



**T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIVAS YÖRESİNDEN İZOLE EDİLEN
FRANCISELLA TULARENSIS SUBSPECIES HOLARCTICA
İZOLATLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIK ve MLVA
PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elif TUTMAÇ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

SIVAS-2019

**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİVAS YÖRESİNDEN İZOLE EDİLEN
FRANCISELLA TULARENSIS SUBSPECIES HOLARCTICA
İZOLATLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIK ve MLVA
PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elif TUTMAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ MEHMET ATAŞ**

SİVAS-2019

“Sivas Yöresinden İzole Edilen *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* İzolatlarının Antibiyotik ve MLVA Profillerinin Araştırılması” adlı Yüksek Lisans Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Farmasötik Mikrobiyoloji** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Müge OĞUZKAYA ARTAN

Üye

Prof. Dr. Ahmet ALİM

Üye (Danışman)

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ATAŞ

ONAY

Bu tez çalışması, 04/04/2019 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

ÖZET

SİVAS YÖRESİNDEN İZOLE EDİLEN FRANCISELLA TULARENSIS SUBSPECIES HOLARCTICA İZOLATLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIK VE MLVA PROFİLLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Elif TUTMAÇ

Yüksek Lisans Tezi

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ATAŞ

2019, 63 sayfa

Tularemi, *Francisella tularensis*'in etken olduğu zoonotik bir enfeksiyondur. *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* (Tip A) Kuzey Amerika'da bulunmakta olup başlıca kene, yabani tavşan ve sinekler ile ilişkilidir. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* (Tip B) ise kuzey yarımkürede bulunmakta olup su kaynaklı tularemi salgınlarından sorumludur.

Ülkemizde gözlenen su kaynaklı tularemi vakalarında etkenin *F.tularensis* subsp. *holarctica* olduğu kültür ve moleküler yöntemlerle ortaya konmuştur. Bu çalışmada Sivas ilinde 2011 ve 2012 yıllarında su örneklerinden izole edilen sekiz *F.tularensis* subsp. *holarctica* izolatının antibiyotik duyarlılıkları ve altı lokusa (Ft-M3, Ft-M6, Ft-M20, Ft-M21, Ft-M22 ve Ft-M24) yönelik Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat analizi (MLVA) ile tekrar dizilerinin varlığı araştırılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testinde disk difüzyon (Kirby-Bauer) yöntemi kullanılmıştır.

Çalışma sonucunda tüm izolatların doxycycline, chloramphenicol, streptomycin, gentamicin, tetracycline, ciprofloxacin, levofloxacin, rifampin, tobramycin ve amikacine duyarlı iken erythromycin ve aztreonama ise dirençli oldukları bulunmuştur. MLVA analizinde en fazla değişkenlik Ft-M3 (3 allel), Ft-M6 (3 allel) ve Ft-M21 (3 allel) lokusunda gözlenir iken Ft-M20, Ft-M22 ve Ft-M24 lokuslarında ise tek bir allel olduğu tespit edilmiştir.

Altı lokus açısından; Belkent2012 ile Döllük izolatlarının, Karaören ile Bahçeici izolatlarının kendi aralarında benzer olduğu tespit edilmiştir. Beş lokus açısından (Ft-M3, Ft-M6, Ft-M20, Ft-M22, Ft-M24) Maksutlu ve Hüyük izolatlarının benzer olduğu, dört lokus açısından ise (Ft-M3, Ft-M20, Ft-M22, Ft-M24) Belkent2012, Döllük, Belkent2013, Maksutlu, Hüyük izolatlarının benzer olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Francisella*, Tularemi, Sivas, MLVA, *holarctica*, PCR

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY AND MLVA PROFILES OF FRANCISELLA TULARENSIS SUBSPECIES HOLARCTICA WHICH ISOLATED FROM SIVAS

Elif TUTMAÇ

Master Thesis

Department of Pharmaceutical Microbiology

Supervisor: Assistant Prof. Dr. Mehmet ATAŞ

2019, 63 pages

Tularemia is a zoonotic disease caused by *Francisella tularensis*. *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* (Type A) is found in North America, mainly associated with ticks, hares and flies. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* (Type B) is found in the northern hemisphere and is responsible for the outbreaks of water-borne tularemia.

In the cases of water-borne tularemia observed in our country, the causative agent *F.tularensis* subsp. *holarctica* is revealed by culture and molecular methods. In this study, eight *F.tularensis* subsp. *holarctica* strain that isolated from water samples in Sivas province in 2011 and 2012 years were investigated in terms of antibiotic susceptibilities and the presence of repeat numbers with six loci (Ft-M3, Ft-M6, Ft-M20, Ft-M21, Ft-M22 ve Ft-M24) Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA). Disc diffusion (Kirby-Bauer) method was used in the antibiotic susceptibility test.

At the end of the study, it was found that all isolates were susceptible to doxycycline, chloramphenicol, streptomycin, gentamicin, tetracycline, ciprofloxacin, levofloxacin, rifampin, tobramycin and amikacine while erythromycin and aztreonam were resistant. In MLVA analysis, the highest variability was observed in Ft-M3 (3 allele), Ft-M6 (3 allele) and Ft-M21 (3 allele) loci, whereas it was found to be a single allele in Ft-M20, Ft-M22 and Ft-M24 loci.

In terms of six loci; Belkent2012 and Döllük isolates, Karaören and Bahçeici isolates were found to be similar among themselves. In terms of five loci (Ft-M3, Ft-M6, Ft-M20, Ft-M22, Ft-M24), the Maksutlu and Hüyük isolates were similar, in terms of four loci (Ft-M3, Ft-M20, Ft-M22, Ft-M24) Belkent2012, Dolluk, Belkent2013, Maksutlu, Hüyük isolates were found to be similar.

Key words: *Francisella*, Tularemia, Sivas, MLVA, holarctica, PCR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmam süresince bana her konuda rehberlik eden,engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve öğrencisi olmaktan büyük onur duyduğum çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ATAŞ'a,

Yüksek lisans süresince deneyimlerini, ilgisini ve desteğini esirgemeyen kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Tutku TUNÇ'a,

Sekans ve filogenetik analiz çalışmalarında katkı ve emeklerini esirgemeyen (MG Biyoenformatik) Moleküler Biyolog Murat GÜLER'e,

Sadece eğitim hayatımda değil, hayatımın tüm aşamasında yanımda olup, sevgi ve desteklerini bir an olsun sakınmayan aileme sonsuz teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Tarihçe	2
2.2 Dünyada Tularemi	2
2.3 Türkiye’de Tularemi.....	3
2.4 Sınıflandırma, Alt Türler ve Biyovarlar	5
2.5 Mikrobiyolojik Özellikler.....	6
2.6 Tanı.....	6
2.6.1 Kültür.....	7
2.6.2 Seroloji	8
2.6.3 Moleküler Tanı	8
2.6.4 İmmunohistokimyasal Çalışmalar	10
2.7 Bulaş Yolları.....	10
2.8 Klinik.....	11
2.8.1 Ülseroglandüler Tularemi.....	12
2.8.2 Glandüler Tularemi	12
2.8.3 Oküloglandüler Tularemi	12
2.8.4 Orofarengeal Tularemi	13
2.8.5 Sistemik (Tifoidal) Tularemi.....	13
2.8.6 Pnömonik Tularemi.....	13
2.8.7 Tularemi’de Cilt Döküntüleri	13
2.9 Tedavi ve Antibiyotiklere Direnç	13
2.9.1 <i>F. tularensis</i> ’in Antibiyotik Direnci	15
3. GEREÇ ve YÖNTEM	17
3.1 Örnekler	17
3.2 Çalışmada Kullanılan Alet, Ekipman ve Malzemeler	17
3.3 Kullanılan Besiyeri ve Kimyasallar.....	17

3.4 Pasaj İşlemleri	18
3.5 Antibiyotik Duyarlılık Testi	18
3.5.1 Disk Difüzyon Testi (Kirby-Bauer).....	18
3.6 DNA İzolasyonu	19
3.7 PCR Çalışması.....	20
3.8 Agaroz Jel Elektroforezi.....	21
3.9 Sekans Analizi	22
3.10 MLVA Analizi.....	22
4. BULGULAR.....	23
4.1 Disk Difüzyon Testi Bulguları	23
4.2 PCR Bulguları	24
4.3 MLVA Bulguları	27
5. TARTIŞMA.....	29
KAYNAKLAR.....	33
EKLER.....	39
EK-1 SEKANS ANALİZ SONUÇLARI	39
EK-2 ETİK KURUL KARAR FORMU.....	48
EK-2 ETİK KURUL KARAR FORMU.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	50

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Çalışmada kullanılan primerler	20
Tablo 2: Çalışmada kullanılan ana karışım.....	21
Tablo 3: DNA Amplifikasyonu	21
Tablo 4: Çalışmada araştırılan VNTR lokusları ve tekrar dizileri.....	22
Tablo 5: Çalışma sonucunda gözlenen zon çapları	23
Tablo 6: Çalışmada araştırılan VNTR lokusları, tekrar dizileri ve tekrar sayıları.....	27



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Ft-M3 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü.....	24
Şekil 2: Ft-M6 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü.....	25
Şekil 3: Ft-M20 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü.....	25
Şekil 4: Ft-M21 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü.....	26
Şekil 5: Ft-M22 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü.....	26
Şekil 6: Ft-M24 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü.....	27



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: <i>F.tularensis</i> 'in tiplendirilmesinde kullanılan yöntemler.....	9
Resim 2: Hüyük izolatinin antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi	24



KISALTMALAR DİZİNİ

MLVA	Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis
VNTR	Variable Number of Tandem Repeat
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriksiyon Fragment Length Polymorphism
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
TGBA	Thioglycollate- Glucose Blood Agar
BCYE	Buffered Charcoal Yeast Extract Agar
GCBA	Glucose Cystein Blood Agar
CHAB	Cystine Heart Blood Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
LVS	Live Vaccine Strain
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA
dNTP	Deoksiribonükleosid Trifosfat
dH₂O	Distile Su
Taq	Thermus aquaticus

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tularemi, *Francisella tularensis*'in etken olduğu zoonotik bir infeksiyon hastalığıdır (Mead, 2008; WHO, 2013). *F.tularensis* aerobik, hareketsiz, pleomorfik, gram negatif, hücre içinde çoğalabilen bir kokobasildir (Kılıç, 2010). Coğrafi olarak Kuzey Amerika'nın birçok kesimlerinde, Avrupa'da (özellikle Orta ve Kuzey Avrupa ülkeleri), Çin ve Japonya'nın da içinde bulunduğu geniş bir bölgede çoğunlukla sporadik olgular şeklinde ve zaman zaman da salgınlar şeklinde görülmektedir (WHO, 2007; Sağlık Bakanlığı, 2011).

Bakterinin doğal rezervuarları genellikle kemirici hayvanlardır (Dikici ve ark., 2012). Hastalık insanlara, enfekte hayvanlarla direkt temas yoluyla, artropod (kene, sinek ve bit) ısırıklarıyla, kontamine su veya yiyeceklerin tüketilmesiyle ve aerosollerin solunması ile bulaşmaktadır (Sharma ve ark., 2013; Sağlık Bakanlığı, 2011). İnsandan insana bulaş bildirilmemiştir (Meriç ve ark., 2008).

F. tularensis subsp. *tularensis* veya tip A ve *F. tularensis* subsp. *holartica* veya tip B klinik ve epidemiyolojik açıdan önemli alt türlerdir. Esas olarak Kuzey Amerika'ya özgü olan *F. tularensis* subsp. *tularensis*, insanlara en sık kene, sinek gibi vektörlerle veya enfekte hayvanlarla bulaşır. Kuzey yarımküre boyunca görülen *F. tularensis* subsp. *holartica* veya tip B'nin bulaşması ise su ve su kenarında yaşayan kemiricilerle ilişkilidir (Rubin, 2003; Çelebi ve ark., 2006). Ülkemizde salgınlara neden olan tür ise *F. tularensis* subsp. *holartica*'dır (Kılıç, 2010).

Klinik bulgular; hastanın immün direnci, sistemik tutulma derecesi, bakterinin virulansı, tanı ve tedavinin zamanında yapılması gibi etkenlerden dolayı değişkenlik göstermektedir. Hastalık ülseroglandüler, oküloglandüler, glandüler, orofarengeal, sistemik (tifoidal) ve pnömonik olmak üzere altı klinik formda gözlenmektedir. Dünyada kene ısırması ve enfekte hayvan temasına bağlı olarak en sık ülseroglandüler form görülürken, ülkemizde ise kontamine suların tüketilmesine bağlı olarak orofarengeal form görülmektedir (Penn, 2005; Sağlık Bakanlığı, 2011).

Bu çalışmada Sivas ilinde 2011-2012 yıllarında tularemi salgını gözlenen bölgelerden alınan su örneklerinden izole edilen sekiz farklı *F.tularensis* subsp. *holartica* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması aynı zamanda MLVA yöntemi ile tiplendirilerek ülkemizde ve dünyanın farklı bölgelerindeki izolatlarının genetik ilişkisini saptamak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe

Tularemi, Rusya ve Japonya'da 1800'lü yıllardan beri bilinmesine rağmen, ilk defa 1911 yılında McCoy ve Chapin tarafından Kaliforniya'nın Tulare bölgesinde, sincaplarda görülen veba benzeri bir salgın hastalık olarak tanımlanmıştır. McCoy ve Chapin'in sincaplardan izole ettiği gram negatif bakteri, Tulare şehrine ithafen *Bacterium tularensis* olarak adlandırılmıştır (Ellis, 2002; Gürcan, 2007; Willke, 2006).

İlk insan olguları 1914 yılında Lamb ve Wherry tarafından bildirilmiştir (Sjöstedt, 2007). İnsanlarda hastalığı ilk tanımlayan ise Edward Francis'dir. E. Francis'in 1912 ve 1925 yılları arasında yaptığı araştırmalarla, insanlarda "geyik sineği ateşi" diye adlandırılan hastalığın sincaplarda görülen veba benzeri hastalık ile ilişkisini ortaya çıkartmış ve bu hastalığı "tularemî" olarak isimlendirmiştir. Ayrıca geyik sineğinin tulareminin asıl sebebi olmadığını, bakteriyi taşıyan bir vektör olduğunu göstermiştir. Önemli çalışmalarından dolayı 1959'da Edward Francis'e Nobel ödülü verilmiş ve bakterinin adı *Francisella tularensis* olarak değiştirilmiştir (Eliasson ve ark., 2006; Keim ve ark., 2007).

Hastalık dünyanın farklı bölgelerinde değişik isimlerle anılmaktadır; ABD'de "geyik sineği ateşi", "tavşan ateşi", "pazarcı hastalığı", Rusya'da "su sıçanı avcı hastalığı", Japonya'da ise "yabani tavşan ateşi (yato-byo)", "Ohara hastalığı" denilmektedir (Willke, 2006). Ülkemizde ise halk arasında şiş hastalığı, top hastalığı ve pirinç hastalığı gibi isimler verilmiştir (Özel, 1938).

2.2 Dünyada Tularemî

Tularemî, birkaç bin yıldan beri dünyada bilinen bir hastalıktır, esasen kuzey yarımküre ülkelerinde görülür (Ellis, 2002; Helvacı, 2008). Orta Doğu'da, özellikle de MÖ 1400'lerde bu hastalıktan dolayı birçok insan ölmüştür. Bu hastalığın Ortadoğu bölgesinden Anadolu'ya savaş, seyahat, keneler veya kemirgenlerle ulaştığına inanılmaktadır (Trevisanato, 2004). Tularemî, özellikle Kuzey Amerika'nın birçok kesimlerinde, Asya'da, Orta ve Kuzey Avrupa'da özellikle İskandinav ülkelerinde genellikle sporadik olgular şeklinde görülmekte, zaman zaman da epidemiler yapmaktadır (WHO, 2007; Sağlık Bakanlığı, 2011).

Salgınlar ayrıca Doğu Avrupa ve Rusya'da da görülmektedir. Tularemî hastalığı için, Kuzey Amerika ve İskandinav ülkeleri endemik bölgelerdir. ABD'de tularemî insidansı, yıllık ortalama bir milyonda 0.5-5 vaka bildirilmiştir. 1939'da ABD'de vaka

sayısı 2,291 kişiyi etkileyen büyük bir salgın olarak meydana gelirken, 1950'de yaklaşık 900 olarak bildirilmiştir. Sonraki yıllarda ise giderek azalmıştır ve vaka sayısı yaklaşık 100 hasta olmuştur (Şahin, 2009; Grunow ve ark., 2012). Tularemi salgını, 1940'ta Sovyetler Birliği'nde 100.000'den fazla insanı etkilemiştir (Şahin, 2009). 1950'de Almanya'da büyük bir salgın meydana gelmiştir ve Çek Cumhuriyeti, İsveç, Fransa ve Finlandiya gibi ülkelerde de fazla sayıda olgu bildirilmiştir (Geyik ve Akalın 2009). İkinci Dünya Savaşı sonrası, özellikle Doğu Avrupa ülkelerinde su kaynaklı büyük salgınlar olmuştur (Petersen ve Schriefer, 2005).

Savaş sonrası Rusya'nın değişik bölgelerinde de tularemi prevalansı artmıştır. Balkan ülkelerinde de vaka sayısındaki artış özellikle dünya genelinde tulareminin insidansına kıyasla belirgin bir şekilde artmıştır (Geyik ve Akalın, 2009; Şahin, 2009; Kılıç, 2010). Kosova Savaşı sonrasında da 1999-2000 yıllarında 327 kişinin etkilendiği kemiricilerin kirlettiği su ve yiyecekler aracılığı ile bir salgın ortaya çıkmıştır (Reintjes, 2002). İsveç, Finlandiya, Slovakya, Çek Cumhuriyeti, Norveç, Sırbistan-Karadağ, Macaristan, Bulgaristan ve Hırvatistan'dan tularemi olguları bildirilirken, ilginç bir şekilde Birleşik Krallık, İzlanda, Afrika, Güney Amerika ve Antarktika'dan tularemi bildirilmemiştir (Gürcan, 2012). Avustralya'dan ise *F. tularensis* ile ilgili sadece iki tularemi olgusu bildirilmiştir (Whipp ve ark., 2003; Jackson ve ark., 2012).

Dünyada tularemi epidemiyolojisi ilerleyen yıllarda iklim değişikliklerine paralel olarak vektör popülasyonu ve dağılımındaki değişiklikler, rezervuar, savaş ve göçler sebebiyle uygun olmayan yaşam koşullarına bağlı olarak belirgin bir şekilde değişmiş, vaka sayılarında önemli artışlar izlenmiştir (Sağlık Bakanlığı, 2011).

2.3 Türkiye'de Tularemi

Türkiye'de yayınlanmış ilk tularemi epidemisi ise 1936'da 133'ü asker, 17'si civar köy halkından olmak üzere toplam 150 kişinin etkilendiği Lüleburgaz askeri garnizonundan bildirilmiştir (Gotschlich ve Berkin, 1938). Dr. Tahsin Berkin ve Dr. Talat Özel'in Trakya'da yaptıkları çalışmalar sonucunda enfeksiyonun su kaynaklı olduğuna dair veriler elde etmişlerdir (Gotschlich ve Berkin, 1938; Özel, 1938). 1938 yılında Tatvan'ın Reşadiye Köyünde 6 kişinin etkilendiği ve tavşan eti yenmesine bağlı olduğu düşünülen tularemi salgını saptanmıştır. 1945 yılında Lüleburgaz askeri garnizonundan 15'i er ve 3'ü sivil halktan olmak üzere toplam 18 kişinin etkilendiği ikinci bir salgın tekrarlamıştır (Golem, 1945).

