesi: Mikroskopi ve Direk Floresan Antikor(DFA)
2. Kültür
3. Moleküler teknikler ile bakteri DNA'sının gösterilmesi.
4. Serolojik yöntemler:
 - a. Aglütinasyon testleri:
 1. Tüp Aglütinasyon Testi
 2. Mikro-aglütinasyon testi (MAT)
 - b. Enzim Immünoassay (EIA-ELISA)
 - c. İndirekt Floresan Antikor Testi(IFAT)
 - d. Western-Blot (WB)

2.11.1 Örneklerin alınması ve saklanması

Tulareminin tanısında hastalardan alınacak materyal akut dönemde alınmalı ve nereden alınacağı klinik tabloya göre karar verilmelidir. Ülserli bir lezyondan pamuk uçlu eküvyon çubuğu ile sürüntü veya ülserin kenarından kazıntı örneği alınmalıdır. Bu materyaller taşıma besiyerleri içinde (Cary Blair, Amies, Stuart veya modifiye Thayer Martin besiyerleri gibi) laboratuvara gönderilmelidir(40).

Pnömoni şüpheli olgularda balgam, indüklenmiş balgam, bronkoalveolar lavaj, endotrakeal aspirat, bronş fırçası, mide açlık sıvısı gibi örnekler alınabilir. Farengial tularemi olgularında boğazdan, oküloglandüler tularemi olgularında hastanın alt göz kapağından alınan sürüntü materyalleri uygun taşıma besiyeri ile yollanmalıdır(40).

Karaciğer, dalak, lenf bezleri gibi organlardan alınan biyopsi materyalleri steril kaplarda (kurumaması için serum fizyolojik eklenerek) yollanmalıdır. Lenf bezleri ve yumuşak dokulardan yapılan aspirasyonlarda ortalama 1-2 ml'lik materyal yeterlidir. Materyal gelmiyorsa şüpheli alana 1-2 ml serum fizyolojik verilerek tekrar aspire edilmelidir. Kan kültürü için 10 ml kan yeterlidir. Serolojik çalışmalar için ise antikoagülsüz tüplere alınan yaklaşık 5 ml kan yeterlidir(40, 75).

Hasta başında kültür ekimi bakterinin izolasyon ihtimalini artırır fakat genelde bu mümkün olmamaktadır. Hasta başı ekim yapılamadığında alınan materyaller kömürlü Amies, Cary Blair, veya modifiye Thayer Martin agar (7,5 mg/L kolistin, 2,5 mg/l amfoterisin B, 0,5 mg/l linkomisin, 4 mg/l trimetoprim, 10 mg/l ampisilin içeren) besiyerleri gibi taşıma besi yerleri ile oda ısısında 1-3 gün içerisinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Taşıma besiyerine alınmış materyaller oda ısısında veya +4 derecede saklanabilir. Stuart besiyeri bakterinin canlı kalmasına çok uygun değildir. Thayer Martin ve kömürlü Amies besiyerlerinde bakteri canlılığını yedi güne kadar koruyabilmektedir. Kontaminasyon ihtimali olan materyaller antibiyotik içeren besiyerlerine ekilmelidir(75).

Kan kültürleri bekletilecekse oda ısısında bekletilmelidir. Moleküler tanıda kullanılacak materyaller 5M guanidin isotiyosiyanat (GuCN) içeren tampona, örnek/GuCN oranı 1/2 olacak şekilde alınıp oda ısısında laboratuvara gönderilmelidir. Bu materyal 1 ay saklanabilir. Kan kültürü için 10 ml kan yeterlidir(75).

Tüm materyaller (kan kültürleri istisna) işlenene kadar +4 derecede taşıma besiyeri içinde saklanabilir. Bakteriler -80 derece dondurulabilir. Serum örnekleri 1 haftaya kadar +4 derecede, daha uzun süreler için -20 veya -80 derecelerde saklanabilmektedir(75).

2.11.2 Etkenin direkt olarak gösterilmesi: Mikroskopi ve DFA

Tularemi tanısı için alınan balgam, ağız mide sıvısı, konjonktival eksuda, farengeal yıkama ve ülser gibi klinik materyaller Gram ve Giemsa gibi boyama yöntemleriyle boyanıp incelenir. Gram boyamada bakteriler net olmayıp gözden kaçabilir. Bundan dolayı Gram boyamanın tanı değeri düşüktür(20).

Direk floresan antikor (DFA) tanı yönteminde *F. tularensis* subsp. *tularensis* ve *F. tularensis* subsp. *holarctica* alt türlerine yönelik floresan veren bir maddeyle işaretlenmiş tularemi antikorları kullanılır. DFA yönteminde kullanılan antikorlar *F. tularensis* subsp. *novicida*, *F. philomiragia* türleri ile reaksiyona girmemektedir(20).

Tularemi şüpheli olgulara DFA yöntemi CDC'nin de (Centers for Disease Control and Prevention) kabul ettiği bir ön tanı kriteridir. DFA yöntemi her laboratuvarda uygulanamayıp orta düzey bir duyarlılığa sahiptir (10^6 etken/ml)(76).

Bakteriyi boyamada kullanılan immunohistokimyasal boyama yöntemi, formalin ile tespit edilmiş dokularda *F. tularensis*'in gösterilmesinde başarı ile kullanılır(20).

2.11.3 Kültür

Tulareminin tanısında altın standart kültürdür. Ekilen materyalin aerob ortamda 37°C'lik sıcaklıkta 2-5 gün inkübasyonu gereklidir. İlk ekimin koyun kanlı

agarda olması ve ortamdaki CO₂ miktarının artırılması bakterinin üreme ihtimalini artırır. *F. tularensis* subsp. *tularensis*, subsp. *holarctica* ve subsp. *mediasiatica* besiyerinde geç üreyen ve sülfidril grubu bileşiklere (sistein) ihtiyaç duyan etkenlerdir. *F. tularensis* subsp. *novicida* ve *F. philomiragia* genel üretim besiyerlerinde (koyun kanlı agarda) rahatlıkla ürerler. %6,5 NaCl eklenmiş broth besiyerinde üreyebilme ile diğer alt türlerden ayrılmaktadırlar(12).

F. tularensis sıvı besiyerlerinde üremeyebilir. Klinik materyalin bir haftadan fazla saklanması gerekiyorsa ilk kültürleri hem katı, hem de içerisine sistein eklenmiş sıvı besiyerlerine (brain heart infusion (BHI), tripticase soy broth (TSB) ve tiyoglukolat sıvı besiyerleri) ekim yapılır. Antibiyogram ferric pirofosfat eklenmiş Mueller-Hinton Broth (MHB) ile yapılır(77, 78).

Otomatize sistemlerin kullanıldığı laboratuvarlarda üreme daha erken (3-5 gün) saptanır. Üreyen sıvı besiyerinden katı besiyerine ekim yapılmalı ve Gram boyama için preparat hazırlanmalıdır. Kültürde kullanılan tüm malzemeler atılmadan önce otoklavlanarak temizlenmelidir(77).

F. tularensis genel besiyerlerinde üreyemez. Üremeleri yavaş ve nazlıdır. En sık kullanılan besiyeri Francis besiyeridir (sistein ve glikoz içerir). Besiyerinde 4-7 günlük inkubasyondan sonra ufak, su damlacıklarına benzeyen koloniler oluşur(79).

Diğer besiyerleri; non selektif buffered charcoal yeast extract agar (BCYE), %9 ısıtılmış koyun kanı eklenmiş sistein heart agar (CHAB), thioglycollate- glucose blood agar (TGBA), sisteinle zenginleştirilmiş cukolatamsı agar ve %1 hemoglobin- %1 İsoVitale X eklenmiş GC agar base II besiyerleridir(12).

Cukolata agar ve BCYE agarda ufak gri- beyaz opak koloniler şeklinde ürer. 48 saat beklemiş kültürde 1-2 mm çapında, düzgün kenarlı, mavi-gri, parlak yüzeyli kolonilere döner. CHAB besiyerindeki koloniler 2-4 mm büyüklüğünde yeşil-beyaz, hafif mukoid şekildedir. Floralı bölgelerden alınmış materyaller içerisinde antibiyotik bulunan CHAB-A besiyerine (colistin 7.5 mg/l, amphotericin 2.5 mg/l, lincomycin 0.5 mg/l, trimethoprim 4 mg/l ve ampicillin 10 mg/l) ekilmelidir(12).

