

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM
DALI**

**TULAREMİ: EPİDEMİYOLOJİK, KLİNİK, LABORATUAR
DEĞERLENDİRİLMESİ VE İNTERFERON GAMA 874 T/A,
NRAMP1 INT4 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Hatice ÜDÜRGÜCÜ**

**TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Görevlisi Ayşe SAĞMAK TARTAR**

**ELAZİĞ
2018**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ahmet KAZEZ

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ayhan AKBULUT

Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Görevlisi Ayşe SAĞMAK TARTAR _____

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Ayhan AKBULUT, Prof. Dr. Kutbeddin DEMİRDAĞ, Yrd. Doç. Dr. Şafak ÖZER BALİN'e ve tez çalışmamın her aşamasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm tez danışmanı ve sorumlusu değerli hocam Dr. Öğr. Görevlisi Ayşe SAĞMAK TARTAR'a teşekkürü bir borç ve görev bilirim.

Tezimin çalışma aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD öğretim üyesi Dr. Öğr. Görevlisi Aşkın ŞEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım boyunca beraber çalıştığım Uzm. Dr. Yasemin KIRIK, Uzm. Dr. Derya BESLENTİ, Uzm. Dr. Birhan AKBAYIR, Uzm. Dr. Sümeyye SELİM KARA'ya ve beraber çalışmakta olduğum Dr. İsa Ahmet BAL, Dr. Büşra TANIR, Dr. Mesut BATUR'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'mızda görevli tüm hemşire arkadaşlarım ve personelimize teşekkürlerimi sunarım.

Genlerini taşımaktan onur duyduğum, sevgileriyle yoğrulup olgunlaştığım, yaşam kaynağım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu zorlu süreçte her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen sevgili eşim Muhammed ÜDÜRGÜCÜ'ye, beni hayata bağlayan oğlum Mustafa Kerem ve kızım Elif Rana'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	3
1.1.1. Tularemi Tanımı	3
1.1.2. Tarihçe	3
1.1.3. Mikrobiyolojik Özellikler	4
1.1.3.1. Mikroskopik görünüm, boyanma ve biyokimyasal özellikler	4
1.1.3.2. Sınıflandırma ve alt türler	6
1.1.4. Epidemiyoloji ve coğrafik dağılım	7
1.1.4.1. Dünyada Tularemi	7
1.1.4.2. Türkiye’de Tularemi	8
1.1.4.3. Demografik özellikler	10
1.1.5. Risk grupları	11
1.1.6. Vektör ve doğal rezervuarlar	12
1.1.7. Evcil Hayvanlarda Tularemi	13
1.1.8. Bulaş yolları	13
1.1.9. Patogenez	15
1.1.10. Enfeksiyona Karşı İmmünite ve Konak Cevap	16
1.1.10.1. Doğal immünite	16
1.1.10.2. Adaptif immünite	17
1.1.11. Klinik Tablolar	18
1.1.11.1. Ülseroglandüler Tularemi	19
1.1.11.2. Glandüler Tularemi	19

1.1.11.3. Oküloglandüler Tularemi	20
1.1.11.4. Faringeal (Orofaringeal) Tularemi	20
1.1.11.5. Tifoidal Tularemi	21
1.1.11.6. Pnömonik Tularemi	21
1.1.11.7. Tularemiye Bağlı Sekonder Cilt Belirtileri	21
1.1.11.8. Komplikasyonlar	22
1.1.12. Tanı	22
1.1.12.1. Etkenin direkt olarak gösterilmesi: Mikroskopi ve Direkt Floresan Antikor	23
1.1.12.2. Kültür	24
1.1.12.3. Moleküler tanı yöntemleri	24
1.1.12.4. Serolojik tanı yöntemleri	25
1.1.13. Vaka tanımları	27
1.1.14. Ayrıcı tanı	27
1.1.15. Örneklerin alınması ve saklanması	28
1.1.16. Bildirim	30
1.1.17. Tedavi	30
1.1.17.1. Aminoglikozitler	30
1.1.17.2. Tetrasiklinler	31
1.1.17.3. Kinolonlar	32
1.1.17.4. Kloramfenikol	32
1.1.17.5. Antibiyotik direnci	33
1.1.17.6. Temas sonrası profilaksi	33
1.1.18. Interferon Gama (IFN- γ)	34
1.1.18.1. Interferon Gama (IFN- γ)'nın Fonksiyonları	34
1.1.18.2. Doğal Ve Kazanılmış İmmun Cevabın Regülasyonunda IFN- γ 'nın rolü	35
1.1.18.3. Interferon Gama (IFN- γ)'nın Moleküler Genetiği	36
1.1.19. Metal İyonu Taşıyıcı Protein (natural resistance Associated Macrophage Protein, SLC11A1-NRAMP1) Geni	37
1.1.19.1. Metal İyonu Taşıyıcı Protein (Natural Resistance Associated Macrophage Protein, SLC11A1-NRAMP1) Geni Moleküler Genetiği	38

2. GEREÇ ve YÖNTEM	40
2.1. Genotip Araştırılması	40
2.2. İstatistiksel Analiz	41
3. BULGULAR	42
4. TARTIŞMA	55
5. KAYNAKLAR	68
6. EKLER	89
7. ÖZGEÇMİŞ	89



TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	1936-2010 yılları arasında ülkemizde bildirilen tularemi salgınları	10
Tablo 2.	Tularemi formuna göre şikayetlerin dağılımı	44
Tablo 3.	Tularemi formuna göre bulguların dağılımı	45
Tablo 4.	Lenfadenopati lokalizasyon dağılımı	45
Tablo 5.	Patoloji sonucuna göre dağılım	46
Tablo 6.	Başvuru süresine göre patoloji sonucu	46
Tablo 7.	Başvuru süresine göre mikroagglütinasyon sonucu	47
Tablo 8.	Hastaların başvuru anındaki laboratuvar değerleri	48
Tablo 9.	Uzun dönem lenfadenopati ile çeşitli klinik ve laboratuvar parametreleri ile karşılaştırılması	49
Tablo 10.	Hasta ve kontrol gruplarındaki IFNG +874 A/T genotip sıklıklarının karşılaştırılması	50
Tablo 11.	Hasta grubunun genotiplerine göre başvuru sırasında sık görülen şikayetlerinin karşılaştırılması	51
Tablo 12.	Hasta grubunun genotiplerine göre başvuru sırasında sık görülen fizik muayene bulgularının karşılaştırılması	51
Tablo 13.	Hastaların tularemi klinik formu ile IFNG +874 T/A polimorfik özellik gösteren varyant allel görülme sıklığı	51
Tablo 14.	Hasta ve kontrol gruplarındaki NRAMP-1 Int4 genotip sıklıklarının karşılaştırılması	52
Tablo 15.	Hasta grubunun NRAMP-1 Int4 genotiplerine göre başvuru sırasında sık görülen şikayetlerinin karşılaştırılması	53
Tablo 16.	Hasta grubunun NRAMP-1 Int4 genotiplerine göre başvuru sırasında sık görülen fizik muayene bulgularının karşılaştırılması	53
Tablo 17.	Hastaların tularemi klinik formu ile NRAMP-1 Int4 varyant allel görülme sıklığı	54

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	<i>Francisella tularensis</i> 'in gram boyamada görünümü	5
Şekil 2.	<i>Francisella tularensis</i> 'in kültürdeki görünümleri	6
Şekil 3.	Dünyada tulareminin görüldüğü bölgeler	8
Şekil 4.	İnguinal bölgede glandüler tularemi görülmektedir.	19
Şekil 5.	Servikal bölgede glandüler tularemi görülmektedir.	20
Şekil 7.	Vaka sayılarının yıllara göre dağılımı	42
Şekil 8.	Kullanılan suya göre vakaların dağılımı	43
Şekil 9.	Klinik formlara göre hasta sayıları	44
Şekil 10.	Mikroagglütinasyon düzeyine göre hasta sayısı	47
Şekil 11.	Hasta ve kontrol gruplarındaki IFNG +874 A/T genotip sıklıklarının karşılaştırılması	50

ÖZET

Tularemî, kuzey yarım kürede endemik olarak görülebilen zoonotik bir hastalıktır. Hastalığın etkeni olan *Francisella tularensis*, fakültatif hücre içi patojendir. IFN- γ ve NRAMP1 intrasellüler bakterilerin yol açtığı hastalıkların kontrolünde önemli rol oynar. Bu çalışmada tularemî tanısı almış hastaların epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar özelliklerinin değerlendirilmesi, bu hastalarda NRAMP1 INT4, IFN- γ 874 T/A polimorfizmlerinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmamız 2011 – 2017 yılları arasında tularemî tanısı alan 53 hastaya ulaşıldı. 26 hasta kontrol muayene ve genetik çalışmaya katılmayı kabul etti. 10 sağlıklı kontrol grubu seçildi. İstatistiksel analiz için $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Hastaların 33 (%62,3)'ü glandüler, 19 (%35,8)'u orofarengeal, 1 (%1,9)'i ülseroglandüler tularemîydi. Çalışmaya katılan 26 hastanın kontrol ultrasonografisinde 16 (%61,5)'sında lenfadenopati saptanmazken, 10 (%38,4) hastada lenfadenopati boyutlarında ilk başvurularına göre küçülme vardı. Hasta grubunda IFN- γ genotipleri; AA %48, AT %40, TT %12 bulundu. Kontrol grubunda ise AA genotipi %30, TT genotipi %24, AT genotipi %46 oranında saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında IFN- γ 874 A/T varyant allel (AT/TT) görülme sıklığı açısından istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p=0,038$). Hasta grubunda NRAMP-1 Int4 genotipleri; G/G %52, G/C %40, C/C %8 bulundu. Kontrol grubunda allel dağılımları, G/G %63, G/C %35, C/C %2 idi. Hasta ve kontrol grubu arasında NRAMP-1 Int4 polimorfizmi görülme sıklığı farklıydı ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.248$).

Çalışmamız tularemî olgularında INF- γ 874 T/A gen polimorfizmi ilişkisinin araştırıldığı ve anlamlı sonuç bulunduğu ilk çalışmadır. Bu konuda daha fazla hastayla yapılacak çok merkezli klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Hastalığa yatkınlıkla ilgili genetik faktörlerin aydınlatılması; hastalık patogenezinin ortaya konmasına, yeni farmakolojik hedeflerin belirlenmesine, etkinliği daha yüksek aşuların geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

Anahtar kelimeler: tularemî, polimorfizm, INF- γ 874 T/A, NRAMP-1 Int4

ABSTRACT

TULAREMIA: EPIDEMIOLOGICAL, CLINICAL, LABORATORY ASSESSMENT AND INTERFERON GAMMA 874 T/A, NRAMP1 INT4 GENE POLYMORPHISMS STUDY

Tularemia is a zoonotic disease that can be seen as endemic in the northern hemisphere. *Francisella tularensis*, which is the causative agent of the disease, is a facultative intracellular pathogen. IFN- γ and NRAMP-1 play an important role for the control of the disease caused by intracellular bacteria. In this study, we aimed to evaluate the epidemiological, clinical and laboratory characteristics of patients diagnosed with tularemia and to investigate the polymorphisms of NRAMP-1 Int4 and IFN- γ 874 T/A in these patients.

The 53 patients diagnosed with tularemia between 2011 and 2017 were called. The 26 of these patients agreed to participate the control examination and genetic study. A control group with 100 healthy person was selected. For the statistical analysis, $p < 0.05$ was considered as significant. A total of 33 (62.3%) patients were glandular, 19 (35.8%) were oropharyngeal, and 1 (1.9%) was ulceroglandular tularemia. Lymphadenopathy was not detected in 16 (61.5%) of 26 patients who participated in the study, whereas lymphadenopathy size was reduced in 10 (38.4%) patients according to the initial application records. In the patient group, IFN- γ genotypes were found as 48% for AA, 40% for AT, and 12% for TT. In the control group, the AA genotype was 30%, TT genotype was 24% and AT genotype was 46%. There was a statistically significant difference for the incidence rate of IFN- γ 874 A/T variant allele (AT/TT) between the patient and control group ($p = 0.038$).

NRAMP-1 int4 genotypes were found in the patient group such as 52% for G/G, 40% for G/C, and 8% for C/C. Allel distributions in the control group were 63% for G/G, 35% for G/C, 2% for C/C. The incidence rate of NRAMP-1 Int4 polymorphism was different between the patient and control group, but no statistically significant difference was found ($p = 0.248$).

This is the first study in which the relationship of INF- γ 874 T/A gene polymorphism with tularemia cases was investigated and significant results were found. There is a need for multi-center clinical studies to be done with more patients in this topic. Understanding genetic factors related to the susceptibility of the disease will

help to identify pathogenesis, have new pharmacological targets, and develop effective vaccines.

Keywords: Tularemia, polymorphism, INF- γ 874 T/A, NRAMP-1 Int4



KISALTMALAR LİSTESİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
CA	: Sitozin adenin
CRP	: C-Reaktif Protein
CXC	: Kemokin
DFA	: Direk Floresan Antikor
DH	: Dentritik hücre
EDTA	: Etilendiamintetraasetikasit
EIA	: Enzim Immünoassay
ESR	: Eritrosit Sedimentasyon Hızı
<i>F. tularensis</i>	: <i>Francisella tularensis</i>
IFAT	: İndirekt Floresan Antikor Testi
IFN- γ	: İnterferon gama
IL	: İnterlökin
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
LPS	: Lipopolisakkarid
LVS	: Canlı aşı formu
MA	: Mikroaglutinasyon
MAF	: Makrofaj aktivatör faktör
MAT	: Mikro-aglutinasyon testi
NK	: Natural killer
NO	: Nitrik oksit
NRAMP1	: Natural resistance associated macrophage protein 1
SLC11A1	: Solute carrier family 11 member a1
SOD	: Süperoksit dismutaz
TA	: Tüp aglutinasyon
TLR2	: Toll like reseptör 2
WB	: Western-Blot

1. GİRİŞ

Tularemi kuzey yarım kürede endemik olarak görülebilen zoonotik bir hastalıktır. Hastalığın etkeni *Francisella tularensis*'dir (*F. Tularensis*). *F. Tularensis* gram negatif, küçük kokobasil morfolojisinde bir bakteridir (1). Başlıca konak makrofajlarında çoğalan, ancak aynı zamanda diğer birçok hücre türünü de etkileyebilen fakültatif hücre içi patojendir (2).Tularemi, ülkemizde de endemik olarak görülen bir hastalıktır (3). İnsanlar enfeksiyonu birkaç yoldan alıp farklı klinik tablolar gösterebilir. Genel olarak laboratuvar çalışanları, çiftçiler, bahçıvanlar tularemi için riskli kişilerdir. Francisella enfeksiyonundan kaynaklanan klinik belirtiler, kısmen enfekte eden türün virülansı, giriş yeri, bakteri yoğunluğu ve konağın immün durumuna bağlı olarak asemptomatik hastalıktan septik şok ve ölüme kadar değişmektedir (4).

Enfeksiyonların oluşumu mikroorganizmalar ile konağın bağışıklık sistemi arasında gelişen karmaşık ilişkilerin sonucudur. Aynı bakteri ile karşılaşılmasına rağmen her bireyde hastalık oluşmamakta ya da klinik olarak çok farklı tablolar gelişebilmektedir. Tulareminin oluşumunda çevre faktörlerinin yanında konak savunmasındaki pek çok genetik faktörün hastalığa yakınlıkta rolü olduğu düşünülmektedir. Diğer hücre içi etkinliği olan bakterilerin yol açtığı enfeksiyonlarda önemli olduğu düşünülen, çeşitli genetik polimorfizmlerin ve sitokinlerin, tularemiye yakınlıkta da araştırıldığı görülmektedir.

İnterferon γ başlıca CD4+ T (özellikle Th1 grubu) hücreleri ve NK hücreleri tarafından sentez edilir. IFN γ bilinen en güçlü makrofaj aktivatörüdür. IFN γ 'ya maruz kalma sonucunda; makrofajların mikrobisidal aktiviteleri, daha düşük seviyede de sitotoksik kapasiteleri artar. IFN γ makrofajları etkileyerek; IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α gibi sitokinlerin salınmasına yol açar. Bunun yanısıra proteolitik enzimler, transkripsiyon faktörleri de sentezleyerek özellikle intrasellüler bakterilerin yol açtığı hastalıkların kontrolünde önemli rol oynar. Th 1 hücreleri üzerinden hücrel immüniteyi artırır. Mononükleer fagositler patojenlere karşı konağın savunulmasında önemli rollere sahiptir. Makrofajlar hücre içi patojenleri yok ederek ve T hücrelerine antijen sunarak immün sistemde rol oynamaktadır. Makrofajlar bu fonksiyonlarını Makrofaj aktivatör faktör (MAF) olarak adlandırılan ve önemli bir komponentini IFN γ 'nın yaptığı moleküller ile artırırlar. Böylece makrofajlarda

inflamatuvar süreçte IFN γ etkileşimi ile hücre içi patojenlerin yok edilme yeteneği ve IFN γ etkisi ile MHC sınıf II gen ekspresyonu arttırılır (5).