Ülkemizdeki en büyük salgın ise, 1953 yılında Antalya'nın Bademağacı Köyü'nde yaşanmıştır ve yaklaşık 300 kişi bu salgından etkilenmiştir (Utku, 1954). 1988 yılında Bursa'nın Badırğa Köyü'nde 64 kişinin etkilendiği bir epideminin saptanmasıyla ülkemizde tularemi tekrar gündeme gelmiştir (Kılıçturgay ve ark., 1989; Gedikoğlu ve ark., 1990). Köyde yapılan araştırmalara göre, salgın döneminde farelerde bir artış meydana gelmiş ve salgının farelerin kirlettiği sularla ilişkisi olabileceği düşünülmüştür (Gedikoğlu ve ark., 1990). Tularemi bölgede varlığını hep sürdürmüştür ve 1988-1998 yılları arasında toplam 205 vaka bildirilmiştir (Helvacı, 2000).

Samsun'da 1999-2001 yıllarında 49, Sinop'ta 2000 yılında 40, Yalova'da 2000 yılında 22, Düzce'de 2000-2005 yıllarında 33, Bolu Gerede'de 2001-2006 yıllarında 30, Balıkesir'de 2002 yılında 126, Amasya Suluova'da 129, Batı Karadeniz Bölgesi'nde yer alan Zonguldak, Kastamonu ve Bartın'da 2004-2005 yıllarında 61, Kars'ta 2004-2005 yıllarında 56, Kocaeli'de 2004-2005 yıllarında 162, Edirne Lalapaşa Demirköy'de 2005 yıllarında 10, Samsun-Havza'da 2005-2007 yıllarında 75, Sakarya'da 2005-2006 yıllarında 63, Tokat'ta 2005-2010 yıllarında 23, Çankırı Çerkeş Kadıözü'nde 2009 yılında 20, Çanakkale'de 2009 yılında 36, Sivas'ta 2009-2010 yıllarında 29 olgu bildirilmiştir, 2009 yılında ülke genelinde salgınların bildirildiği dönemden sonra, çoğunlukla vakalar Orta Anadolu bölgesinden, özellikle Yozgat'tan bildirilmiştir (Erbay ve ark., 2000; Gürcan ve ark., 2006; Karabay ve ark., 2006; Turhan ve ark., 2007; Kılıç, 2010).

Artan olgu sayısı ve farklı bölgelerden vakaların bildirilmesinden dolayı tularemi 2005 yılında Türkiye Sağlık Bakanlığı tarafından "Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi"nde C Grubu listesinde yer almıştır ve bu sayede daha güvenilir epidemiyolojik veriler elde edilmiştir (Sağlık Bakanlığı, 2011).

Türkiye'de 2005 yılında toplam 431 tularemi vakası kaydedilmiştir ve sonraki üç yıl içinde vaka sayısında belirgin bir azalma görülmüş ve 2008 yılında 71 vaka kaydedilmiştir. 2009 yılında ise vaka sayısı tekrar artmış ve 428'e yükselmiştir, takip eden yıllarda da devam ederek 2010 yılında 1531, 2011 yılında 2151, 2012 yılında ise 607 vaka kaydedilmiştir. 2011 yılında görülen vaka sayısı ise Avrupa Birliği ülkelerindeki toplam vaka sayısından daha yüksektir (Torunoğlu, 2009; Kılıç, 2010; Gürcan, 2012).

2.4 Sınıflandırma, Alt Türler ve Biyovarlar

F.tularensis' in taksonomik konumu oldukça karmaşıktır ve sık sık değişmiştir. *F.tularensis* bakterisi başlangıçta *Bacterium* cinsine, sonrasında *Pasteurella* cinsine ve daha sonrasında ise *Brucella* cinsine dahil edilmiştir. 1947 yılında yapılan fenotipik, genotipik ve hücre duvarı analizleri, *F. tularensis* 'in bu cinslerle ilişkisinin olmadığını göstermiş ve bakteri *Francisella* adlı yeni bir cins olarak kabul edilmiştir (Ellis ve ark., 2002).

Francisella cinsi içerisinde epidemiyolojik özellikleri birbirinden farklı iki tür görülmekte olup bunlar; *F.tularensis* ve *F.philomiragia* 'dır (Helvacı ve ark., 2000; Willke, 2006). *F.tularensis*, coğrafi dağılımları ve virulans farklılıklarına göre; dört alt türe ayrılmaktadır. Bunlar;

- ✓ *F. tularensis* subsp. *tularensis* (*F.tularensis* subsp. *nearctica* veya Biyovar tip A)
- ✓ *F. tularensis* subsp. *holarctica* (*F.tularensis* subsp. *palaeartica* veya Biyovar tip B)
- ✓ *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*
- ✓ *F. tularensis* subsp. *novicida*'dır (Ellis ve ark., 2002).

***F.tularensis* subsp. *tularensis* (Jelison tip A)** daha çok Kuzey Amerika'da görülmekte olup kene, sinek gibi vektörlerle ve enfekte hayvanlarla bulaşır. Virülansı oldukça yüksektir, 10 CFU'dan az bakteri bile enfeksiyon gelişimi için yeterlidir (Helvacı ve ark., 2000; Ellis ve ark., 2002; Christova ve ark., 2004). Çoklu lokus VNTR analizi (MLVA) ile *F. tularensis* subsp. *tularensis* A.I ve A.II olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Johansson ve ark., 2004).

F.tularensis* subsp. *holarctica Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'daki enfeksiyonların en sık etkenidir, Türkiye'de de bulunan bir türdür. Tavşan ve insanda *tularensis* alt türüne göre daha az virülandır. Bulaşmada ise su ve su kenarında yaşayan kemiriciler rol oynamaktadır (Helvacı ve ark., 2000; Sağlık Bakanlığı, 2011).

Bu canlılarla direkt temas edilmesiyle, kene, sivrisinek gibi vektörlerle temas, kontamine su ve yiyecekler ile bulaşmaktadır (Şahin ve Gürcan, 2009). *F.tularensis* subsp. *holarctica* MLVA analizi ile B.I, B.II, B.III, B.IV ve B.V olmak üzere beş gruba ayrılmıştır (Johansson ve ark., 2004). Başlangıçta *F. tularensis* subsp. *holarctica* için açıklanan beş grup, MLVA analizleri sonucunda B.12 [B.I], B.4 [B.II], B.6 [B.IV] ve B.16 [B.V] (biyovar *japonica*) olmak üzere dört gruba düşürülmüştür (Svensson ve ark., 2009; Karlsson ve ark., 2013).

F.tularensis subsp. *mediaasiatica* esas olarak Orta Asya'da bulunmaktadır. Virülansı zayıftır, insan ve tavşanlarda yaptığı hastalık daha hafif seyirlidir (Christova ve ark., 2004; Çelebi ve ark., 2006; Sağlık Bakanlığı, 2011). *F. tularensis* subsp. *mediaasiatica* alttürü MLVA analizi ile M.I, M.II ve M.III olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Timofeev ve ark., 2017).

F.tularensis subsp. *novicida* Kuzey Amerika'da bulunmaktadır. Virülansı zayıftır, insanlarda nadir olarak tularemi benzeri hastalığa sebep olur (Christova ve ark., 2004; Sağlık Bakanlığı, 2011).

2.5 Mikrobiyolojik Özellikler

Francisella cinsinde bulunan bakteriler aerobik, pleomorfik, hareketsiz, sporsuz, gram negatif özellikte, fakültatif intrasellüler mikroorganizmalardır. Boyutları yaklaşık 0,2 x 0,7 µm'dir. *F. tularensis* subsp. *novicida* ve *F. philomiragia* daha büyük boyuttadırlar. Gram boyası ile boyanırlar ve çok küçük, soluk kokobasiller şeklinde görülürler. Çok küçük olması ve boyanma özelliklerinden dolayı biyokimyasal testlerde seçilmeleri oldukça güçtür. Bu nedenle hastalığın laboratuvar tanısında gram boyamanın değeri sınırlıdır (Gedikoğlu, 2008; Lindquist ve ark., 2009).

Francisella cinsi bakterilerin katalaz reaksiyonu zayıf pozitif, oksidaz negatiftir (*F. philomiragia* hariç). *F. tularensis*'te üreaz negatif ve hidrojen sülfür (H₂S) ise pozitifdir (WHO, 2007; Lindquist ve ark., 2009).

Bakterilerin hücre duvarlarında yüksek miktarda yağ asidi bulunması *Francisella* türlerini diğer bakterilerden ayırmaktadır ancak alttür ayırımında yetersiz kalmaktadır. *Francisella* alttür ayırımında ise moleküler teknikler ve biyokimyasal testler kullanılmaktadır (Whipp ve ark., 2003; Oyston, 2008).

Klinik örneklerden izole edildiğinde bazı suşlarda lipitten zengin kapsülleri bulunmaktadır. Kapsül tek başına toksik veya immunojen özellikte değildir. Kapsül hücre içi yaşama özelliği sağlayarak bakterinin virülansında rol oynamaktadır (Petersen, 2011; Sağlık Bakanlığı, 2011).

F. tularensis soğuk ve nemli ortamlara dayanıklı bir bakteridir. Suda, çamurda, hayvan leşleri ve atıklarında aylarca, dondurulmuş tavşan etinde yıllarca canlılığını koruyabilmektedir. Fakat güneş ışığı ve yüksek ısıya dayanıksızdır ve klorlanmış sularda yaşayamazlar (Kılıç, 2005; Sağlık Bakanlığı, 2011; Dikici ve ark., 2012).

2.6 Tanı

Tularemi tanısı koyabilmek için öncelikle bu hastalığın akla gelmesi çok önemlidir. Tularemi başlangıç semptom ve bulgularının spesifik olmaması nedeniyle birçok

hastalıkla karışabilmektedir. Ayrıca tanıda gecikmeye neden olan diğer bir faktör ise tularemiye özgü laboratuvar bulgusunun olmamasıdır. Bu nedenle, tulareminin erken dönemde tanısı zordur. Tulareminin laboratuvar tanısı dört başlık altında toplanabilir (Ellis ve ark., 2002; Sağlık Bakanlığı, 2011; Helvacı, 2008).

2.6.1 Kültür

Tularemi enfeksiyonunun laboratuvar tanısında kültür “altın standart” olarak kabul edilmektedir. Kültürde bakterinin izole edilmesi kesin tanı konulmasının yanı sıra antibiyotik duyarlılığının ve moleküler epidemiyolojinin belirlenmesi açısından oldukça önemlidir. Ayrıca, yeni türlerin ve alttürlerin keşfedilmesine de olanak sağlayabilir (Johansson ve ark., 2004; Gürcan, 2007). Ancak *F.tularensis*' in klinik örneklerden kültürle izolasyonu oldukça güçtür ve üreme şansı % 25 gibi çok düşük düzeydedir (Gürcan, 2007). *F.tularensis*' in nazlı üreyen bir bakteri olması ve yüksek bulaş riski sebebiyle tanı için başka testler tercih edilebilir (Ellis ve ark., 2002; Kolaylı, 2009).

Bakteri rutinde kullanılan besiyerlerinde üremez, bu bakterinin üremesi için sülfidril bileşikleri içeren (sistin, sistein, tiyosülfat vb.) zenginleştirilmiş besiyerlerine ihtiyaçları vardır. Zenginleştirmek amacıyla besiyerlerine insan, tavşan, at veya koyun kanı eklenebilir. Bakterinin üretilmesinde klasik olarak sisteinli-glukozlu kanlı agar (Francis besiyeri) kullanılmaktadır. Bunun dışında CHAB (% 9 ısıtılmış koyun kanı içeren cystein heart agar) agar, BCYE (buffered charcoal yeast extract agar), TGBA (thioglycollate- glucose blood agar), % 1 hemoglobin ve % 1 İsoVitaleX eklenmiş GC agar base II ve sisteinle zenginleştirilmiş çukulata agar gibi katı besiyerleri de izolasyon için kullanılmaktadır (Willke, 2006; WHO, 2007; Kolaylı, 2009).

CHAB besiyeri *F.tularensis*' in üretilmesinde en sık kullanılan besiyerlerinden birisidir (Willke, 2006; WHO, 2007; Kolaylı, 2009). Besiyerine penisilin, polimiksin B ve sikloheksimid gibi antibiyotiklerin eklenmesi kontamine materyallerden *F.tularensis*' i üretme şansını arttırabilir (Gedikoğlu, 2008).

F.tularensis' in üretilmesinde sıvı besiyerleri optimum üreme ortamları olarak kullanılmamaktadır, ancak bakterilerin yeniden canlandırılmasında, antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılabilir. Sıvı besiyeri olarak BHI (brain heart infusion), TSB (tripticase soy broth) ve tiyoglukolat besiyeri kullanılabilir (WHO, 2007; Hadimli, 2009).

F.tularensis zorunlu aerob bir bakteridir, 35 °C'de 2-5 günde ürer ve % 5-10 CO₂'li ortam üremesini kolaylaştırır. Besiyerinde 24-48 saatlik inkübasyon sonrası bakteri kolonileri 2-4 mm büyüklüğünde yeşilimsi beyaz, düzgün yüzeyli, yuvarlak,

hafif mukoid şekilde görünürler. Besiyerinde kan varsa koloni çevresinde ince bir alfa hemoliz zonu görülür (Willke, 2006).

F. tularensis'in kültürlerden başarılı bir şekilde izolasyonu; klinik örneklerin uygun bir şekilde alınması ve uygun şartlarda laboratuvara iletilmesi ile yakından ilişkilidir. Taşıma esnasında bakterinin canlılığını koruyabilmek amacıyla sürüntü örnekleri taşıma besiyerine alınmalıdır. Taşıma besiyeri olarak aktif kömürlü Amies, Stuart ve Carry-Blair gibi taşıma vasatları kullanılabilir. Alınan doku biyopsi örnekleri; kurumayı önlemek amacıyla steril serum fizyolojik ile nemlendirilmelidir. Ayrıca, örnek taşıma besiyerine alınabilir (+4 °C) veya dondurulabilir (-80 °C/kuru buz/sıvı azot) (Sağlık Bakanlığı, 2011).

2.6.2 Seroloji

Kültürde bakteriyi üretmek güç olduğundan ve yüksek biyogüvenlik düzeyi gerektirdiğinden tanıda çoğunlukla serolojik testler kullanılmaktadır. *F. tularensis*'e karşı gelişen antikorlar; tüp aglütinasyon (TA), mikroaglütinasyon (MA), hemaglütinasyon ve ELISA yöntemleriyle saptanabilmektedir (Willke, 2006). Özellikle mikroaglütinasyon ucuz olması, kısa zamanda sonuç vermesi, kolay uygulanabilir olması ve güvenilir olmasından dolayı en çok tercih edilen yöntemdir. IgM ve IgG antikorları aynı anda oluşur ve uzun yıllar düşük titrede pozitif kalır. Hastada tüp aglütinasyon yöntemi ile 1:160 ve üzeri, mikroaglütinasyon yöntemi ile 1:128 ve üzerindeki titreler olası tanıyı desteklerken akut ve konvelasan dönemlerde bakılan titrelerdeki 4 kat artış kesin serolojik tanı olarak değerlendirilmektedir (Ellis ve ark., 2002).

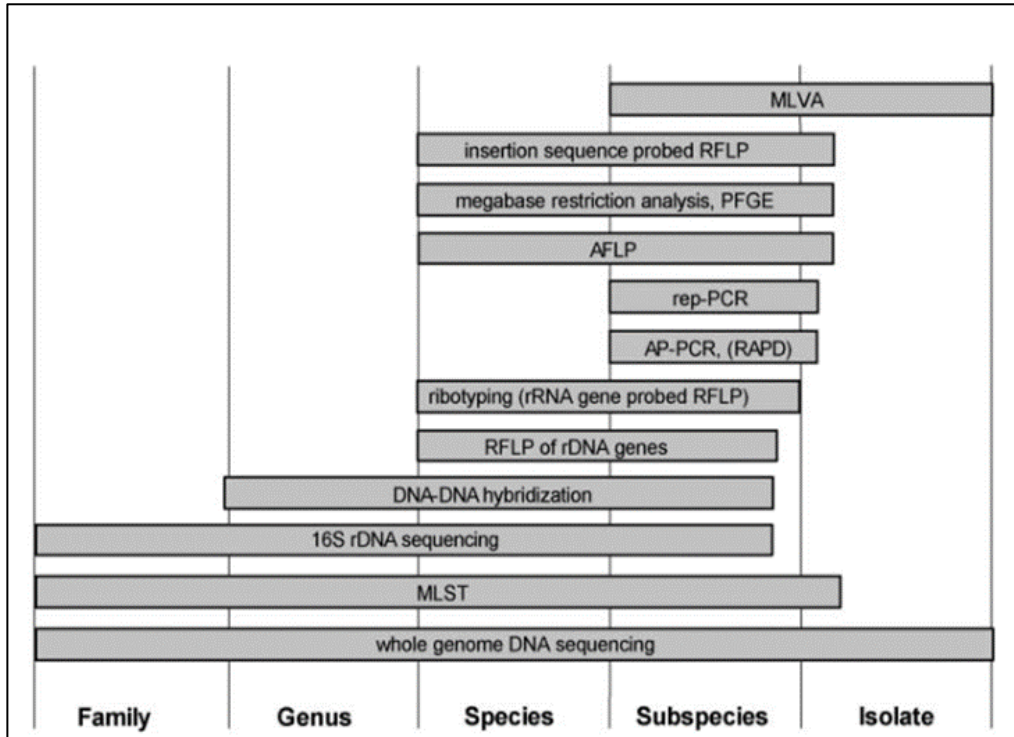
2.6.3 Moleküler Tanı

Kültürde bakterinin zor üretilmesi, virülansının yüksek olması, serolojik testlerin geç sonuç vermesi ve çapraz reaksiyon gösterebilmesi nedeniyle tanıda daha hızlı, duyarlı ve güvenilir tanı yöntemi olan moleküler yöntemler daha sıklıkla kullanılmaktadır. Tularemi tanısında yaygın olarak kullanılan ve en avantajlı olanı ise PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)' dir (Johansson ve ark., 2004; Fujita ve ark., 2008).

F.tularensis alttürlerinin tespit edilmesinde konvansiyonel PCR, Real-Time PCR, Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (RFLP), gen bölgelerinin veya tüm genomun sekanslanması gibi yöntemler kullanılmaktadır. Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA) yöntemi ile salgınlardan izole edilen izolatların genetik ilişkilerinin araştırılması yapılabilmektedir. *F.tularensis*' in

moleküler tiplendirmesinde kullanılan yöntemler ve bu yöntemlerin ayırım güçleri Resim 1’de görülmektedir. (Johansson ve ark., 2004; Ramazanzadeh ve McNerney, 2007; Fujita ve ark., 2008).

Bakteriyal genomlar protein kodlayan ve protein kodlamayan DNA sekansları içerisinde pek çok tekrar dizileri içermektedir. Bu tekrar dizileri doğrudan birbirlerine bitişik oldukları zaman aynı lokustaki sayıları izolatlar arasında değişmekte ve bu sıralı genomik bölgeler variable-number tandem repeat (VNTR) lokusu olarak adlandırılmaktadır. Aynı lokusta bulunan tekrar dizileri birbirlerine benzer veya hafife farklı olabilmektedir. Çoklu lokus VNTR analizi (MLVA) bir bakteriyel genom içerisinde bulunan farklı lokuslardaki rastgele tekrar sekanslarının sayısını belirleyen bir metottur. Basit, ucuz, hızlı, kolay ve çok fazla laboratuvar ekipmanına gereksinim duyulmaması MLVA yönteminin avantajları arasındadır. MLVA deneyinde seçilen VNTR lokuslarına yönelik primerler kullanılarak PCR reaksiyonu yapılmakta ve oluşan ürünler jel elektroforezinde yürütülmektedir. Oluşan ampliconların büyüklükleri ve sekans dizileri belirlenerek buradaki aranan tekrar dizilerinin sayısı tespit edilebilmektedir. Bir VNTR lokusundaki boyut farklılığı her zaman rastgele tekrar dizilerinin gerçek sayısını yansıtmayabilmektedir. Çoğaltılan bölgede meydana gelen insersiyon, delesyon ve duplikasyonlar aynı boyutta ürünler ortaya çıkarabilmektedir (Sabat ve ark., 2013).