Tanı için hayvan deneyi yapılabilir. *F.tularensis*'e çok hassas olan farelerin karın alt bölgesinden şüpheli örnek verilir. Takip edilen fareler genelde 3-4 gün içinde hastalanırsa veya ölürse doku örnekleri besiyerlerine ekilir. Saf bakteri kültürü bundan sonra tanımlanır. Fareler 3 hafta ölmezler ise sonuç negatif kabul edilir(12, 80).

2.11.4 Moleküler tanı

F. tularensis' in moleküler yöntemlerle tespiti; kısa zamanda sonuç vermesi ve laboratuvar bulaş riskinin daha düşük olması ile kültürden, daha duyarlı sonuç vermesi ile de serolojik testlerden daha avantajlıdır. Klinik materyallerden veya üremiş kültürden elde edilen nükleik materyaller PCR ile hızlıca tespit edilir. Moleküler yöntemler tür ve alt türlerin tespit edilmesine de olanak sağlar(76).

Daha önceleri jel temelli PCR yöntemleri kullanılırken artık RT- PCR (Real Time PCR) kullanılmaktadır. Kullanılan RT- PCR yöntemleri; 5' nükleaz assay, Hibridizasyon temelli rezonans enerji transfer problemleri, Hairpin problemleri, çift ipliğe spesifik DNA boyalarıdır. PCR'ın duyarlılığı geleneksel yöntemlere kıyasla 10 kat daha yüksektir(81).

RT-TaqMan PCR yöntemi Klasik PCR' a göre daha duyarlı ve daha özgün bir yöntemdir. Üç farklı genomik bölgeyi (IS*Ftu2*, 23 kDa, *tul4*) tarayan bir yöntem olup tür düzeyinde ayırım da yapılabilir. RT-TaqMan PCR yöntemi biyoterör olaylarında, epidemiyolojik araştırmalarda, insan veya hayvan örnekleri gibi birçok farklı materyalden çalışılabilmektedir(81).

F. tularensis'in alt türlerinin farklı klinik tablo ve patojenite göstermesi alt tür ayırımına dikkat edilmesini gerektirir. PCR bazlı çalışmalarda değişik genlere, delesyonlara (RNA helikaz geninde delesyon bulunması, IS*Ftu2* insertion sekans elementinin olup olmaması, *pdpD* geni ve *RD1* genindeki değişiklikler gibi) bakılarak bu ayırım yapılabilir(81).

2.11.5 Serolojik tanı

F. tularensis’ e karşı gelişen spesifik IgM, IgG ve IgA yapısındaki antikorlar enfeksiyondan ortalama bir hafta sonra serumda tespit edilebilir. Antikor düzeyleri ikinci ayda en yüksek seviyesine ulaşır ve 11 yıla kadar tespiti mümkündür(82).

Antikor araştırılmasında genellikle tüp aglütinasyon (TA) ve mikroaglütinasyon testi (MAT) kullanılır. Tek örnekte tüp aglütinasyon titresinin $\geq 1/160$ veya mikroaglütinasyon titresinin $\geq 1/128$ olması, klinik tablo ile beraber değerlendirilerek olası tularemi pozitif hasta demektir. Fakat antikorların uzun süre serumda kalabilmesinden dolayı serolojik tanının doğrulanması için iki hafta arayla dört kat titre artışı olması gerekir(20).

Aglütinasyon yönteminde *Francisella* antijenleri *Brucella* antikorlarıyla düşük düzey çapraz reaksiyon verebilir ama testin sonucunu anlamlı düzeyde etkilemez(20).

MAT duyarlılık ve özgüllüğü yüksek ve sık kullanılan bir metottur. MAT’da az miktarda antijenin yeterli olması, hızlı ve kolay yapılabilmesi ve değerlendirilmenin çıplak gözle yapılabilmesi daha sık kullanılan bir yöntem olmasına neden olmuştur(83, 84).

Epidemiyolojik ve seroprevalans çalışmalarında araştırmacıların çoğunluğu titrasyon alt sınırını $\geq 1/20$ kabul etmişlerdir. MAT hastalığın hem erken hem de dönemlerinde yüksek güvenilirliğe sahiptir. 1967 yılında 1/160-1/2560 arasında titrasyonları bulunan 53 kişilik hasta grubuna 25 yıl sonra yeniden titrasyon bakılmıştır ve 23 kişide titrasyon $> 1/20$ olduğu tespit edilmiştir(83, 85).

Yerli antijen üretimine Türkiye’de ilk kez 1936 yılında Trakya’daki salgınlar sonrası başlanmış olup Gülhane ve Çorlu kökenlerinden antijen üretimi başarılı olmuştur. Daha sonraki yıllarda Gedikoğlu ve ark. tarafından 1988 yılında Bursa çevresinden izole edilen kökenler kullanılmıştır. En son Bolu Gerede’de 2005 yılında

iki hastanın lenf bezi aspiratlarından elde edilen tularemi antijenleri kullanılmaya başlanmıştır(83).

Bazı araştırmacılar tarafından uzun süre önce oluşan antikorların tespitinde daha duyarlı olması, çok sayıda materyalin hızlı ve basit bir şekilde çalışılabilmesi ve çapraz reaksiyon ihtimalinin daha düşük olmasından dolayı ELISA yöntemi tercih edilmektedir(83, 86).

Başta *Brucella* spp. olmak üzere *Escherichia coli* O:116 ve O:157, bazı *Salmonella* serotipleri, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., ve *Yersinia enterocolitica* serotip O:3 ve O:9'a karşı oluşan antikorların, indirek immüno floresan veya aglütinasyon testlerinde *F.tularensis* ile çapraz reaksiyonlar verebilecekleri unutulmamalıdır(53, 86).

2.12 Bildirim

Tularemi bildirimi zorunlu bir hastalıktır(87). Olası her hastanın ileri tetkiklerle araştırılması gerekir. Hasta materyalleri uygun ortamlarla referans laboratuvarlarına gönderilmelidir. Tüm vakaların İl Sağlık Müdürlüğüne vaka bildirim formları ile (Form 014, Form 017C) (EK-1)bildirimi yapılmalıdır(40).

2.13 Vaka Algoritması

- 1-Klorlanmamış su kaynaklarında su tüketimi veya enfekte hayvanlardan (tavşan, fare) ya da atıklarıyla doğrudan temas edilmesi
- 2-Tularemi ile ilgili riskli temas hikayesi ve beta-laktam antibiyotiklere cevap vermeyen ateş, boğaz ağrısı (farenjit veya tonsillit) ve/veya boyunda şişlik (>1,5 cm lenfadenopati)
- 3-1 ve/veya 2 evet ise klinik örnek alınmalı (boğaz sürüntüsü, lenf bezi aspirasyonu, serum) Tedaviye başlanılmalı.
- 4-Klinik örnekte kültür pozitifliği veya Serumda 4 kat titre artışı varsa kesin tularemi vakasıdır.
- 5-Klinik örnekte PCR pozitifliği veya tek serum örneğinde 1/160 ve üzeri pozitiflik varsa olası tularemi vakasıdır

6-4 veya 5 evet ise İl Sağlık Müdürlüğüne Form 014 ile bildirilmelidir

7-Gözlemde lenf bezi süpürasyonu gelişirse cerrahi olarak drene edilmelidir. İlaçlara bağlı baş dönmesi, çinlama, işitme kaybı olduğunda doktora başvurulmalıdır(40).

2.14 Tedavi

2.14.1 Antibiyotik direnci

Antibiyotiklerin kullanılmadığı dönemlerde tulareminin fatalite hızı yaklaşık %7 (%5-15 arasında) ve ağır olgulardaki (pnomoni ve tifoidal formda) mortalite oranı %33 iken, günümüzde mortalite %2 düzeylerine gerilemiştir. Antibiyotiklerin kullanılmadığı dönemlerde hastalığın tekrarlar ile 3 ay veya daha uzun sürdüğü görülmüştür(89).

Tablo 3. Erişkinlerde ve çocuklarda tularemi tedavisinde önerilen antibiyotikler, dozu ve süreleri(40).