İnterferon γ , 166 aminoasitten oluşan bir proteindir. 12q24.1'de lokalize olan IFN γ geni tarafından kodlanır. Bu gen, 4 ekzon ve 3 introndan oluşmaktadır. IFN γ geninin birinci intronu sitozin adenin (CA) mikrosatellit tekrarı ile 6 kadar allel içerir ve bu tekrar bölgeleri oldukça polimorfiktir. On iki CA tekrarı içeren allel 2, in vitro ortamda yüksek IFN üretimi ile ilişkilendirilmiştir (6).

Ayrıca bu allel 2 tekrar dizileri ile tek nükleotid polimorfizmi arasında tam bir ilişki mevcuttur. Bu tek nükleotid polimorfizmi 874 A/T polimorfizmidir(6). Hücre içi patojenlerin sebep olduğu hastalıklar, çeşitli otoimmün hastalıklar ve malignitelerle ilişkili olduğu daha önce bahsedilen çalışmalarda ortaya konulan IFN- γ 'nın, yine hücre içi bir zoonoz olup farklı tablolarda hastalığa yol açan F. tularensis patogeneğinde etkisine ilişkin çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

İnfeksiyöz ve otoimmün hastalıkların etyolojisinde rol oynadığı düşünülen genetik faktörlerden biri de Natural resistance associated macrophage protein 1(NRAMP1) geni; diğer adıyla solute carrier family 11 member a1(SLCA11A1) genidir (7). İnfekte makrofajların fagolizozomlarından demiri sitoplazmaya pompalayarak, fagolizozomlardaki bakterilerin gelişimi için esas olan demiri ortamdaki uzaklaştırır ve hücre içi parazitlerin replikasyonlarını önler. Aynı zamanda bakterilerin aktif oksijen bileşiklerine karşı kendini korumak için kullanacağı antioksidan savunma enzimleri (SOD, katalaz) için gerekli olan Zn, Cu gibi metallerin fagozomdan sitoplazmaya pompalanmasında da sorumludur (7-9). İnsanda en fazla alveolar makrofajlarda ve periferik kan lökositlerinde anlatımı yapılan NRAMP-1 geninde sayıları 11'e varan değişim belirlenmiştir. Bunların 5 tanesi ekson bölgelerinde, 3 tanesi intron bölgelerinde, 2 tanesi genin 3' translasyonu yapılmayan bölgesinde ve 1 tanesi de 5' promotor bölgesindedir (10). 4. intronda alternatif kırılma noktası bulunduğundan dolayı bu bölgedeki polimorfizmin farklı büyüklüklerde ürün oluşumundan sorumlu olduğu ileri sürülmektedir (11). Literatürde NRAMP1 polimorfizmlerini tüberkülozla ilişkilendiren birçok çalışma mevcuttur (12, 13).

Bu çalışmanın amacı; tularemi tanısı almış hastaların epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar özelliklerinin değerlendirilmesi, bu hastalarda IFN- γ +874 A/T

polimorfizmi ve NRAMP1 INT4 (Dördüncü intronda tek nükleotid değişikliği (469+14G/C)) varlığının araştırılmasıdır. Çalışmada daha önce PCR ve/veya tüp aglutinasyonu ya da mikroaglutinasyon yöntemi ile tanı konmuş tularemi hasta grubu ile sağlıklı kontrol gruplarında gen polimorfizmi değerlendirilmesi planlanmıştır.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Tularemi Tanımı

Francisella cinsi bakteriler tarafından oluşturulan bir enfeksiyon olan tularemi insan ve hayvanları geniş çapta etkileyen özellikle kuzey yarım kürede görülen bir zoonozdur. Francis hastalığı, Ohara hastalığı, tavşan ateş-vebası, at sineği ateşi, Sibiryula ülseri, avcı hastalığı, glandüler ateş, geyik sineği ateşi, kene ateşi gibi birçok değişik isimlerle de anılmaktadır (14).

1.1.2 Tarihçe

Tularemi hastalığının etkeni olan *F. Tularensis* 20. yüzyılın başlarından itibaren insan patojeni olarak kabul edilmiştir. İlk kez 1911 yılında McCoy ve Chapin tarafından Kaliforniya'nın Tulare kasabasında veba benzeri hastalıktan ölen sincaplardan izole edilmiş ve *Bacterium tularensis* olarak isimlendirilmiştir. Daha sonraki yıllarda bu bakterinin insanlarda da hastalık yaptığı bulunmuş ve Edward Francis 1920 yılında enfeksiyonun klinik bulgularını, teşhisini, histopatolojisini ve geçiş yollarını göstermiştir.

Önceleri *Pasteurella* ve *Brucella* cinsleri içinde incelenen bakteri 1947 yılında *Francisella* adı verilen yeni bir cins içine alınmış, *Bacterium tularensis* adı Edward Francis'in anısına *Francisella tularensis* olarak değiştirilmiştir (15). McCoy'un 1911 deki raporunun öncesinde de tularemi hastalığına benzeyen hastalık raporları bildirilmiştir. Örneğin 16.yüzyılda Ziegler tarafından Norveçli yaban sıçanlarında tanımlanan bir hastalık, 1818 yılında Japonya'da tavşan ile temasta bulunan kişilerde görülen tularemi benzeri hastalık ve 1908 yılında Utah da bildirilen vaka muhtemelen tularemi hastalığının en eski belgeleridir (16). Enfektif dozunun çok düşük olması (inhalasyonla alınan 10 bakteri enfeksiyon oluşturabilir), virülansının ve mortalite oranının yüksek olması gibi özellikleri nedeniyle *F.tularensis* 1950'li

yıllarda Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve eski Sovyetler Birliği tarafından biyolojik silah programlarına dahil edilmiştir (1).

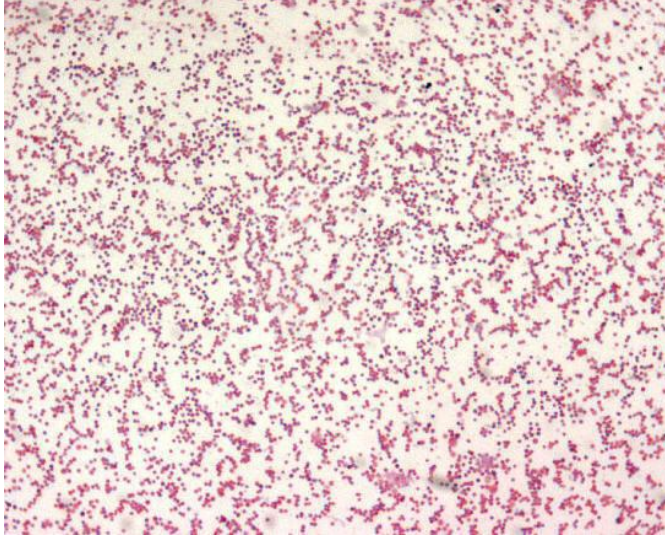
Ülkemizdeki bildirilen ilk olgular 1936 yılında Lüleburgaz'daki askeri birliklerde ortaya çıkmıştır. Buna ek olarak 1936-1953 yılları arasında Lüleburgaz, Tatvan ve Antalya'dan 4 farklı tularemi epidemisi rapor edilmiştir. Uzun bir sessizlik dönemi sonrası 1988 yılında Bursa çevresinde bir epidemi saptanmış ve Bursa çevresi, Ayaş (Ankara), Gerede (Bolu), Zonguldak, Bartın, Kastamonu, Bilecik, Balıkesir, Samsun, Sinop, Düzce, Yalova, Amasya, Kars, Edirne ve Gölcük (Kocaeli)'den farklı epidemiler bildirilmiştir (3, 17).

Türkiye' de tularemi Umumi 223 Hıfzısıhha Kanunu'nun 57. maddesinde yer alan ihbarı mecburi hastalıklar içinde olmadığı için Sağlık Bakanlığı'nın istatistiklerinde yer almamıştır. Ancak 2004 yılında yürürlüğe giren Bulaşıcı Hastalıkların ihbarı ve Bildirimi Sistemi uygulamasında C Grubu yani sentinel bildirim zorunlu olan hastalıklar içine alınmıştır (18). Sağlık Bakanlığı verilerine göre 2005 yılına kadar ülkemizde 1000'den fazla tularemi olgusu bildirimine karşın, 2005 yılında bildirim zorunlu hastalıklar için yapılan değişikliklerden sonra 2005-2009 yılları arasında bildirilen olgu sayısı 1091'dir (19).

1.1.3. Mikrobiyolojik Özellikler

1.1.3.1. Mikroskobik görünüm, boyanma ve biyokimyasal özellikler

Francisella tularensis aerop, sporsuz, hareketsiz ve gram negatif, fakültatif intrasellüler bir kokobasildir. *F. Tularensis* ortalama 0,2-0,7 µm boyutlarındadır. Gram veya Giemsa boyası ile bipolar boyanma gösterirler ve kok/kokobasil şeklinde görünürler (4, 20).



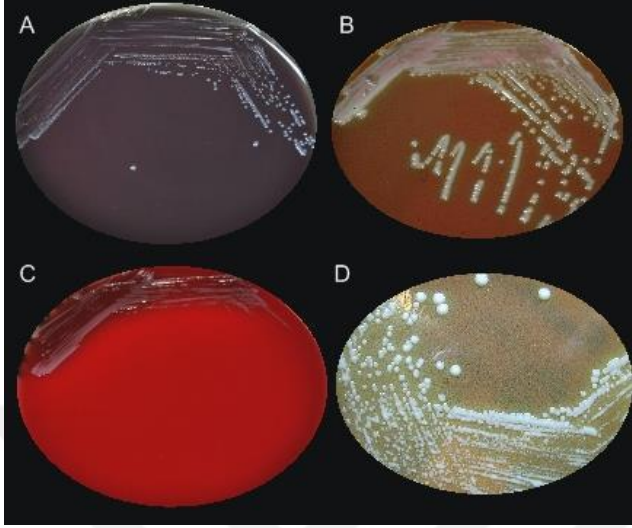
Şekil 1. *Francisella tularensis* 'in gram boyamada görünümü (21).

Francisella tularensis vahşi suşları ve canlı aşı suşlarının (LVS -live vaccine strain) yüzeyinde eksopolisakkarid bir kapsül bulunmaktadır. Kapsülün bileşimi tam olarak bilinmemektedir. Yapılan biyokimyasal analizlerde kapsülün karbonhidratlar, amino asitler ve α -OH 14:0 ve 16:0 yağ asitlerine sahip olduğu gösterilmiştir. *F.tularensis*'in kapsülünün bakteriyi serum komplemanının öldürücü etkisinden koruduğu bilinmektedir. Kapsülü çıkartılmış bakterilerin deney hayvanlarında hastalık yapmaması kapsülün virülans faktörü olduğunu göstermektedir (22).

Lipoolisakkarit (LPS) tüm gram negatif bakterilerin dış membranının ana bileşeni olduğu gibi *F. Tularensis*'in de ana bileşenidir. Bu LPS yapılar yangısal sitokinler açığa çıkarmaktadırlar ancak *F. tularensis* polisakkariti diğer enterik bakterilerinkine göre 1000 kez daha az etkilidir (22).

Bakterinin yapısındaki tip 4 pilusları, konak hücreye adezyonuna, titreşim hareketi yapmasına, DNA'nın içeriye alınmasına ve biyofilm yapımına aracılık etmektedir (22). Katalaz reaksiyonu zayıf pozitif olan *F.tularensis*'de oksidaz ve üreaz testleri negatiftir (23). Az sayıda karbonhidratı fermente ederler. *Francisella* cinsindeki birçok alt türü sadece çok az sayıda karbonhidratı (glukoz, maltoz, sükröz ve gliserol) kullanır. Asit oluştururlar fakat gaz oluşturmazlar. Tek yağ asitleri, türle ilişkilidir. Etkenin sık kullanılan besiyerlerinde üremesi güçtür. Üretebilmek için antibiyotik katılmış sisteinli beyin-kalp infüzyon agar veya sisteinli-glukozlu kanlı agar kullanılabilir. Nadiren ilk izolasyonda kanlı agar gibi genel kullanım besiyerlerinde üreyebilir. Koloniler oksijenli ortamda sülfidril içeren sistein kanlı

agar, modifiye Thayer-Martin besiyeri gibi besiyerlerinde 37°C’de 2-4 gün içerisinde görünebilir. Laboratuvara transport için kömürlü taşıma besiyerleri kullanılabilir (4, 24).



Şekil 2. *Francisella tularensis* ’in kültürdeki görünüşleri (21).

A- BCYE, B- sisteinle zenginleştirilmiş çukolata agar, C- sisteinle zenginleştirilmiş koyun kanlı agar, D- CHAB

1.1.3.2. Sınıflandırma ve alt türler

Francisella cinsi; *F.tularensis* ve *F.philomiragia* olmak üzere iki türden oluşmaktadır. Hayvanlardan ve sulardan izole edilen *F.philomiragia* türü, *F.tularensis*’e göre daha az virülandır. Çoğunlukla immünsüpressif vakalar veya yakın temasla oluşan doku zedelenmelerinde hastalarda nekrotizan pnömoni, bakteriyemi ve menenjit yapabildiği gösterilmiştir (25). *F.tularensis* insanlarda ve tavşanlardaki virülansına, 16S dizilimine, biyokimyasal reaksiyonlarına ve epidemiyolojik özelliklerine göre dört alt türe ayrılmaktadır (23). *Francisella*’ların iki türü olan *F. philomiragia*, *F. tularensis* birbirine çok benzer. *F. philomiragia*, *F. tularensis*’ ten biyokimyasal olarak daha reaktiftir; maltoza etki eder ve oksidaz pozitifliği ile ayrılır. Biyovaryaların ayırımında gliserol fermantasyonu ve glikoz kullanımı gibi biyokimyasal farklılıklar kullanılır. En virülan alt tür olan *F. tularensis* subsp. *tularensis*, Tip A olarak tanımlanmıştır ve laboratuvar fare ve tavşanları için <10 bakteri %50 ölümcül doza sahiptir. *F. tularensis* subsp. *tularensis* ve *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*’nın gliserol kullanımı birbirine benzer olup, sitrülün ürediaz aktivitesine sahiptir. *F. Tularensis* subsp. *mediasiatica* glikozu kullanamaması ve oldukça düşük virülanlı olmasıyla farklılık gösterir. Tip B *F.*

tularensis subsp. *holarctica* gliserolü kullanmamaları, sitrülün üreidaz aktivitesi göstermemeleri ile diğerlerinden ayrılabilir. *F. tularensis* subsp. *holarctica*, orta düzey virülansa sahiptir ve laboratuvar hayvanları için %50 ölümcül dozu <1000 bakteridir. *F. tularensis* subsp. *novicida*, sistein içermeyen ortamlarda üreyebilmesi ve büyük hücre boyutu ile diğer alt türlerden ayrılabilir. *F. tularensis* subsp. *novicida*, *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* ve *F.philomiragia* gibi düşük virülanlı olarak düşünülebilir, fakat farklı bir şekilde *F. tularensis* subsp. *tularensis* ile benzer genetik özellikleri paylaşırlar (24).

1. *F. tularensis* alt tür *tularensis* (biyovar tip A)

İnsanlar ve tavşanlar için en virülan suştur. 10 bakterinin vücuda solunum yoluyla alınması enfeksiyon gelişimi için yeterlidir. Kuzey Amerika'da yaygın görülmektedir (1, 23, 26).

2. *F.tularensis* alt tür *holarctica* (biyovar tip B)

Kuzey Amerika, Avrupa, Asya Türkiye ve Japonya'da görülürken, *F.tularensis* subsp. *holarctica* biyovar *japonica* Japonya'da izole edilmiştir. İnsanlarda virülansı orta düzey iken tavşanlardaki virülansı düşüktür (1, 21, 23, 26).

3. *F. tularensis* alt tür *mediasiatica*

Kazakistan ve Türkmenistan'da izole edilmiştir ve orta derecede virülandır. İnsan ve tavşanlarda hafif seyirli bir hastalık yapar (1, 21, 23, 26).