Resim 1: *F.tularensis*'in tiplendirilmesinde kullanılan yöntemler

2.6.4 İmmunohistokimyasal Çalışmalar

Direkt Floresan antikor testi, Antijen saptama testleri ve İmmunohistokimyasal boyalarla yapılan çalışmalar ile tularemi tanısı konulabilmektedir. Ancak kullanım alanları sınırlıdır ve sadece bazı referans merkezlerde uygulanabilmektedir. Direkt Floresan Antikor testi özgün ve hızlı bir testtir. Şüpheli tularemi olgularının tanısında ön tanı kriteri olarak kullanılır. Bu testin duyarlılığı 10^6 CFU/ml'dir (Karadenizli, 2009).

2.7 Bulaş Yolları

F.tularensis' in doğadaki yayılımı, karasal döngü ve su döngüsü olmak üzere iki bölümde incelenebilir (Geyik, 2009; Kılıç, 2010; Sağlık Bakanlığı, 2011). Karasal döngüde başlıca vektörleri yabani tavşan, küçük kemirgenler ve artropodlar oluşturmaktadır (Telford, 2011; Sağlık Bakanlığı, 2011). Tularemi genellikle bu hayvanlarda ölümcül olabilir (Telford, 2011). Bununla birlikte, bazı kemirgenler hastalığın açık belirtileri olmadan canlı kalabilmektedir. Bakteriler ayrıca, kene, sinek ve sivrisinek gibi kan emen eklembacaklılar tarafından asemptomatik kemirgenlerden diğer kemirgenlere de aktarılabilir veya çevrede kalabilirler. Keneler, bu bakterilerin doğada kalıcılığını sağladıkları için enfeksiyonun devam etmesinde çok önemlidir. Keneler, konakçının dolaşım sistemini dışkı veya ısırıklarıyla enfekte eder (Ellis ve ark., 2002; Geyik, 2009; Şahin, 2009; Wobeser ve ark., 2009; Kılıç, 2010).

Bakteriler, keneler ve kan emici sinekler (mekanik vektörler) ile vahşi hayvanlara veya evcil hayvanlara (koyun, sığır, keçi, at, domuz, köpek ve kedi) bulaşır. Bazı kene türleri sadece vektör olarak değil, bakteriyi vücudunda ömür boyu (1-2 yıl) taşıyarak aynı zamanda rezervuar olarak da rol oynamaktadırlar. İnsanlarda kene kaynaklı tularemi enfeksiyonu genellikle kenelerin daha aktif olduğu yaz aylarında ortaya çıkar. *F. tularensis* böceklerde iki haftaya kadar yaşayabilir. *F. tularensis*'in su döngüsündeki ana rezervuarlar ise kunduz, misk sıçanı ve diğer sıçan türleridir (Ellis ve ark., 2002; Geyik, 2009; Şahin, 2009; Wobeser ve ark., 2009; Kılıç, 2010).

F. tularensis dış çevre koşullarına oldukça dayanıklıdır. Özellikle suda yaşayan amipler (*Acanthamoeba castellanii*) içinde yaşamını sürdürebilmesi su kaynaklı epidemiler ve hastalığın bölgesel devamlılığı açısından önemlidir (Sağlık Bakanlığı, 2011). *F. tularensis* oldukça dayanıklı bir bakteridir, soğuk ve nemli ortamlarda haftalarca canlı kalabilmektedir. Fakat güneş ışığı ve yüksek ısıya dayanıksızdır ve klorlanmış sularda yaşayamaz (Dikici ve ark., 2012).

Hastalığın ülkelere ya da bölgelere göre farklı bulaş yolları vardır. Tularemi en çok Kuzey Amerika'da; kene, sivrisinek, tavşan ve hayvan leşleri ile, İskandinav ve

Baltık ülkelerinde sivrisinek, Avrupa ve Asya ülkelerinde tavşan, fare, sıçan ve kontamine su, Japonya'da tavşan avı ve sincaplar, İsveç'te tarla faresi ve su, Türkiye'de ise bulaş kontamine kaynak suları ile olmaktadır (Kılıç ve Yeşilyurt, 2011; Dikici ve ark., 2012).

İnsan ve evcil hayvanlar, *F. tularensis*'in rastlantısal konağıdır. İnsanlara hastalık farklı yollarla bulaşabilmektedir:

Deri ve mukozal yol: Hastalık insanlara enfekte kene veya sinek gibi vektörlerin ısırmasıyla ya da kontamine hayvan ürünleri ile temas sonrasında bulaşmaktadır. Kuzey Amerika'da genellikle kene ısırması ile Kuzey Avrupa ve Kuzey Asya'da ise sivrisinekler ile bulaşır. Enfeksiyon gelişimi için 10-50 bakteri yeterlidir (Ellis ve ark., 2002; Şahin, 2009; Çelebi, 2010; Sağlık Bakanlığı, 2011).

Oral yol: Enfekte hayvan dokusu ile kontamine olmuş suyun veya besinlerin tüketilmesiyle bulaşmaktadır. ABD ve Kuzey Avrupa'da nadiren görülmekte iken, ülkemizdeki ana bulaş yoludur. Enfeksiyon gelişimi için (ED) $\geq 10^8$ bakteri gereklidir (Ellis ve ark., 2002; Şahin, 2009; Çelebi, 2010; Sağlık Bakanlığı, 2011).

Solunum yolu: Kontamine olmuş toz veya aerosollerin solunması ile bulaşmaktadır. Solunum yolu ile bulaşta enfeksiyon gelişimi için 10-50 bakteri yeterlidir. Solunum yolu ile bulaş açısından laboratuvar çalışanları da risk grubunda yer almaktadır (Ellis ve ark., 2002; Şahin, 2009; Çelebi, 2010; Sağlık Bakanlığı, 2011).

Tularemi insandan insana bulaşmamaktadır dolayısıyla hasta ile aynı ortamda bulunulması veya hastaya temas edilmesi hastalığın gelişimi açısından risk taşımaz. Bulaş yolları açısından risk taşıyan meslek grupları ise laboratuvar çalışanları, avcılar, tarımla uğraşanlar, orman işçileri, çobanlar ve veteriner hekimlerdir (Ellis ve ark., 2002; Şahin, 2009; Çelebi, 2010; Sağlık Bakanlığı, 2011).

F. tularensis laboratuvar bulaşı yönünden çok dikkatli olunması gereken bir bakteridir. Canlı bakteri ile çalışılıyorsa biyogüvenlik düzeyi III (Biosafety level III), şüpheli örneklerle çalışılıyorsa biyogüvenlik düzeyi II şartlarında çalışılmalıdır (Penn, 2005; Willke, 2006).

2.8 Klinik

Tularemide klinik belirtiler bakterinin virulansına, vücuda giriş yoluna, kişinin immunolojik durumuna, sistemik yayılım olup olmadığına göre değişmektedir (Helvacı ve ark., 2000; Gürcan ve ark., 2006). Asemptomatik seyreden klinik tablolardan akut sepsis hatta ölüme kadar gidebilen farklı klinik tablolara yol açabilmektedir (Willke, 2006; Helvacı, 2008).

Tulareminin inkübasyon süresi 1-21 gün arasında değişmekle birlikte ortalama 3-5 gündür (Tarnvik ve Berglund, 2003; Gürcan, 2007). Hastalık genellikle ani yükselen ateş, titreme, baş ağrısı, yorgunluk, iştahsızlık ile başlar. Diğer klinik semptomlar ise boğaz ağrısı, öksürük, göğüste rahatsızlık hissi ile kendini gösterir. Ayrıca karın ağrısı, bulantı- kusma ve diyare de görülebilmektedir (Tarnvik ve Berglund, 2003; Çelebi ve ark., 2006; Sjostedt, 2007).

Tularemi başlıca 6 klinik formda sınıflandırılır (Ellis ve ark., 2002; Penn, 2005; Sağlık Bakanlığı, 2011). Bunlar:

1. Ülseroglandüler tularemi
2. Glandüler tularemi
3. Oküloglandüler tularemi
4. Orofarengeal tularemi
5. Sistemik (tifoidal) tularemi
6. Pnömonik tularemi

2.8.1 Ülseroglandüler Tularemi

Dünyada en sık karşılaşılan klinik formdur (Çelebi ve ark., 2006; Meriç ve ark., 2008). Genellikle artropodların, enfekte hayvanların ısırması veya enfekte hayvana direkt temas sonucu bulaşır. Bakteri cilde inoküle olduktan sonra ateşle beraber ciltte kırmızı, ağrılı bir papül oluşur. Papül, birkaç gün içinde önce püstüle daha sonra ülser dönüşür ve ülser gelişimini takiben bölgesel lenfadenopati gelişir (WHO, 2007; Bıçakçı ve Parlak, 2008; Sağlık Bakanlığı, 2011).

2.8.2 Glandüler Tularemi

Glandüler formda herhangi bir cilt ya da mukoza lezyonu olmaksızın hassas lenfadenopati ve ateş görülür (Çelebi ve ark., 2006). Ülseroglandüler ve glandüler form Kuzey Amerika, İskandinav ülkeleri ve Kuzey Avrasya'da en sık bildirilen klinik form iken, ülkemizde nadiren bildirilmektedir (Sağlık Bakanlığı, 2011).

2.8.3 Oküloglandüler Tularemi

Oküloglandüler formda etken, enfekte hayvanın vücut sıvılarının konjunktivaya sıçraması, kontamine su ile temas sonrası kontamine ellerle bakterinin göze bulaştırılması veya aerosol yolu ile bulaşır. Genellikle tek taraflı, ağrılı konjonktivit ile hassas lenfadenopati gözlenir. En belirgin semptomlar fotofobi ve gözlerde sulanmadır (Çelebi ve ark., 2006).

2.8.4 Orofarengeal Tularemi

Ülkemizde en sık karşılaşılan klinik formdur. Bu klinik tabloda bakteri kontamine su, gıdaların alınması veya inhalasyonla bulaşır (Gürcan, 2007; Helvacı, 2008). Sistemik olarak görülen ateş, boğaz ağrısı, oral ve farengeal müköz membranlarda kızarıklık ve püstüler değişiklikler oluşur. Ayrıca tonsillerde büyüme hiperemi veya difteridekine benzer sarı-beyaz renkli psödomembranlarla kaplı, eksüdatif tonsillo-faranjit gözlenebilir. Genellikle tek taraflı veya bilateral ağrılı bölgesel lenfadenopati eşlik eder. En sık görülen komplikasyon lenf nodu süpürasyonudur (Sağlık Bakanlığı, 2011).

2.8.5 Sistemik (Tifoidal) Tularemi

Tulareminin diğer klinik formlarından farklı olarak lenfadenopati, cilt yada mukozal lezyonlar görülmez (Bıçakçı ve Parlak, 2008). Bu formda yüksek ateş, şiddetli baş ağrısı, halsizlik, kusma, karın ağrısı, diyare ve miyalji (yaygın kas ağrıları) görülür. Bunların yanında zatürre, menenjit, hepatit, kardit ve nefropati gelişimi görülebilir. Tulareminin en ağır formudur (Bıçakçı ve Parlak, 2008; Sağlık Bakanlığı, 2011).

2.8.6 Pnömonik Tularemi

Pnömonik tularemi bakteriyel enfeksiyöz aerosollerin solunması sonucunda veya tifoidal ve ülseroglandüler tularemi formlarının seyri sırasında hematojen yayılım ile bulaşır (Sağlık Bakanlığı, 2011). Hastada genellikle ateş, hafif balgamın eşlik ettiği öksürük ve göğüs ağrısı vardır. Bu semptomların yanında akciğer filmlerinde hiler lenf adenopati, infiltrasyonlar, plevral effüzyon (akciğerde sıvı toplanması), akciğer konsolidasyon saptanabilir (Penn, 2005).

2.8.7 Tularemi’de Cilt Döküntüleri

Tularemi seyrinde vakaların % 35’inde sekonder deri döküntüleri gözlenebilir. Genellikle klinik semptomların görülmesinden 2 hafta sonra ortaya çıkar. Döküntüler vezikülopapüler, makülopapüler, akneiform lezyon, eritema multiforme ve eritema nodozum şeklindedir. Bahsedilen döküntüler tüm tularemi formlarında gözükse de eritema nodozum en fazla pnömonik tularemi ile birlikte görülür (Penn, 2005; Sağlık Bakanlığı, 2011).

2.9 Tedavi ve Antibiyotiklere Direnç

F. tularensis olgularının uzun süren iyileşme süresini kısaltmak, komplikasyonları ve relapsları önlemek ve mortaliteyi azaltmak amacıyla antimikrobiyal tedavi uygulanmalıdır (Tarnvik ve Chu, 2007; Hepburn ve Simpson, 2008). Ancak antibiyotik

tedavisinin erken dönemde yararı vardır. Tedavisi geç başlanan olgularda tedaviye rağmen lenf bezlerinde süpürasyon görülebilmektedir (Kılıç ve Yeşilyurt, 2011).

Tularemi tedavisinde aminoglikozidler (streptomisin veya gentamisin), tetrasiklinler (tetrasiklin veya doksisisiklin), kinolonlar ve kloramfenikol kullanılmaktadır (Penn, 2005; WHO, 2007). Ancak tedavide beta laktamlar, linkozamidler, makrolidler ve kotrimoksazoller önerilmemektedir (Gürcan, 2007; Sağlık Bakanlığı, 2011).

Tedavide streptomisin ilk seçenektir, buna alternatif olarak gentamisin de daha yaygın kullanılması ve daha kolay ulaşılabilir olması nedeniyle tercih edilebilir. Aminoglikozidlerin tedavi süresi 7-14 gündür. Bu aminoglikozidlere alternatif ajanlar olarak tetrasiklinler, kinolonlar ve kloramfenikol kullanılabilir. Kinolonlar, tularemi tedavisinde intrasellüler etkinlikleri ile dikkat çekmeye başlamıştır ve tedavi süresi 10-14 gündür. Tetrasiklin ve kloramfenikol de tedavisi sonrası relaps riski yüksek olduğundan, tedavi süresi en az 14-21 gün olmalıdır. Ağır seyirli olgularda kinolon + aminoglikozid kombinasyonu önerilmektedir (Ellis ve ark., 2002; Bossi ve ark., 2004).

Aminoglikozidler; Tularemi tedavisinde bakterisidal etkinliği nedeniyle en çok tercih edilen ilaçlardır. (Ellis ve ark., 2002; Sağlık Bakanlığı, 2011). Bakterisidal özelliği nedeniyle tedavi başarısızlığı ve relaps nadiren görülmektedir. Ancak, aminoglikozidlerin ototoksik ve nefrotoksik etki potansiyellerinin bulunması ile sadece parenteral yolla kullanılabilmesi uygulamadaki en önemli kısıtlayıcı faktörlerdir (Kılıç ve Yeşilyurt, 2011).

Streptomisin; Geliştirildiği yıllardan itibaren tularemi tedavisinde kullanılan bir antibiyotiktir (Foshay ve Pasternack, 1946). Tularemi tedavisinde streptomisinin kullanılmasıyla birlikte olgu fatalite hızı % 3'lere kadar düşmüştür (Evans ve ark., 1985; Enderlin ve ark., 1994). Streptomisin'in tularemi tedavisindeki etkinliğine rağmen, potansiyel vestibuler toksisitesi, hipersensitivite reaksiyonu ve bazı ülkelerde kullanımda olmamasından dolayı tedavide gentamisin tercih edilmektedir. Diğer yandan streptomisin'in beyin-omurilik sıvısına geçişi diğer aminoglikozidlerden daha etkili olduğundan tularemi menenjitinde tercih edilecek bir aminoglikoziddir (Ellis ve ark., 2002; WHO, 2007; Tarnvik ve Chu, 2007; Hepburn ve Simpson, 2008).

Gentamisin; Fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda streptomisin gentamisinden daha etkili olarak bulunmuştur (Mason ve ark., 1980). Fakat, insanlarda uygulanan gentamisin tedavisinden elde edilen veriler streptomisin kadar etkili olduğunu göstermektedir (Enderlin ve ark., 1994; Mason ve ark., 1980; Cross ve ark., 1995). Ağır tularemi olgularının parenteral tedavisi için gentamisin tercih edilmesi

gereken bir aminoglikozidtir (Tarnvik ve Berglund, 2003; Penn, 2005; WHO, 2007). Tularemi tedavisinde gentamisin kullanımına bağlı olarak ; olgularda % 86 oranında iyileşme gözlenirken, tedavi başarısızlığı % 8 ve relaps oranı % 6 olarak rapor edilmiştir (Enderlin ve ark., 1994).

Tetrasiklinler; Tularemi tedavisinde 1960'lı yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Tetrasiklinlerin en önemli avantajları, aminoglikozidlere göre daha az yan etkilerinin olması ve oral yolla kullanılabilmesidir. Fakat bakteriyostatik olması nedeniyle relaps riski daha yüksektir (Syrjala ve ark., 1984; Enderlin ve ark., 1994; Tarnvik ve Berglund, 2003; WHO, 2007; Hepburn ve Simpson, 2008).

Doksisiklin: Yüksek biyoyararlanım (BY) ve lipofilik özelliklerinden dolayı tularemi tedavisinde tercih edilmektedir (Welling ve ark., 1977).

Kinolonlar: Yüksek biyoyararlanımları, oral yolla kullanılabilmeleri, hücre içine penetrasyonlarının iyi olması, dokularda yeterli konsantrasyonlara ulaşabilmeleri, bakterisidal olmaları, ilaç düzeylerinin izlenmesinin gerekmemesi, aminoglikozidlerden daha az toksik etkiye sahip olmaları ve in vitro etkinlikleri gibi avantajlarından dolayı tularemi tedavisinde ilk seçenek olarak önerilmektedir (Russell ve ark., 1998; Meriç ve ark., 2008).

Siprofloksasin: Tularemi tedavisinde özellikle çocuklardaki alt tür holarcetica infeksiyonlarının tedavisinde siprofloksasin tercih edilmektedir (Johansson ve ark., 2000). Fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmalar sonucunda, tularemi tedavisinde gatifloksasin ve moksifloksasin gibi kinolonların da etkili olduğunu göstermektedir (Russell ve ark., 1998).

Kloramfenikol: Tularemi tedavisinde 1950-1960 yılları arasında kloramfenikol kullanılmıştır. Günümüzde ise relaps oranının yüksek olması ve nadir olarak görülen şiddetli hematolojik yan etkileri nedeniyle kloramfenikol kullanılmamaktadır (Penn, 2005; Tarnvik ve Chu, 2007; WHO, 2007; Hepburn ve Simpson, 2008). Kloramfenikolün en önemli avantajı ise BOS'a geçişinin iyi olmasıdır, bu nedenle sadece tularemi menenjitinde aminoglikozidlerle (streptomisin) birlikte kullanılması önerilmektedir (Enderlin ve ark., 1994; Hofinger ve ark., 2009).

2.9.1 F. tularensis'in Antibiyotik Direnci

F. tularensis penisilin ve sefalosporinlere dirençlidir. *F. tularensis* suşlarında aminoglikozidler, tetrasiklin, kinolonlara ve kloramfenikollara karşı doğal direnç bildirilmemiştir. Ancak, Kuzey Avrupa'da özellikle İskandinavya'da ve Rusya'nın endemik bölgelerinde eritromisine karşı doğal direnç yaygındır (Kudelina ve Olsufiev,

1980; Ikaheimo ve ark., 2000; Johansson ve ark., 2002; Garcia ve ark., 2004). Ülkemizdeki çalışmalarda ise, tüm izolatlar azitromisin, eritromisin, klindamisin, trimetoprim-sülfametoksazol ve imipeneme dirençli olarak bulunmuştur (Gürçan ve ark., 2008).