	Antibiyotik	Erişkin dozu	Çocuk dozu	Süre
I. Seçenek	Streptomisin	15 mg/kg/gün Maksimum Doz 2 gr/gün, Veriliş Yolu: IM	15 mg/kg/gün, günlük doz ikiye bölünür. 5 mg/kg/gün,	10 gün
	Gentamisin	5 mg/kg/gün, IV, Veriliş Yolu: IM-IV	günlük doz iki veya üçe bölünür.	10 gün
II. Alternatif tedavi	Siprofloksasin*	2x500 mg/gün oral, 2x400 mg/gün, IV	15 mg/kg/gün, (doz en fazla 1 gr/güne kadar çıkılabilir)	10-14 gün
	Doksisiklin*	2x100 mg oral	4 mg/kg/gün.	15-21 gün

* Çocuklarda mecbur kalmadıkça kullanılmamalıdır.

Tularemi tedavisinde kullanılan başlıca antibiyotikler; streptomisin, gentamisin, tetrasiklin, doksisiklin, kloramfenikol ve kinolon türevleridir. İlaçlar, süreleri ve dozları tablo- görülmektedir(40).

2.14.2 Temas sonrası profilaksi

Francisella tularensis'in insandan insana geçişi tespit edilmemiştir. Hasta ile aynı odada kalmak, temas edilmesi gibi durumlarda tulareminin geçişi adına bir risk olmayıp profilaksi gerektirmez(52, 53).

2.15 Korunma ve Kontrol

Tularemide insandan insana bulaş görülmez. Akut dönemde hastalardan numunelerin alınmasında ve hasta çıkartıları ile temas öncesi standart kişiisel koruyucu önlemlerinin alınması gerekir. Aerosolizasyon ihtimali varsa maske ve gözlük gibi kişiisel koruyucu ekipmanlar mutlaka kullanılmadır(13, 30, 38).

Halkın hastalık hakkında bilinçlenmesi için halk eēitimleri yapılmalıdır. Hastalıktan korunma yöntemleri, hastalıēın belirtileri anlatılarak saēlık kurumlarına başvurmaları saēlanmalıdır. Topluma kene ısırması, klorlanmamış suların tüketimi, av hayvanlarının tüketimi gibi konularda bilgi verilmelidir.

İlk başarılı aşılama çalışmaları 1942 yılında Eski Sovyetler Birliēi'nde gerçekleştirilmiştir. 1946-1960 yılları arasında yaklaşık 60 milyon kişi aşılanmıştır. Hastalıkla karşılaşan ve aşı yapılmamış kişilerde tularemi seroprevalansı %4.3 iken aşılamayla %0.36'ya kadar indirilmiştir(13, 24).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

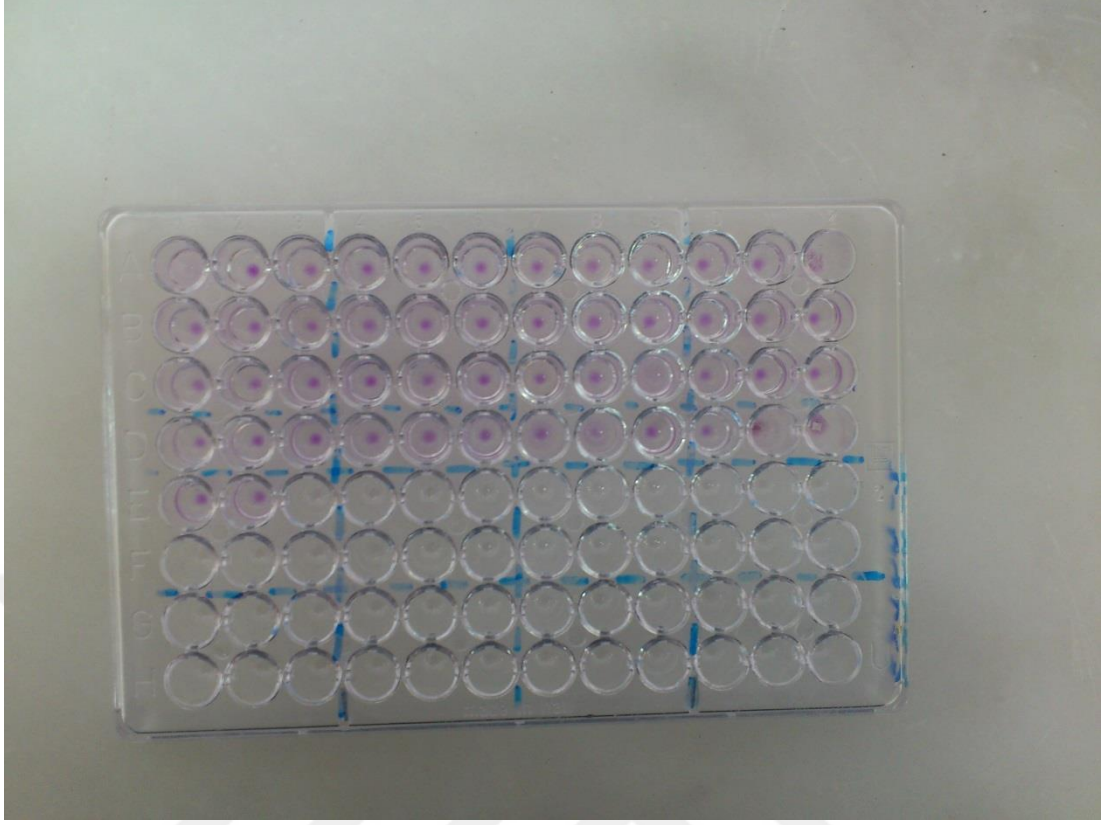
Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 26.12.2014 tarihli ve 31 sayılı karar ile etik kuruldan onay almıştır.

3.1 Örneklerin Toplanması ve Çalışılması

Çalışmamızda; Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Kan Merkezi'ne Şubat 2015-Nisan 2015 tarihleri arasında başvuran sağlıklı kan bağışçılarının serum örnekleri cinsiyet ve yaş ayırımı gözetmeksizin toplanmıştır. Kan bağışçılarının kan bağışı öncesinde görüşülmüş, bağışçılara araştırma hakkında bilgi verilmiştir. Onamları alınan hastaların HbsAg, Anti HCV, HIV1/2, Syphilis ve VDRL tarama testlerine bakılmıştır. Tarama testleri negatif olan 1503 hastanın serumları çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastalardan steril koşullarda, yaklaşık 5cc venöz kan alınmış, alınan kanlar enjektörden sarı kapaklı biyokimya tüpüne aktarılmıştır. 5000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Bu serumlar 1,5 cc'lik eppendorf tüplere aktararak ve çalışılacağı güne kadar +4°C'de saklanmıştır.

Haftada en az 2 defa olmak üzere gelen bağışçı sayısına göre serumlar çalışmaya alınmıştır. Yarım saat önceden oda ısısına alınan serumlar mikroaglutinasyon yöntemi kullanılarak tularemi için Ig G antikoru aranmıştır. Mikroaglutinasyon testi üzerinde 96 kuyucuk bulunan U-mikroplaklarda yapılmıştır. Tarama her plak için bir pozitif kontrol (pozitif kontrol serumu Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'ndan temin edildi) bir negatif kontrol ve her hasta için bir kuyucuk olmak üzere çalışılmıştır. Pleytin üzeri parafilm ile kapatılmıştır. Antikor-Antijen birleşebilmesi için plastik bir küvete (kuvette nemli bir ortam için küvetin tabanına ıslak bir peçete) konulup 37°C'lik etüvde bir gece inkübe edilmiştir.



Şekil 7. Mikroaglutinasyon testi için 96 kuyucuklu U-mikroplate.

3.2 Tularemi Antijeni ile Mikroaglutinasyon Tarama

1. MAT çalışma formu dolduruldu. Sonuçlar bu form üzerine kaydedildi. Her kuyucukta bir hasta çalışıldı.

A1→pozitif kontrol

A2→negatif kontrol

A3'den itibaren hastalar kayıt edildi.

2. Çalışılacak örnek sayısı ve kontrollere göre mikropak üzerinde kodlama yapıldı.

3. Tüm kuyucuklara (pozitif ve negatif kontrol serumları ve hasta örneği sayısı kadar) 45 µL örnek dilüenti bırakıldı.

4. A1'e pozitif kontrol serumu, A2'ye negatif kontrol serumu ve A3'den itibaren hasta serumları olacak şekilde serumlardan 5'er µL eklendi ve pipetleme yapılarak karıştırıldı.