4. *F. tularensis* alt tür *novicida*

Kuzey Amerika'da ve Avustralya'da tespit edilmiştir. Ölü misk fareleri ve bunlarla kontamine sular ve nadir insan olgularından izole edilmiştir. İnsanlarda nadiren (sadece immünsüpressif vakalarda) enfeksiyon oluşturur. İnsandan insana bulaş gösterilmemiş olduğundan hasta ile temas edilmesi veya ortak alan kullanılmasının riskli olmadığı kabul edilmektedir (1, 21, 23, 26).

1.1.4. Epidemiyoloji ve coğrafik dağılım

1.1.4.1. Dünyada tularemi

Tularemi, dünyada 30-71° kuzey enlemleri arasında görülmektedir. İsveç, İspanya, Bulgaristan, Finlandiya, İtalya, Kosova gibi ülkelerden değişik salgınlar bildirilmiştir. İklimsel özellikleri nedeniyle daha sıcak olan Afrika ülkeleri, Avustralya, İngiltere ve Güney Amerika'da nispeten daha azdır. Tularemi'nin

endemik olarak bulunduğu ülkeler; Avrupa ülkelerinin çoğu, eski Sovyetler Birliği, Tunus, Türkiye, İsrail, İran, Çin ve Japonya'dır. ABD'de 1939'da yılda 2200 kadar olgu bildirilirken, 1940'larda yılda 1100 ve günümüzde yılda 200 olgu bildirilmektedir (4, 27, 28).



Şekil 3. Dünyada tulareminin görüldüğü bölgeler (23).

Son zamanlarda iklim değişiklikleri rezervuar ve vektör sayısının değişimine neden olmuştur. İnsanların doğa ile teması, savaş ve göçler nedeniyle yetersiz hijyen şartlarına bağlı olarak dünyada tularemi epidemiyolojisi belirgin bir şekilde değişime uğramış, olgu sayılarında ciddi artışlar izlenmiştir. Örneğin; 2000 ve 2003 yılları arasında Kosova'da savaştan sonra 300'den fazla olgunun bildirildiği iki tularemi salgını bildirilmiştir (29).

1.1.4.2. Türkiye'de Tularemi

Epidemiyolojik risk faktörleri arasında avcılık ve yabani tavşan eti yenmesi, kaynak ve kuyu suyu tüketimi, kemirici çıkartlarıyla temas, hijyenik olmayan gıda tüketilmesi, ev ve çevresinde kemirici sayısında artış gözlenmesi ve doğayla ilişkili aktiviteler yer almaktadır. Dünyada en sık bulaş yolu enfekte hayvan ve kene ile temas iken, ülkemizde kaynak suyu veya klorlanmamış içme suyu tüketilmesi en önemli bulaş yolunu oluşturmaktadır (30, 31).

Ülkemizde tularemi hastalığı 2005'ten itibaren bildirim zorunlu (C grubu) hastalıklardan kabul edilmektedir. Son yıllarda artan olgu sayısı ve farklı bölgelerden olguların bildirilmesi ile 2005'te "Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi

Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi”nde C grubu hastalıklar listesine konulmuştur. Bu şekilde tularemi için standardizasyon geliştirilmiş; örnek alma ve gönderme kuralları, tanı için laboratuvar kriterleri, vaka tanımı oluşturulmuştur. Tularemi hastalığının Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberine alınmasının ardından, 2005-2013 yılları arasında 5.200 yeni olgu bildirimini olmuştur. Vakaların coğrafik dağılımı Batı Karadeniz ve Marmara Bölge’sinden başta İç Anadolu Bölgesi olmak üzere diğer bölgelere doğru kaymıştır (32). Ülkemizde birçok ilden tularemi bildirilmiştir. 1936 yılında Lüleburgaz’da yapılan bildirimden ardından 1988 yılından itibaren Bursa kaynaklı birçok salgın yayınlanmıştır.

1999 depremi ardından Bursa çevresinde Ayaş (Ankara), Gerede (Bolu), Zonguldak, Bartın, Kastamonu, Bilecik, Balıkesir, Samsun, Sinop, Düzce, Yalova, Amasya, Kars, Edirne ve Gölçük ve Sakarya’dan farklı epidemiler bildirilmiştir (33). Sağlık Bakanlığı verilerine göre 2005 yılına kadar ülkemizde 1000’den fazla tularemi olgusu bildirimine karşın, 2005 yılında bildirim zorunlu hastalıklar için yapılan değişikliklerden sonra 2005-2014 yılları arasında bildirilen olgu sayısı belirgin bir artış göstermiştir. Ülkemizden yapılan bildirimlerin çoğunluğu su kaynaklarının kontaminasyonuna bağlıdır (34).

Tablo 1. 1936-2010 yılları arasında ülkemizde bildirilen tularemi salgınları (35)

Yıl	Bölge	Vaka	Mevsim	Bulaşma
1936	Lüleburgaz	150	Yaz	Su kaynaklı
1937	Tatvan	6	Kış	Gıda
1945	Lüleburgaz	18	İlkbahar	Su kaynaklı
1953	Antalya	200	Sonbahar	Su kaynaklı
1988- 2002	Bursa	205	Kış	Su kaynaklı
1997	Ankara	16	Kış	Su kaynaklı
2000	Düzce	21	Sonbahar	Su kaynaklı
2001	Bolu	14	Sonbahar	Su kaynaklı
2002	Balıkesir	115	Kış	Su kaynaklı
2004	Suluova	43	Sonbahar	Su kaynaklı
2004- 2005	Zonguldak	61	Kış	Su kaynaklı
2004- 2005	Koceli	145	Kış -İlkbahar	Su kaynaklı
2004- 2005	Kars	56	Kış-ilkbahar	Su kaynaklı
2005	Kocaeli	129	Kış	Su kaynaklı
2005	Tokat	8	Kış	Su kaynaklı
2005	Edirne	10	Kış	Su kaynaklı
2005	Düzce	11	Kış	Su kaynaklı
2005- 2007	Samsun Havza	75	Kış	Su kaynaklı
2009	Sivas	29	Kış	Su kaynaklı
2009	Çanakkale	36	Kış	Su kaynaklı
2009	Çankırı	18	Kış	Su kaynaklı
2010	Tekirdağ	8	Yaz	Su kaynaklı
2009- 2010	Konya	40	Yaz-kış	Su kaynaklı

1.1.4.3. Demografik özellikler

Su kaynakları düzenli şekilde klorlanmayan kırsal alanlarda, bakımsız kalmış su depoları ve köy çeşmeleri tularemi için risk taşımaktadır. Genel olarak kontamine su ve gıdaların enfeksiyonun nedeni olduğu saptanmıştır. Bu nedenle tüm yaş gruplarında kadın ve erkekler tularemi enfeksiyonuna aynı oranda maruz kalırlar.

Erişkin dönemde, hastalığın kadınlarda daha sık rapor edildiği dikkat çekmektedir. Bunun sebebinin kadınların ev ortamında kontamine su ve gıda ile daha fazla temasta olmaları ve yaşam alanlarında etkeni taşıyan rezervuar hayvan çıkartılarına daha fazla maruz kalmaları olduğu düşünülmektedir (31, 30, 36). 2005-2010 yılları arasında tanı konulan tularemi vakalarının yaş ve cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde; enfeksiyon tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte, risk grubu aktivitelerini çoğunlukla erişkinlerin yapması nedeniyle 30 yaşın üstündeki bireylerde ve kadınlarda erkeklere göre daha fazla sıklıkta görülmektedir (37).

Tularemi tüm yaş gruplarında görülmesine rağmen, çocuk yaş gruplarında tanı konulamamasına bağlı olarak daha az oranda bildirilmektedir. Ülkemizde, son yıllarda bildirilen çocuk olgu sayısında belirgin bir artış gözlenmekte olup bildirilen tularemi olgularının yaklaşık %10'unu çocuk vakalar oluşturmaktadır (37). Morbidite oranları sosyoekonomik düzeyi düşük toplumlarda, toplu yaşam alanlarında, kalabalık gruplar halinde yaşayanlarda, uygun olmayan hijyenik koşullarda, yetersiz ve kötü beslenenlerde artmaktadır. Ülkemizde tularemi salgılarının su kaynaklı olması nedeniyle vakalar en sık kırsal bölgelerde çoğunlukla çiftçi aileleri, ev hanımları, çocuklar, avcılar ve orman işçileri arasında görülmektedir (37).

1.1.5. Risk grupları

Tularemi hastalığı için riskli olan meslekler; avcılar, veteriner hekimler, laboratuvar çalışanları, çiftçiler, orman görevlileri, kırsal alanlarda yaşayanlar, hayvancılıkla uğraşanlar, kasaplar ve aşçılardır (38).

Tularemi her mevsimde tespit edilebilirken, avcılıkla ilişkili kemiricilere bağlı enfeksiyonlar kışın, kene ile ilgili enfeksiyonlar ise sıklıkla yaz aylarında görülmektedir (39).

2000 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde "Martha's Vineyard"da solunumsal bir tularemi salgını görülmüştür. Bu salgında çim biçme makinası kullanmak veya çim kesme işi yapmak yüksek riskli davranışlar olarak belirlenmiştir (38).

Martha's Vineyard'da yapılan seroprevalans çalışmasında, normal popülasyonda % 1'in altında olan seropozitiflik peyzaj meslek grubunda % 9,1 olarak saptanmıştır. Peyzajla uğraşanlarda seropozitiflik oranının yüksek olması peyzaj işçilerinin çim kesmeleri ve kuvvetli üfleyicilerle yaprak temizliği yapmalarından dolayı tularemi etkeniyle karşılaşma ihtimalinin çok daha yüksek olmasına bağlanmıştır (38). 2013 yılında İran'da yapılan bir çalışmada tilki avcıları ve tilki eti yiyenlerde tularemi seroprevalansı anlamlı olarak daha yüksek (%25) bulunmuştur (40).

1.1.6. Vektör ve doğal rezervuarlar

Francisella tularensis çok sayıda omurgalı ve omurgasız hayvan türü üzerinde etki gösterebilmektedir. Doğada pire, bit, tatarcık, tahtakurusu, kene, sivrisinek ve sinek gibi çok sayıda artropod türünde bulunabilmektedir. Artrodlarla bulaş, ABD, İsveç, Finlandiya ve Rusya gibi ülkelerde tularemi enfeksiyonun bulaşında önemli bir yol olarak görülmektedir. Orta Avrupada ise artropodlarla enfeksiyon bulaşı çok az sayıda vakada rastlanmıştır (41). *F. Tularensis* için keneler iyi bir biyolojik vektör olarak görev yapmaktadır. Enfeksiyon etkenini hayvanlar arasında ve hayvanlardan insanlara kan emme sırasında ve dışkılarıyla aktarmakla kalmaz, aynı zamanda etkeni uzun süre vücutlarında barındırırlar (41). Akarlar ve pirelerde enfeksiyon etkeni kısa süre canlı kalabilmektedir. Akarlar konakçı değiştirerek beslendiklerinden konakçı popülasyonu içinde enfeksiyonun sürekliliğini uzun süre sağlayabilirler. Pirelerin ise enfeksiyondan sonra kısa bir süre için mekanik taşıyıcı olduğu ve etkeni bulaştırmada büyük bir öneme sahip olmadığı bildirilmiştir (41). *F. Tularensis* 1000 den fazla yabani ve evcil memeli türü olmak üzere, 25 kuş türü, balıklar, amfibiyenler ve sürüngenlerden izole edilmiştir. Hastalığın doğal konakları tavşanlar ve kemiriciler kabul edilmektedir. Kara kemiricileri (sincap, fare, sıçan vb.) hem tip A hem de tip B ile oluşan enfeksiyonda rezervuar olarak görev yapmaktadır. Su kemiricileri (su sıçanları, kunduz, vizon) tip B için rezervuardır ve su ilişkili epidemilerden sorumlu tutulmaktadır. Kemiriciler, sivri sinekler, akarlar, keneler ve diğer omurgalılar için önemli bir enfeksiyon kaynağı olarak görev yaparlar. Etkene, vahşi hayvanlardan tavşanlar (*Oryctolagus cuniculus* ve *Lepus* sp.), kunduz (*Castor* sp), dağ sıçanı (*Marmota monax*) ve tilki (*Vulpes* sp) gibi vahşi hayvanlar rezervuar olarak görev yapmaktadır (41). Yeterince kanıt olmamasına rağmen *F. tularensis*' in dünya üzerinde geniş bir coğrafik alana yayılmasında, etkenin göçler esnasında kuşların üzerlerinde bulunan keneler ve pirelerle taşınabileceği gibi, uzun mesafelere göçlerde enfekte kuşların dışkı ve burun akıntıları ile suların kontamine olabileceği de ileri sürülmüştür (41). Soğukkanlı hayvanlardan kaplumbağalar üzerinde yapılan çalışmada, hayvanların tularemi enfeksiyonuna karşı dirençli olduğu, serumlarında etkene karşı tularemi antikorları oluşturdukları, etkeni idrar ve dışkıları ile doğaya saçtıkları, bu yüzden kaplumbağaların rezervuar olarak bulaşta rol oynayabileceği bildirilmiştir. Göl

kurbağası ve gece kurbağası spontan olarak hastalık etkeni ile enfekte olabilmektedirler. Bu durum kurbağaların kaynak suları ve derelerin kontaminasyonunda rol oynayabileceğini göstermektedir. Salyangozlar kontamine sular aracılığı ile tularemi etkeni ile enfekte olabilmektedirler. Doğada gıda zicirinin bir parçasını oluşturmalarından dolayı enfeksiyonu diğer hayvanlara aktarmada önemli rol oynayabilirler (41).

1.1.7. Evcil Hayvanlarda Tularemi

Sığır, kedi, köpek, koyun gibi evcil hayvanlar tularemiyle enfekte olabilirler. Rezervuarlardan kene, akar ve sivrisinekler gibi vektörler aracılığıyla yabani hayvanlardan, evcil hayvan ve insanlara tularemi etkeninin aktarıldığı gösterilmiştir (42).

Sığırlarda klinik bir enfeksiyon tablosu tespit edilmemiştir. Fakat tularemiye karşı değişen titrasyonlarda seropozitiflik bulunmuştur. Sığırların tularemi hastalığına karşı diğer evcil hayvanlara göre daha dirençli olduğu tahmin edilmektedir (42).

Çiftlik hayvanları arasında koyunlar diğer türlere göre hastalığa en hassas olan türdür. Etkenin bir koyuna sistemik yolla verilmesinden itibaren 9 gün sonra öldüğü, başka bir koyunda ise deri altından verildiğinde ölüm olmadığı ve serumunda 20. günde 1/160 titrede tularemi antikor titresi bulunduğu bildirmiştir. Keçilerde de benzer sonuçlar gözlemlenmiştir. Gebe hayvanlarda gebelik abortusla sonuçlanabilir. Diğer hayvanlarda mortalite nispeten daha düşükken, koyunlarda % 50'ye kadar çıkabildiği gösterilmiştir (42, 43).

Tokgöz ve Golem, bir merkebe sistemik olarak tularemi etkeni verildiğinde hayvanın 4. günde öldüğünü, serumunda 1/80 titrede antikor bulunduğunu saptamışlardır (43).

Kedi ve köpekler de tularemi hastalığından etkilenir. Tularemi kedilerde hafif seyirli bir enfeksiyondan ölümcül tabloya kadar değişen bir klinikte görülebilir. Hastalık etkeni taşıyan vektörler aracılığıyla veya temas sonrası bulaşabilir (42).