Eritromisin direnci epidemiyolojik bir gösterge olarak kullanılabilir. Deneysel amaçlarla, streptomisin ve tetrasiklin dirençli suşlar geliştirilmiş olup, büyük olasılıkla kinolon direnci de kolaylıkla sağlanabilir. Klinik uygulamada *F. tularensis*' in insan florasının bir üyesi olmaması ve insandan insana bulaşmaması nedeniyle direnç gelişim riski çok düşüktür (WHO, 2007; Tarnvik ve Chu, 2007; Hepburn ve Simpson, 2008).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Örnekler

Tez çalışmamızda 2011-2012 yıllarında Dr.Öğr.Üyesi.Mehmet Ataş'ın doktora tezi çalışmaları sırasında su örneklerinden kültür yöntemi ile izole ettiği yedi adet *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* izolatu ve 2013 yılında Şarkışla Belkent çeşmesinden izole ettiği bir izolat olmak üzere toplam sekiz izolat kullanıldı. Tul4 ve RD1 gen bölgesine yönelik PCR çalışması sonucunda izolatların *F.tularensis* subsp. *holarctica* olduğu tespit edilmiştir (Ataş, 2012). Adı geçen izolatlar Gemerek Çiçekoğlu köyü, Gürün Bahçeici köyü, Gürün Karaören köyü, Şarkışla Merkez Hüyük köyü, Şarkışla Maksutlu köyü, Şarkışla Döllük köyü, Şarkışla Merkez Belkent 2012 ve Şarkışla Belkent 2013 bölgelerinde içme suyu örneklerinden izole edilmiştir.

3.2 Çalışmada Kullanılan Alet, Ekipman ve Malzemeler

1. Biyogüvenlik kabini Sınıf II (Esco Airstream® Class II)
2. Brain Heart Infusion Agar (PLASMATEC)
3. L-Cysteine Hydrochloride Monohydrate (MERCK 1028390025)
4. D - Glukoz (TEKKİM TK. 090271.01002)
5. DNA Ladder (50 bp) (GeneDireX DM012-R500) (HibriGen M1051/M1052)
6. Analitik Terazı (Radwag AS 220 R2)
7. Jel Görüntüleme Sistemi (Vilbert Lourmat Photodocumentation and Imaging Systems)
8. Mikrodalga Fırın (Arçelik MD 893 FI)
9. Thermo Scientific™ DNA kit (GeneJET Genomic DNA Purification Kit K0721)
10. AmpONE Taq DNA polymerase (250 U, 2.5 unit/µl) (GeneAll®)
11. AmpONE 10X Taq Reaction buffer (800 ul) (GeneAll®)
12. McFarland Densitometer (BİOSAN DEN-1)
13. Thermal Cycler (LongGene İntroduces A300 Fast Thermal Cycler)
14. Agaroz (Biomax 104514PR)

3.3 Kullanılan Besiyeri ve Kimyasallar

Glucose Cystein Blood Agar (GCBA) Besiyerinin Hazırlanması

Brain Heart İnfusion Agar.....	49.0 g
D-glukoz (%1'lik).....	10.0 g
L-Cysteine Hydrochloride Monohydrate (%0.1'lik).....	1.0 g
İnsan kanı (%9'luk).....	90 ml
Distile su.....	910 ml

Bir litre kapasiteli önceden steril edilmiş cam şişe içine 910 ml distile su, 49.0 gr brain heart infusion agar 1 g L-Cysteine 10 gr D-glukoz eklendi. Hazırlanan karışım manyetik karıştırıcıda karıştırılarak içindeki maddelerin iyice çözünmesi sağlandı. Daha sonra steril edilmek üzere 121 °C’de 15 dk otoklavlandı. Otoklavdan çıkarılan besiyerinin 55 °C’ye kadar soğuması beklendi ve üzerine % 9 olacak şekilde taze insan kanı eklendi. Manyetik karıştırıcı yardımı ile eklenen bileşenlerin iyice karışması sağlandı ve hazırlanan besiyeri 90 mm çaplı steril plastik petrilere 20 ml olacak şekilde dağıtıldı. Agar plakları bir gece oda ısısında bekletilerek yüzeylerinin kuruması sağlandı ve kullanılıncaya kadar buzdolabında +4 °C’de bekletildi.

Etidyum Bromür Çözeltisi (5 mg/ml)

Etidyum Bromürden 50 mg tartılarak 10 ml distile su içerisinde manyetik çalkalayıcı yardımıyla 1 saat boyunca çözünmesi sağlandı. Hazırlanan çözelti koyu renkli şişe içerisine aktarıldı.

3.4 Pasaj İşlemleri

Çalışmada kullanılan izolatlar ilk üretildikleri zaman % 16 gliserollü buyyon içerisine alınarak -20 °C’ de saklanmışlardır. Yılda bir tekrar canlandırılarak aynı işlem tekrarlanmış ve izolatların canlılığı günümüze kadar devam ettirilmiştir. -20 °C’ de saklanan izolatlar biyogüvenlik kabini içerisinde taze hazırlanmış GCBA besiyerlerine pasajlandı. Pasajlanan örnekler % 5-10 CO₂’li ortamda 48 saat inkübe edildi.

3.5 Antibiyotik Duyarlılık Testi

3.5.1 Disk Difüzyon Testi (Kirby-Bauer)

Çalışmamızda kullanılan *F.tularensis* subsp. *holarctica* izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılığı Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standartlarına göre yapıldı (CLSI, 2010).

GCBA besiyerinde üremiş olan kolonilerden steril öze yardımı ile bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 Mc Farland ($1-1.5 \times 10^8$ CFU/ml) standart bulanıklıkta olacak şekilde süspansiyon edildi. Bu süspansiyondan steril eküvyon ile Glukoz Sistein Blood Agar (GCBA) besiyerinin tüm yüzeyine ekim yapıldı. Besiyerleri oda sıcaklığında yüzeylerinin kuruması amacıyla yarım saat bekletildi. Ticari olarak satılan doxycycline (30 µg), chloramphenicol (30 µg), streptomycin (10 µg), gentamicin (10 µg), tetracycline (30 µg), ciprofloxacin (5 µg), levofloxacin (5 µg), rifampin (5 µg), erythromycin (15 µg), tobramycin (10 µg), amikacin (30 µg), aztreonam (30 µg) diskleri plaklara yerleştirildi.

Petri plakları 35-37 °C'de % 5-10 CO₂'li ortamda 48 saat inkübe edildikten sonra inhibisyon zon çapları ölçüldü.

3.6 DNA İzolasyonu

GCBA besiyerinde üreyen *F.tularensis* bakterilerinden PCR çalışmasında kullanılmak üzere DNA izolasyonu yapıldı. DNA izolasyonu Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit (K0721) protokolündeki basamaklara göre yapıldı. İzole edilen DNA'lar PCR çalışması yapılincaya kadar -20 °C'de saklandı.

DNA İzolasyon Protokolü

1. Besiyerinde üreyen bakterilerden 2×10^9 bakteri olacak şekilde alınarak 1,5 ml hacmindeki ependorf tüpleri içerisine aktarıldı. 5000 x g'de 10 dakika santrifüjlenerek bakterilerin tüpün dibinde toplanması sağlandı.

2. İçerisinde bakteri bulunan 1.5 ml ependorf tüpleri içerisine 180 µL Digestion Solution eklendi. Aynı tüplere 20 µL Proteinaz K eklendi ve vorteksleyerek homojen bir karışım haline getirildi.

3. Örnekler 56 °C'ye ayarlanmış termal blokta yaklaşık 30 dakika inkübe edildi ve ara sıra vortekslendi.

4. Tüpler üzerine 20 µL RNase A solüsyonu eklendi. Vorteks ile karıştırıldı ve 10 dakika oda ısısında inkübe edildi.

5. Tüpler üzerine 200 µL Lizis Solüsyonu eklendi ve homojen bir karışım elde edilene kadar 15 saniye vorteksleyerek iyice karıştırıldı.

6. Tüpler üzerine 400 µL % 50 etil alkol eklendi ve vorteksleyerek karıştırıldı.

7. Ependorf tüpleri içerisinde sindirilmiş halde bulunan örnekler, toplama tüpleri içerisinde bulunan kolonlara aktarıldı. Kolonlar 1 dakika 6000 x g'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası kolonlarda bulunan sıvı altta bulunan toplama tüplerine geçti. Sıvı içeren tüpler atıldı ve kolonlar 2 ml' lik yeni toplama tüplerine yerleştirildi.

8. Kolonlar üzerine 500 µL Wash Buffer I eklendi. 1 dakika 8000 x g' de santrifüj edildi. Kolonların içerisinde bulunduğu 2 ml' lik toplama tüplerinde bulunan sıvılar döküldü ve kolonlar tekrar aynı toplama tüpleri içerisine yerleştirildi.

9. Kolonlar üzerine 500 µL Wash Buffer II eklendi. 3 dakika maksimum hızda (≥ 12000 x g) santrifüj edildi. Daha sonra toplama tüpleri atıldı ve kolonlar steril 1.5 ml ependorf tüplerin içerisine yerleştirildi

10. Kolonların içerisinde bulunan DNA' yı yıkamak için kolonların içerisine Elution Buffer eklendi. Oda ısısında 2 dakika inkübe edildi ve 1 dakika 8000 x g' de santrifüj edildi.

11. Saflaştırma kolonları atıldı ve DNA örnekleri PCR çalışması yapılincaya kadar -20'de saklandı.

3.7 PCR Çalışması

Çalışmamızda *F.tularensis*'in Ft-M3, Ft-M6, Ft-M20, Ft-M21, Ft-M22 ve Ft-M24 VNTR lokusları PCR ile çoğaltıldı. Bu genetic lokusların çoğaltılmasında kullanılan primerler Tablo 1'de görülmektedir (Johansson ve ark., 2004).

Lokus	Primer Baz Dizisi (5' 3')
Ft-M3	F: GTTTTCACGCTTGTCTCCTATCA R: CAAAAGCAACAGCAAAATTCACAAA
Ft-M6	F: TTTTGGGTTTTCTCTAAACATTTCTA R: CAATTCAGCGAAACCCTATCTTA
Ft-M20	F: GCATAACTTTTGAGACAATTGGTGCAGATGATC R: GACCGCCAGTATATGCTTGACCTTGACTCC
Ft-M21	F: CCACAGCTAGCCAGACCAAAT R: AGTTTGGCGCGAGCTAAT
Ft-M22	F:GTCAAAATCTCAAGATGAGCAAATATTTGAATGGT R: GGAGTTTTTTCTCGTCCGCTGTTAGTGATT
Ft-M24	F: ATACGGTCCTAATAATATTCCTGTCA R: ATTCATTTATAGATGCCTTTGTTACC

Tablo 1: Çalışmada kullanılan primerler

Çalışılacak örnek miktarına göre ana karışım hazırlandı (Tablo 2) ve PCR tüplerine 45 µl olacak şekilde dağıtıldı. Her tüp üzerine örnek DNA'sından 5 µl eklenerek tüpler kapatıldı. Reaksiyon karışımlarımızın kontrolü ve karışım hazırlanması sırasındaki kontaminasyonları tespit etmek amacıyla pozitif ve negatif kontroller kullanıldı. Pozitif kontrol olarak *F. tularensis* subsp. *holarctica* (NCTC 10857) LVS suşu kullanıldı. Negatif kontrol olarak reaksiyon karışımı hazırlamada kullanılan distile su kullanıldı.

Önceden programlanan ısı döngü (Thermal cycler) cihazına hazırlanan tüpler yerleştirildi. Termal döngü koşulları Tablo 3'de görülmektedir. Toplam 35 döngü gerçekleştirildi. En son aşama olarak 72 °C'de 5 dk bekletilerek final uzaması gerçekleştirildi ve reaksiyon tamamlandı. Reaksiyon tüpleri değerlendirme aşamasına kadar +4 °C'de bekletildi. Amplifikasyon ürünleri agaroz jelde yürütüldükten sonra değerlendirildi. Negatif sonuç alınan örnekler için aynı amplifikasyon işlemi tekrarlandı.

	Hacim	Son Konsantrasyon	Stok Konsantrasyon
Taq reaction buffer	5 µl	1X	10X
dNTP mix	4 µl	0.2 mM	2.5 mM
F Primer	1 µl	0.2 pmol	10 mM
R Primer	1 µl	0.2 pmol	10 mM
Taq DNA polimeraz	0.5 µl	1.25 U	2.5 U
Kalıp DNA	5 µl		
dH2O	33.5 µl		
Toplam Hacim	50 µl		

Tablo 2: Çalışmada kullanılan ana karışım

Lokus	Denatürasyon	Annealing	Elongation
Ft-M3	95 °C’de 20 sn	56 °C’de 1 dk	72 °C’de 30 sn
Ft-M6	95 °C’de 30 sn	56 °C’de 1 dk	72 °C’de 30 sn
Ft-M20	95 °C’de 30 sn	64 °C’de 1 dk	72 °C’de 30 sn
Ft-M21	95 °C’de 20 sn	60 °C’de 1 dk	72 °C’de 30 sn
Ft-M22	95 °C’de 30 sn	58 °C’de 1 dk	72 °C’de 30 sn
Ft-M24	95 °C’de 30 sn	60 °C’de 1 dk	72 °C’de 30 sn

Tablo 3: DNA Amplifikasyonu

3.8 Agaroz Jel Elektroforezi

Amplifikasyon ürünlerinin değerlendirilmesi amacıyla % 2’lik agaroz jel kullanıldı. Agaroz jelin hazırlanmasında ve elektroforez işlemi sırasında TBE (Tris-Borik asit-EDTA) tamponu kullanıldı. 2 g agaroz hassas terazide tartıldı ve üzerine 100 ml 1X TBE tamponu eklendi. Mikrodalga fırında agarozun erimesi sağlandı ve 60 °C’ye kadar soğuması beklendi. Çeker ocakta 100 ml agaroz üzerine 5 mg/ml stok Etidyum Bromür çözeltisinden 10 µl eklendi. Agaroz jel, taraklar yerleştirilerek jel dökümü için hazır hale getirilen yatay jel tablasına dikkatlice boşaltıldı. 30 dakika boyunca jelin katılaşması beklendi ve taraklar jele zarar vermeden çıkarıldı.

Agaroz jel, içerisinde TBE tamponu bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. Örnekler jele yüklendi ve 110 voltta 120 dakika elektroforez işlemine tabii tutuldu. Elektroforez işleminin bitmesinden sonra jel, bilgisayarlı jel görüntüleme sistemi ile görüntülendi.

3.9 Sekans Analizi

Ft-M3, Ft-M6, Ft-M20, Ft-M21, Ft-M22, Ft-M24 lokuslarına yönelik yapılan PCR sonucunda elde edilen amplifikasyon ürünlerine ticari bir firma (MG Biyoinformatik, Türkiye) aracılığıyla sekans analizi yaptırıldı. Dizileme işlemleri ileri ve geri yönlü primerler kullanılarak çift yönlü olarak gerçekleştirildi ve Applied Biosystems™ 3730xl DNA Analyzer cihazı kullanıldı. Analiz işlemleri sonucu elde edilen ileri ve geri yönlü diziler Geneious R9 programı kullanılarak birleştirilmiştir. Fasta dosyaları kullanılarak diğer analizler gerçekleştirilmiştir. Her bir bölge için 8 örnek ayrı ayrı Mafft programı kullanılarak çoklu hizalamalar gerçekleştirilmiştir (Katoh, Asimenos, & Toh, 2009).

3.10 MLVA Analizi

Bu çalışmada; su örneklerinden izole edilen sekiz *F.tularensis* subsp. *holarctica* izolatının altı VNTR lokusundaki tekrar dizilerinin varlığı (Tablo 4) ve bu dizilerin tekrar sayıları araştırıldı (Johansson ve ark., 2004). Sekans analiz sonuçları Tandem Repeat Finder (Benson, 1999) ve MEGAX (Kumar ve ark., 2018) programı ile analiz edildi. Çalışmada kullanılan örneklerin MLVA profilleri belirlendikten sonra MLVAbank (Grissa ve ark., 2008) veritabanında karşılaştırmalar yapıldı ve örneklerimiz ile veritabanında bulunan örnekler arasındaki benzerlik ilişkisi araştırıldı.

VNTR Lokusu	Tekrar Dizisi
Ft-M3	AATAAGGAT
Ft-M6	TTGGTGAACCTTCTTGCTCTT
Ft-M20	ATTATTTTGATC
Ft-M21	TCAATTA
Ft-M22	AAAAAT
Ft-M24	ATAAATTATTTATTTTGATTA

Tablo 4: Çalışmada araştırılan VNTR lokusları ve tekrar dizileri

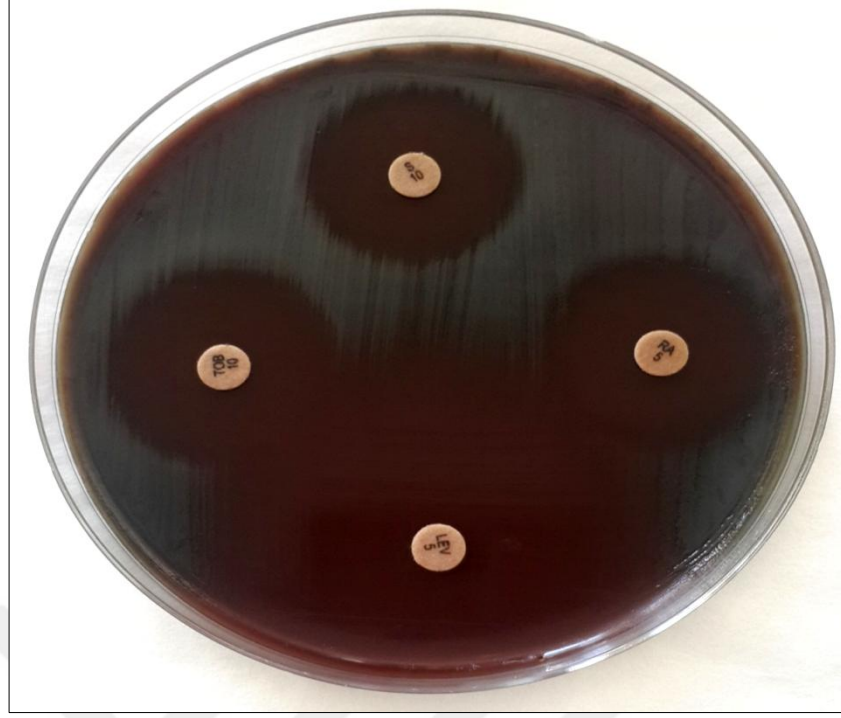
4. BULGULAR

4.1 Disk Difüzyon Testi Bulguları

Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile sekiz *F.tularensis* subsp. *holarctica* izolatının 12 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılıkları tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda tüm izolatların doxycycline, chloramphenicol, streptomycin, gentamicin, tetracycline, ciprofloxacin, levofloxacin, rifampin, tobramycin ve amikacine duyarlı, erythromycin ve aztreonama ise dirençli oldukları bulundu. Çalışma sonucunda gözlenen zon çapları Tablo 5’de görülmektedir.