5. Bütün kuyucuklara 50'şer µL *F.tularensis* MAT antijeni (testten 30 dakika önce buzdolabından çıkartıldı ve iyi sallanarak karışması sağlandı) eklenir. Böylece 1/20 dilüsyonlar elde edilmiş olur (boyalı *F.tularensis* antijeni Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'ndan temin edildi).

6. Elle mikropalak kenarına hafifçe vurarak (20 sn kadar) antijen ve serumların karışması sağlanır veya mikropalak düşük hızlı karıştırıcı üzerine konarak reaktiflerin karışması sağlandı.

7. Mikroplağın üzeri kapakla kapatılarak nemli ortamda 37°C'de 18-20 saat inkübe edildi(90).

Plağın titretilmemesi çok önemlidir, pozitif sonuçlar negatif olarak bulunabilir. Dipte düğme tarzında çöküntü aglütinasyon olmadığı (antikor bulunmadığı) anlamına gelir. Dipte dantela tarzında görüntü, aglütinasyon olduğu (antikor bulunduğu) anlamına gelir(90).

Taramada $\geq 1/20$ titrasyonu pozitif olan serumlarda önce *Brucella* antikorlarıyla çapraz reaksiyon açısından Rose-Bengal (SEROMED SERO-LAM BRUSELLA ROSE-BENGALPLEYT TEST ANTİJENİ) testi çalışıldı. Rose-Bengal testi negatif olan serumlara daha yüksek titrelerde titrasyon işlemi uygulandı.

3.3 Pozitif Bulunan Örneklerin Üst Titrelerinin Araştırılması

1. Çalışmanın başlangıcında MAT çalışma formu dolduruldu. Değerlendirmeler bu form üzerine kaydedildi.

2. Çalışılacak örnek ve kontroller mikropalak üzerinde kodlandı.

3 A sırasındaki çukurlara (pozitif ve negatif kontrol serumları ve hasta örneği sayısı kadar) 90 µL ve B→H çukurlarına 50 µL örnek dilüenti konuldu.

4. A1'e pozitif kontrol serumu, A2'ye negatif kontrol serumu ve A3'den itibaren (A3→A12) hasta serumları olacak şekilde serumlardan 10'ar µL konuldu ve pipetleme yapılarak karıştırıldı.

5. Her serum karışımının 50 µL'si, kendinden sonraki çukura aktarıldı, pipetlendi ve bu B'den G'ye kadar aynı şekilde tekrarlanarak iki katlı serum dilüsyonları elde edildi (1/10→1/640).
6. En son G çukurunda pipetleme yapıldı sonra 50 µL çekilerek pipet ucu ile birlikte kesici-delici atık kutusuna atıldı.
7. H sırasındaki çukurlar sadece dilüent içerir ve “antijen kontrol” olarak kullanıldı.
8. Bütün çukurlara (çukur A→G) 50'şer µL *F.tularensis* MAT antijeni (testten 30 dakika önce buzdolabından çıkartmalı ve iyi sallanarak karışması sağlanmalıdır) eklendi. Böylece 1:20'den →1:1280'e son dilüsyonlar elde edildi.
9. Elle mikropalak kenarına hafifçe vurarak (20 sn kadar) antijen ve serumların karışması sağlandı.
10. Mikroplağın üzeri kapakla kapatılarak nemli ortamda 37°C'de 18-20 saat inkübe edildi. Değerlendirme taramadaki gibi yapıldı(90).

3.4 İstatistik

Çalışmalardan elde edilen veriler SPSS 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences) programında değerlendirildi. Kategorik verilerin analizinde ki-kare testi, normal dağılmayanlar verilerin analizinde mann-whitney U kullanıldı. $p \leq 0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Tablo-4’de görüldüğü üzere çalışmamızın %70’lik (1046) kısmını Diyarbakır yerleşimliler oluşturmaktadır. Geriye kalan %30’luk kısmı ise yakın çevre iller ve diğer iller oluşturmaktadır.

Tablo 4. Kişilerin yerleşim yerlerine göre dağılımı

	Kişi	Yüzde
Diyarbakır	1046	69,6
Batman	81	5,4
Mardin	123	8,2
Şırnak	47	3,1
Şanlıurfa	65	4,3
Bitlis	27	1,8
Bingöl	12	0,8
Siirt	22	1,5
Muş	10	0,7
Diğer* iller	70	4,7
Toplam	1503	100,0

* Adana, Adıyaman, Ağrı, Aksaray, Amasya, Ankara Antalya, Aydın, Bayburt, Bodrum, Bursa, Elazığ, Erzurum, Gaziantep, Giresun, Hakkari, Hatay, İstanbul, İzmir, Kahramanmaraş, Kırıkkale, Malatya, Mersin, Osmaniye, Sakarya, Tekirdağ, Tokat, Trabzon, Van, Yalova

Çalışmamızda 1503 hasta serumu MAT yöntemi ile taranmıştır. Bunlardan 22 serumda 1/20 tarama titrasyonunda pozitiflik saptanmıştır. Pozitif bulunan serumlardan 3 tanesi Brucella lam aglütinasyon ile reaksiyon verdiği için Brucella antikor pozitifliği olarak kabul edilmiştir. Geriye kalan 19 serum (%1,3) tarama pozitif kabul edilmiş olup tablo-5’de görülmektedir.

Çalışmamıza 93 kadın 1410 erkek olmak üzere 1503 kişi katılmıştır(tablo-6).

Tablo 5. Tularemi sıklığı			
Tularemi		Kişi	Yüzde
	Yok	1484	98,7
	Var	19	1,3
	Toplam	1503	100,0

Tablo 6. Cinsiyet dağılımı			
		Kişi	Yüzde
	Kadın	93	6,2
	Erkek	1410	93,8
	Toplam	1503	100,0

Tablo 7. Tularemi pozitif serumların cinsiyete göre dağılımı

		Tularemi		Toplam
		Yok	Var	
CİNSİYET	Kadın	90	3	93
	Cinsiyet içindeki %	96,8%	3,2%	100,0%
	Erkek	1394	16	1410
	Cinsiyet içindeki %	98,9%	1,1%	100,0%
Toplam		1484	19	1503
Toplam içindeki %		98,7%	1,3%	100,0%

Tablo-7’de tularemi pozitif kişilerin cinsiyetlere göre dağılımı verilmiş olup cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p=0.108$).

Tablo-8’de yerleşim yerlerinin pozitiflik ve negatiflik oranları gösterilmiştir. En çok pozitiflik 15 kişi ile Diyarbakır’dadır. Çalışma grubunun yaş ortalaması 33,2 olup tularemi seropozitifliğinde yaş açısından anlamlı bir fark ($p=0,053$) bulunmamıştır(tablo-9).

Tablo 8. Yerleşim yerine göre tularemi dağılımı

YERLEŞİM YERİ	Tularemi		Toplam
	Negatif	Pozitif	
Diyarbakır	1031	15	1046
Yerleşim yeri %	98,6%	1,4%	100,0%
Batman	79	2	81
Yerleşim yeri %	97,5%	2,5%	100,0%
Mardin	122	1	123
Yerleşim yeri %	99,2%	0,8%	100,0%
Şırnak	46	1	47
Yerleşim yeri %	97,9%	2,1%	100,0%
Urfa	65	0	65
Yerleşim yeri %	100,0%	0,0%	100,0%
Bitlis	27	0	27
Yerleşim yeri %	100,0%	0,0%	100,0%
Bingöl	12	0	12
Yerleşim yeri %	100,0%	0,0%	100,0%
Siirt	22	0	22
Yerleşim yeri %	100,0%	0,0%	100,0%
Muş	10	0	10
Yerleşim yeri %	100,0%	0,0%	100,0%
Diğer*	70	0	70
Yerleşim yeri %	100,0%	0,0%	100,0%
Toplam	1484	19	1503
Yerleşim yeri %	98,7%	1,3%	100,0%

* Adana, Adıyaman, Ağrı, Aksaray, Amasya, Ankara Antalya, Aydın, Bayburt, Bodrum, Bursa, Elazığ, Erzurum, Gaziantep, Giresun, Hakkâri, Hatay, İstanbul, İzmir, Kahramanmaraş, Kırıkkale, Malatya, Mersin, Osmaniye, Sakarya, Tekirdağ, Tokat, Trabzon, Van, Yalova

Tablo 9. Pozitif ve negatif bireylerin yaş ortalaması

TULAREMİ	Ortalama	N	Standart Deviasyon
Negatif	33,25	1484	9,829
Pozitif	29,53	19	10,308
Toplam	33,20	1503	9,840

Taramada pozitif bulunan 22 serumun 3 tanesinde Rose-Bengal lam ağıltınasyon testi pozitifdir. Tablo-10'da tarama pozitif örnekler özet olarak verilmiştir.