1.1.8. Bulaş yolları

Bakteri sağlam deriye penetre olabilmesine rağmen, genel görüş bakterinin derideki gözle görülmeyen küçük sıyrıklardan vücuda girdiği yönündedir. Diğer giriş

yolları; konjonktiva gibi mukoz membranlar, gastrointestinal sistem ve solunum sistemidir. 1925 yılında Ohara eşinin eli üzerinde yaptığı deneyle hastalığın sağlam deriden bulaşabileceğini kanıtlamıştır (16). Enfekte hayvanlarla doğrudan temas, tulareminin kazanılmasında önemli bir bulaş yolu olarak görülmektedir. Bu bulaş yolu sıklıkla avcılarının enfekte domuz, lagomorflar ve kemiriciler gibi ölmüş hayvanlarla temaslarından sonra meydana gelmektedir. Tulareminin karada ve suda geçen iki döngüsü tanımlanmıştır. Özellikle tulareminin karasal döngüsünde vektör aracılıklı bulaşta rol alan vektörler coğrafik bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Karasal döngüde yabani tavşanlar, küçük kara kemiricileri ve artropodlar (Ixoidid-sert keneler ve Tabanidae) *F. tularensis* için ana rezervuardır. Keneler etkeni özellikle dışkıları ve ısırma yoluyla duyarlı olan konağın dolaşım sistemine aktarırlar. Vahşi hayvanlar arasında ve vahşi hayvanlardan sığır, koyun, keçi, at, domuz, kedi köpek gibi evcil hayvanlara etkenin bulaştırılmasında keneler ve kan emici sinekler mekanik vektör görevi görmektedir. *F. tularensis* sineklerde iki hafta süreyle canlı kalabilir. ABD’de at sinekleri ve Kuzey Avrasya’da sivrisinekler insanlara etkenin bulaştırılmasında mekanik vektör olarak görev yapmaktadır. Suda geçen siklusta ise kunduz, misk sıçanı ve diğer sıçan türleri önemli memeli konaklar olarak hizmet eder ve canlı organizmaları çevreye dağıtır.

F. tularensis’in dış ortam koşullarına oldukça dayanıklı olması suda serbest yaşayan amiplerin (*Acanthamoeba castellanii*) içinde yaşayabilmesi, su kaynaklı epidemiler ve hastalığın bölgesel devamlılığının sağlanması açısından önemlidir. *F. tularensis subsp. tularensis*’in çoğunlukla karasal siklusu olduğu rapor edilmişken alt tip *F. Tularensis subsp. holarctica*’nın ana olarak suda geçen bir siklusu vardır ve su kemirgenleri rezervuardır (16, 19, 44). Kontamine sulardan bulaş özellikle II. dünya savaşı sırasında büyük salgınlara sebep olmakla birlikte Türkiye ve Güney Avrupa için önemli bir bulaş yolu olarak görülmektedir. Çekoslovakya’da 1970’lerde kontamine elma suyuna bağlı bir hemşirelik okulunda tularemi salgını rapor edilmiştir. Bulgaristan’da ise 262 olguluk sindirim yolu ile tularemi bulaşı rapor edilmiştir (16). Solunum yolu ile bulaşa ise sıklıkla İskandinav ülkelerinde çiftçilerde ve ABD’de bahçe düzenlemeleriyle uğraşan peyzajcılarda rastlanmaktadır. Aerosol şeklinde bulunan kontamine su ve toz partiküllerinin çim biçme, hasat yapma veya benzeri aktiviteler sırasında solunum yolu ile alınması hastalık için risk

oluşturmaktadır. Laboratuvar çalışanları da hastalığın solunum yolu ile bulaşı açısından yüksek risk altında bulunmaktadır. Bu yüzden tanısal amaçlı yapılan işlemler sırasında gerekli biyogüvenlik önlemleri alınmalıdır (16). İnsandan insana geçiş gösterilmemiştir (36).

1.1.9. Patogenez

Francisella tularensis, enfektif dozu çok düşük, virulan bir etkindir. Etkenin enfektif dozu vücuda girdiği yere göre ve bakteri türüne göre farklılık göstermektedir. Cilt altı veya solunum yolu ile 10-50 bakteri hastalık oluşturabilirken, sindirim sisteminde enfeksiyon olabilmesi için 10^8 'den fazla bakteri gereklidir (16, 45, 46).

Etken önce konağın giriş yerinde çoğalır ve en yakın lenf nodlarına geçer. Bakteri burada tüberkülozdaki gibi kazeöz nekroz ve granülom oluşumuna neden olur. Ayrıca lenfatik ve hematojen yayılım ile karaciğer, dalak, kemik iliği tutulumu ve bakteriyemiye neden olabilir (16).

Tularemî hastalığının çok yaygın olmasının nedeni birçok farklı konak hücre tipinde yaşayabilmesi ve çoğalabilmesidir. Bu etken monosit ve doku makrofajlarına afinite göstererek bu hücrelerde çoğalabilir. Nötrofiller, dentritik hücreler, hepatositler ve akciğer tip 2 alveolar epitelyum hücreleri gibi immün sistem hücrelerini enfekte edebilir (2). Bakteri, makrofajlarda asimetrik psödopod oluşumunu uyararak konak hücre içerisine girer. Bu süreç fosfatidilinositol 3-kinaz aktivasyonu ile başlatılır ve kompleman faktör C3 ile ilintilidir. *Francisella* hücrelere mannoz reseptörleri ve Fc γ reseptörleri ile de girebilir. Konakçı hücrede respiratuvar patlamanın aktivasyonunu engeller oksijenin zararlı yan ürünlerinden kendini korur. Fagozom maturasyonunu etkiler. Bakteri içeren vakuoller asit hidrolaz katepsin D'yi içerisine alamaz ve lizozomlar ile birleşemez. Ayrıca *F. tularensis* fagozomlardan kaçıp sitozole geçebilir (2). Bulaştan yaklaşık 12 saat sonra etken, konak hücre sitozolünde çoğalmaya başlar ve konak hücre ölümüne neden olur. Hücre dışına çıkan bakteriler komşu hücreleri enfekte eder. *F. tularensis*'in fagozomdan kaçışı ve konakçı hücre sitozolünde çoğalması önemli patojenite faktörlerindedir. *Francisella*'nın hücre dışı faz sergileyebileceği gösterilmiş olup, bu ilişkinin

insanlarda da olup olmayacağı veya nasıl bir etkisi olacağını görmek için ileri çalışmalar gerektirmektedir (2).

1.1.10. Enfeksiyona Karşı İmmünite ve Konak Cevap

Organizmanın tularemiye karşı geliştirdiği immün cevap diğer hücre içi etkenlere verdiği cevaba benzemektedir. Şimdiye kadar yapılan araştırmalar genellikle düşük virülanslı *F. tularensis* subsp. *novicida* veya atenüe canlı aşı formu (LVS) ile olmuştur. Bazı sıçan çalışmalarında düşük dozlardaki LVS konağın doğal savunma sisteminde inaktive edilirken, yüksek virulan tip A ve tip B türlerinde konak immün bir yanıt oluşturmada konacağı öldürebilmektedir (47).

1.1.10.1. Doğal immünite

Birçok *Francisella* türleri taşıdıkları kapsülleri sayesinde aktif kompleman içeren serumlarla direkt öldürülmeye duyarlı değildir. *Francisella*'nın kapsülü immünojenik ve toksik değildir. Kapsülü bulunmayan LVS suşları ile yapılan araştırmalarda etkenin virulansının azaldığı ve serumun öldürücü etkisine karşı duyarlılığının arttığı bulunmuştur. Serumun öldürücü etkisinden kaçabilen opsonizasyonla işaretli bu bakteriler (LVS'ler) immün sistem hücrelerinin içine girebilirler. Fakat nötrofil içindeki LVS suşları solunumsal patlama ve oksijen metabolitlerinin üretimini engelleyememektedir. Sitozole de geçebilen bu bakteriler burada 12 saat canlı kalabilmektedir (48, 49).

Hücre içi patojenlerin çoğunda olduğu gibi *Francisella* enfeksiyonunun kontrolünde de interferon gama (IFN- γ) ve Tümör nekrozis faktör- alfa (TNF- α) büyük öneme sahiptir. Yapılan araştırmalarda IFN- γ geni silinmiş farelerin LVS enfeksiyonuna aşırı derecede duyarlı olduğu gözlenmiştir. LVS enfeksiyonundan önce TNF- α nın tüketilmesi enfeksiyonun mortal seyretmesine sebep olmaktadır (50). Ayrıca IFN- γ etkisini arttırmak suretiyle etki gösteren interlökin -12 (IL-12) de enfeksiyonun kontrolünde önem taşımaktadır (51). Makrofajlar, dentritik hücreler, ve natural killer (NK) hücreleri enfeksiyondan hemen sonra görülen sitokin indüksiyonundan sorumludur. Sıçan makrofajlarında proinflamatuvar sitokin aktivasyonu bir Toll like reseptör 2 (TLR2) bağımlı durum ile meydana gelir ki, bu TLR2 bağımlı sinyalizasyonun patojenin erken farkedilmesinde kritik olabileceğini göstermektedir. Makrofajlara ek olarak enfeksiyonun başlangıç kontrolünde

nötrofillerin önemli olduğu gösterilmiştir. Ancak bunların önemi enfekte dokuya göre farklılık göstermektedir. Fare enfeksiyon modellerinde nötrofil eksikliği sistemik enfeksiyona duyarlılığı arttırırken, respiratuvar enfeksiyonlar üzerine küçük bir etkisi vardır (2). İnsan dentritik hücrelerinde (DH) yapılan çalışmalarda LVS'nin insan DH' lerinden TNF- α , IL-1 β VE IL-10 sentezlenmesine sebep olduğu, T hücre aktivasyonunda rol alan CD-40, B7.1 ve MHC- sınıf II moleküllerinin yüzeyindeki miktarlarını arttırdığı gösterilmiştir. Ancak daha virülan Francisella izolatlarının insan DH' lerine etkilerinin araştırılması için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır (52). Hayvan çalışmaları önemli IFN- γ kaynaklarından biri olan NK hücre yanıtının tularemideki rolünü tam olarak ortaya koyamamıştır. Yapılan bir çalışma TLR9 agonisti uygulanan yabani fareler ve TLR9 eksik fareler letal dozda LVS ile enfekte edilmiş; yabani farelerin yaşamlarını sürdürdüğü fakat TLR9 eksik farelerin öldüğü gözlenmiştir. Bu yanıtın gelişmesinde T hücrelerinden değil NK hücrelerinden üretilen IFN- γ ve TNF- α ' nın hücre içi NO sentezini arttırarak Francisella replikasyonunu durdurduğu gösterilmiştir (52).

1.1.10.2. Adaptif immünite

Tulareminin ölümcül olmayan hastalığında tekrar enfeksiyonu için kuvvetli bir bağışıklık oluşur. Francisella spesifik antikorları çok hızlı bir şekilde saptanabilir. (2). Doğal olarak Francisella ile enfekte olan insanlarda spesifik Ig G, Ig M ve Ig A antikorları semptomların başlangıcından 6-10 gün sonra aynı anda serumda belirmeye başlar, enfeksiyondan sonraki 1-2 ayda en yüksek düzeylere ulaşır ve en az 11 yıl saptanabilir düzeylerde kalır (52). Hayvanlarda yapılan pasif antikor transfer çalışmaları antikorların daha düşük virülanslı türler ile enfeksiyon savunmasında rol oynarken, daha virülan alt türlere az etkili olduğu gösterilmiştir. Tularemi antikorları bazı durumlarda fayda sağlayabilmesine rağmen enfeksiyon kontrolü için zorunlu görülmemektedir. Enfeksiyonu tamamen kontrol etmek için etkin bir hücresel yanıt ile birleşmelidir (2). Francisella enfeksiyonunda adaptif immünite T hücresel immüniteye özellikle de CD4 ve CD8 T hücre ilişkili immüniteye bağlıdır. Tam ölü veya membran fraksiyonları ile uyarılan periferik kan mononükleer hücrelerle yapılan ilk çalışmalarda antijene özgül T lenfositlerin hastalığın başlangıcından sonraki 2 hafta içinde saptanabildiği gösterilmiştir.

Tularemi enfeksiyonu geçiren kişilerde antijene özgül T hücre yanıtlarının 25 yıla kadar persiste ettiği saptanmıştır (52). Farelerde *F. tularensis* subsp. *novicida* veya LVS ile olan enfeksiyonu kontrol etmede CD4 veya CD8 T hücreleri başarılı iken, virülan tip A için her iki hücre tipi de gereklidir. Fareler için olan vakalara benzer biçimde LVS ile aşıllı insanlarda CD4 ve CD8 T hücre yanıtı baskındır (2).

1.1.11. Klinik Tablolar

Tularemidde klinik tablo bakterinin virulansına, giriş yoluna, sistemik yayılım olup olmadığına ve konağın immun durumuna göre değişmektedir. Asemptomatik şekilden akut sepsis ve ölüme kadar giden klinik spektrum gösterebilir. Tüm klinik formlar ani başlayan yüksek ateş, titreme, baş ağrısı, halsizlik, myalji ve artralji ile karakterizedir. Tulareminin herhangi bir formu çeşitli organlarda lezyonlarla karakterize sistemik enfeksiyona ilerleyebilir (44). Tulareminin inkübasyon süresi ortalama 3-5 gündür, 1-21 gün arasında değişir. Başlıca 6 klinik formda seyreder:

1. Ülseroglandüler,
2. Glandüler,
3. Okuloglandüler,
4. Orofaringeal
5. Tifoidal
6. Pnömonik formlar (4).

Ülkemizde en sık görülen klinik form orofaringeal şekildir. Bu klinik tabloda bakterinin orofarenksi doğrudan invazyonu söz konusudur. Kontamine su ve gıdaların tüketilmesiyle bulaşır. Aynı aileden birden fazla kişide aynı anda görülür. Hastaların en önemli yakınması boğaz ağrısı ve ateştir. Bu nedenle anjinlerle karışır. Hastalar sıklıkla betalaktam antibiyotiklerle tedavi görmüş ancak iyileşmemiş olgulardır. Fizik muayenede membranlı anjin ve daha çok servikal tek taraflı lenf adenopati bulunur (53, 54). Hastalarda ateş 30 günden fazla devam edebilir. Lenf nodu süpürasyonu en sık görülen komplikasyondur, antibiyotik tedavisine rağmen görülebilir. Tularemi tedavisinin geç başlanması süpürasyon olasılığını artırır (4, 53, 54).

1.1.11.1. Ülseroglandüler Tularemi

Ülseroglandüler form tulareminin en yaygın formu olup, tularemi olarak en kolay fark edilen klinik formdur (55). Ülseroglandüler hastalık bulunanlarda genellikle yakın zamanlarda hayvan teması veya kenelere maruziyet bildirilmektedir. Etkilenen hastalar tipik olarak ateş ve kene ısırması bölgesinde tek bir eritematöz papülo-ülseratif lezyonla başvururlar. Hassas bölgesel lenfadenopati cilt lezyonundan önce, aynı anda ya da hemen sonra başlayabilir. Bazen birden fazla cilt lezyonu bulunabilir (56). El ve kollardaki ülserler hayvan maruziyetini takiben daha yaygındır; baş, boyun, gövde, perine ve bacaklarda ise kene maruziyetini takip eden ülserler daha yaygındır.

1.1.11.2. Glandüler Tularemi

Glandüler tularemi, tanımlanabilir bir cilt lezyonu olmaksızın tek ya da çoklu hassas bölgesel lenfadenopati varlığıdır. Glandüler hastalık ülseroglandüler hastalıkla aynı mekanizma olmakla birlikte glandüler hastalıkta etkenin giriş bölgesinde klinik bulgu yoktur. Eğer hastada ateş yok ise tanı konulması gecikebilir. Sonra da süpüratif nodlar fluktuasyon verebilir (55).



Şekil 4. İnguinal bölgede glandüler tularemi görülmektedir.



Şekil 5. Servikal bölgede glandüler tularemi görülmektedir.

1.1.11.3. Oküloglandüler Tularemi

Oküloglandüler tularemi, tularemi olgularının küçük bir yüzdesini oluşturur. Hastalık, göze enfekte materyal sıçratma, gözleri kontamine parmaklarla ovma veya enfekte aerosoller aracılığıyla *F. tularensis* 'in konjonktivaya girişi ile oluşur. Göz semptomları ağrı, fotofobi ve gözyaşı artışını içerir. Göz muayenesinde ödem, vasküler dolgunluk ve konjonktival eritem vardır. Bazı hastalarda küçük konjonktival ülserler ve papüller bulunabilir. Periorbital eritem olabilir. Preauriküler, servikal ve submandibüler bölgelerde hassas bölgesel adenopati bulunabilir. Spesifik komplikasyonlar korneal ülserasyonla dakriyosistiti içerebilir.

1.1.11.4. Faringeal (Orofaringeal) Tularemi

Faringeal tularemi ABD'de ender iken, dünyanın diğer bölgelerinde özellikle de savaş ve doğal afetlerin sık olduğu bölgelerde daha büyük olgu yüzdeleri bildirilmektedir (57, 58). Bu klinik form etkenin primer olarak orofaringeal yoldan girişinin bir sonucu oluşur. Genellikle kontamine gıda ya da suların alınmasıyla olur. En önemli semptomları ateş ve şiddetli boğaz ağrısıdır. Muayenede eksudatif farenjit ve tonsillit, servikal lenf nodu büyümesi ve genellikle faringeal ya da tonsiller üzerinde ülserler görülür. Preparotid ve retrofaringeal lenf nodları da tutulabilir. Penisiline yanıt vermeyen ve rutin testlerden sonra tanısı konulmayan ağır farenjit bulunan hastalarda faringeal tularemi düşünülmelidir. Ayırıcı tanıda adenoviral farenjit, enfeksiyöz mononükleoz ve streptokokkal farenjit ve difteri dışlanmalıdır.