No	Antibiyotik	NCTC 10857	Bahçeçi	Hüyük	Döllük	Belkent2012	Karaören	Belkent2013	Maksutlu	Çiçekoğlu
1	Doxycycline (DO) (30 µg)	50	48	40	40	44	46	40	45	40
2	Chloramphenicol (C) (30 µg)	56	50	50	56	50	50	48	50	48
3	Streptomycin (S) (10 µg)	30	28	26	22	30	26	24	28	26
4	Gentamicin (CN) (10 µg)	36	30	30	28	30	32	30	36	30
5	Tetracycline (TE) (30 µg)	54	50	50	44	45	50	48	50	46
6	Ciprofloxacin (CIP) (5 µg)	60	50	50	50	50	56	50	58	50
7	Levofloxacin (LEV) (5 µg)	60	60	60	50	56	50	56	60	58
8	Rifampin (RA) (5 µg)	36	30	28	24	27	30	26	30	28
9	Erythromycin (E) (15 µg)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Tobramycin (TOB) (10 µg)	32	30	30	30	30	30	24	35	28
11	Amikacin (AK) (30 µg)	32	30	30	30	36	30	20	36	28
12	Aztreonam (ATM) (30 µg)	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 5: Çalışma sonucunda gözlenen zon çapları (mm)



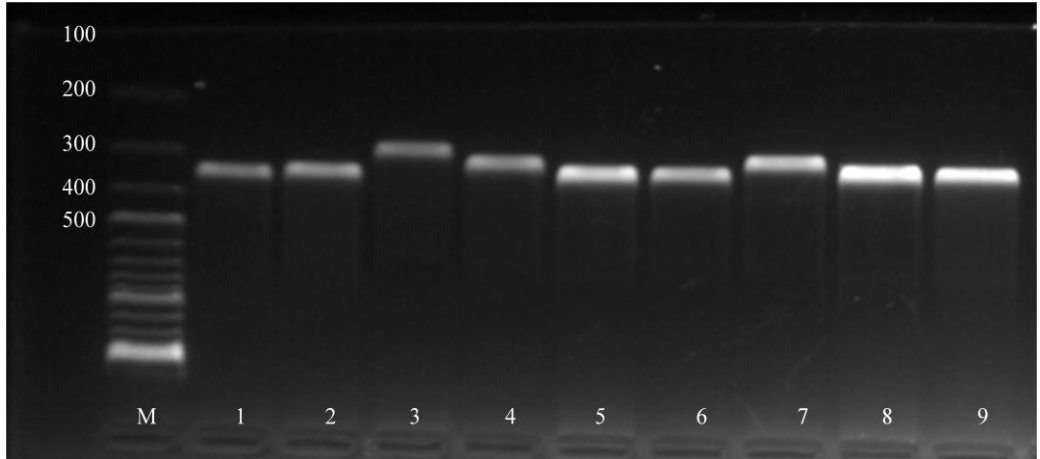
Resim 2: Hüyük izolatının antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi

4.2 PCR Bulguları

Çalışmada klasik PCR yöntemi kullanılarak, jel elektroforezde yürütülen PCR örnekleri görüntülenmiştir.

Ft-M3

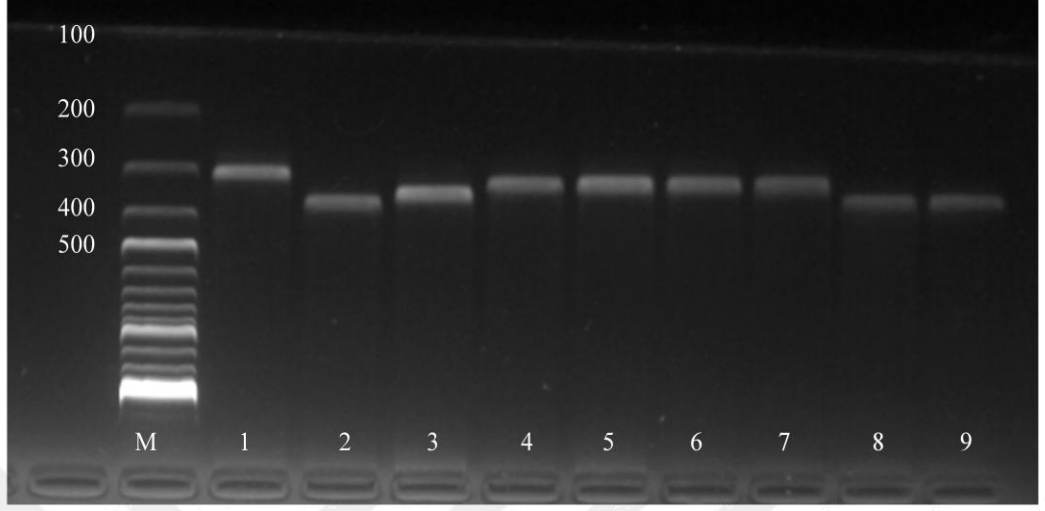
Ft-M3 lokusuna yönelik yapılan PCR çalışmasında 300-400 bp'lik bölge arasında farklı büyüklükte bantlar gözlemlendi (Şekil 1).



Şekil 1: Ft-M3 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü (M: Markır, 1: NCTC10857, 2: Belkent2012, 3: Çiçekoğlu, 4: Karaören, 5: Maksutlu, 6: Hüyük, 7: Bahçeici, 8: Belkent2013, 9: Döllük)

Ft-M6

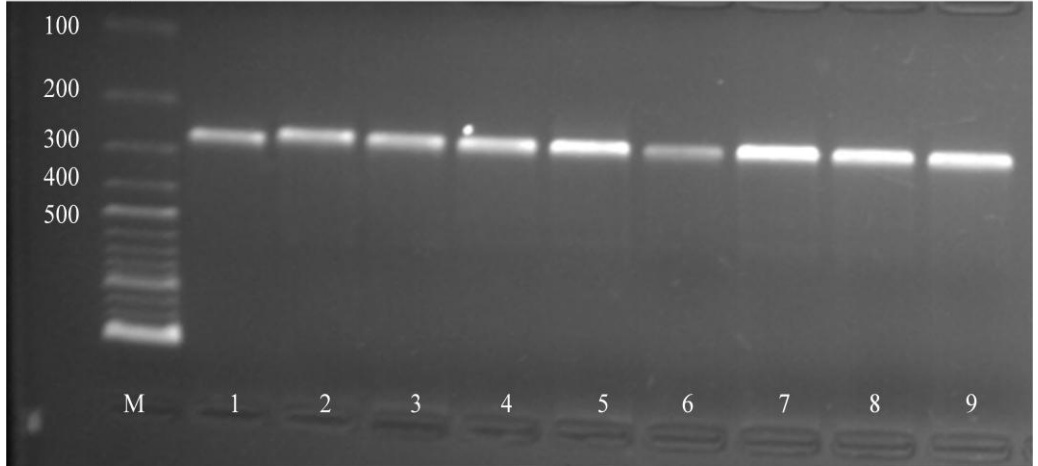
Ft-M6 lokusuna yönelik yapılan PCR çalışmasında 300-400 bp'lik bölge arasında farklı büyüklükte bantlar gözlemlendi (Şekil 2).



Şekil 2: Ft-M6 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü (M: Markır, 1: NCTC10857, 2: Belkent2012, 3: Çiçekoğlu, 4: Karaören, 5: Maksutlu, 6: Hüyük, 7: Bahçeici, 8: Belkent2013, 9: Döllük)

Ft-M20

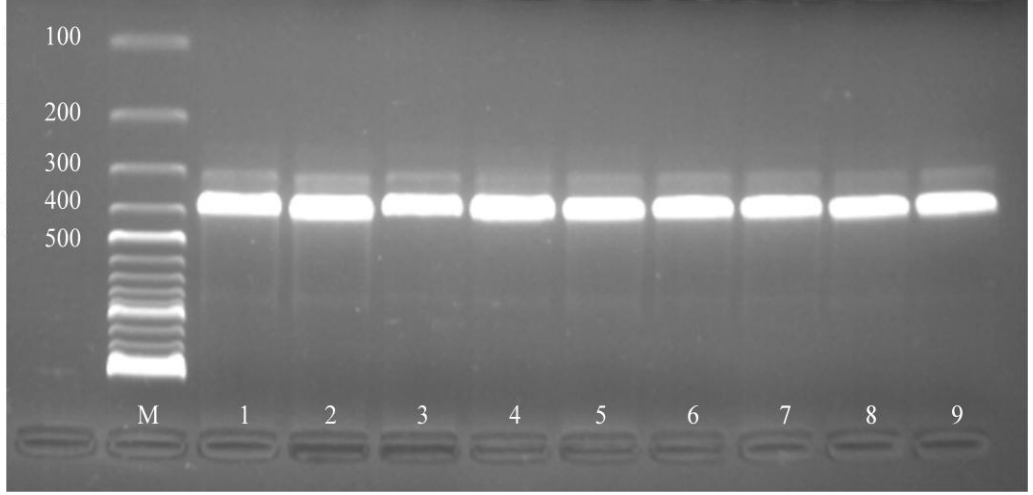
Ft-M20 lokusuna yönelik yapılan PCR çalışmasında 200-300 bp'lik bölgede bantlar gözlemlendi (Şekil 3).



Şekil 3: Ft-M20 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü (M: Markır, 1: NCTC10857, 2: Belkent2012, 3: Çiçekoğlu, 4: Karaören, 5: Maksutlu, 6: Hüyük, 7: Bahçeici, 8: Belkent2013, 9: Döllük)

Ft-M21

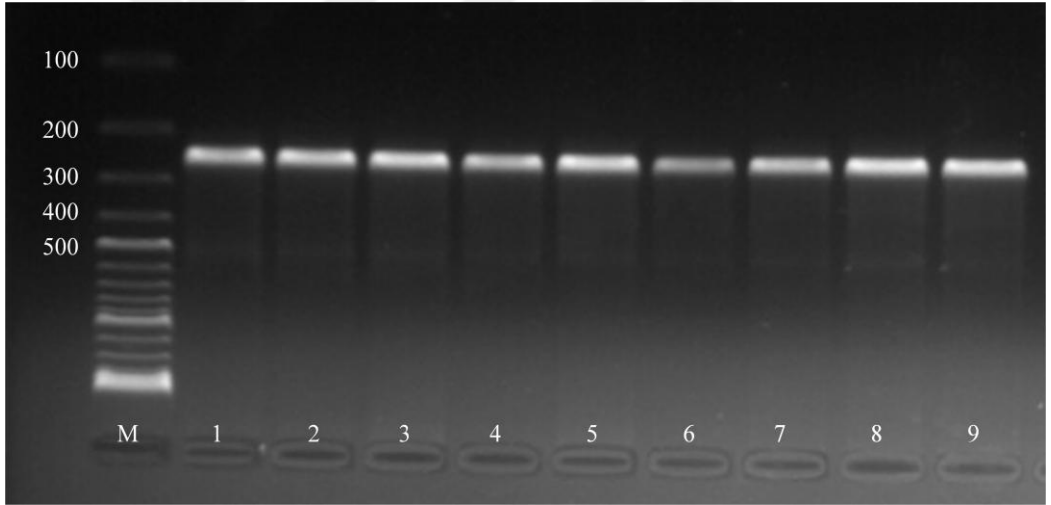
Ft-M21 lokusuna yönelik yapılan PCR çalışmasında 300-400 bp'lik bölgede bantlar gözlemlendi (Şekil 4).



Şekil 4: Ft-M21 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü (M: Markır, 1: NCTC10857, 2: Belkent2012, 3: Çiçekoğlu, 4: Karaören, 5: Maksutlu, 6: Hüyük, 7: Bahçeici, 8: Belkent2013, 9: Döllük)

Ft-M22

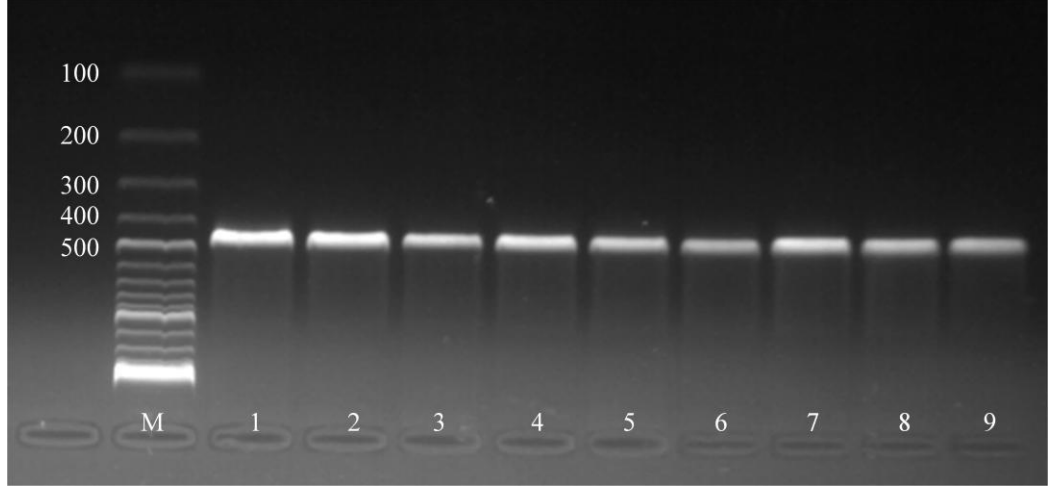
Ft-M22 lokusuna yönelik yapılan PCR çalışmasında 200-300 bp'lik bölgede bantlar gözlemlendi (Şekil 5).



Şekil 5: Ft-M22 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü (M: Markır, 1: NCTC10857, 2: Belkent2012, 3: Çiçekoğlu, 4: Karaören, 5: Maksutlu, 6: Hüyük, 7: Bahçeici, 8: Belkent2013, 9: Döllük)

Ft-M24

Ft-M24 lokusuna yönelik yapılan PCR çalışmasında 400-500 bp'lik bölgede bantlar gözlemlendi (Şekil 6).



Şekil 6: Ft-M24 gen bölgesinin agaroz jelde görünümü (M: Markır, 1: NCTC10857, 2: Belkent2012, 3: Çiçekoğlu, 4: Karaören, 5: Maksutlu, 6: Hüyük, 7: Bahçeici, 8: Belkent2013, 9: Döllük)

4.3 MLVA Bulguları

VNTR lokuslarına ait sekans analiz sonuçları Tandem Repeat Finder (Benson, 1999) ve MegaX (Kumar ve ark., 2018) programları kullanılarak analiz edildi ve tekrar sayıları belirlendi (Tablo 6).

Çalışmada Kullanılan İzolatlar	VNTR Lokusları					
	Ft-M3	Ft-M6	Ft-M20	Ft-M21	Ft-M22	Ft-M24
Belkent2012	12	6	2	3	4	2
Döllük	12	6	2	3	4	2
Belkent2013	12	5	2	3	4	2
Maksutlu	12	4	2	-	4	2
Hüyük	12	4	2	1	4	2
Karaören	9	4	2	-	4	2
Bahçeici	9	4	2	-	4	2
Çiçekoğlu	6	5	2	1	4	2

Tablo 6: Çalışmada araştırılan VNTR lokusları, tekrar dizileri ve tekrar sayıları

Ft-M20, Ft-M22 ve Ft-M24 lokusları açısından tüm izolatlar benzer profil göstermiştir. Ft-M3, Ft-M6 ve Ft-M21 lokuslarında genetik polimorfizm gözlemlendi. Maksutlu, Karaören ve Bahçeici izolatlarının Ft-M21 lokusunda TCAATTA dizisine rastlanmadı.

Altı lokus açısından Belkent2012 ve Döllük izolatlarının kendi aralarında, Karaören ve Bahçeici izolatlarının ise kendi aralarında benzer olduğu, beş lokus

açısından ise (Ft-M3, Ft-M6, Ft-M20, Ft-M22, Ft-M24) Maksutlu ve Hüyük izolatlarının benzer olduğu bulundu. Dört lokus açısından (Ft-M3, Ft-M20, Ft-M22, Ft-M24) Belkent2012, Döllük, Belkent2013, Maksutlu, Hüyük izolatlarının benzer olduğu bulundu.

MLVAbank veritabanında (Grissa ve ark., 2008) yapılan karşılaştırmada Ft-M20 lokusu açısından 2 tekrara sahip örneğe rastlanamamıştır. Belkent2012 ve Döllük izolatları dört lokus bakımından (Ft-M3, Ft-M6, Ft-M22, Ft-M24) Çek Cumhuriyetinde kenelerden izole edilen alttür *holarctica* B.I grubu FSC187 kökeni ile, Maksutlu ve Hüyük izolatları ise aynı lokuslar bakımından Çek Cumhuriyetinde kenelerden izole edilen alttür *holarctica* B.III grubu FSC186 kökeni ile benzer bulundu (Johansson, 2004).

Karaören ve Bahçeici izolatları Ft-M3, Ft-M6, Ft-M24 lokusları açısından alt tür *holarctica* SRCAMB#C56 ve M157 kökenleri ile benzer bulundu (Timofeev, 2017).

Belkent2013 izolatu üç lokus bakımından (Ft-M3, Ft-M6, Ft-M24) alttür *holarctica* FSC078, 89A-7092, 353, I365 R ve Kr-16 kökenleri ile benzer bulundu (Johansson, 2004; Timofeev, 2017).

Çiçekoğlu izolatu üç lokus bakımından (Ft-M6, Ft-M22, Ft-M24) insan, kene ve tavşanlardan İsviçre, Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'dan izole edilen alt tür *holarctica* B.I grup FSC180, FSC076, FSC173 izolatları ile benzer bulundu (Johansson, 2004).

5. TARTIŞMA

Ülkemizde ilk tularemi olguları 1936 yılında Lüleburgaz Askeri Garnizonunda görülmüş ve günümüze kadar ülkemizin pek çok bölgesinde farklı dönemlerde salgınlar ortaya çıkmıştır. Ülkemizde görülen tularemi salgınlarının başlıca kaynağını içme ve kullanma suları oluşturmaktadır. Ülkemizde gözlenen salgın bölgelerinden alınan içme ve kullanma sularında *F. tularensis* subsp. *holarctica* bakterisinin varlığı kültür ve PCR yöntemleri ile saptanmıştır (Helvacı ve ark., 2000; Kılıç, 2010).

F. tularensis tanısında kültür yöntemi ile bakterinin üretilmesi “altın standart” olarak tanımlanmaktadır (WHO, 2007). Kültür yöntemi ile bakterinin izole edilmesi; hastalığa kesin tanı konulmasının yanı sıra antibiyotik duyarlılığının araştırılması, moleküler epidemiyolojinin ortaya çıkarılması ve yeni türlerin keşfedilmesine de olanak sağlamaktadır (Johansson ve ark., 2004; Gürcan, 2007). *F.tularensis*' in kültür ortamında izolasyonu; nazlı üreyen bir bakteri olmasından, koloni oluşturabilmesi için 7-10 günlük zamana gereksinim duymasından, besiyeri içerisinde kan ve sistein gibi aminoasitlere gereksinim duymasından, laboratuvar bulaşının kolay olması ve yüksek biyogüvenlik düzeyine sahip ortamlarda yapılması gerektiğinden dolayı zordur (Gürcan, 2007; Ellis ve ark., 2002; Kolaylı, 2009).

Çalışmamızda 2011-2013 yılları arasında Sivas ilinde gözlenen tularemi salgın bölgelerinden kültür yöntemi ile su örneklerinden izole edilen ve PCR yöntemi ile *F. tularensis* subsp. *holarctica* olduğu belirlenen sekiz izolat kullanılmıştır (Ataş, 2012). Çalışmada kullanılan *F. tularensis* subsp. *holarctica* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları Disk Difüzyon yöntemi ile araştırılmış, altı lokusa yönelik yapılan VNTR analizi ile tekrar dizilerinin varlığı ve sayıları belirlenmiştir.

Gürcan ve arkadaşları Batı Karadeniz bölgesinden izole ettikleri iki *F. tularensis* subsp. *holarctica* (Nuhören ve Yazıkara) izolatını Disk Difüzyon testi ile eritromisin ve aztreonama karşı dirençli olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada Nuhören ve Yazıkara izolatlarının gentamisine karşı zon çapı 31 ve 38 mm, aminoglikozid grubu (tobramisin, amikasin, netilmisin) antibiyotiklere karşı >24 mm, siprofloksasin karşı 36 mm, kloramfenikole karşı >36 ve >38 mm, tetrasikline karşı 32 mm, rifampine karşı 31 mm olarak tespit edilmiştir (Gürcan ve ark., 2008).

Çalışmamızda 8 izolatın eritromisin ve aztreonama karşı dirençli olduğu, gentamisine karşı 28-36 mm, tobramisine karşı 24-35 mm, amikasine karşı 20-36 mm, siprofloksasine karşı 50-58 mm, tetrasikline karşı 46-50 mm, kloramfenikole karşı 48-56 mm ve rifampine karşı 26-30 mm arasında zon çapları tespit edildi. Nuhören ve

Yazıkara suşlarının antibiyotiklere karşı oluşturdukları zon çapları ile çalışmamızda kullanılan izolatların oluşturdukları zon çapları benzer bulunmuştur. *F. tularensis* subsp. *holarctica* eritromisin direnç ve duyarlılıklarına göre eritromisin duyarlı (EryS, biovar I) ve eritromisin dirençli (EryR, biovar II) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar (Sjöstedt, 2015). Gürcan ve arkadaşları Nuhören ve Yazıkara izolatlarının eritromisin direncinden dolayı muhtemelen *F. tularensis* subsp. *holarctica* biovar II olduklarını belirtmektedirler (Gürcan ve ark., 2008). Sivas ilinden izole edilen izolatlarda benzer şekilde eritromisine dirençli olarak bulduklarından dolayı *F. tularensis* subsp. *holarctica* biovar II grubuna aittir.