Tablo 10. Tarama pozitif numunelerin titreleri

İnsan Serum Örneği	Rose-Bengal Sonucu	<i>F.tularensis</i> MAT Titresi	Sonuç
3 Tane numune	Negatif	1/20	<i>F.tularensis</i> seropozitif
8 Tane numune	Negatif	1/40	<i>F.tularensis</i> seropozitif
6 Tane numune	Negatif	1/80	<i>F.tularensis</i> seropozitif
2 Tane numune	Negatif	1/160	<i>F.tularensis</i> seropozitif
3 Tane numune	Pozitif		<i>Brucella</i> spp. seropozitif

5. TARTISMA

Tularemi etkeni olan *F. tularensis* küçük kokobasil morfolojisinde gram-negatif bir bakteridir. Türkiye'nin de bulunduğu kuzey yarım kürede zoonotik ve endemik bir bakteriyel ajandır(1). Türkiye'de tularemi ile alakalı kapsamlı çalışmalar ve yeterli epidemiyolojik veriler sınırlı sayıda bulunmaktadır. Sağlık Bakanlığı'nın tularemiyi 2005 yılında "bildirimi zorunlu hastalıklar" listesine alması ile olgu bildirimleri artmıştır. Birçok farklı bölgeden tularemi olgularının bildirimi olmuştur. Ancak *F. tularensis* 'in üretilmesindeki güçlük, virülansının yüksek olması, kültür işlemlerinde biyogüvenlik düzey 3 şartlarının gerekmesi, sağlık çalışanları ve halk tarafından yeterince bilinmemesi veya ön tanı olarak akla gelmemesi tanı koymadaki güçlüklerdir(4-7). Bölgemizde de olgu bildirimi çok az olup epidemiyolojik veriler yeterli değildir. Biz bu çalışmada *F. tularensis*'in toplumda seropozitiflik oranının ne olduğunu ortaya koyarak bu konuda yapılabilecek daha ileri çalışmalara ışık tutmayı tularemi hastalığına karşı bilinç düzeyinde farkındalık oluşturmayı hedefledik.

Tularemi hastalığında karasal döngüde başlıca vektörler yabani tavşanlar, keneler ve bazı sinek türleri, su döngüsünde ise kunduz, misk sıçanı ve diğer sıçan türleri bulunmaktadır. İnsanlar rastlantısal olarak enfekte olmaktadır. Su döngüsünde ana alt tür *F.tularensis subsp. holarctica*'dır(40, 56, 57). *F.tularensis subsp. holarctica* başta Türkiye olmak üzere Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa, Balkanlar, Sibirya, Kazakistan, Uzak Doğu olmak üzere daha çok su kaynaklı epidemilerden sorumludur. Ülkemizde sıklıkla su döngülü (gölet, kuyu, içme, kaynak suları) tularemi salgınları bildirilmiştir(2, 12, 26).

1987 yılında İtalya'nın Tuscany bölgesinde oluşan tularemi epidemisinin klorlanmamış sudan kaynaklandığı bulunmuştur. Bu epidemide 49 olgu tanımlanmış olup de epidemi bölgesinde alınan su örneklerinin kültürü yapılmış ama üreme gözlenmemiştir. Epidemi bölgesindeki yabani tavşanlarda yapılan çalışmalarda *F. tularensis alttür tularensis* (biyovar tip A) tespit edilmiştir(91).

2006 yılında Gürcistan'da oluşan bir salgında 26 olgu (21 orofarengeal ve 5 glandüler tip) tespit edilmiştir. Salgın bölgesinde alınan su örneklerinde tularemi etkeni saptanmıştır(92).

Esmaili ve arkadaşlarının 2013 yılında İran'da yaptıkları bir çalışmada, 250 serum örneği ELISA yöntemiyle taranmıştır. Antikor seroprevalansı %14,4 olarak bulunurken en yüksek seroprevalans %18 ile avcılarda saptanmıştır(54).

Bazı araştırmacılar hasta hayvanların çıkartıları ve leşleri ile etkeni yaydıkları ve suları kontamine ettiklerini ifade etmektedirler. Yapılan bir çalışmaya göre hasta bir su faresi 500.000 litre suyu kontamine edebilmektedir. Sudaki *F.tularensis* yoğunluğu 100-1000/litre 'de farelerin %50'si, bakteri sayısı litrede 10.000 olduğunda farelerin %90'ı hasta olmaktadır (2, 15).

Talat Vasfi Özel 1937'de Türkiye'de tulareminin ilk izolasyonunu yapmıştır. Derelerden aldıkları su örneklerini farelere enjekte etmiş, ölen farenin karaciğeri başka bir fareye yedirilmiştir. Farelerin kalp kanı alınarak sistin içeren besiyerlerine ekim yapılmış ve *F.tularensis* izole etmeyi başarmıştır(11).

1953'de İbrahim Utku'nun tespitine göre Antalya'nın Bademağacı Köyünde bir tularemi epidemisi meydana gelmiştir. Epidemide yaklaşık 300 kişi enfekte olmuştur. Utku salgının kaynağının kemirgenler tarafından kirletilmiş sular olabileceğini belirtmiştir(49).

Helvacı ve ark. Bursa'da 10 yıllık veri analizinde 205 hastanın %4,9'unda kültür yöntemi ile *F.tularensis* izole edildiğini bulmuşlardır(50).

Engin ve ark. Sivas'ta 2009 ve 2010 yıllarında tespit edilen 29 tularemi olgusunu değerlendirmiştir. Hastalara MAT ile tanı konulmuş, iki hastada *F.tularensis* DNA'sı saptanmıştır(93).

Tularemi seroprevalansı ile ilgili Bursa bölgesinde 1988 Kasım ayı sonlarında başlayan tularemi salgınından sonra bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada epidemiden sonra 393 kişiye ait serum örneğinde tularemi antikorları tüp ve mikro aglütinasyon yöntemi ile araştırılmıştır. 82 serumda (%20,9) tularemi antikorları tespit edilmiştir. Antikor titreleri; epidemik dönemde 1/640-1/2560 arasındaki olduğu, epidemiden sonraki dönemde titrelerin 1/160 -1/320 arasında bulunduğu tespit edilmiştir. Aynı

zamanda serumların 14 tanesinde *Brucella spp.* ile de aglütinasyon bulunmuştur. Araştırmacılar epideminin 2 ay sürdüğünü ve *Brucella spp.* ile *F. tularensis* arasındaki çapraz reaksiyonların düşük titrelerde olduğunu rapor etmişlerdir(94).

Gürcan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 2005 yılında Edirne Lalapaşa Demirköy’de çıkan bir epidemide 390 kişinin serumları incelenmiştir. Seropozitiflik saptanan 10 (%2,6) kişinin 7’sinde orofarengeal tutulum tespit edilirken 3 hastada semptom bulunmamıştır(95).

Yazgı ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada daha önce vaka bildirimini olmayan Erzurum il merkezi ve Pasinler ilçesine bağlı köylerde yaşayan toplam 240 gönüllü serumu incelenmiştir. Bu çalışmada %29,6’inde lam aglütinasyon testi (LAT) ile pozitiflik saptanırken 25’inde (%10,4) MAT ile *F.tularensis* antikor pozitifliği belirlenmiştir. %2,1 ELISA ile seropozitif bulunmuştur. Yazgı ve arkadaşlarının çalışmasında görüldüğü üzere tulareminin Doğu Anadolu bölgesinde asemptomatik vakalarla bile olsa varlığını sürdürdüğünü tahmin edilmektedir(96).

Ülkemizde yapılan seroprevalans çalışmaları çoğunlukla epidemi bölgelerinde epideminin değerlendirilmesi veya epidemi sonrası epidemi bölgesi ve yakın bölgeleri kapsamaktadır. 2006 yılında Kılınç ve arkadaşları tarafından Trakya bölgesinde kırsal kesimi temsil eden Edirne, Tekirdağ ve Kırklareli’ne bağlı 90 köyden alınan (tarım ve hayvancılıkla uğraşan) 1.782 insan serumu ile yapılmış en geniş seroprevalans çalışması yürütülmüştür. Çalışmada 5 kişide (%0,3) tularemi antikorları 1/20–1/160 arasında değişen titrede pozitif bulunmuştur. Bu verilere göre Trakya Bölgesi’nde tulareminin hala var olduğu tahmin edilmektedir(43).