1.1.11.5. Tifoidal Tularemi

Tifoidal tularemi hastalığın başka bir majör formuna uymayan, belirgin bölgesel adenopati ya da diğer lokalize belirtiler bulunmayan ateşli bir hastalıktır. Hastalarda sıklıkla kronik altta yatan faktörler bulunmakta olup, klinik akut sepsisten kronik hastalığa kadar değişebilir. Tifoidal hastalık herhangi bir giriş yerinden kaynaklanabilir. Maruziyet öyküsü bulunmayabildiğinden, kan ve diğer numuneler için kültür pozitifliği düşük olduğundan tanısı zordur. Belirgin semptomlar, ateş, baş ağrısı, kas ağrısı, boğaz ağrısı, diyare ve iştahsızlıktır. Belirgin fiziksel bulguları ise damar içi hacim kaybı bulgusu, hafif farenjit ve yaygın batın hassasiyeti içerebilir. Karaciğer ve dalak büyümesi, hastalığın daha geç evresinde saptanabilir. Hematojen tutulumu sekonder pulmoner infiltratlar ya da plevral efüzyon, olguların %45 kadarında görülebilir (4).

1.1.11.6. Pnömonik Tularemi

Pulmoner tutulumun tulareminin klinik belirtilerine baskın gelmesi halinde hastalığa pnömonik tularemi denir. Primer pnömonik hastalık organizmanın doğrudan akciğerlere inhalasyonundan kaynaklanır. Pnömonik hastalık yetişkinlerde daha yaygındır, ancak herhangi bir yaş grubunu da etkileyebilir. Primer hastalık için riskli meslekler çiftçiler, koyun yünü kırpıcıları, bahçıvanlar ve laboratuvar çalışanlarıdır. Başlangıç belirtileri, baş ağrısı, ateş, halsizlik, kas ağrısı ve iştahsızlıktır. Zamanla ateş ve az miktarda balgamlı öksürük daha belirgin hale gelir, substernal veya plöritik göğüs ağrısı bulunabilir (59).

1.1.11.7. Tularemiye Bağlı Sekonder Cilt Belirtileri

Sekonder cilt değişiklikleri tularemiye yaygındır. Sekonder döküntüler genellikle makülopapüller, vezikülopapüller, eritema multiform, eritema nodozum ya da ürtiker tarzında olabilir. Bazıları yanlılıkla varisella ya da ilaç döküntüleri ile karıştırılır. Tifoid tularemili hastalarda eritema multiforme bulunabilirken, pnömonik tularemili hastalarda ise eritema nodozum daha fazladır (60).

1.1.11.8. Komplikasyonlar

Tulareminin en sık komplikasyonu lenf nodu süpürasyonudur. Süpürasyonda irin steril olsa bile drenajdan yarar görür. Bir seride lenfodenopati bulunan 81 hastanın 15'inde (%19) insizyon ve süpüratif nodların drenajı gerektiği raporlanmıştır (61). Diğer komplikasyonlar arasında sepsis, böbrek yetmezliği, rabdomiyoliz ve hepatit sayılabilir (56, 62). Pnömonik hastalık bulunanlarda ampiyem, perikardit, menenjit, osteomyelit, peritonit, endokardit ya da prostetik eklem enfeksiyonuna neden olabilir (4).

Tularemi haftalar ya da aylar sürebilen uzamış ateş, adenopati ve debiliteye neden olabilir. Uygun tedaviyle bile bazı hastalarda tularemiyi takiben uzamış iyileşme süreleri görülebilir. Bu hastalar sıklıkla halsizlik ve yorgunluktan yakınmaktadır (63). Hastaların pek çoğunda süpüratif lenf nodları vardır. Kötü prognoz için risk faktörleri arasında ileri yaş, ciddi alta yatan hastalık, tanıda gecikme, tedaviden önce uzamış semptomlar, pnömonik ya da tifoidal hastalık, böbrek yetmezliği ve uygun olmayan antibiyotik tedavisi yer almaktadır (64).

1.1.12. Tanı

Tularemi hastalığının tanısı, anamnez, şüpheli klinik bulguların varlığı, klinik örneklerden etkenin izolasyonu, serolojik yöntemlerle antijenik yapının veya antikor varlığının gösterilmesi ve genetik yapısının moleküler yöntemlerle belirlenmesiyle konulmaktadır. Şüpheli tularemi vakalarının laboratuvar ile doğrulanması, klinik tanıyı desteklemenin yanı sıra gerçek enfeksiyon prevalansının saptanması açısından da çok değerlidir. Ayrıca hastalığın süreyansında sağlıklı veri elde edilmesini sağlar.

Tularemi şüpheli vakalarda yapılan ilk test tam kan sayımıdır. Akut tularemi vakalarında eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) ve C-Reaktif Protein (CRP) düzeyleri artar (65).

Tularemiden şüphelenilen vakalarda gönderilen hasta numuneleri laboratuvara önceden bildirilmelidir. Çünkü yapılacak bazı testlerin (kültür ve sonrasında yapılan işlemler) biyogüvenlik düzeyi-3 olan referans laboratuvarlarında yapılması gereklidir. Laboratuvar personeli bulaş riski açısından uyarılmalıdır (66).

Tularemi tanısında kullanılan yöntemler;

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

1.1.12.1. Etkenin direkt olarak gösterilmesi: Mikroskopi ve Direkt Floresan Antikor

Kan ve çevresel örnekler hariç, kültürler ve taze klinik örnekler (farengeal yıkama, balgam, açlık mide sıvısı, konjonktival eksuda ve ülser gibi klinik örnekler) direkt olarak incelenebilirler. Tularemi tanısında alınan bu örnekler Gram ve Giemsa gibi boyama yöntemleri ile boyanabilirler. Gram preparatta *F.tularensis*, küçük, pleomorfik, zayıf boyanan ve genellikle tek tek yerleşmiş Gram negatif kokobasiller şeklinde görülür ve kolaylıkla gözden kaçabilirler. Bu yüzden Gram boyalı direkt preparatın tanıda değeri yoktur (24).

Direkt floresan antikor tanı yönteminde *F. tularensis subsp. tularensis* hücreleri ile hazırlanan işaretli hiperimmün tavşan poliklonal antikorları kullanılarak *F. tularensis subsp. tularensis* ve *F. tularensis subsp. holarctica* türleri tespit edilebilir. DFA yönteminde kullanılan antikorlar *F. tularensis subsp. novicida*, *F. philomiragia* türleri ile reaksiyona girmemektedir (24). DFA yöntemi izole edilen suşların doğrulanması amacıyla da kullanılmaktadır. DFA; CDC tarafından tularemi şüpheli olguların tanısında bir ön tanı kriteri olarak kabul edilmektedir. DFA yöntemi; moleküler yöntemlere göre orta derecede duyarlılığa sahiptir (106 bakteri/ml) ve sadece bazı referans merkezlerinde uygulanabilmektedir (65). Lipopolisakkarite karşı hazırlanmış monoklonal antikorların kullanıldığı

immünohistokimyasal boyama yöntemi, dokularda *F. tularensis*'in görüntülenmesinde başarı ile kullanılmıştır (24).

1.1.12.2. Kültür

Tulareminin laboratuvar tanısında “altın standart” halen kültür yöntemidir. *F. tularensis* erken evrede izole edilebilir. Bu nedenle klinik vaka tanımına uyan şüpheli bir vaka ile karşılaşıldığında örnek alınması en idealidir. Kültürde bakterinin izole edilmesi kesin tanı koydurucu olması yanında antibiyotik duyarlılığının ve kökenlerin orijininin belirlenmesi (moleküler epidemiyolojinin) açısından da oldukça önemlidir. Ayrıca, yeni türlerin/ alt türlerin keşfine de imkan sağlayabilir. *F. tularensis*'in kültürlerden başarılı bir şekilde izolasyonu; klinik örneklerin uygun bir şekilde alınması ve uygun şartlarda laboratuvara iletilmesi ile yakından ilişkilidir. Tulareminin kültürle tanısı daha çok, düşük virülanslı *F.tularensis subsp. holarctica* ile hastalığın meydana geldiği İskandinav ülkelerinden bildirilmiştir (67). Kültürün duyarlılığını artırmak için yapılan çalışmalarda hasta örneğinin taşınması sırasında kullanılan vasatın önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Yara örnekleri için ticari taşıma besiyerleri kullanılarak kültür duyarlılığının %62'ye kadar çıkarılabileceği ifade edilmektedir (67). Yurdumuzda daha çok orofarengeal form, daha az olarak oküloglandüler ve ülseroglandüler form görülmektedir. Bu amaçla; hastaya antibiyotik tedavisi başlanmadan önce şüpheli-olası tularemi vakasından klinik forma göre boğaz, konjunktival sürüntü, yara veya doku (lenf aspirasyon) örneği alınmalıdır. Taşıma esnasında bakterinin canlılığını koruyabilmek amacıyla sürüntü örnekleri taşıma besiyerine alınmalıdır. Hekim örneği aldıktan sonra taşıma besiyerine daldırılmalıdır. 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). Alınan klinik örnekler referans laboratuvara gönderileceği için önemlidir (68).

1.1.12.3. Moleküler Tanı Yöntemleri

Francisella tularensis' in moleküler yöntemlerle tespiti; kısa zamanda sonuç vermesi ve laboratuvar bulaş riskinin daha düşük olması ile kültürden, daha duyarlı sonuç vermesi ile de serolojik testlerden daha avantajlıdır. Klinik materyallerden

veya üremiş kültürden elde edilen nükleik materyaller PCR ile hızlıca tespit edilir. Moleküler yöntemler tür ve alt türlerin tespit edilmesine de olanak sağlar (65).

Daha önceleri jel temelli PCR yöntemleri kullanılırken artık Real Time PCR kullanılmaktadır. Kullanılan RT- PCR yöntemleri; 5' nükleaz assay, hibridizasyon temelli rezonans enerji transfer problemleri, hairpin problemleri, çift ipliğe spesifik DNA boyalarıdır. PCR'in duyarlılığı geleneksel yöntemlere kıyasla 10 kat daha yüksektir (69).

RT-TaqMan PCR yöntemi Klasik PCR' a göre daha duyarlı ve daha özgün bir yöntemdir. Üç farklı genomik bölgeyi (ISFtu2, 23 kDa, tul4) tarayan bir yöntem olup tür düzeyinde ayırım da yapabilir. RT-TaqMan PCR yöntemi biyoterör olaylarında, epidemiyolojik araştırmalarda, insan veya hayvan örnekleri gibi birçok farklı materyalden çalışılabilmektedir (69).

Francisella tularensis'in alt türlerinin farklı klinik tablo ve patojenite göstermesi alt tür ayırımına dikkat edilmesini gerektirir. PCR bazlı çalışmalarda değişik genlere, delesyonlara (RNA helikaz geninde delesyon bulunması, ISFtu2 insertion sekans elementinin olup olmaması, pdpD geni ve RD1 genindeki değişiklikler gibi) bakılarak bu ayırım yapılabilir (69).

1.1.12.4. Serolojik tanı yöntemleri

1930'lardan beri *F. tularensis*'e karşı gelişen antikor yanıtının gösterilmesi tularemi tanısında kullanılan yöntemler arasındadır (70). Doğal olarak *F. tularensis* ile enfekte insanlarda hastalığa özgü spesifik IgM, IgG ve IgA yapısındaki antikorlar semptomların başlangıcından 6-10 gün sonra aynı anda serumda belirmeye başlar, enfeksiyondan sonraki 1-2 ayda en yüksek düzeylere ulaşır ve en az 11 yıl boyunca saptanabilir düzeylerde kalmaya devam eder (71). Tularemi antikor varlığını göstermek için standart olarak kullanılan testler tüp aglütinasyon (TA) ve mikroaglütinasyon (MA) testleridir. Tek örnekte tüp aglütinasyon titresinin $\geq 1/160$ ya da mikroaglütinasyon titresinin $\geq 1/128$ olması, tularemi semptomlarıyla birlikte ve aşılama öyküsü yoksa muhtemel pozitiflik anlamına gelebilir. Serolojik tanının doğrulanması, akut ve konvelasan dönemde en az 14 gün boyunca ayrı ayrı toplanan örneklerdeki titreler arasında dört kat fark olmasını gerektirir. Serum örneklerinin ikisinden birinde TA ya da MA titresinin pozitif olması gerekir. Formalinle

öldürülmüş hücre antijeni brucella antikorlarıyla düşük düzey çapraz reaksiyon verebilir. Fakat reaksiyon düşük düzeyde olduğundan pozitif sonuçların yorumunu engellemeyecektir (24). Akut hastalık için bu titreler kabul edilirken uzun yıllar sonra antikor takiplerinde daha düşük titreler anlamlı kabul edilir. Bu durum geçmişinde hastalıktan etkilenenlerin araştırıldığı çalışmalarda sınır değerlerin aşağıya çekilmesine neden olmuştur. Bundan dolayı seroprevalans çalışmalarında çoğu yazar tarafından 1/20 ve daha yüksek titreler anlamlı kabul edilmiştir (72). Duyarlılık ve özgüllüğü yüksek olduğu için mikroaglutinasyon testi en sık kullanılan yöntemdir (73). Mikroaglutinasyon testlerinin kısa zamanda ve kolay yapılabilmesi, uygulama sırasında az miktarda antijene ihtiyaç duyulması, sonuçların gözle kolay şekilde değerlendirilebilmesi de bu testin tercih edilmesine sebep olmaktadır (72). Hastalığın hem erken dönemlerinde hem de ilerleyen dönemlerde mikroaglutinasyon testlerinin yüksek güvenilirliğe sahip olduğu yapılan çalışmalarla da desteklenmektedir. 1967 yılında ortalama titrenin 1/640 (1/160-1/2560) olduğu 53 kişilik hasta grubundan 25 yıl sonra yeniden bakılan titrelerin 53 hastanın 23 ünde halen > 1/20 olduğu gözlenmiştir (70). Mikroaglutinasyon testinde ticari tularemi antijeni kullanılabileceği gibi son yıllarda artık yerli suşlardan hazırlanan antijenler kullanılmaya başlanmıştır. İlk kez 1936 yılında Trakya Bölgesinde meydana gelen salgınlar sonrası yerli antijen üretimine başlanmıştır. Hastaların lenf bezi aspiratları farelere enjekte edilip hastalık oluşturulmasına rağmen etken izole edilememesi üzerine Gülhane ve Çorlu kökenlerinden antijen üretilerek olguların serolojik tanıları konmuştur. 1988 yılında Bursa çevresinde izole edilen kökenlerden Gedikoğlu ve ark. tarafından üretilen antijenler o yıllardan beri hastalığın serolojik tanısında kullanılmıştır. En son 2005 yılında Bolu Gerede’de iki hastanın lenf bezi aspiratlarından antijen üretilerek tanıda kullanılmaya başlanmıştır (72). Fazla sayıda kolayca ve hızlı çalışılabilmesi, uzun süre önce oluşan antikorların tespitinde daha duyarlı olması ve çapraz reaksiyon olasılığının daha düşük olması gibi nedenlerden dolayı bazı araştırmacılar tarafından yarı saflaştırılmış lipopolisakkaritler ve sonikasyonla elde edilen bakteri özütü ile hazırlanan ELISA yöntemi kullanılmaktadır (72). Akut tulareminin tanısında immüno Floresan teknikler de kullanılmaktadır. Laboratuvar iş yükünün ve çapraz reaksiyonların fazla olması,

yıllar içinde antikor saptamadaki duyarlılığının azalması gibi dezavantajları bulunmaktadır (74).

1.1.13. Vaka tanımları

Tulareminin başlangıcı, klinik belirti ve bulguları spesifik olmadığı için birçok hastalıkla karıştırılabilmektedir. Bununla birlikte, tularemi enfeksiyonuna özgün laboratuvar bulgularının olmaması tanının geç konulmasına neden olmaktadır. Bu nedenle vaka tanımı önemlidir. Tularemi vakaları şüpheli vaka, olası vaka ve kesin vaka olarak sınıflandırılır. Buna göre kullanılan vaka tanımları aşağıdadır.