Yeşilyurt ve arkadaşları 2009-2010 yıllarında Yozgat ilinde gözlenen tularemi olgularından kültür yöntemi ile 39 *F. tularensis* kökeni izole ederek E test yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarını araştırmışlardır. Çalışmalarında tüm izolatların aminoglikozidlere (gentamisin, amikasin, tobramisin ve streptomisin) florokinolonlara (siprofloksasin, levofloksasin ve moksifloksasin), tetrasiklinlere (tetrasiklin ve tigesiklin), kloramfenikollara ve rifampisine duyarlı bulmuşlardır. Tüm izolatlar eritromisin, azitromisin ve klindamisine karşı dirençli bulunmuştur. MIC₉₀ değerlerine göre levofloksasinin (0.012 mg/L) en etkili antibiyotik olduğunu bunu takiben siprofloksasin (0.016 mg/L), moksifloksasin (0.032 mg/L), gentamisin (0.25 mg/L), tigesiklin (0.25 mg/L), tobramisin (0.25 mg/L) ve tetrasiklinin de (0.38 mg/L) *F. tularensis*' e karşı etkili olduklarını tespit etmişlerdir (Yeşilyurt ve ark., 2011). Çalışmamızda da benzer şekilde izolatlarımızın levofloksasin (50-60 mm), siprofloksasin (50-58 mm), kloramfenikol (48-56 mm) ve tetrasikline (46-50 mm) karşı daha büyük zon çapları oluşturduğu ve antibiyotiklere duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Kılıç ve arkadaşları 2009 ve 2010 yılları arasında ülkemizde görülen tularemi salgılarından kültür yöntemi ile 250 *F. tularensis* izole etmişler ve antibiyotik duyarlılıklarını E Test yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışmalarında 249 örneğin *F. tularensis* subsp. *holarctica* biovar II (eritromisin dirençli), bir örnek ise (eritromisin duyarlı), biovar *japonica* olarak tiplendirilmiştir (Kılıç ve ark., 2013). Çalışmamızda kullanılan izolatların tümü Kılıç ve arkadaşlarının çalışmalarındaki izolatlarla benzer şekilde eritromisine karşı dirençli bulunmuş ve biovar II oldukları tespit edilmiştir.

Çalışmamızda su örneklerinden izole edilen sekiz *F. tularensis* subsp. *holarctica* izolatında altı lokusa yönelik yapılan VNTR analizi ile tekrar dizilerinin varlığı bu tekrar dizilerinin sayıları belirlenmiştir. Johansson ve arkadaşları 25 VNTR lokusuna yönelik gerçekleştirdikleri çalışmalarında 192 *F. tularensis* izolatının genetik ilişkisini

ve potansiyel populasyon yapısını kapsamlı olarak araştırmışlardır. Çalışmamızda Johansson ve arkadaşlarının kullandıkları 25 VNTR lokusundan (Ft-M1 ile Ft-M25) altı lokus seçilerek (Ft-M3, Ft-M6, Ft-M20, Ft-M21, Ft-M22, Ft-M24) bu lokuslarda bulunan tekrar dizileri araştırılmıştır.

Johansson ve arkadaşlarının *F.tularensis* izolatlarına yönelik yaptıkları MLVA analizinde; Ft-M3 lokusunda 8-28, Ft-M6 lokusunda 4-7, Ft-M20, Ft-M21, Ft-M22 lokuslarında 3-5, Ft-M24 lokusunda ise 1-2 tekrara rastlamışlardır (Johansson ve ark., 2004). Çalışmamızda ise Ft-M3 lokusunda Belkent2012, Döllük, Belkent2013, Maksutlu ve Hüyük izolatlarında 12, Karaören ve Bahçeici izolatlarında 9, Çiçekoğlu izolatında ise 6 tekrara rastlanmıştır. Ft-M6 lokusunda Belkent2012 ve Döllük izolatlarında 6, Belkent2013 ve Çiçekoğlu izolatlarında 5, Maksutlu, Hüyük, Karaören ve Bahçeici izolatlarında ise 4 tekrara rastlanmıştır. Ft-M20 ve Ft-M24 lokuslarında izolatlar açısından herhangi bir farklılığa rastlanmamış ve tüm izolatlar 2 tekrar bulunmuştur, Ft-M22 lokusunda ise tüm izolatlarda 4 tekrara rastlanmıştır. Ft-M21 lokusunda ise Belkent2012, Döllük, Belkent2013 izolatlarında 3 tekrar, Hüyük ve Çiçekoğlu 1 tekrar Maksutlu, Karaören ve Bahçeici izolatlarında tekrara rastlanmamıştır. Bu açıdan altı VNTR lokus analizinde Ft-M3, Ft-M6 ve Ft-M21 lokuslarında genetik polimorfizme rastlanırken Ft-M20, Ft-M22 ve Ft-M24 lokuslarında polimorfizme rastlanmamıştır ve çalışmamız Johansson ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile benzer profil göstermektedir.

Fujita ve arkadaşları çalışmalarında 33 Japon ve 11 diğer bölgelerden (Rusya, Ukrayna, Bulgaristan, İtalya, Avusturya, Çin ve ABD) izole edilen *F. tularensis* subsp. *holarctica* izolatını yedi VNTR lokusu bakımından MLVA yöntemi ile araştırmışlardır. Araştırmaları sonucunda Japon izolatlarının Ft-M2, Ft-M10 ve Ft-M20 lokuslarında, Japonya'dan olmayan izolatların ise Ft-M3 lokusunda yüksek genetik polimorfizm gösterdiklerini saptamışlardır (Fujita ve ark., 2008). Çalışmamızda da benzer şekilde Ft-M3 ve Ft-M6 lokuslarındaki tekrar dizisi sayılarının izolatlar arasında 3 farklı polimorfizm gösterdiği saptanmıştır.

Gürcan ve arkadaşları ülkemizden izole ettikleri iki *F. tularensis* subsp. *holarctica* (Nuhören ve Yazıkara) izolatını ve Bulgaristan'dan izole edilen yedi izolatı MLVA yöntemi altı lokus açısından araştırmışlardır. En fazla değişkenlik M3 lokusunda saptanmış (4 allel) ayrıca M6 (3 allel) ve M20 (2 allel) lokuslarında da değişkenlikler olduğu gözlenmiştir. M21, M22 ve M24 lokuslarında ise tek bir allel gözlenmiştir. Çalışma sonucunda Nuhören ve Yazıkara izolatlarının altı lokus bakımından aynı baz

büyükliklerine sahip olduğu ve Bulgaristan'da insanlardan izole edilen *F. tularensis* subsp. *holarctica* izolatları ile benzer olduğu bulunmuştur (Gürcan ve ark., 2008). Çalışmamızda ise benzer şekilde en fazla değişkenlik Ft-M3 (3 allel), Ft-M6 (3 allel) ve Ft-M21 (3 allel) lokusunda gözlenmiştir. Ft-M20, Ft-M22 ve Ft-M24 lokuslarında ise tek bir allel gözlenmiştir.

Byström ve arkadaşları Danimarka'dan izole ettikleri *F. tularensis* subsp. *holarctica* izolatlarını diğer Avrasya suşları ile genetik ilişkisini saptamışlardır. İzole edilen 16 *F. tularensis* subsp. *holarctica* izolatını altı lokus (Ft-M3, Ft-M6, Ft-M20, Ft-M21, Ft-M22 ve Ft-M24) açısından MLVA yöntemi ile incelemiştir. En fazla değişkenlik M3 (9 allel) lokusunda gözlenmiştir. VNTR lokuslarındaki baz sayısı farklılıklarının lokustaki tekrar dizisi sayısındaki farklılıklarından kaynaklandığını bildirmişlerdir (Byström ve ark., 2005).

Marinov ve arkadaşları 1998-2005 yılları arasında tavşan, kene, tarla faresi ve insanlardan izole ettikleri sekiz *F. tularensis* subsp. *holarctica* izolatını yedi lokus açısından (M3, M6, M10, M20, M21, M22 ve M24) MLVA analizi ile inceledikleri çalışmalarında M3 ve M6 VNTR lokusunda üç allel tespit etmişlerdir (Marinov ve ark., 2009). Çalışmamızda ise benzer şekilde Ft-M3 ve Ft-M6 lokuslarında üç allel tespit edilmiştir.

Ülkemizde gözlenen tularemi vakalarından hastalık etkeni olarak *F. tularensis* subsp. *holarctica* izole edilmektedir ve hastalık başlıca kontamine olmuş sular ile bulaşmaktadır (Kılıç ve ark., 2015).

Çalışmamız sonucunda; Sivas ilinde görülen tularemi salgın bölgelerindeki su örneklerinden izole edilen sekiz *F. tularensis* subsp. *holarctica* izolatının altı VNTR lokusu (Ft-M3, Ft-M6, Ft-M20, Ft-M21, Ft-M22, Ft-M24) PCR ile çoğaltılarak sekans analizi yaptırılmıştır. Tekrar dizilerinin varlığı ve sayısı açısından sonuçlar MLVA veri tabanında bulunan örnekler ile karşılaştırılmıştır. Ülkemizde bu konu açısından yeterli çalışmaya rastlanmadığından sonuçlarımızın Türkiye'den izole edilen *F. tularensis* subsp. *holarctica* izolatları ile karşılaştırılması mümkün olmamıştır. Çalışmalarımız sonucu elde ettiğimiz veriler ileride yapılacak olan çalışmalar için kaynaklık etmesi açısından önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- Ataş, M. (2012). Çeşitli Su Örneklerinden İzole Edilen Acanthamoeba Türlerinde *Francisella tularensis* Araştırılması, Doktora tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- Bicakci Z, Parlak M. (2008). A neglected cause of cervical lymphadenitis. Oropharyngeal tularemia. *Saudi Med J*. 29:1059-61.
- Bossi P, Tegnell A, Baka A, et al. (2004). Bichat Guidelines for the clinical management of tularemia and bioterrorism-related tularemia. *Eurosurveillance* 9:1-7.
- Byström, M., Böcher, S., Magnusson, A., Prag, J. & Johansson, A. (2005). Tularemia in Denmark: identification of a *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* strain by real-time PCR and high-resolution typing by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. *J Clin Microbiol* 43, 5355–5358.
- Çelebi G, Baruönü F, Ayoğlu F, et al. (2006). Tularemia, a reemerging disease in Northwest Turkey: epidemiological investigation and evaluation of treatment responses. *Jpn J Infect Dis* 59: 229-34
- Çelebi, B. (2010). Tularemi: Laboratuvar Tanı, III. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyum Kitabı, 13-18.
- Christova I, Velinov T, Kantardjiev T, Galev A. (2004). Tularemia outbreak in Bulgaria. *Scand J Infect Dis* 36:785-9.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline—2nd ed, CLSI document M45-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Cross JT Jr, Schutze GE, Jacobs RF. (1995). Treatment of tularemia with gentamicin in pediatric patients. *Pediatr Infect Dis J*. 14(2): 151-2.
- Dikici N, Ural O, Sümer Ş, Öztürk K, Albayrak Ö, Katlanır E ve ark. (2012). Konya Bölgesinde Tularemi. *Mikrobiyol Bul*. 46(2): 225-35.
- Eliasson H, Broman T, Forsman M, Bäck E. (2006). Tularemia: Current Epidemiology and Disease Management. *Inf Dis Clin N Am* 20:289-311.
- Ellis J, Oyston PC, Green M, et al. (2002). Tularemia. *Clin Microbiol Rev* 15:631-46.
- Enderlin G, Morales L, Jacobs RF, Cross JT. (1994). Streptomycin and alternative agents for the treatment of tularemia: review of the literature. *Clin Infect Dis*. 19(1): 42-7.
- Erbay A, Dokuzoğuz B, Baykam N ve ark. (2000). Ankara yöresinde tularemi. *İnfeksiyon Derg* 14: 453-8.
- Evans ME, Gregory DW, Schaffner W, McGee ZA. (1985). Tularemia: a 30-year experience with 88 cases. *Medicine (Baltimore)*. 64(4):251-69.
- Foshay L, Pasternack AB. (1946). Streptomycin treatment of tularemia. *J Am Med Assoc*. 130: 393-8.
- Fujita, O., Uda, A., Hotta, A., Okutani, A., Inoue, S., Tanabayashi, K., & Yamada, A. (2008). Genetic diversity of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* strains isolated in Japan. *Microbiology and immunology*, 52(5), 270-276.

- Garcia del Blanco N, Gutierrez Martin CB, de la Puente Redondo VA, Rodriguez Ferri EF. (2004). In vitro susceptibility of field isolates of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* recovered in Spain to several antimicrobial agents. *Res Vet Sci.* 76(3): 195-8.
- Gary Benson (1999). "Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences" *Nucleic Acids Research* Vol. 27, No. 2, pp. 573-580.
- Gedikoğlu S, G6ral G, Helvacı S. (1990). Bursa'daki tularemi epidemisinin 6zellikleri. *İnfeksiyon Derg* 4: 9-15.
- Gedikoğlu S. (2008). *Pasteurella, Francisella ve Bordetella* t6rleri. In: Willke Topçu A, S6yletir G, Dođanay M (Eds). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri p.2251-5.
- Geyik MF, Akalın H. (2009). D6nyada Tularemi. İçinde: G6rcan Ő., Edit6r. *Francisella tularensis ve Tularemi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, s. 99–106.
- Golem SB. (1945). L6leburgaz'da yeni bir tularemi epidemisi. *Turk Hij Tecr Biyol Derg* 5: 27-40.
- Gotschlich E, Berkin T. (1938). 1936 yılında Trakya'da tularemiye ait yapılan epidemiyolojik ve bakteriyolojik araştırmalar. *Turk Hıfzıssıhha ve Tecrubi Biyoloji Mecmuası* 1: 115-23.
- Grissa I, Bouchon P, Pourcel C, Vergnaud G. (2008). On-line resources for bacterial micro-evolution studies using MLVA or CRISPR typing. *Biochimie* 90:660–668. 10.1016/j.biochi.2007.07.014
- Grunow R, Kalaveshi A, K6hn A, Mulliqi-Osmani G, Ramadani N. (2012). Surveillance of tularaemia in Kosovo, 2001 to 2010. *Euro Surveill.* 17:20217.
- G6rcan Ő, Eskiocak M, Varol G, Uzun C, Tatman Otkun M, Őakru N, et al. (2006). Tularemia re-emerging in European Part of Turkey after 60 years. *Jpn J Infect Dis.* 59:391–3.
- Gurcan S, Karabay O, Karadenizli A, Karagol C, Kantardjiev T, Ivanov IN. (2008). Characteristics of the Turkish isolates of *Francisella tularensis*. *Jpn J Infect Dis.* 61(3): 223-5.
- G6rcan Ő. (2007). *Francisella tularensis* ve T6rkiye'de Tularemi. *Mikrobiyol B6l.* 41:621-36.
- G6rcan Ő. (2012). *Francisella tularensis* ve tularemi hastalığına epidemiyolojisi. XXXV. T6rk Mikrobiyoloji Kongresi Toplam Kitabı; 3-7 Kasım Kuşadası-Aydın. pp 149-50.
- Hadimli HH. (2009). Hayvanlarda Tulareminin Tanısı. In: G6rcan Ő (Eds.). *Francisella tularensis ve Tularemi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. s.185-9.
- Helvacı S, Gedikoglu S, Akalin H, Oral HB. (2000). Tularemia in Bursa, Turkey: 205 cases in ten years. *Eur J Epidemiol* 16:271-6.
- Helvacı S. (2008). Tularemi. In: Willke Topçu A, S6yletir G, Dođanay M (Eds.). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. s.990-5.
- Hepburn MJ, Simpson AJ. (2008). Tularemia: current diagnosis and treatment options. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 6(2): 231-40.
- Hofinger DM, Cardona L, Mertz GJ, Davis LE. (2009). Tularemic meningitis in the United States. *Arch Neurol.* 66(4): 523-7.

- Ikaheimo I, Syrjala H, Karhukorpi J, Schildt R, Koskela M. (2000). In vitro antibiotic susceptibility of *Francisella tularensis* isolated from humans and animals. *J Antimicrob Chemother.* 46(2): 287-90.
- Jackson J, McGregor A, Cooley L, Ng J, Brown M, Ong CW ve diğ. (2012). *Francisella tularensis* alttürleri hoesctica, Tazmanya, Avustralya, 2011. *Emerg Infect Dis.* 18:1484-6.
- Johansson A, Berglund L, Gothefors L, Sjostedt A, Tarnvik A. (2000). Ciprofloxacin for treatment of tularemia in children. *Pediatr Infect Dis J.* 19(5): 449-53.
- Johansson, A., Urich, S. K., Chu, M. C., Sjöstedt, A., & Tärnvik, A. (2002). In vitro susceptibility to quinolones of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis*. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 34(5), 327-330.
- Johansson A, Farlow J, Larsson P, Dukerich M, Chambers E, Byström M, Fox J, Chu M, Forsman M, Sjöstedt A, Keim P. *J Bacteriol.* (2004). Worldwide genetic relationships among *Francisella tularensis* isolates determined by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. 186(17):5808-18.
- Johansson A, Forsman M Anders Sjöstedt A. (2004). The development of tools for diagnosis of tularemia and typing of *Francisella tularensis*. 112:898–907.
- Karabay O, Gürcan Ş, Karadenizli A, Vahaboglu H.(2006). Second tularemia outbreak within 5 years in same village of Bolu, Turkey. The First International Congress of Central Asia Infectious Diseases. October 30- November 2. Bishkek, Kyrgy Republic. Program and Abstracts Book, p: 80.
- Karadenizli, A. (2009). Moleküler Tanı ve Tiplendirme Yöntemleri. *Francisella tularensis* ve Tularemi, Gürcan, Ş. (Ed.), Nobel Matbaacılık, İstanbul, 283-288.
- Karlsson, E., Svensson, K., Lindgren, P., Byström, M., Sjödin, A., Forsman, M. (2013). The phylogeographic pattern of *Francisella tularensis* in Sweden indicates a Scandinavian origin of Eurosiberian tularaemia. *Environ.Microbiol*, 15:634–645.
- Katoh, K., Asimenos, G., & Toh, H. (2009). Multiple alignment of DNA sequences with MAFFT. *Bioinformatics for DNA Sequence Analysis*, 39–64.
- Keim P, Johansson A, Wagner DM. *Molecular Epidemiology, Evolution, and Ecology of Francisella.* Ann N Y Acad Sci 2007;1105:30-66.
- Kılıç S, (2011). Yeşilyurt M. Tularemi: Güncel tedavi seçeneklerine güncel bir bakış. *Klimik Derg*, 24(1): 2-10.
- Kılıç S. (2010). A General Overview of *Francisella tularensis* and the Epidemiology of Tularemia in Turkey. *Flora* 15(2):37-58.
- Kılıç, S. (2005). Tularemi, RSHM Aylık Epidemiyoloji Raporu, 4 (4):146-1499.
- Kılıc, S., Birdsell, D. N., Karagoz, A., Celebi, B., Bakkaloglu, Z., Arıkan, M. (2015). Water as source of *Francisella tularensis* infection in humans, Turkey. *Emerg. Infect. Dis*, 21: 2213–2216. doi: 10.3201/eid2112.150634
- Kılıc, S., Celebi, B., Acar, B., and Atas, M. (2013). In vitro susceptibility of isolates of *Francisella tularensis* from Turkey. *Scand. J. Infect. Dis*, 45:337–341. doi: 10.3109/00365548.2012.751125
- Kılıçturgay K, Gökırmak F, Gedikoğlu S ve ark. (1989). Bursa’da tularemi epidemisi. *İnfeksiyon Derg* 3: 149-56.