2009 yılında Ulu Kılıç ve arkadaşları Çankırı’da bir epidemi incelemesi yapmışlardır. Çalışmaya katılan toplam 53 vakanın 20’si seropozitif olarak bulunmuştur(97).

Özkaçmaz ve arkadaşlarının Van’da yaptığı bir çalışmada 495 insan serum örneği çalışmıştır. *F.tularensis* seropozitiflik oranı %3,6 (18 serum) olarak bulunmuştur(98).

Boyunda kitlesi olan birçok kişi Kulak-Burun-Boğaz polikliniklerine başvurmaktadır. Bu olguların tularemi açısından da irdelenmesi gerekir. Bu olgularda; üst solunum yolu infeksiyonları, konjenital hastalıklar, metastaz, tüberküloz ve primer neoplazmlar ilk sıralarda akla gelirken, tularemi de unutulmamalıdır(99).

Atmaca ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Kulak-Burun-Boğaz polikliniklerine boyunda kitle ile başvuran 20 hasta incelenmiş. Bunlarda 7'sinin MAT testi 1/160 ve üzeri pozitif bulunmuş. Hastaların tümünde PCR ile tüberküloz saptanmamıştır. 6 hastada PPD negatif iken 1 hasta PPD pozitif bulunmuş. Biopsi materyallerin kronik granülomatoz iltihap olarak rapor edilmesi, hastaların tüberküloz yönünden tetkik ve tedavi edilmesine yol açmaktadır. Tüberküloz tedavisi alan olgularda streptomisin kullanılması ve tedaviye erken başlanması, hastaların bir kısmında rastlantısal tedavi yanıtı alınmasına neden olabilir (100).

Yeşilyurt ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı bir çalışmaya 64 gönüllü avcı katılmıştır. MAT ve ELISA ile *F.tularensis* antikorları araştırılmıştır. Toplam 4 (%6.3) olgu (yaş ortalaması 29.5 yıl) seropozitif saptanmış olup olguların hepsi *Brucella* aglütinasyon testinde negatif tespit edilmiştir(101).

Kılıç S'nin incelemesine göre tularemi tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte hastaların çoğu 30-64 yaş aralığındadır. Bu durum, tularemi için riskli aktivitelerin sıklıkla bu yaş grubunda yapılmasına bağlanmaktadır. Cinsiyet ayrımına bakıldığında kadınlarda daha yüksek oranda saptanmıştır. Bunun sebebi de kadınların riske daha fazla maruziyetine bağlanmıştır(41). Bizim çalışmamızda yaş açısından ($p=0,053$) ve cinsiyetler arasında ($p=0.108$) anlamlı bir fark bulunmamıştır.

6. SONUÇ

Ülkemizde birçok epideminin görülmesi, sporadik vaka bildirimlerinin artması tularemiyi ciddi bir halk sağlık sorunu haline getirmektedir. Boyunda kitlesi bulunan ve yanlış tanı alması muhtemel tüberküloz vakalarında ayırıcı tanıda tularemi de akılda tutulmalıdır. Yanlış tanıları yetersiz tedavi ve maliyet kayıplarına neden olmaktadır. Bizim çalışmamızdaki %1,3 (19 kişi)'lük seropozitiflik oranı, etkenin bölgede bulunduğunu göstermektedir. Biz de çalışmamızda beklendiği gibi yaş ve cinsiyet açısından anlamlı bir fark bulmadık (cinsiyetler için $p=0.108$)(yaş için $p=0,053$). Ayrıca bu çalışmanın sonuçlarına göre Diyarbakır ve çevresinde yapılacak daha geniş kapsamlı, farklı yöntemlerle (ELIZA, PCR, kültür gibi) desteklenmiş bir seroprevalans çalışmasının planlanması tulareminin bölgemizi ne derece etkilediğini ve hangi alt türün etken olduğunu daha net verilerle ortaya koyacaktır.

7. EK-1

Form No 014

...../...../.....

BİLDİRİMİ ZORUNLU HASTALIKLAR FİŞİ

(U.Hıfzıssıhha Kanunu Mad. 57-64).

..... İlçe Grup Başkanlığına / İl Sağlık Müdürlüğüne

GÖNDERENİN

Adı Soyadı :

Mesleği :

Kurum / İş Adresi :

HASTANIN KİMLİK BİLGİLERİ		
Cinsiyeti	E ☐	K ☐
T.C. Kimlik No		
Soyadı		
Adı		
Baba Adı		
Doğum Tarihi		
Mesleği		
ADRESİ:		
İli		
İlçesi		
Muhtarlığı		
Sokağı		
Ev No.		
Ev/Cep Tel:		

HASTALIK DURUMU		
Hastalığın Adı		
Teşhisi	Olası ☐	Kesin ☐
Başladığı Tarih		
Hastanın yattığı klinik adı/adresi		
Ölmüşse tarihi:		
DÜŞÜNCELER:		

8. KAYNAKLAR

1. Ellis J, Oyston PC, Green M, Titball RW. Tularemia. Clin Microbiol Rev. 2002;15(4):631-46.
2. Şahin İ. Tulareminin bulaş yolları. In: Gürcan Ş, ed. Francisella tularensis ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:89-97.
3. Gotschlich BT. 1936 yılında Trakya’da Tüla remiye ait yapılan epidemiyolojik ve bakteriyolojik araştırmalar. Türk Hij Tec Biol Der. 1938;1(1):115-22.
4. Barut S, Cetin I. A tularemia outbreak in an extended family in Tokat Province, Turkey: observing the attack rate of tularemia. International Journal of Infectious Diseases. 2009;13(6):745-8.
5. Çelebi G. Tularemi bildirimleri. In: Gürcan Ş, ed. Francisella tularensis ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:129-31.
6. Gurcan S, Eskiocak M, Varol G, Uzun C, Tatman-Otkun M, Sakru N, et al. Tularemia re-emerging in European part of Turkey after 60 years. Japanese journal of infectious diseases. 2006;59(6):391-3.
7. T.C. Sağlık Bakanlığı. Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi. Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi. 2004, Ankara.
8. Penn R. Francisella tularensis (Tularemia). In: Mandell G, Bennett J, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005:2674-85.
9. Gürcan Ş. Francisella tularensis ve Türkiye’de tularemi. Mikrobiyol Bul. 2007;4:621-36.
10. Willke A. Tularemi. Ankem Derg. 2006;20(2):222-6.
11. Öz TV. Dr. Talat Vasfi Özel’in 1937 yılı yazında Trakya’da tüla remi tetkikatı. Turk Hij Tecr Biyol Derg. 1938;1:1-30.
12. World Health Organization WHO Guidelines on Tularaemia. Switzerland. Available from http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_EPR_2007_7.pdf: WHO Press; 2007.
13. Sjöstedt A. Tularemia: history, epidemiology, pathogen physiology, and clinical manifestations. Annals of the New York Academy of Sciences. 2007;1105(1):1-29.

14. Gedikoğlu S. Pasteurella, Francisella, Bordetella Türleri. In: Willke TA, Söyletir G, Doğanay M, eds. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008:2249-59.
15. Tokgöz S. Tularemi de laboratuvar araştırmaları. *Türk Hıfzısıhha ve Tecrübi Biyoloji Dergisi*. 1938;1:137-53.
16. Tularemi Hastalığının Kontrolü İçin Saha Rehberi T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı Ankara, ISBN:978-975-590-328-6 Sağlık Bakanlığı Yayın No: 799, 2011.
17. Winn, W.C., Allen, S.D., Janda, W.M., Koneman, E.W., Procop, G.W., Schreckenberger, P.C., Woods, G.L., (eds). (2006). *Francisella tularensis*. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p. 491-497.
18. <http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/tularensis.htm>
19. McLendon MK, Apicella MA, Allen L-AH. *Francisella tularensis*: taxonomy, genetics, and immunopathogenesis of a potential agent of biowarfare. *Annual review of microbiology*. 2006;60:167-85.
20. Lindaquist D. Chu M.C. ve Probert W.S. (Çeviren Çetinkaya Z.): *Francisella ve Brucella*, Klinik Mikrobiyoloji, Manual of Clinical Microbiology, Murray PR(ed), 9. Baskı Türkçe çevirisi, sayfa: 815-834, Atlas Kitapçılık, Ankara, 2009.
21. World Health Organization. WHO guidelines on tularemia. Geneva, Switzerland: Available at: <http://www.cdc.gov/tularemia/resources/whotularemiamanual.pdf>; 2007.
22. Winn, W.C., Allen, S.D., Janda, W.M., Koneman, E.W., Procop, G.W., Schreckenberger, P.C., Woods, G.L., (eds). (2006). *Francisella tularensis*. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p. 491-497.
23. Forbes, BA, Sahm, DF., Weissfeld, AS., (eds.) (2007). *Francisella* (Chapter 40) , Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th Edition: Mosby Elsevier Press, St. Louis, Missouri, p.440-443.
24. Tärnvik A, Berglund L. Tularaemia. *European Respiratory Journal*. 2003;21(2):361-73.
25. Hopla CE. The ecology of tularemia. *Advances in veterinary science and comparative medicine*. 1974;18:25-53.