Şüpheli vaka: Tularemi ile uyumlu klinik bulguları olan vakada aşağıdakilerden en az birinin bulunması durumu;

1. Son bir ay içerisinde tularemi bildirilen bir bölgede bulunmuş olmak,
2. Son bir ay içinde riskli temas öyküsünün varlığı (klorlanmamış su içmek, yabani hayvanla temas, kene ısırığı, hayvan leşleriyle temas),
3. Beta laktam grubu antibiyotiklere yanıt vermeyen akut tonsillofarenjit.

Olası vaka: Şüpheli vakada aşağıdakilerden en az birinin bulunması durumu;

1. Aşılınmamış veya daha önce tularemi geçirmemiş vakada tek serum örneğinde 1/160 ve üzeri titrede antikor varlığı,
2. Klinik örneklerde PCR pozitifliği,
3. Klinik örneklerde ELISA, floresan mikroskopi vb. incelemelerde antikor veya antijen pozitifliği.

Kesin vaka: Şüpheli vakada aşağıdakilerden en az birinin bulunması durumu;

1. Klinik örneklerden F. tularensis izolasyonu
2. En az 10 gün arayla tekrarlanan serolojik incelemede antikor titresinde en az dört kat artış.

1.1.14. Ayrıcı tanı

Ülkemizde genellikle görülen orofarengeal formda yakınmalar ateş ve boğaz ağrısı ile başlar, takip eden haftalar içinde servikal lenfadenopati bu tabloya eklenir. Streptokoksik farenjit tanısı alan ve beta laktam antibiyotik tedavisi verilen hastalarda yanıt alınamamaktadır. Ülkemizde tüberküloz endemik olduğundan bu

olgular süpuratif lenfadenitin tabloya eklendiği ileri dönemlerde genellikle tüberküloz lenfadenit olarak tanı almakta ve çoğunlukla tedaviden de yarar görmemektedirler (75, 76). Bazen tüberküloz tedavisi sırasında kombinasyon içinde streptomisin varsa bu hastalar yanlış tanı alsalar da tedavi şansını elde etmiş olmaktadır. Ancak tüberküloz tedavisi için bu ilaçları aldıklarından gereksiz yere daha uzun süre ile ve daha fazla çeşit ilaçla tedavi edilmeleri nedeniyle yan etki ve maliyet sorunu gündeme gelmektedir (76). Lenfadenopatilerin patolojik incelemesi ile granümatöz inflamasyonun saptanması enfeksiyöz olan ve olmayan hastalıklarla ayırıcı tanıyı gerektirir. Enfeksiyöz olmayan nedenler arasında sarkoidoz, yabancı cisim reaksiyonu, kollajenozlar ve nedeni belli olmayan diğer granümatöz hastalıklar sayılabilir.

Enfeksiyöz nedenler arasında tüberküloz, bruselloz, yersinyoz, salmonelloz, kedi tırmığı hastalığı gibi bakteriyel hastalıklar, toksoplazmoz, layşmanyaz gibi paraziter hastalıklar ve sporotrikoz, kandidoz gibi mantar hastalıkları yer alır. Serolojik incelemeler, mikroskopi ve kültürle bu hastalıkların ve tulareminin tanısı konulabilir (76).

1.1.15. Örneklerin alınması ve saklanması

İnsandan insana bulaş bildirilmemesine karşın örneği alacak kişi genel kabul görmüş standart temas önlemlerini almalıdır. Bunlar; işlem sırasında önlük ve eldiven giyilmesi, aerosolizasyon riski varsa yüz ve göze maske ve gözlük takılması, eller ve sıçramaya açık yerlerdeki cilt lezyonlarının üstünün kapatılması, işlem sonrası ellerin yıkanması gibi basit temas önlemlerinden ibarettir (66).

Tularemi tanısında hastadan alınacak örnek akut dönemde alınmalı ve nereden örnek alınacağı mevcut klinik tabloya göre belirlenmelidir. Enfekte ülseri olan hastadan, ülserin yayılmakta olan sınırından kazıntı örneği veya nemlendirilmiş pamuk uçlu silgiç ile alınan sürüntü örneği Stuart, Amies, Cary Blair veya modifiye Thayer Martin transport besiyeri içinde kültür ve moleküler incelemeler için gönderilmelidir. Aynı şekilde oküloglandüler tularemide konjunktivitli hastanın alt göz kapağından, farengial tutulumda ise boğazdan alınan sürüntü örnekleri uygun transport besiyeri içinde laboratuvara gönderilmelidir (19).

Pnömonik tularemi de en sık incelenen örnek balgamdır. Hasta dişlerini iyice fırçalayıp, ağzını bol su ile çalkaladıktan sonra derin bir öksürük ile çıkardığı balgam örneği alınmalıdır. İndüklenmiş balgam örneği, mide açlık sıvısı, endotrakeal aspirat, bronkoalveolar lavaj, bronş fırçası gibi örnekler de inceleme için kullanılır. Bu örnekler steril vidalı kapaklı tüplere alınarak laboratuvara gönderilmelidir (19). Lenf bezleri, karaciğer, dalak vb. organlardan steril şartlarda alınan biyopsi örnekleri de steril vidalı kapaklı tüplerde laboratuvara gönderilmelidir. Materyalin kurumaması için tüp içine steril distile su veya steril serum fizyolojik konularak nemlendirilebilir. Yumuşak doku ve lenf bezlerinden ince iğne aspirasyonu ile alınan 1-1,5 ml lik aspiratta inceleme için kullanılabilir. Şüpheli bölgeye 1-1,5 ml steril serum fizyolojik verilip geri aspire edilen sıvıda da bakteri aranabilir (19).

Kan kültürü için standart kan kültürü alım tekniklerine uyulmalı her bir tüp için en az 10 ml kan alınmalıdır. Serolojik çalışmalar için ise antikoagulan içermeyen tüplere yaklaşık 5 ml kan alınıp 15-20 dk bekledikten sonra santrifüj edilmeli ve ayrılan serum sızdırmaz vidalı kapaklı tüplere aktarılmalıdır. Serolojik testlerde akut ve konvelesan dönemde (2-4 hafta sonra) alınan iki serum örneği arasındaki anlamlı titre artışı tanıyı desteklemesi açısından önem arz etmektedir (66).

Hasta başında kültür ekimi bakterinin izolasyon ihtimalini artırır fakat genelde bu mümkün olmamaktadır. Hasta başı ekim yapılamadığında alınan materyaller kömürlü Amies, Cary Blair veya modifiye Thayer Martin agar (7,5 mg/L kolistin, 2,5 mg/l amfoterisin B, 0,5 mg/l linkomisin, 4 mg/l trimetoprim, 10 mg/l ampisilin içeren) besiyerleri gibi taşıma besiyerleri ile oda ısısında 1-3 gün içerisinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Taşıma besiyerine alınmış materyaller oda ısısında veya +4 derecede saklanabilir. Stuart besiyeri bakterinin canlı kalmasına çok uygun değildir. Thayer Martin ve kömürlü Amies besiyerlerinde bakteri canlılığını yedi güne kadar koruyabilmektedir. Kontaminasyon ihtimali olan materyaller antibiyotik içeren besiyerlerine ekilmelidir (19). Kan kültürleri bekletilecekse oda ısısında bekletilmelidir. Moleküler tanıda kullanılacak materyaller 5M guanidin isotiyosiyanat (GuCN) içeren tampona, örnek/GuCN oranı 1/2 olacak şekilde alınıp oda ısısında laboratuvara gönderilmelidir. Bu materyal 1 ay saklanabilir. (19).

Tüm materyaller (kan kültürleri istisna) işlenene kadar +4 derecede taşıma besiyeri içinde saklanabilir. Bakteriler -80 derece dondurulabilir. Serum örnekleri 1

haftaya kadar +4 derecede, daha uzun süreler için -20 veya -80 derecelerde saklanabilmektedir (19).

1.1.16. Bildirim

Tularemi bildirimini zorunlu bir hastalıktır (77). Olası her hastanın ileri tetkiklerle araştırılması gerekir. Hasta materyalleri uygun ortamlarla referans laboratuvarlarına gönderilmelidir. Tüm vakaların İl Sağlık Müdürlüğüne vaka bildirim formları ile (Form 014, Form 017C) (EK-1) bildirim yapılmalıdır (19).

1.1.17. Tedavi

Tularemi enfeksiyonlarının uzamış bir seyir göstermesi nedeni ile klinik iyileşme süresini kısaltmak, komplikasyonları önlemek, mortaliteyi azaltmak ve relapsları önlemek amacı ile hastaların en erken dönemde uygun antimikrobiyal ajan ile tedavi edilmesi gerekmektedir (78). Tedavide antibiyotiklerin kullanılmaya başlanmasından önceki dönemde olgu fatalite hızı % 7 (%5-15), pnömonik ve tifoidal form gibi ağır olgularda % 33 iken, antibiyotiklerin kullanıma girmesi ile mortalite hızı % 2'lere kadar gerilemiştir. Tularemi hastalığında ileri yaş, altta yatan diğer tıbbi problemler, semptomların bir aydan uzun süre devam etmesi, tanıda gecikme, belirgin plöropulmoner veya tifoidal hastalık, böbrek yetmezliği, gecikmiş tanı ve uygun olmayan antibiyotik tedavisi kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir (79). Tedavide en önemli nokta uygun antibiyotiğin en kısa sürede başlanmasıdır. Birçok vakada da gösterildiği gibi klinik belirtilerin başlamasından kısa süre sonra başlanan tedavilerde, daha geç başlanan tedavilere göre klinik başarı daha fazladır (78). Hastalığın tedavisinde kullanılan başlıca antibiyotikler streptomisin, gentamisin, tetrasiklin, doksisisiklin, yeni kinolon türevleri ve kloramfenikol'dür.

1.1.17.1. Aminoglikozitler

Tularemi tedavisinde streptomisin geliştirildiği ilk yıllardan itibaren tercih edilen antibiyotiklerden birisi olmuştur. Streptomisin kullanıma girmesi ile birlikte tularemi olgularında mortalite %30'lardan %3'lere gerilemiştir (70). ABD'de streptomisin ile tedavi edilen 224 olgunun 217'sinde klinik olarak iyileşme gözlenmiş, sadece ağır vakalarda renal işlev bozukluğu gibi yan etkiler ortaya çıkmış

olup, başarı şansı % 97 olarak saptanmıştır. Kullanım şekli erişkin hastalarda 12 saatte bir 15 mg/kg/gün (maksimum 2gr/gün), intramüsküler olarak 7-10 gündür. Streptomisin uygulanmasını takiben genellikle 24-48 saat içerisinde ateş ve diğer semptomlarda gerileme görülmektedir (73). Çocuk hastalarda doz 30 mg/kg/gün (maksimum 2gr/gün) olarak ayarlanıp günde iki kez olacak şekilde 7 gün süreyle verilmelidir (78). Tularemi tedavisinde kullanılan diğer aminoglikozit gentamisinidir. Tedavideki başarı şansı streptomisine göre daha düşük (%86), relaps oranı daha fazladır (%6) (80). Erişkin hastalarda 3-5 mg/kg/gün dozunda üç eşit parçaya bölünerek intravenöz ya da intramuskuler yoldan 7-10 gün süreyle uygulanır. Çocuklarda ise, 6mg/kg/gün dozunda serum tepe düzeyi 5-7 mg/L olacak şekilde ayarlanmalıdır (78). Streptomisinin vestibuler toksisite, ilacı hazırlayan ve temas edenlerde hipersensitivite reaksiyonun gelişmesi ve bazı ülkelerde kullanımda olmaması gibi dez avantajları vardır. Ancak beyin omurilik sıvısına (BOS) geçişinin iyi olması nedeni ile menenjitli hastalarda tercih edilir (70). Tedavide diğer aminoglikozitlerin kullanımına dair yeterli veri bulunmamaktadır. Amikasin, netilmisin ve tobramisin'in tularemi'de in vitro etkinliği saptanmış olmasına karşın klinik kullanımlarına ilişkin yeterli veri bulunmamaktadır (73).

1.1.17.2. Tetrasiklinler

Tetrasiklinler tularemi tedavisinde kullanılan bakteriyostatik ajanlar olup oral seçenekler arasında alternatif ilaçlardır. Bakteriyostatik ilaçlar bakterinin üremesini durdurmakta, ancak konağın bakterisidal savunma mekanizmaları gelişene kadar bakteri canlılığını korumaktadır. Bakteriyostatik ilaçlarla iki haftadan daha kısa süreli tedavilerde hücrel immün yanıt gelişmemesi nedeni ile relaps oranı yüksektir (79). Tetrasiklinlerle tedavide başarı şansı %88 iken relaps oranı %12 olarak tespit edilmiştir (80). Tetrasiklin preparatı 2g/gün dozunda 4 eşit parçaya bölünerek 14 gün süreyle verilmelidir. Doksisisiklin ise 2 x100mg/ gün dozunda 14 gün süreyle kullanılmalıdır. Daha yüksek biyoyararlanım, lipofilik özellik ve günde iki doz kullanım kolaylığı sebebiyle doksisisiklin tularemi tedavisinde tercih edilen alternatif ilaçtır. Yemeklerden sonra alınmasıyla oluşacak gastrointestinal yan etkiler azaltılabilir. Tetrasiklin türevi ilaçlar gebelerde, emziren bayanlarda ve 8 yaşından küçük çocuklarda tercih edilmemelidir (78).

1.1.17.3. Kinolonlar

Kinolonlar bakterisidal etkili olmaları, oral yoldan kullanılabilmeleri, yüksek biyoyararlanıma sahip olmaları, aminoglikozitlere göre daha az yan etkiye sahip olmaları, hücre içi penetrasyonlarının iyi olması ve dokulara yeterli konsantrasyonlara ulaşabilmeleri, ilaç düzeylerinin takip gerektirmemesi ve invitro etkinliklerinin yüksek olması nedeni ile tularemi tedavisinde tercih edilen ajanlar olmuşlardır (79). Kinolon kullanımına dair veriler daha çok *F. tularensis* subsp. *holarctica* subtipinde siprofloksasin kullanımı ile ilgilidir. E test ve agar dilüsyonla yapılan in vitro çalışmalarda *F. tularensis*' e karşı mik değerleri 0.02-0.1 mg/L olarak tespit edilmiş ve sıvı dilüsyon testinde minimal bakterisidal konsantrasyon değerleri (MBK) ve minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) (0.25mg/L) değerlerinin birbirine eşit olduğu gösterilmiştir (81). *F. tularensis* subsp. *holarctica*'ya bağlı enfeksiyonların tedavisinde siprofloksasin 2x750 mg, norfloksasin 2x400 mg 10 gün süreyle kullanılmalıdır (78). Ayrıca kinolonların çocuk hastaların tedavisinde de kullanılabilirdiği ve siprofloksasinin güvenlik profilinin erişkinlerle aynı olduğuna dair veriler bulunmaktadır (15-20mg/kg/gün) (79). Yapılan in vitro çalışmalar *F. tularensis* subsp. *tularensis* (tip A) ve *F. tularensis* subsp. *holarctica* (tip B) karşı kinolonların MIC düzeylerinin birbirine yakın olduğunu ve etkin sınırlar içinde olduğunu göstermiştir (82).

1.1.17.4. Kloramfenikol

Kloramfenikol, bakteriyostatik etkili bir antibiyotik olup, tularemi tedavisinde oral seçenekler arasında yer almaktadır. Ciddi hematolojik yan etkilerinin bulunması ve relaps oranının yüksek olması nedeni ile tedavide çok tercih edilmemektedir. BOS' a geçişinin iyi olması nedeni ile tularemi menenjitli hastaların tedavisinde streptomisin ile birlikte kullanılması önerilmektedir. Menenjitli hastaların tedavisinde 25-60 mg/kg/gün dozunda dört eşit parçaya bölünerek, intravenöz yoldan 14 gün süreyle önerilir. Günlük doz 6 g' ı geçmemelidir (79).

Gebelikte uygulanacak tedavi yarar- risk oranı göz önüne alınarak karar verilmelidir. Gebelerde tularemi tedavisinde siprofloksasin ve gentamisin kullanılması önerilmektedir. Gebelikte gentamisin ve siprofloksasinin kullanımı FDA tarafından onay almamış olmasına rağmen (Kategori C: fetus için zararlı olup

olmadığı bilinmemektedir), sivil toplumun biyolojik savunması için çalışma grubu tarafından önerilmiştir (79). Beta-laktamlar, kotrimoksazol, klindamisin tularemi tedavisinde etkili olmamaktadır. Eritromisin, rifampisin in vitro etkili olsalar da tularemi tedavisinde tercih edilmeyen antibiyotiklerdir (78). Lenfadenopatilerin iyileşmesi uzun zaman alacağı için fluktuasyon döneminde lenf bezlerinin drenajı tedaviye katkı sağlayabilir. Lenfadenopatili hastalarda iğne aspirasyonu veya lenf gangliyonunun total eksizyonu yerine hafif bir insizyon yapılarak drenajın sağlanması ve drenin bir süre tutulması en uygun yaklaşım olarak görülmektedir (58).