- Kolaylı F. (2009). *Francisella tularensis* Kültürü ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri. In: Gürcan Ş (Eds). *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. s.273-81.
- Kudelina RI, Olsufiev NG. (1980). Sensitivity to macrolide antibiotics and lincomycin in *Francisella tularensis* holarctica. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 24(1): 84-91.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549.
- Lindquist D, Chu MC, Probert WS. (2009). *Francisella* and *Brucella* (Çeviri: Çetinkaya Z.) In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (Eds.). (Çeviri editörleri: Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M.) *Manual of Clinical Microbiology (Klinik Mikrobiyoloji)*. 9.baskı. Washington: ASM pres (Ankara Atlas Yayıncılık). p.815-24.
- Marinov, K. T., Georgieva, E. D., Ivanov, I. N., & Kantardjiev, T. V. (2009). Characterization and genotyping of strains of *Francisella tularensis* isolated in Bulgaria. *Journal of medical microbiology*, 58(1), 82-85.
- Mason WL, Eigelsbach HT, Little SF, Bates JH. (1980). Treatment of tularemia, including pulmonary tularemia, with gentamicin. *Am Rev Respir Dis*. 121(1): 39-45.
- Mead PS. (2008). Tularemia. Wallace R.B. ed. Wallace/ Maxcy-Rosenau-Last: Public Health and Preventive Medicine. Fifteenth edition. New York: McGraw Hill Medical p.424-7
- Meric M, Willke A, Finke EJ, et al. (2008). Evaluation of clinical, laboratory, and therapeutic features of 145 tularemia cases: the role of quinolones in oropharyngeal tularemia. *APMIS*. 116(1): 66-73.
- Oyston PCF. (2008). *Francisella tularensis*: Unravelling The Secrets of an Intracellular Pathogen. *Journal of Medical Microbiology* 57:921-30.
- Özel, T. (1938). Talat Vasfi özel'in 1937 yılı yazında Trakya'da tularemi tetkikatı. *Türk Hij Tec Biyol Derg*, 1 (1), 158-184.
- Penn RL.(2005). *Francisella tularensis* (Tularemia), Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 6.baskı. Churchill Livingstone, Philadelphia p. 2674-85.
- Petersen JM, Schriefer ME, Araj GF. (2011). *Francisella* and *Brucella*. In: Versalovic J (editor in chief). *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed., ASM Press, Washington D.C. p. 751-769
- Petersen JM, Schriefer ME. (2005). Tularemia: emergence/re-emergence. *Vet Res* 36: 455-67.
- Ramazanzadeh, R., & McNerney, R. (2007). Variable number of tandem repeats (VNTR) and its application in bacterial epidemiology. *Pak J Biol Sci*, 10(16), 2612-2621.
- Reintjes R, Dedushaj I, Gjini A, et al. (2002). Tularemia outbreak investigation in Kosovo: case control and environmental studies. *Emerg Infect Dis* 8: 69-73.
- Rubin LG. (2003). *Francisella tularensis* (tularemia). In: Long SS, Pickering LK, Prober CG, eds. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. Philadelphia: Churchill Livingstone 916-8.

- Russell P, Eley SM, Fulop MJ, Bell DL, Titball RW. (1998). The efficacy of ciprofloxacin and doxycycline against experimental tularaemia. *J Antimicrob Chemother.*41(4): 461-5.
- Sabat AJ, Budimir A, Nashev D, Sá-Leão R, van Dijl JM, Laurent F, Grundmann H, Friedrich (2013). AW on behalf of the ESCMID Study Group of Epidemiological Markers (ESGEM). Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Euro Surveill.*18(4):pii=20380. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20380>
- Sağlık Bakanlığı. (2011). Tularemi Hastalığının Kontrolü için Saha Rehberi, T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı. Ankara.
- Şahin İ. (2009). Tulareminin Genel Epidemiyolojik Özellikleri. In: Gürcan Ş., editor. *Francisella tularensis ve Tularemi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. pp. 89–93.
- Şahin M. (2009). *Francisella tularensis*'in Vektörleri ve Doğal Rezervuarları In: Gürcan Ş., editor. *Francisella tularensis ve Tularemi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. pp. 139–60.
- Sharma N, Hotta A, Yamamoto Y, Fujita O, Uda A, Morikawa S, et al. (2013). Detection of *Francisella tularensis*-Specific Antibodies in Patients with Tularemia by a Novel Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Clin Vac Immun*, 20(1): 9-16.
- Sjostedt A. (2007). Tularemia: history, epidemiology, pathogen physiology, and clinical manifestations. *Ann N Y Acad Sci.* 1105: 1-29.
- Sjöstedt, A. B. (2015). “*Francisella*,” in *Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, ed W. B. Whitman (Hoboken, NJ: John Wiley and Sons Ltd), 1–18. doi: 10.1002/9781118960608
- Svensson, K., Granberg, M., Karlsson, L., Neubauerova, V., Forsman, M., ve Johansson, A. (2009). A real-time PCR array for hierarchical identification of *Francisella* isolates. *PLoS ONE* 4:e8360. doi: 10.1371/journal.pone.0008360
- Tarnvik A, Chu MC. (2007). New approaches to diagnosis and therapy of tularemia. *Ann N Y Acad Sci.* 1105: 378-404.
- Tarnvik A, Berglund L. (2003). Tularemia. *European Respiratory Journal* 21: 361-373.
- Telford SR, (2011). Goethert HK. Toward an understanding of the perpetuation of the agent of tularemia. *Front Microbiol.* 150:1–7.
- Timofeev V., Bakhteeva I., Titareva G., Kopylov P., Christiany D., Mokrievich A., et al. . (2017). Russian isolates enlarge the known geographic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica*. *PLoS ONE* 12:e0183714.10.1371/journal.pone.0183714.
- Torunoğlu MA. (2009). Tularemi Epidemiyolojisi Tularemi Vakalarının Coğrafik Dağılımı. 4. Türkiye EKMUD Kongresi Kongre Kitabı p.100–3. 9–12 May 2012, Pendik-İstanbul. *Int J Infect Dis.* 13:745–8.
- Trevisanato SI. (2004). Did an epidemic of tularemia in Ancient Egypt affect the course of world history *Med Hypotheses.* 63:905–10.
- Turhan V, Ardıç N, Şahinoğlu L, Beşirbellioğlu BA, Gedikoğlu S. (2007). A General View to Tularemia Cases in Turkey: On to a Pure Oropharyngeal Type Outbreak. *AJCI.* 1:71–7.

- Utku İE. Antalya’da tularemi epidemisi ve hususiyetleri. *Turk Hij Tecr Biyol Derg* 1954; 14: 288-93
- Welling PG, Koch PA, Lau CC, Craig WA. (1977). Bioavailability of tetracycline and doxycycline in fasted and nonfasted subjects. *Antimicrob Agents Chemother.* 11(3): 462-9.
- Whipp MJ, Davis JM, Lum G, et all. (2003). Characterization of a *novicida*-like subspecies of *Francisella tularensis* isolated in Australia. *J Med Microbiol* 52(9):839-42.
- WHO (2007). Guidelines on Tularemia. World Health Organization Epidemic and Pandemic Alert and Response. Switzerland: WHO Press
- Willke A. (2006). Tularemi. *ANKEM Derg* 20 (Ek 2): 222-6.
- Wobeser G, Campbell GD, Dallaire A, McBurney S.(2009). Tularemia, plague, yersiniosis and Tyzzer’s disease in wild rodents and lagomorphs in Canada: A review. *Can Vet J.* 50:1251–6.
- Yeşilyurt, M., Kılıç, S., Çağaşar, Ö., Çelebi, B., Gül, S. (2011). Yozgat İlinde Kene Kaynaklı İki Tularemi Olgusu, *Mikrobiyol Bul*, 45(4), 746-754.

EKLER

EK-1 SEKANS ANALİZ SONUÇLARI

M3 LOKUSU SEKANS ANALİZİ SONUÇLARI

>Belkent2012

AAAGCAACAGCAAATTCACAAAATAACAACAAAGACAACAAAGACAACAAAGACAATA
AGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATA
ATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATCAGCAAGAGCAAATG
AGCAAATGAGCAAGCTAATAAAGTTGATCAGTGTCAAAAAGAACTTAATAATAAGGAAAC
AAATAAGCTTTTATCAATGATAGATGATGATCCCAGGTGGACTTCT

>Cicekoglu

AAAAGCAACAGCAAATTCACAAAATAACAACAAAGACAACAAAGACAACAAAGACAATA
AGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATCAGCAAGAGC
AAAATGAGCAAATGAGCAAGCTAATAAAGTTGATCAGTGTCAAAAAGAACTTAATAATAA
GGAAACAAATAAGCTTTTATCAATGATAAGAATGGATGGATCCCAGGTGGACTTCT

>Karaoren

AAAAGCAACAGCAAATTCACAAAATAACAACAAAGACAACAAAGACAACAAAGACAATA
AGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATA
ATAAGGATAATAAGGATCAGCAAGAGCAAATGAGCAAATGAGCAAGCTAATAAAGTTG
ATCAGTGTCAAAAAGAACTTAATAATAAGGAAACAAATAAGCTTTTATCAATGATAGATGA
TGATCCCAGGTGGACTTCT

>Maksutlu

AAAAGCAACAGCAAATTCACAAAATAACAACAAAGACAACAAAGACAACAAAGACAATA
AGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATA
ATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATCAGCAAGAGCAAATG
AGCAAATGAGCAAGCTAATAAAGTTGATCAGTGTCAAAAAGAACTTAATAATAAGGAAAC
AAATAAGCTTTTATCAATGATAGATGATGATCCCAGGTGGACTTC

>Huyuk

AAAAGCAACAGCAAATTCACAAAATAACAACAAAGACAACAAAGACAACAAAGACAATA
AGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATA
ATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATCAGCAAGAGCAAATG
AGCAAATGAGCAAGCTAATAAAGTTGATCAGTGTCAAAAAGAACTTAATAATAAGGAAAC
AAATAAGCTTTTATCAATGATAGATGATGATCCCAGGTGGACTTCT

>Bahceici

AAAAGCAACAGCAAATTCACAAAATAACAACAAAGACAACAAAGACAACAAAGACAATA
AGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATA
ATAAGGATAATAAGGATCAGCAAGAGCAAATGAGCAAATGAGCAAGCTAATAAAGTTG
ATCAGTGTCAAAAAGAACTTAATAATAAGGAAACAAATAAGCTTTTATCAATGATAGATGA
TGATCCCAGGTGGACTTCT

>Belkent2013

AAAAGCAACAGCAAAATTCACAAAATAACAACAAAGACAACAAAGACAACAAAGACAATA
AGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATA
ATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATCAGCAAGAGCAAAATG
AGCAAAATGAGCAAGCTAATAAAGTTGATCAGTGTCAAAAAGAACTTAATAATAAGGAAAC
AAATAAGCTTTTATCAATGATAGATGATGATCCCAGGTGGACTTCT

>Dolluk

AAAAGCAACAGCAAAATTCACAAAATAACAACAAAGACAACAAAGACAACAAAGACAATA
AGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATA
ATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATAATAAGGATCAGCAAGAGCAAAATG
AGCAAAATGAGCAAGCTAATAAAGTTGATCAGTGTCAAAAAGAACTTAATAATAAGGAAAC
AAATAAGCTTTTATCAATGATAGATGATGATCCCAGGTGGACTTC

M6 LOKUSU SEKANS ANALİZİ SONUÇLARI

>Belkent2012

TTTACTGTTTTTGGTGACTGCCAACACCATAACTTATATTTATTGGTGAACCTTCTTGCTCTTT
TGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTT
GTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTAA
AATACATCTAAACTGTTCACTATCTATATCATTTATAAATTCAATATTAGGAATTAGCTCAAT
AGCTCTTTTGATTCCACTACCATAACCTGTATAAGGTAATAATGTTTTGCATATTGAGGCTAA
GATAGGGTTCCGCTGAATTGA

>Cicekoglu

TTTACTGTTTTTGGTGACTGCCAACACCATAACTTATATTTATTGGTGAACCTTCTTGCTCTTT
TGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTT
GTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTAAAATACATCTAAACTGTTCACT
ATCTATATCAATTATAAATTCATTTTCCCTGATCCAATTTAATATCTGTTTTGATTCCACTACCA
TAACCTGTATAAGGTAATAATGTTTTGCATATTGAGGATTCACCACTAAGATAGGGTTCCGC
AGAATTGA

>Karaoren

TTTACTGTTTTTGGTGACTGCCAACACCATAACTTATATTTATTGGTGAACCTTCTTGCTCTTT
TGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTT
GTGAACCTTCTTGCTCTTTTAAAATACATCTAAACTGTTCACTATCTATATCATTTATAAATTC
AAGGTATTGAGTTACCTAAAACCTTTTTGATTCCACTACCATAACCTGTATAAGGTAATA
ATGTTTTGCATATTGAGGCTAAGATAGGGTTCCGCGGAATTGA

>Maksutlu

TTTACTGTTTTTGGTGACTGCCAACACCATAACTTATATTTATTGGTGAACCTTCTTGCTCTTT
TGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTT
GTGAACCTTCTTGCTCTTTTAAAATACATCTAAACTGTTCACTATCTATATCATTTATAAATTC
AATATTAGGAATTAGCTCAACATCTTTTTGATTCCACTACCATAACCTGTATAAGGTAATAA
TGTTTTGCATATTGAGGCTAAGATAGGGTTCCGCGAATTGA

>Huyuk

TTTACTGTTTTGGTGACTGCCAACACCATAACTTATATTTATTGGTGAACCTTCTTGCTCTTT
TGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTG
GTGAACCTTCATCTCTTTTTAAAATACATCTAATTTGTTCACTATCTATACCATTTATCCTTTC
TGTCTTAGGAGTCTTTGTTGTAATTGTTTTGATTCCACTACCATAACCTGTATAAGGTGATAA
TGTTTTGCATATTGAGGATTCACCACTAAGATAGGGTTCCGCAGAATTGA

>Bahceici

TTTACTGTTTTGGTGACTGCCAACACCATAACTTATATTTATTGGTGAACCTTCTTGCTCTTT
TGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTG
GTGAACCTTCATCTCTTTTTAAAATACATCTAACCTGTTCACTATCTATATCATTATAACCTTC
CGGACGGAGTAAGCCCTCACCCACATTTTTGATTCCACTACCATAACCTGTATAAGGTGATA
ATGTTTTGCATATTGAGGATTCACCACTAAGATAGGGTTCCGCAGAATTGA

>Belkent2013

TTTACTGTTTTGGTGACTGCCAACACCATAACTTATATTTATTGGTGAACCTTCTTGCTCTTT
TGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTG
GTGAACCTTCTTGCTCTTTTTAAAATACATCCTTGCTCTTTTGGAGAATAACAGGTATAACCA
CAAAGTTTGAATTTAGTATTTTTGATTCCACTACCATAACCTGTATAAGGTAATAATGTTTT
GCATATTGAGGCTAAGATAGGGTTCCGCAGAATTGA

>Dolluk

TTTACTGTTTTGGTGACTGCCAACACCATAACTTATATTTATTGGTGAACCTTCTTGCTCCT
TTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTT
TGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTGGTGAACCTTCTTGCTCTTTTG
GTGAACCTTCATCTCTTTTTAAAATACATCTAAACTGTTCACTATCTATATCATTATAAATTC
AATATTAGGAATTAGCTCAATAGCTCTTTGATTCCACTACCATAACCTGTATAAGGTAATA
ATGTTTTGCATATTGAGGCTAAGATAGGGTTCCGCTGAATTGA

M20 LOKUSU SEKANS ANALİZİ SONUÇLARI

>Belkent2012

TATGCTTGACCTTGACTCCATGCCTCACCTGAAACAAAAGGTTTTCTTCCATGCGCCACCATCA
GCCGGATTATTACCTTGTGTCCACCATTGAGCTTCATAAGTCACACCATTAACAATAACTTTA
TCACCCTTATTGTAGACTGCTTCTGCATTCCAGTTACCAGTTGATCCAGCATTATTATTTTGAT
CATTATTTTGATCATTGCTT

>Cicekoglu

TATGCTTGACCTTGACTCCATGCCTCACCTGAAACAAAAGGTTTTTTTCCATGCGCCACCATCA
GCCGGATTATTACCTTGTGTCCACCATTGAGCTTCATAAGTCACACCATTAACAATAACTTTA
TCACCCTTATTGTAGACTGCTTCTGCATTCCAGTTACCAGTTGATCCAGCATTATTATTTTGAT
CATTATTTTGATCATTGCTT

>Karaoren

TATGCTTGACCTTGACTCCATGCCTCACCTGAAACAAAAGGTTTTTTTCCATGCGCCACCATCA
GCCGGATTATTACCTTGTGTCCACCATTGAGCTTCATAAGTCACACCATTAACAATAACTTTA

TCACCCTTATTGTAGACTGCTTCTGCATTCCAGTTACCAGTTGATCCAGCATTATTATTTTGAT
CATTATTTTGATCATTGCTT

>Maksutlu

TATGCTTGACCTTGACTCCATGCCTCACCTGAAACAAAAGGTTTTTTCCATGCGCCACCATCA
GCCGGATTATTACCTTGTGTCCACCATTGAGCTTCATAAGTCACACCATTAACAATAACTTTA
TCACCCTTATTGTAGACTGCTTCTGCATTCCAGTTACCAGTTGATCCAGCATTATTATTTTGAT
CATTATTTTGATCATTGCTT

>Huyuk

TATGCTTGACCTTGACTCCATGCCTCACCTGAAACAAAAGGTTTTTTCCATGCGCCACCATCA
GCCGGATTATTACCTTGTGTCCACCATTGAGCTTCATAAGTCACACCATTAACAATAACTTTA
TCACCCTTATTGTAGACTGCTTCTGCATTCCAGTTACCAGTTGATCCAGCATTATTATTTTGAT
CATTATTTTGATCATTGCTT

>Bahceici

TATGCTTGACCTTGACTCCATGCCTCACCTGAAACAAAAGGTTTTTTCCATGCGCCACCATCA
GCCGGATTATTACCTTGTGTCCACCATTGAGCTTCATAAGTCACACCATTAACAATAACTTTA
TCACCCTTATTGTAGACTGCTTCTGCATTCCAGTTACCAGTTGATCCAGCATTATTATTTTGAT
CATTATTTTGATCATTGCTT

>Belkent2013

TATGCTTGACCTTGACTCCATGCCTCACCTGAAACAAAAGGTTTTTTCCATGCGCCACCATCA
GCCGGATTATTACCTTGTGTCCACCATTGAGCTTCATAAGTCACACCATTAACAATAACTTTA
TCACCCTTATTGTAGACTGCTTCTGCATTCCAGTTACCAGTTGATCCAGCATTATTATTTTGAT
CATTATTTTGATCATTGCTT

>Dolluk

TATGCTTGACCTTGACTCCATGCCTCACCTGAAACAAAAGGTTTTTTCCATGCGCCACCATCA
GCCGGATTATTACCTTGTGTCCACCATTGAGCTTCATAAGTCACACCATTAACAATAACTTTA
TCACCCTTATTGTAGACTGCTTCTGCATTCCAGTTACCAGTTGATCCAGCATTATTATTTTGAT
CATTATTTTGATCATTGCTT

M21 LOKUSU SEKANS ANALİZİ SONUÇLARI

>Belkent2012

TAGTTTGGCGGAGCTAATAAAGATCCCTTATGGAGAACTATCAGCTATCGTAAAGAAGCT
ACAAATATTGGTAAACCAACTGCTTTTAGAGCTGTAGCTAATGCTAATGGTAAGAATCTATT
ACCCATAATTATTCCTTGTCATCGCGTAATTAATACTAACGGTAACTTGGTGGCTATAACCAG
TGGATTATATAAAAAAGAGTTTTTGTAAATCTAGAACACTCGATTCTAATACACAAAAATT
AGATTATAAGTTGCTCAATTATCAATTATCAATTATCATAAAAAATGATAAGCACTTATGCTTT
ATTATGTCAAACCTTTTAATAGGAGAAAA