26. Kılıç S. Francisella tularensis ve Türkiye’de tularemi epidemiyolojisine genel bir bakış. Flora. 2010;15(2):37-58.
27. Kılıç S, Babür C. Biyolojik Silah Olarak Bakteriler:“Kategori B ajanlar”. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2006:47.
28. Petersen JM, Schriefer ME. Tularemia: emergence/re-emergence. Veterinary research. 2005;36(3):455-67.
29. Eliasson H, Lindback J, Nuorti JP, Arneborn M, Giesecke J, Tegnell A. The 2000 tularemia outbreak: a case-control study of risk factors in disease-endemic and emergent areas, Sweden. Emerging infectious diseases. 2002;8(9):956-60.
30. Willke A, Meric M, Grunow R, Sayan M, Finke E, Splettstösser W, et al. An outbreak of oropharyngeal tularaemia linked to natural spring water. Journal of medical microbiology. 2009;58(1):112-6.
31. Gutiérrez MP, Bratos MA, Garrote JI, Dueñas A, Almaraz A, Alamo R, et al. Serologic evidence of human infection by Francisella tularensis in the population of Castilla y Leon (Spain) prior to 1997. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2003;35(2):165-9.
32. McChesney T, Narain J. A five-year evaluation of tularemia in Arkansas. The Journal of the Arkansas Medical Society. 1983;80(6):257.
33. Christova I, Velinov T, Kantardjiev T, Galev A. Tularaemia outbreak in Bulgaria. Scandinavian journal of infectious diseases. 2004;36(11-12):785-9.
34. Tärnvik A, Priebe H-s, Grunow R. Tularaemia in Europe: An Epidemiological Overview. Scandinavian journal of infectious diseases. 2004;36(5):350-5.
35. Ohara Y, Sato T, Homma M. Epidemiological analysis of tularemia in Japan (yato-byo). FEMS Immunology & Medical Microbiology. 1996;13(3):185-9.
36. Feldman KA, Stiles-Enos D, Julian K, Matyas BT, Telford III SR, Chu MC, et al. Tularemia on Martha’s Vineyard: seroprevalence and occupational risk. Emerging infectious diseases. 2003;9(3):350-4.
37. Gürcan Ş, Otkun MT, Otkun M, Arikan OK, Ozer B. An outbreak of tularemia in Western Black Sea region of Turkey. Yonsei medical journal. 2004;45(1):17-22.
38. Khanna R, Sharma AD, Khanna S, Kumar M, Shukla RC. Usefulness of ultrasonography for the evaluation of cervical lymphadenopathy. World J Surg Oncol. 2011;9:29.
39. Gedikoğlu S, Göral G, Helvacı S. Bursa’daki tularemi epidemisinin özellikleri. Enfeksiyon Derg. 1990;4(1):9-15.

40. Sağlık Bakanlığı. (2011). Tularemi Hastalığının Kontrolü için Saha Rehberi, T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı. Ankara. <http://www.saglik.gov.tr/TR/dosya/1-71840/h/tularemi-saha-rehberi.pdf/>.
41. Kılıç S. Ülkemizde önem kazanan zoonotik hastalıkların güncel durumu: Tularemi. 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı 2013:184-7.
42. Gürcan Ş, Eskiocak M, Varol G. Re-emerging tularemia In European part of Turkey after 60 years. FEMS Symposium on Vector Borne Emerging and Re-emerging Pathogens and Their Infections. Istanbul, Turkey Abstract Book; 2005:36.
43. Dedeoğlu Kılınc G, Gürcan S, Eskiocak M, Kılıç H, Kunduracılar H. Trakya bölgesi köylerinde tularemi seroprevalansının araştırılması. Mikrobiyol Bul. 2007;41(3):411-8.
44. Akalın H, Helvacı S, Gedikoğlu S. Re-emergence of tularemia in Turkey. International Journal of Infectious Diseases. 2009;13(5):547-51.
45. Dirik K. Van Gölü havzasında Tularémie. Turk Hij Tecz Biyol Derg. 1939;2:193-5.
46. Golem SB. Lüleburgaz'da yeni bir tularemi epidemisi. Turk Hij Tecz Biyol Derg. 1945;5:27-40.
47. Karadenizli A, Gurcan S, Kolayli F, Vahaboglu H. Outbreak of tularaemia in Golcuk, Turkey in 2005: report of 5 cases and an overview of the literature from Turkey. Scandinavian journal of infectious diseases. 2005;37(10):712-6.
48. Meriç M, Wilke A, Finke J. Kocaeli'nde saptanan tularemi olgularının değerlendirilmesi: Klinik, laboratuvar ve iyileşme sürecinin incelenmesi. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi. Klimik Derg (Kongre Kitabı Özel sayı). 2005;18:210-11.
49. Utku I. Antalya'da tularemi epidemisi ve hususiyetleri. Turk Hij Tecz Biyol Derg. 1954;14:288-93.
50. Helvacı S, Gedikoğlu S, Akalın H, Oral H. Tularemia in Bursa, Turkey: 205 cases in ten years. European Journal of Epidemiology. 2000;16(3):271-6.
51. <http://slideplayer.biz.tr/slide/2009774/>.
52. Broekhuijsen M, Larsson P, Johansson A, Byström M, Eriksson U, Larsson E, et al. Genome-wide DNA microarray analysis of Francisella tularensis strains demonstrates extensive genetic conservation within the species but identifies regions that are unique to the highly virulent F. tularensis subsp. tularensis. Journal of clinical microbiology. 2003;41(7):2924-31.

53. Porsch-Özcürümez M, Kischel N, Priebe H, Splettstösser W, Finke E-J, Grunow R. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, Western blotting, microagglutination, indirect immunofluorescence assay, and flow cytometry for serological diagnosis of tularemia. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 2004;11(6):1008-15.
54. Esmaeili S, Gooya MM, Shirzadi MR, Esfandiari B, Amiri FB, Behzadi MY, et al. Seroepidemiological survey of tularemia among different groups in western Iran. *International Journal of Infectious Diseases*. 2014;18:27-31.
55. Kılıç, S. (2009). Tularemi Türkiye'nin Hedefi ve Beklentileri. *Francisella tularensis ve Tularemi*, Gürcan, Ş. (Ed.), Nobel Matbaacılık, İstanbul, 311-316.
56. Morner T. The ecology of tularemia. *Rev Sci Tech*. 1992;11(4):1123-30.
57. Nigroviç LE, Wingerter SL. Tularemia. *Infect Dis Clin North Am*. 2008;22(3):489-504.
58. Ohara H. Experimental inoculation of disease of wild rabbits into the human body, and its bacteriological study. *Jpn. Med. World*. 1926;6:299-304.
59. Münnich PDD, Lakatos M. Clinical, epidemiological and therapeutical experience with human tularemia. *Infection*. 1979;7(2):61-3.
60. Otlı S. Hayvanlarda Tularemi Araştırmaları ve Dünyada Tularemi,. In: Gürcan S, ed. *Francisella tularensis ve Tularemi*. İstanbul: Nobel Kitabevleri; 2008: 161-8.
61. Eliasson H, Broman T, Forsman M, Bäck E. Tularemia: current epidemiology and disease management. *Infectious disease clinics of North America*. 2006;20(2):289-311.
62. Hornick R. Tularemia. In: Alfred S, Philip S, eds. *Bacterial Infections of Humans Epidemiology and Control*. New York: Plenum Publishing Co; 1991:787-802.
63. Pechous RD, McCarthy TR, Zahrt TC. Working toward the future: insights into *Francisella tularensis* pathogenesis and vaccine development. *Microbiology and molecular biology reviews*. 2009;73(4):684-711.
64. Tärnvik A, Eriksson M, Sandström G, Sjöstedt A. *Francisella tularensis*--a model for studies of the immune response to intracellular bacteria in man. *Immunology*. 1992;76(3):349.
65. Cherwonogrodzky JW, Knodel MH, Spence MR. Increased encapsulation and virulence of *Francisella tularensis* live vaccine strain (LVS) by subculturing on synthetic medium. *Vaccine*. 1994;12(9):773-5.