1.1.17.5. Antibiyotik direnci

F. tularensis'te aminoglikozid, tetrasiklin, kloramfenikol ve kinolonlara karşı doğal direnç bildirilmemiştir. Eritromisin direnci Kuzey Avrupa'da (özellikle İskandinavya), Rusya'nın endemik bölgelerinde ve ülkemizde yaygındır. Eritromisin direnci tularemi tedavisinde önerilen ajanlar arasında değildir ancak, epidemiyolojik çalışmalarda veri olarak kullanılabilir. İn vitro maruziyet sonrası rifampin direnci kolaylıkla artabilir. Deneysel olarak, streptomisin ve tetrasiklin dirençli suşlar geliştirilmiş olup, büyük olasılıkla kinolon direnci de kolaylıkla sağlanabilir. Klinik olarak *F. tularensis*'in insan florasının bir üyesi olmaması ve insandan insana bulaşmaması nedeniyle direnç gelişim riski çok düşüktür. Ancak biyoterör saldırılarında antibiyotik dirençli suşlar büyük risk teşkil etmektedir (70).

1.1.17.6. Temas sonrası profilaksi

Temas sonrası profilaksi biyolojik silah kullanımında, gıda veya su kaynaklı salgınlar sonrasında ve laboratuvar çalışanlarında riskli maruziyet sonrasında uygulanmalıdır (83). Laboratuvar çalışanlarında etkenle temastan sonraki ilk 24 saat içinde antibiyotik tedavisine başlanmalı ve 14 gün boyunca devam edilmelidir. Siprofloksasin(1000 mg/gün) veya doksisisiklin(200 mg/gün) kullanılabilir. Laboratuvar dışı bir temasta, şüpheli kişi 14 gün boyunca gözlem altında tutulmalı, günlük ateş takibi yapılmalı ve semptomlar açığa çıkarsa spesifik tedaviye başlanmalıdır. Biyolojik saldırı ve aerosol ile temas olduğu durumlarda 14 gün boyunca siprofloksasin veya doksisisiklin kullanılmalıdır. Temasın şüpheli olduğu

durumlarda kişiler 14 gün boyunca ateş gelişimi açısından takip edilmeli, eğer semptomlar ortaya çıkarsa tedaviye başlanmalıdır (79).

1.1.18. Interferon Gama (IFN- γ)

1957 yılında, inaktive viruslar ile temas eden hücrelerin en az bir tane olmak üzere eriyebilme özelliğine sahip bir faktör ürettikleri ve bunun yeni enfekte olmuş hücrelere uygulandığında viral replikasyonu önlediği keşfedilmiştir. Bu faktöre interfer: mani olmak, engel olmak kelimesinden esinlenerek interferon adı verilmiştir (84).

İnterferonların sınıflandırılması aminoasit sıralamasına, üretildiği hücreye, antijen için gerekli stimulus gibi kriterlere göre yapılmaktadır. İnterferonların bir tanesi hemen hemen bütün özellikleriyle diğerlerinden ayrılır. IFN-gama olarak isimlendirilen bu interferon diğerleri gibi antiviral etki göstermekle beraber en önemli özelliği immünoregulator bir molekül olmasıdır (85).

Tip II interferon; Gamma interferon veya immun IFN diye de adlandırılır. IFN- γ tek bir gen'e bağlı olarak sentezlenir, kodlayan gen insanlarda 12. kromozom üzerinde bulunur, diğer interferonlar ile hiçbir benzerlik göstermez. Bağlandıkları reseptörler, tip I interferonun reseptörlerinden farklıdır. Anti-viral aktivitesi olmakla beraber, bu etkisi Tip I interferonlara göre çok düşüktür. IFN-gama başlıca CD4+ T (özellikle Th1 grubu) hücreleri ve NK hücreleri tarafından sentez edilir. Kazanılmış immunitede T hücreleri IFN- γ 'yı antijenin tanınmasına yanıt olarak salgılar ve bu da yine IL-12 tarafından artırılır. Neredeyse bütün hücre tipleri IFN- γ için reseptör taşırlar. IFN- γ Sınıf II MHC proteinleri taşıyan hücrelerde bu proteinlerin miktarını arttırarak CD4+ T lenfositlere karşı antijen sunumunu yükseltir (86).

1.1.18.1. Interferon Gama (IFN- γ)'nın Fonksiyonları

İnterferon Gama bilinen en güçlü makrofaj aktivatörüdür. IFN- γ 'ya maruz kalma sonucunda; makrofajların mikrobisidal aktiviteleri, daha düşük seviyede de sitotoksik kapasiteleri artar. IFN- γ makrofajları etkileyerek; IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α gibi sitokinlerin salınmasına yol açar. Bunun yanısıra proteolitik enzimler, transkripsiyon faktörleri de sentezleyerek özellikle intrasellüler bakterilerin yol açtığı hastalıkların kontrolünde önemli rol oynar. Th 1 hücrelerin aktivitelerini arttırarak hücrel immüniteyi arttırır. Th-1 tip sitokinlerin en belirleyici olanıdır. Buna

karşılık Th-2 hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederek humoral immünitinin baskılanmasına sebep olur. IFN-gama normalde kanda dolaşmaz, fizyolojik olarak otokrin veya parakrin mekanizmalarla etki eder (86). IFN- γ 'nın immunoregulator mekanizmadaki görevleri şöyle sıralanabilir:

1. Antijen sunumunun artırılması.
2. Fagositlerdeki reaktif oksidan (süperoksit, hidrojen peroksit ve nitrit oksit) üretiminde kullanılan enzimlerin sentezini artırarak intrasellüler patojenlerin öldürülmesi.
3. İnfektif ajanların yok edilme kapasitesinin artırılması
4. Makrofaj aktivitesinin artırılması ve intrasellüler antimikrobiyal konsantrasyonun artırılması.
5. Antijen sunan hücrelerin üzerindeki Sınıf II MHC moleküllerinin sunumunun artırılması.
6. T hücrelerinin Th1 tipine dönüşümünü arttırıp Tip 2 hücre proliferasyonunun inhibe edilmesi.
7. Nötrofillerin aktive edilmesi ve NK hücrelerinin sitolitik aktivitesinin artırılması.

Mononükleer fagositler patojenlere karşı konağın savunulmasında önemli rollere sahiptir. Makrofajlar hücre içi patojenleri yok ederek ve T hücrelerine antijen sunarak immun sistemde rol oynamaktadır. Makrofajlar bu fonksiyonlarını Makrofaj aktivitör faktör (MAF) olarak adlandırılan ve önemli bir komponentini IFN - γ 'nın yaptığı moleküller ile arttırırlar.

Böylece makrofajlarda inflamatuvar süreçte IFN- γ etkileşimi ile hücre içi patojenlerin yok edilme yeteneği ve IFN - γ etkisi ile MHC sınıf II gen ekspresyonu arttırılır (87) .

1.1.18.2. Doğal Ve Kazanılmış İmmun Cevabın Regülasyonunda IFN- γ 'nın rolü

İnterferon gama uyarımından sonra, farklılaşmamış T hücresinden STAT-4 ve T bet transkripsiyon faktörleri aracılığıyla Th-1 ve T hafıza hücreleri farklılaşır. Th-1 hücresinden IFN- γ başta olmak üzere IL-18, IL-12 gibi inflamasyonda önemli rollere sahip sitokin salınımı gerçekleşir (88).

B hücrelerinde IFN- γ uyarımı T bet transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu artırır. Bu uyarım immunglobulin dönüşümüne neden olur ve B hücrelerinde Ig-G ekspresyonu artar.

Ayrıca IL-4 etkisini antagonize ederek Ig-E oluşumunu engeller (89, 90). IFN- γ MHC sınıf II moleküllerinin yapımını arttırarak antijen sunan hücre ile CD4+ T yardımcı hücreleri arasındaki etkileşimi arttırır (91).

1.1.18.3. Interferon Gama (IFN- γ)'nın Moleküler Genetiği

İnterferon 166 aminoasitten oluşan bir proteindir. IFNG geni 12. kromozomun uzun kolu (12q24.1) üzerinde yer alır (92). IFN- γ geni'nin ilk intronu CA dizilerinden oluşan mikrosatellit tekrarlamalar içermektedir. Bu CA tekrarlamalarına göre 6 adet polimorfizm gösterilmiştir. Allel 2 olarak adlandırılan 12 li CA tekrar dizilerinin varlığı gen ekspresyonunda artış ile yakından ilişkilidir. (92). Ayrıca bu allel 2 tekrar dizileri ile tek nükleotid polimorfizmi arasında tam bir ilişki mevcuttur. Bu tek nükleotid polimorfizmi 874 A/T polimorfizmidir. IFN- γ 'nın bu bölgesi gen ekspresyonu için gerekli olan transkripsiyon faktörü NFkb' nin bağlandığı bölgedir. Eğer T aleli mevcutsa NFkb'nin bu bölgeye bağlanma afinitesi artar. Bu immün uyarı halinde interferon gama ekspresyonun fazla yapımına neden olur (6).

Rossoum ve arkadaşları + 874 A-T polimorfizmi ile transkripsiyon faktörü olan NFkb arasındaki ilişkiyi ve NF-kB' nin spesifik gen bağlanma bölgesine bağlandığını göstermişlerdir (93).

İnterferon gama geninin birinci intronundaki bu mikrosatellit polimorfizm, ciddi otoimmün ve kronik inflamatuvar olaylar ile ilişkilendirilmiştir (94). Bu tek nükleotid polimorfizminin (+874A-T), +874T alleli yüksek IFNG ekspresyonu, +874A alleli ise düşük IFNG ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur (95).

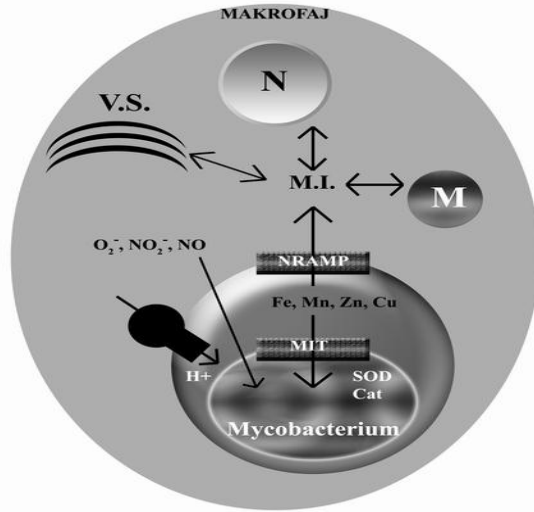
İnterferon gama +874 A-T polimorfizmi ile romatoid artrit (96), akciğer transplantasyonundan sonra gelişen akciğer fibrozisi (97), kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalarda gelişen akut greft versus host hastalığı arasında ilişki bulunmuştur (98).

1.1.19. Metal İyonu Taşıyıcı Protein (natural resistance Associated Macrophage Protein, SLC11A1-NRAMP1) Geni

Doğal direnç ilişkili makrofaj protein geni metal iyonu taşıyıcı protein olması nedeniyle ‘Solute Carrier Family 11 Member 1’ (SLC11A1) olarak da adlandırılmaktadır (99). Onbeş eksondan oluşan ve 12 kb büyüklüğünde olan NRAMP-1 geni, 550 amino asitlik bir proteini kodlamaktadır (10). NRAMP-1 53 kDa’luk bir integral membran proteini

olup, makrofajlarda endolizozomal kompartmanda yerleşiktir (100).

Enfekte makrofajların fagolizozomlarından demiri sitoplazmaya pompalayarak, fagolizozomlardaki bakterilerin gelişimi için esas olan demiri ortamdan uzaklaştırır ve hücre içi parazitlerin replikasyonlarını önler. Aynı zamanda bakterilerin aktif oksijen bileşiklerine karşı kendini korumak için kullanacağı antioksidan savunma enzimleri (SOD, katalaz) için gerekli olan Zn, Cu gibi metallerin fagozomdan sitoplazmaya pompalanmasında da sorumludur (101, 102).



Şekil 6. Makrofaj-patojen etkileşiminde NRAMP1’in ve NRAMP1’in bakteride homologu olan metal iyon taşıyıcısı (MIT)’nin işlevleri.

Makrofaj fagozomuna alınan infeksiyon ajanı bakteri, varlığını devam ettirebilmek için aktif oksijen bileşenleri ile mücadele eder. Bakteri, toksik ajanları nötralize edebilen katalaz ve süperoksit dismutaz gibi metallo enzimleri üreterek kendini korur. Metallo enzimleri üretmek için gerekli olan metal iyonlarını, metal iyon taşıyıcısı aracılığıyla makrofaj içindeki metallere karşılar. Makrofaj ise, metal iyon taşıyıcı proteini (NRAMP1) sayesinde bakteri için gerekli olan metal iyonlarını uzaklaştırarak savunmasını gerçekleştirir. N, nükleus; V.S, vakuoler sistem; M, mitokondri; M.I, metal iyonları; SOD, süperoksit dismutaz; Cat, katalaz (103).

Ayrıca makrofaj aktivasyon yolunda da önemli roller üstlenmektedir: CXC kemokin (a-chemokine) regülasyonunu sağlar; IL-1b, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), MHCII molekülleri, TNF-a ve nitrik oksit (NO) salınımını düzenler (7). NRAMP1'in nötrofil işlevi üzerindeki söz edilen bu rolleri tüberküloz, lepra gibi infeksiyöz hastalıklarla (13, 104) ve romatoid Artrit (105), kawasaki (106) primer biliyer siroz (107) hastalığı gibi inflamatuvar hastalıklarla bağlantılı olduğu fikrini desteklemektedir.

1.1.19.1. Metal İyonu Taşıyıcı Protein (Natural Resistance Associated Macrophage Protein, SLC11A1-NRAMP1) Geni Moleküler Genetiği

İnsanda en fazla alveolar makrofajlarda ve periferik kan lökositlerinde anlatımı yapılan NRAMP-1 geninde sayıları 11'e varan değişim belirlenmiştir (108). Bunların 5 tanesi ekson bölgelerinde, 3 tanesi intron bölgelerinde, 2 tanesi genin 3' translasyonu yapılmayan bölgesinde ve 1 tanesi de 5' promotor bölgesindedir (10). Bu değişimlerden genin transkripsiyon başlangıç noktasından 250-300 baz çifti öncesinde bulunan (GT)_n tekrar polimorfizmi, 15. eksondaki tek nükleotid (D543N) polimorfizmi, 4. introndaki tek nükleotid (469+14G/C) polimorfizmi ve genin 3' anlatımı yapılmayan bölgesindeki 4 bazlık delesyon (1729+55del4) polimorfizminin hastalıkların gelişiminde etkili olduğu düşünülmektedir. Z-DNA formu meydana getiren (GT)_n allellerin genin farklı düzeylerde anlatım yapmasından sorumlu olduğu bildirilmektedir (10). Bu bölgede, gen ekspresyonunu yönlendirme yetenekleri açısından farklı alleller tanımlanmıştır. Bu allellerden allel 1, 2 ve 4 zayıf promotor özelliğinde, allel 3 ise kuvvetli promotor özelliğindedir. Genel olarak toplumlarda yaklaşık olarak allel 2 % 25, allel 3 % 75 oranlarında bulunur iken, diğer allellerin sıklığı %0.001'dir. 15.eksondaki değişimin, aspartik asit yerine asparagin oluşmasına neden olarak protein fonksiyonunu ve böylece makrofaj fonksiyonunu değiştirdiği düşünülmektedir (99). Genin 3' anlatım yapılmayan bölgesindeki delesyon polimorfizminin ise fizyolojik etkisi bilinmemekle birlikte, pek çok genin 3' bölgesinde düzenleyici elementler bulunduğundan dolayı önemlidir. 4. intronda alternatif kırılma noktası bulunduğundan dolayı da bu bölgedeki polimorfizmin farklı büyüklüklerde ürün oluşumundan sorumlu olduğu ileri sürülmektedir (106).