>Cicekoglu

TAGTTTGGCGGAGCTAATAAAGATCCCTTATGGAGAACTATCAGCTATCGTAAAGAAGCT
ACAAATATTGGTAAACCAACTGCTTTTAGAGCTGTAGCTAATGCTAATGGTAAGAATCTATT
ACCCATAATTATTCCTTGTCATCGCGTAATTAATACTAACGGTAACTTGGTGGCTATAACCAG

TGGATTATATAAAAAAGAGTTTTTGTAAATCTAGAACACTCGATTCTAATACACAAAAATT
AGATTATAAGTTGCTCAAATTATCAATTATCATAAAAAATGATAAGCACTTATGCTTTATTAT
GTCAAACTTTTAATAGGAGAAAA

>Karaoren

TAGTTTGGCGGGAGCTAATAAAGATCCCTTATGGAGAACTATCAGCTATCGTAAAGAAGCT
ACAAATATTGGTAAACCAACTGCTTTTAGAGCTGTAGCTAATGCTAATGGTAAGAATCTATT
ACCCATAATTATTCCTTGTCATCGCGTAATTAATACTAACGGTAACTTGGTGGCTATAACCAG
TGGATTATATAAAAAAGAGTTTTTGTAAATCTAGAACACTCGATTCTAATACACAAAAATT
AGATTATAAGTTGCTCAAATTATCCAATTATCATAAAAAATGATAAGCACTTATGCTTTATTAT
GTCAAACTTTTAATAGGAGAAAA

>Maksutlu

TAGTTTGGCGGGAGCTAATAAAGATCCCTTATGGAGAACTATCAGCTATCGTAAAGAAGCT
ACAAATATTGGTAAACCAACTGCTTTTAGAGCTGTAGCTAATGCTAATGGTAAGAATCTATT
ACCCATAATTATTCCTTGTCATCGCGTAATTAATACTAACGGTAACTTGGTGGCTATAACCAG
TGGATTATATAAAAAAGAGTTTTTGTAAATCTAGAACACTCGATTCTAATACACAAAAATT
AGATTATAAGTTGCTCAAATTATCCAATTATCATAAAAAATGATAAGCACTTATGCTTTATTAT
GTCAAACTTTTAATAGGAGAAAA

>Huyuk

TAGTTTGGCGGGAGCTAATAAAGATCCCTTATGGAGAACTATCAGCTATCGTAAAGAAGCT
ACAAATATTGGTAAACCAACTGCTTTTAGAGCTGTAGCTAATGCTAATGGTAAGAATCTATT
ACCCATAATTATTCCTTGTCATCGCGTAATTAATACTAACGGTAACTTGGTGGCTATAACCAG
TGGATTATATAAAAAAGAGTTTTTGTAAATCTAGAACACTCGATTCTAATACACAAAAATT
AGATTATAAGTTGCTCAAATTATCAATTATCATAAAAAATGATAAGCACTTATGCTTTATTAT
GTCAAACTTTTAATAGGAGAAAA

>Bahceici

TAGTTTGGCGGAGCTAATAAAGATCCCTTATGGAGAACTATCAGCTATCGTAAAGAAGCT
ACAAATATTGGTAAACCAACTGCTTTTAGAGCTGTAGCTAATGCTAATGGTAAGAATCTATT
ACCCATAATTATTCCTTGTCATCGCGTAATTAATACTAACGGTAACTTGGTGGCTATAACCAG
TGGATTATATAAAAAAGAGTTTTTGTAAATCTAGAACACTCGATTCTAATACACAAAAATT
AGATTATAAGTTGCTCAAATTATCCAATTATCATAAAAAATGATAAGCACTTATGCTTTATTAT
GTCAAACTTTTAATAGGAGAAAA

>Belkent2013

TAGTTTGGCGGAGCTAATAAAGATCCCTTATGGAGAACTATCAGCTATCGTAAAGAAGCT
ACAAATATTGGTAAACCAACTGCTTTTAGAGCTGTAGCTAATGCTAATGGTAAGAATCTATT
ACCCATAATTATTCCTTGTCATCGCGTAATTAATACTAACGGTAACTTGGTGGCTATAACCAG
TGGATTATATAAAAAAGAGTTTTTGTAAATCTAGAACACTCGATTCTAATACACAAAAATT
AGATTATAAGTTGCTCAATTATCAATTATCAATTATCATAAAAAATGATAAGCACTTATGCTTT
ATTATGTCAAACTTTTAATAGGAGAAAA

>Dolluk

TAGTTTGGCGGAGCTAATAAAGATCCCTTATGGAGAACTATCAGCTATCGTAAAGAAGCT
ACAAATATTGGTAAACCAACTGCTTTTAGAGCTGTAGCTAATGCTAATGGTAAGAATCTATT
ACCCATAATTATTCCTTGTTCATCGCGTAATTAATACTAACGGTAACTTGGTGGCTATACCAG
TGGATTATATAAAAAAGAGTTTTTGTAAATCTAGAACACTCGATTCTAATACACAAAAATT
AGATTATAAGTTGCTCAATTATCAATTATCAATTATCATAAAAAATGATAAGCACTTATGCTTT
ATTATGTCAAACCTTTAATAGGAGAAAA

M22 LOKUSU SEKANS ANALİZİ SONUÇLARI

>Belkent2012

AAACGCTTTAAATTACCCATTTATTGTAAAGCCGCGGTGGAAAGGC AAAAACAAAATCGGG
GAACTTTAAAAACGCGATTCAAACGGCTATATTTAGACAAAGTGAAAATATAAACAAAA
TAAAAATAAAAAATAAAAAACGGGTAATCAACAACAAGCACTTTCAGAAAATTCCAAAGAT
GTAAAATCACTAACAGCGGACAAAAAAAACCTCCAA

>Cicekoglu

AAACGCTTTAAATTACCTATTTATTGTAAAGCCGCGGTGGAAAGGC AAAAACAAAATCGGG
GAACTTTAAAAACGCGATTCAAACGGCTATATTTAGACAAAGTGAAAATATAAACAAAA
TAAAAATAAAAAATAAAAAACGGGTAATCAACAACAAGCACTTTCAGAAAATTCCAAAGAT
GTAAAATCACTAACAGCGGACAAAAAAAACCTCCAA

>Karaoren

AAACGCTTTAAATTACCAATTTATTGTAAAGCCGCGGTGGAAAGGC AAAAACAAATATCGGG
GAACTTTAAAAACGCGATTCAAACGGCTATATTTAGACAAAGTGAAAATATAAACAAAA
TAAAAATAAAAAATAAAAAACGGGTAATCAACAACAAGCACTTTCAGAAAATTCCAAAGAT
GTAAAATCACTAACAGCGGACAAAAAAAACCTCCAA

>Maksutlu

AAACGCTTTAAATTACCAATTTATTGTAAAGCCGCGGTGGAAAGGC AAAAACAAAATCGGG
GAACTTTAAAAACGCGATTCAAACGGCTATATTTAGACAAAGTGAAAATATAAACAAAA
TAAAAATAAAAAATAAAAAACGGGTAATCAACAACAAGCACTTTCAGAAAATTCCAAAGAT
GTAAAATCACTAACAGCGGACAAAAAAAACCTCCAA

>Huyuk

AAACGCTTTAAATTACCAATTTATTGTAAAGCCGCGGTGGAAAGGC AAAAACAAATATCGGG
GAACTTTAAAAACGCGATTCAAACGGCTATATTTAGACAAAGTGAAAATATAAACAAAA
TAAAAATAAAAAATAAAAAACGGGTAATCAACAACAAGCACTTTCAGAAAATTCCAAAGAT
GTAAAATCACTAACAGCGGACAAAAAAAACCTCCAA

>Bahceici

AAACGCTTTAAATTACCAATTTATTGTAAAGCCGCGGTGGAAAGGC AAAAACAAAATCGGG
GAACTTTAAAAACGCGATTCAAACGGCTATATTTAGACAAAGTGAAAATATAAACAAAA
TAAAAATAAAAAATAAAAAACGGGTAATCAACAACAAGCACTTTCAGAAAATTCCAAAGAT
GTAAAATCACTAACAGCGGACAAAAAAAACCTCCAA

>Belkent2013

AAACGCTTTAAAATACCGATTTATTGTAAAGCCGCGGTGGAAAGGCAAAAACAAAATCGGG
GAACCTTTAAAAACGCGATTCAAACGGCTATATTTAGACAAAAGTGAAAATATAAACAAAA
TAAAAATAAAAATAAAAATACGGGTAATCAACAACAAGCACTTTCAGAAAATTCCAAAGAT
GTAAAATCACTAACAGCGGACAAAAAAAACCTCCAA

>Dolluk

AAACGCTTTAAATTACCAATTTATTGTAAAGCCGCGGTGGAAAGGCAAAAACAATATCGGG
GAACCTTTAAAAACGCGATTCAAACGGCTATATTTAGACAAAAGTGAAAATATAAACAAAA
TAAAAATAAAAATAAAAATACGGGTAATCAACAACAAGCACTTTCAGAAAATTCCAAAGAT
GTAAAATCACTAACAGCGGACAAAAAAAACCTCCAA

M24 LOKUSU SEKANS ANALİZİ SONUÇLARI

>Belkent2012

ACATATGGTTGTTTTAGTTTTTTTAGGACTATTGTA ACTACTAGAATGCCCAGCATTACAAAA
ACGAAAATGGAAATCAAAGACTCGTTGTGCATATCTTTACATCATAAAAATAACTACAGTAAT
AATACTGCATATATTAACAAATTATACTAAGATTATTAATTCTCTCTAAATTATTTATTGTA
TAAATTATTTATTTTGATTAATAAATTATTTATTTTGATTAAAGTCACGTAGCCACTCTTTATA
ACCCAGATAAACCAATATTAAGAATATTGCATATTGTAAAGCCGTAACATGGTAACCTTTAT
AAATAAATAGAGGTA CTGAAATAATATCCGCTATAGCCATAAGTACCAACTCTCTATTGCT
CTTTTTATCATCAAATAAACTCCTGCAAAAGATATTGCGGTAACAAAGGCATCTTTAAATGA
A

>Cicekoglu

ACATATGGTTGTTTTAGTTTTTTTAGGACTATTGTA ACTACTAGAATGCCCAGCATTACAAAA
ACGAAAATGGAAATCAAAGACTCGTTGTGCATATCTTTACATCATAAAAATAACTACAGTAAT
AATACTGCATATATTAACAAATTATACTAAGATTATTAATTCTCTCTAAATTATTTATTGTA
TAAATTATTTATTTTGATTAATAAATTATTTATTTTGATTAAAGTCACGTAGCCACTCTTTATA
ACCCAGATAAACCAATATTAAGAATATTGCATATTGTAAAGCCGTAACATGGTAACCTTTAT
AAATAAATAGAGGTA CTGAAATAATATCCGCTATAGCCATAAGTACCAACTCTCTATTGCT
CTTTTTATCATCAAATAAACTCCTGCAAAAGATATTGCGGTAACAAAGGCATCTATAAATGA
A

>Karaoren

ACATATGGTTGTTTTAGTTTTTTTAGGACTATTGTA ACTACTAGAATGCCCAGCATTACAAAA
ACGAAAATGGAAATCAAAGACTCGTTGTGCATATCTTTACATCATAAAAATAACTACAGTAAT
AATACTGCATATATTAACAAATTATACTAAGATTATTAATTCTCTCTAAATTATTTATTGTA
TAAATTATTTATTTTGATTAATAAATTATTTATTTTGATTAAAGTCACGTAGCCACTCTTTATA
ACCCAGATAAACCAATATTAAGAATATTGCATATTGTAAAGCCGTAACATGGTAACCTTTAT
AAATAAATAGAGGTA CTGAAATAATATCCGCTATAGCCATAAGTACCAACTCTCTATTGCT
CTTTTTATCATCAAATAAACTCCTGCAAAAGATATTGCGGTAACAAAGGCATCTTTAAATGA
A

>Maksutlu

ACATATGGTTGTTTTAGTTTTTTTAGGACTATTGTAECTACTAGAATGCCCAGCATTACAAAA
ACGAAAATGGAAATCAAAGACTCGTTGTGCATATCTTTACATCATAAAAATAACTACAGTAAT
AATACTGCATATATTAACAAATTATACTAAGATTATTAATTCTCTCTAAATTATTTATTGTA
TAAATTATTTATTTTGATTAATAAATTATTTATTTTGATTAAAGTCACGTAGCCACTCTTTATA
ACCCAGATAAACCAATATTAAGAATATTGCATATTGTAAAGCCGTAACATGGTAACCTTTAT
AAATAAATAGAGGTACTGAAATAATATCCGCTATAGCCATAAGTACCAACTCTCTATTGCT
CTTTTTATCATCAAATAAACTCCTGCAAAAGATATTGCGGTAACAAAGGCATCTATAAATGA
A

>Huyuk

ACATATGGTTGTTTTAGTTTTTTTAGGACTATTGTAECTACTAGAATGCCCAGCATTACAAAA
ACGAAAATGGAAATCAAAGACTCGTTGTGCATATCTTTACATCATAAAAATAACTACAGTAAT
AATACTGCATATATTAACAAATTATACTAAGATTATTAATTCTCTCTAAATTATTTATTGTA
TAAATTATTTATTTTGATTAATAAATTATTTATTTTGATTAAAGTCACGTAGCCACTCTTTATA
ACCCAGATAAACCAATATTAAGAATATTGCATATTGTAAAGCCGTAACATGGTAACCTTTAT
AAATAAATAGAGGTACTGAAATAATATCCGCTATAGCCATAAGTACCAACTCTCTATTGCT
CTTTTTATCATCAAATAAACTCCTGCAAAAGATATTGCGGTAACAAAGGCATCTATAAATGA
A

>Bahceici

ACATATGGTTGTTTTAGTTTTTTTAGGACTATTGTAECTACTAGAATGCCCAGCATTACAAAA
ACGAAAATGGAAATCAAAGACTCGTTGTGCATATCTTTACATCATAAAAATAACTACAGTAAT
AATACTGCATATATTAACAAATTATACTAAGATTATTAATTCTCTCTAAATTATTTATTGTA
TAAATTATTTATTTTGATTAATAAATTATTTATTTTGATTAAAGTCACGTAGCCACTCTTTATA
ACCCAGATAAACCAATATTAAGAATATTGCATATTGTAAAGCCGTAACATGGTAACCTTTAT
AAATAAATAGAGGTACTGAAATAATATCCGCTATAGCCATAAGTACCAACTCTCTATTGCT
CTTTTTATCATCAAATAAACTCCTGCAAAAGATATTGCGGTAACAAAGGCATCTATAAATGA
A

>Belkent2013

ACATATGGTTGTTTTAGTTTTTTTAGGACTATTGTAECTACCTAAGAATGCCCAGCATTACAA
AAACGAAAATGGAAATCAAAGACTCGTTGTGCATATCTTTACATCATAAAAATAACTACAGTA
ATAATACTGCATATATTAACAAATTATACTAAGATTATTAATTCTCTCTAAATTATTTATTG
TATAAATTATTTATTTTGATTAATAAATTATTTATTTTGATTAAAGTCACGTAGCCACTCTTTA
TAACCCAGATAAACCAATATTAAGAATATTGCATATTGTAAAGCCGTAACATGGTAACCTTT
ATAAATAAATAGAGGTACTGAAATAATATCCGCTATAGCCATAAGTACCAACTCTCTATTG
CTTTTTATCATCAAATAAACTCCTGCAAAAGATATTGCGGTAACAAAGGCATCTATAAAT
GAA

>Dolluk

ACATATGGTTGTTTTAGTTTTTTTAGGACTATTGTAECTACTAGAATGCCCAGCATTACAAAA
ACGAAAATGGAAATCAAAGACTCGTTGTGCATATCTTTACATCATAAAAATAACTACAGTAAT
AATACTGCATATATTAACAAATTATACTAAGATTATTAATTCTCTCTAAATTATTTATTGTA

TAAATTATTTATTTTGATTAATAAATTATTTATTTTGATTAAGTCACGTAGCCACTCTTTATA
ACCCAGATAAACCAATATTAAGAATATTGCATATTGTAAAGCCGTAACATGGTAACCTTTAT
AAATAAATAGAGGTACTGAAATAATATCCGCTATAGCCATAAGTACCAACTCTCTATTGCT
CTTTTATCATCAAATAAACTCCTGCAAAAGATATTGCGGTAACAAAGGCATCTATAAATGA



EK-2 ETİK KURUL KARAR FORMU



CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU


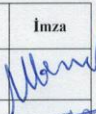
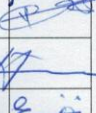
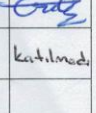
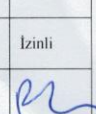
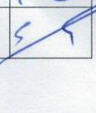


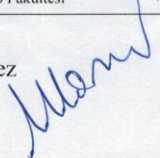
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Sivas Yöresinden İzole Edilen <i>Francisella tularensis</i> subsp. <i>holarctica</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık ve MLVA Profillerinin Araştırılması
-----------------------	---

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 219 10 10 / Dahili: 2092
	FAKS	-
	E-POSTA	gokaek2014@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ataş			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Farmasötik Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yüksek lisans tezi			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Muhittin Sönmez
İmza:

EK-2 ETİK KURUL KARAR FORMU

	CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU																
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Sivas Yöresinden İzole Edilen <i>Francisella tularensis</i> subsp. <i>holarctica</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık ve MLVA Profillerinin Araştırılması																
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">Belge Adı</th> <th style="width: 15%;">Tarihi</th> <th style="width: 15%;">Versiyon Numarası</th> <th style="width: 40%;">Dili</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ</td> <td></td> <td></td> <td>Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU</td> <td></td> <td></td> <td>Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>OLGU RAPOR FORMU</td> <td></td> <td></td> <td>Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili														
ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>														
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>														
OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>														
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 40%;">Belge Adı</th> <th style="width: 60%;">Açıklama</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SİGORTA</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>ARAŞTIRMA BÜTÇESİ</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>İLAN</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>YILLIK BİLDİRİM</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>SONUÇ RAPORU</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>DİĞER:</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>	Belge Adı	Açıklama	SİGORTA	<input type="checkbox"/>	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	İLAN	<input type="checkbox"/>	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	DİĞER:	<input type="checkbox"/>
Belge Adı	Açıklama																
SİGORTA	<input type="checkbox"/>																
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>																
BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>																
İLAN	<input type="checkbox"/>																
YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>																
SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>																
DİĞER:	<input type="checkbox"/>																
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2017-10/12 Tarih: 04.10.2017 Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerden gerekli izin alınarak gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.																
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU																	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Helsinki Bildirgesi, Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Yönergesi																
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Muhittin Sönmez																
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza											
Prof. Dr. Muhittin Sönmez	Anotomi	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>												
Prof. Dr. Yalçın Karagöz	Biyostatistik	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>												
Doç. Dr. Hatice Özer	Patoloji	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>												
Doç. Dr. Ercan Özdemir	Fizyoloji	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>												
Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>												
Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ataş	Farmasötik Mikrobiyoloji	Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>												
Yrd. Doç. Dr. Recai Zan	Endodonti	Cumhuriyet Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	İzinli											
Yrd. Doç. Dr. Binnur Bağcı	Beslenme ve Diyetetik	Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimler Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>												
Yrd. Doç. Dr. Engin Altinkaya	İç Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>												
Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Muhittin Sönmez İmza: 																	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Elif TUTMAÇ
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas-1990
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji ABD, 58140-Sivas
E-posta Adresi	elifttmc@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Halil Rıfat Paşa Lisesi, 2007
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2015
Ünvan	Biyolog

İş Tecrübesi

Milli Eğitim Bakanlığı	Biyoloji Öğretmenliği, 2015-2016
Özel Öğretim Kursu	Biyoloji Öğretmenliği, 2018-2019
Özel Anadolu Lisesi	Biyoloji Öğretmenliği, 2018-2019