66. McCaffrey RL, Allen L-AH. *Francisella tularensis* LVS evades killing by human neutrophils via inhibition of the respiratory burst and phagosome escape. *Journal of leukocyte biology*. 2006;80(6):1224-30.
67. Nasr AB, Haithcoat J, Masterson JE, Gunn JS, Eaves-Pyles T, Klimpel GR. Critical role for serum opsonins and complement receptors CR3 (CD11b/CD18) and CR4 (CD11c/CD18) in phagocytosis of *Francisella tularensis* by human dendritic cells (DC): uptake of *Francisella* leads to activation of immature DC and intracellular survival of the bacteria. *Journal of leukocyte biology*. 2006;80(4):774-86.
68. Sandström G, Löfgren S, Tärnvik A. A capsule-deficient mutant of *Francisella tularensis* LVS exhibits enhanced sensitivity to killing by serum but diminished sensitivity to killing by polymorphonuclear leukocytes. *Infection and immunity*. 1988;56(5):1194-202.
69. Elkins KL, Cooper A, Colombini SM, Cowley SC, Kieffer TL. In vivo clearance of an intracellular bacterium, *Francisella tularensis* LVS, is dependent on the p40 subunit of interleukin-12 (IL-12) but not on IL-12 p70. *Infection and immunity*. 2002;70(4):1936-48.
70. Elkins KL, Rhinehart-Jones TR, Culkin SJ, Yee D, Winegar RK. Minimal requirements for murine resistance to infection with *Francisella tularensis* LVS. *Infection and immunity*. 1996;64(8):3288-93.
71. Oral BH. Tularemi İmmünopatogenezi ve Patolojisi. In: Gürcan Ş, ed. *Francisella tularensis ve Tularemi İstanbul: Nobel Kitabevleri*; 2008:193-200.
72. Aydemir H. Tularemi Ayrıcı Tanı. In: Gürcan Ş, ed. *Francisella tularensis ve Tularemi. İstanbul: Nobel Matbaacılık*; 2009:245-55.
73. Helvacı S. Tularemi Klinik Özellikler. In: Gürcan Ş, ed. *Francisella tularensis ve Tularemi. İstanbul: Nobel Matbaacılık*; 2009:205-7.
74. Syrjälä H, Kujala P, Myllylä V, Salminen A. Airborne transmission of tularemia in farmers. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 1984;17(4):371-5.
75. Karahan CZ, Kılıç S. Tanı İçin Örneklerin Alınması, Saklanması ve Tasınması,. In: S G, ed. *Francisella tularensis ve Tularemi. İstanbul: Nobel Kitabevleri*; 2008:259-68.
76. Çelebi B. 3.Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu, Ankara, 2010.
77. CDC basic laboratory protocols for the presumptive identification of *Francisella tularensis*, Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, Ga, 2003.

78. Baker CN, Hollis D, Thornsberry C. Antimicrobial susceptibility testing of *Francisella tularensis* with a modified Mueller-Hinton broth. *Journal of clinical microbiology*. 1985;22(2):212-5.
79. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 483-484, 10. Baskı, Baris Yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 2000.
80. Kolaylı F. *Francisella Tularensis* Kültürü ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri, *Francisella tularensis* ve Tularemi, Gürcan S (editör), s. 273-281, Nobel Kitabevleri, İstanbul, 2008.
81. Karadenizli A. Moleküler tanı ve tiplendirme yöntemleri. In: Gürcan Ş, ed. *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:283-8.
82. Koskela P, Salminen A. Humoral immunity against *Francisella tularensis* after natural infection. *Journal of clinical microbiology*. 1985;22(6):973-9.
83. Gürcan Ş. Serolojik Tanı Yöntemleri. In: Gürcan Ş, ed. *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2009: 269-72.
84. Kılıç S, Çelebi B, Yeşilyurt M. Evaluation of a commercial immunochromatographic assay for the serologic diagnosis of tularemia. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2012;74(1):1-5.
85. Tärnvik A, Chu MC. New approaches to diagnosis and therapy of tularemia. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1105(1):378-404.
86. Bevanger L, Maeland JA, Naess AI. Agglutinins and antibodies to *Francisella tularensis* outer membrane antigens in the early diagnosis of disease during an outbreak of tularemia. *Journal of clinical microbiology*. 1988;26(3):433-7.
87. Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi, Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi, Sağlık Bakanlığı 2004, Ankara. <http://www.shsm.gov.tr/public/documents/legislation/bhkp/asi/bhibs/BulHastBilSiStStanSurveLabReh.pdf>.
88. Meriç M. Aşı Çalışmaları. In: Gürcan Ş, ed. *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2009:306-10.
89. Kılıç S, Yeşilyurt M. Tularemi: Güncel Tedavi Seçeneklerine Genel Bir Bakış. *Klinik Dergisi*. 2011;24(1):2-10.
90. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS) Tulareminin (*Francisella tularensis* enfeksiyonunun) Mikrobiyolojik Tanısı. mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/UMS-Cilt-1.pdf.

91. Greco D, Allegrini G, Tizzi T, Ninu E, Lamanna A, Luzi S. A waterborne tularemia outbreak. *European journal of epidemiology*. 1987;3(1):35-8.
92. Chitadze N, Kuchuloria T, Clark D, Tsertsvadze E, Chokheli M, Tsertsvadze N, et al. Water-borne outbreak of oropharyngeal and glandular tularemia in Georgia: investigation and follow-up. *Infection*. 2009;37(6):514-21.
93. Engin A, Altuntaş EE, Cankorkmaz L, Kaya A, Elaldı N, Şimşek H, et al. Sivas ilinde saptanan ilk tularemi salgını: 29 olgunun değerlendirilmesi. *Klinik Dergisi*. 2011;24(1):17-23.
94. Yıldırım M: Türkiye’de Tularemi: Seroprevalans Çalışmaları, *Francisella tularensis* ve Tularemi, Gürcan S (editör), s. 299-304, Nobel Kitabevleri, İstanbul, 2008.
95. Gurcan S, Uzun C, Karagol C, Karasalioglu A, Otkun M. The first tularemia case in Thrace Region of Turkey in the last 60 years. *Turkish Journal Of Medical Sciences*. 2006;36(2):127.
96. Yazgi H, Uyanik MH, Ertek M, Kiliç S, Kıreççi E, Özden K, et al. Erzurum merkez ve kırsalında yaşayan riskli gruplarda tularemi seroprevalansı. *Mikrobiyol Bul*. 2011;45(1):67-74.
97. Ulu KA, Kiliç S, Sencan I, Çiçek ŞG, Gürbüz Y, Tütüncü E, et al. A water-borne tularemia outbreak caused by *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in Central Anatolia region. *Mikrobiyoloji bulteni*. 2011;45(2):234-47.
98. Özkaçmaz A. Van ili ve çevresinde riskli insan ve hayvan gruplarında tularemi seroprevalansı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi*, 2014.
99. Stupak HD, Scheuller MC, Schindler DN, Ellison DE. Tularemia of the head and neck: a possible sign of bioterrorism. *Ear, nose, & throat journal*. 2003;82(4):263-5.
100. Atmaca S, Leblebicioğlu H, Ünal R, Tekat A, Şeşen T, Koyuncu M, et al. Samsun ve çevresinde görülen tularemi olguları. *KBB-Forum*, 2005. 171-2.
101. Yeşilyurt M, Kiliç S, Çelebi B, Gül S. Tularemi: Avcılar Gerçekten Bir Risk Grubu mu? *Mikrobiyol Bul*. 2012;46(1):153-5.