Bu çalışmada; tularemi tanısı almış hastaların epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar özelliklerinin değerlendirilmesi, bu hastalarda IFN- γ +874 A-T polimorfizmi ve NRAMP1 INT4 (Dördüncü intronda tek nükleotid değişikliği (469+14G/C)) varlığının araştırılması amaçlandı. Çalışmada daha önce PCR ve/veya tüp aglutinasyonu ya da mikroaglutinasyon yöntemi ile tanı konmuş 25 kişilik tularemi hasta grubu ile 100 kişilik sağlıklı kontrol grubunda gen polimorfizmi değerlendirilmesi yapıldı.



2. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada, Ocak 2011 – Mayıs 2017 ayı arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran ulusal referans laboratuvarında tularemi tanısı almış hastalar hastanemiz medulla sisteminden retrospektif tarandı, hastalara sistemdeki telefon numaralarından ulaşıldı ve genetik çalışmaya katılmayı kabul eden hastalar çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu enfeksiyon hastalıkları polikliniğine başvuran enfeksiyöz patoloji saptanmayan, otoimmün hastalık, diyabet, hipertansiyon gibi komorbiditesi olmayan hasta grubundan seçildi.

Hasta Bilgileri. Hastaların bilgileri standart bir forma kaydedildi. Bu forma hastaların yaşları, cinsiyetleri, başvuru semptomları, fizik inceleme bulguları, laboratuvar sonuçları, tedavi rejimleri ve izlemleri kaydedildi. Laboratuvar değerlendirilmesi olarak; tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı, CRP düzeyleri, mikrobiyolojik olarak kültür ve serolojik testler (tularemi mikroagglütinasyon ve pcr) bakıldı. Gerek görülen hastalara ultrasonografi uygulandı.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu onayı alınıp, gönüllü olur formu imzalatıldıktan sonra hasta ve kontrol grubundan etilendiamintetraasetikasit (EDTA) içeren tüpe 3 ml olacak şekilde kan örnekleri alındı. Bu örneklerden IFN- γ +874 A-T polimorfizmi ve NRAMPI INT4 (Dördüncü intronda tek nükleotid değişikliği (469+14G/C)) çalışıldı.

2.1. Genotip Araştırılması

Çalışmada, tularemi tanısı konulmuş hastalardan ve sağlıklı bireylerden (100 kişi) 3 ml'lik EDTA'lı tüplere alınan kan materyalleri kullanıldı. Kandan DNA izolasyonu yapıldıktan sonra tasarlanan primerler ile multipleks PCR yapıldı. PCR karışımına; 10 ng genomik DNA, 0.1 μ mol/L her bir primerden (forward ve reverse), 0.4 mmol/L dNTP, 3.0 mmol/L MgCl₂, 10 \times PCR buffer, 1 U Taq polimeraz (Amplitaq gold) eklendi. Final volum 20 μ l olacak şekilde ayarlandı. PCR sonrası purifikasyon işlemi yapıldı. Minisequencing reaksiyonundan sonra, 10 μ l son hacim 1 U SAP ile 60 dakika 37 C'de muamele edildi. Ardından 15 dakika 75°C 'de enzim inaktivasyonu yapıldı. Minisequencing ürünleri (0.5 μ l) 9 μ l of Hi-Di formamid ve

0.5 µl GeneScan- 120 LIZ size standard (Applied Biosystems) ile karıştırıldı ve 95°C 'de 5 dakika denatürasyon yapıldı. Floresan işaretli ürünler ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) ile analize edildi. Elde edilen veriler GeneMapper 4.0 software (Applied Biosystems Co. Ltd., USA) ile değerlendirildi. Genotip oranlarının denge değerlerinden anlamlı sapmalar yapıp yapmadığının belirlenmesi için Hardy Weinberg Dengesi hesaplamaları yapıldı.

2.2. İstatistiksel Analiz

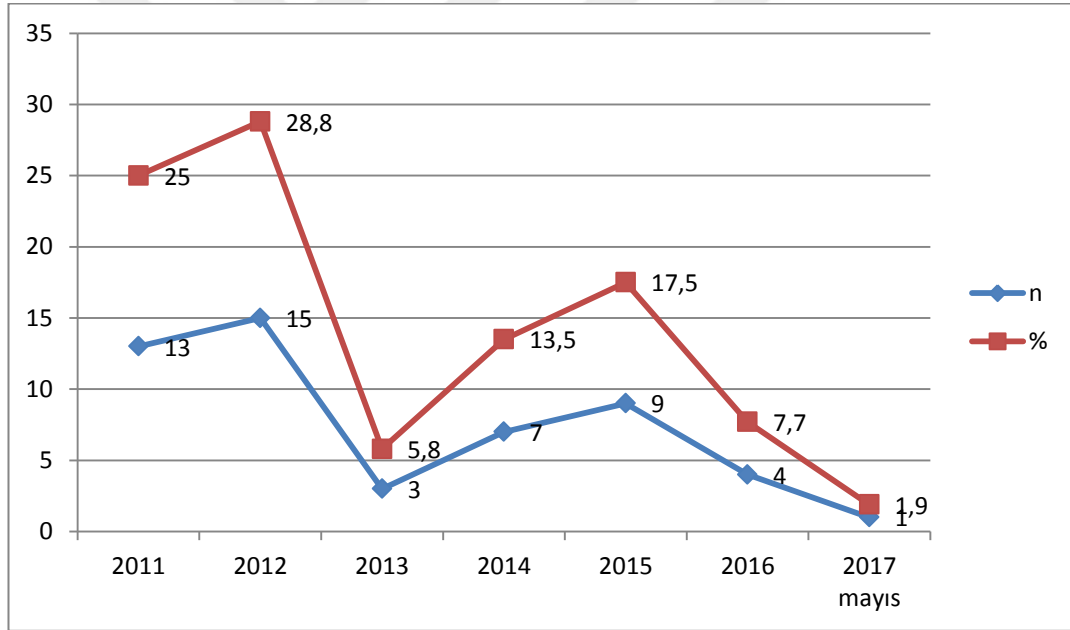
İstatistiksel analiz için IBM SPSS Statistics 22 versiyon paket programı (SPSS inc., Chicago, IL, USA) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren sürekli değişkenler için ortalama +standart sapma, normal dağılım göstermeyen veriler için ortanca +interquartile range kullanıldı. Veri dağılımının normalliğine bağlı olarak bağımsız değişkenleri karşılaştırmak için Mann- Whitney U testi veya Bağımsız Örneklem T Testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında “Pearson Ki-kare Testi” ile “Fisher Exact Test” kullanıldı. İki sürekli değişken arasındaki asimetrik değişkenleri belirleme korelasyonu için Spearman'ın rank korelasyon analizi kullanılmıştır.

Veri dağılımının normalliğine bağlı olarak ikiden fazla bağımsız değişkenleri karşılaştırmak için One-way ANOVA veya Kruskal- Wallis testleri kullanıldı. Anlamlılık seviyesi 0.05 olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmamızda Ocak 2011 Mayıs 2017 tarihleri arasında hastanemizde tularemi tanısı ile takip ve tedavi edilen 53 hasta değerlendirildi. Hasta grubumuzda yaş median değeri 23 (min-maks:11- 87) olarak sonuçlandı ve en fazla olgu 20-40 yaş grubunda görüldü. Tularemi olgularımızın 26'sı (%49,1) erkek, 27'si (%50,9) kadındı. Hastaların demografik özellikleri değerlendirildiğinde, çalışmaya alınan 53 tularemi olgusunun 20'si (%37,7) Elazığ, 18'i (%34) Bingöl, 11'i (%20,8) Muş, 3'ü (%5,7) Tunceli, 1'i (%1,9) Diyarbakır'dan başvurmuştu. Olguların 37'si (%69,8) kırsal kesimde yaşamaktayken, 16 'sı (%30,2) kentlerde yaşamaktaydı.

Başvuru yılına göre hastalar değerlendirildiğinde en fazla olgunun 2012 yılında başvurduğu saptandı. (Şekil 7) Bingöl ilinde 2012 yılında su kaynaklı salgın olduğu, bu hastalardan 4 ünün merkezimize başvurduğu tespit edildi.

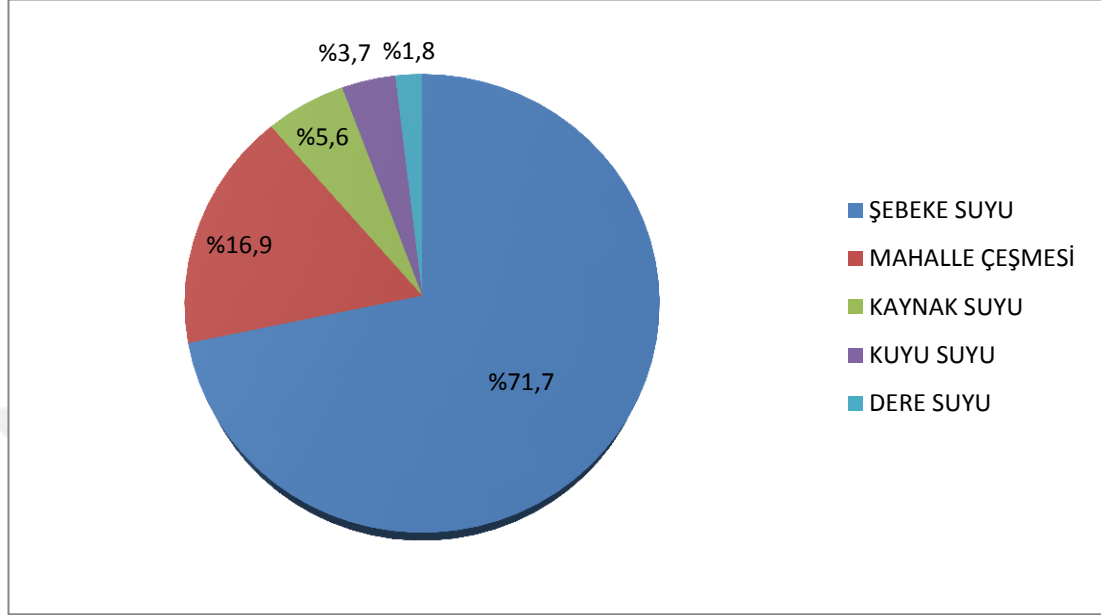


Şekil 7. Vaka sayılarının yıllara göre dağılımı

Enfeksiyon için olası kaynaklar değerlendirildiğinde, hayvancılık öyküsü 29 (%54,7) hastada saptanırken, 23 (%43,4) hastada saptanmadı. Hastaların 8'inde (%15,1) av hayvanı temas öyküsü vardı, 45 (%84,9) hastada av hayvanı teması yoktu. Fare ve tavşan teması 10 (%18,9) hastada saptandı. Hastaların hiçbirinde kene temas öyküsü yoktu.

Çalışmaya alınan olgularda, 38 (%71,7) hasta şebeke suyu, 9 (%16,9) hasta mahalle çeşmesi, 3 (%5,6) hasta kaynak suyu, 2 (%3,7) hasta kuyu suyu, 1 (%1,8)

hasta dere suyu kullanmaktaydı. Hastaların 38 (%71,7)' sinin klorlanmış su kullandığı, kalanlarının kullandığı suyun klorlanmamış (%28,3) olduğu öğrenildi. (Şekil 8)



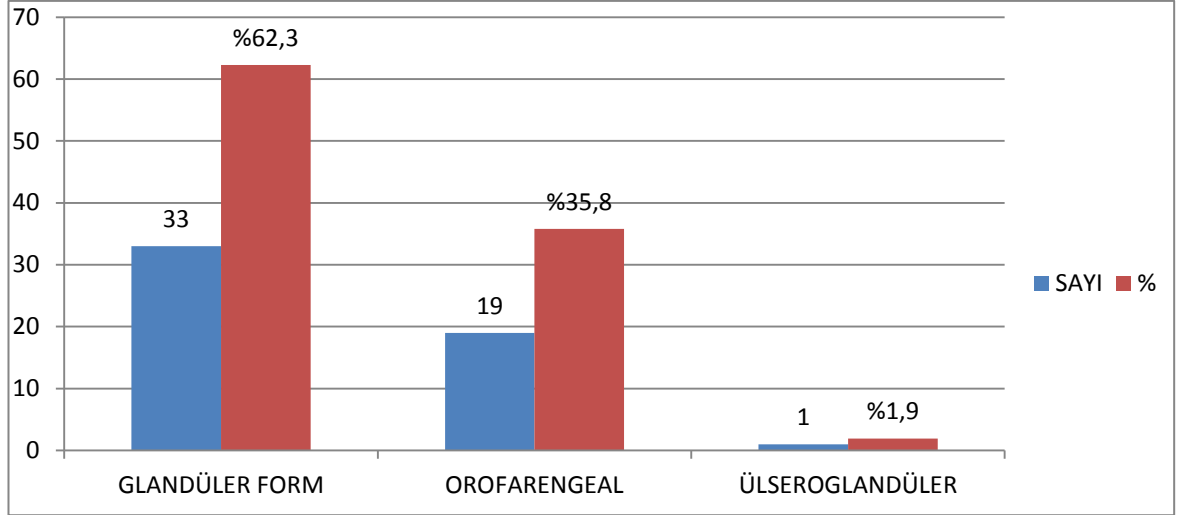
Şekil 8. Kullanılan suya göre vakaların dağılımı

Çalışmaya alınan olgularda, şikayetlerin başlaması ile kliniğimize başvuruları arasında geçen süre 3 gün ile 150 gün (median değeri 21) arasında değişiyordu. Hastaların 21'inin (%39,6) ilk 15 gün içinde, 8 hastanın (%15) 16-29 gün arasında, 24 (%45,2) hastanın ise 30'uncu günden sonra başvurduğu tespit edildi.

Hastaların özgeçmişleri incelendiğinde, bir ek hastalığı mevcut olan hasta sayısı 5 (%9,4) idi. 48 (%90) hastada ek hastalık yoktu. Bir (%1,8) hastada hipertansiyon, 2 (%3,7) hastada diabetes mellitus, 1 (%1,8) hastada astım, 1 (%1,8) hastada kronik hepatit B vardı. 2 hasta ise sırasıyla 12 ve 25 haftalık gebeydi.

Mesleklerine göre incelendiğinde, 18 öğrenci (%34), 19 hayvancılık (%35,8), 1 (%1,9) kamu saha hizmetleri görevlisi, 11 (%20,8) ev hanımı, 1 (%1,9) öğretmen, 3 (%5,7) diğer meslek grupları şeklinde dağılım olduğu görüldü.

Olguların klinik formları incelendiğinde en sık glandüler form 33 (%62,3) hastada tespit edildi. 19 (%35,8) hastada orofarengal form, 1 (%1,9) hastada ülseroglandüler form saptandı. Okuloglandüler, tifoidal ve pnömonik formlarda ise vaka yoktu. Klinik formlar cinsiyete göre irdelendiğinde glandüler formda erkek hasta sayısı 18 (%54,5), kadın hasta sayısı 15 (%45,4) iken, orofarengal formda 12 (%63) hastanın kadın olduğu saptandı.



Şekil 9. Klinik formlara göre hasta sayıları

Çalışmaya alınan olgularda en sık başvuru şikayeti 52 (%98,2) hastada şişlik olarak saptandı. Boğaz ağrısı 26 (%49,1) hastada mevcuttu. Kas eklem ağrısı 22 (%41,5), ateş şikayeti ise hastaların 29'unda (%54,7) saptandı. Üşüme 25 (%47,2), halsizlik 32 (%60,4), ciltte yara 3 (%5,7), gözde kızarıklık 2 (%3,7) hastada saptandı. Baş ağrısı 5 (%9,4), bulantı kusma 6 (%11,3), iştahsızlık 24 (%45,3), kilo kaybı 10 (%18,9), ağızda yara 2 (%3,7) hastada saptandı. (Tablo 2)

Tablo 2. Tularemi formuna göre şikayetlerin dağılımı

	Glandüler	Ülseroglandüler	Orofarengeal	Total
Boğaz ağrısı	9 (27,2)	0 (0)	17 (89,4)	26 (49,1)
Halsizlik	17 (51,5)	0 (0)	15 (78,9)	32 (60,4)
Ağızda yara	1 (3)	0 (0)	1 (5,2)	2 (3,7)
Ateş	15 (45,4)	0 (0)	14 (73,6)	29 (54,7)
Kas eklem ağrısı	11 (33,3)	0 (0)	11 (57,8)	22 (41,5)
Baş ağrısı	3 (9)	0 (0)	2 (10,5)	5 (9,4)
Gözde kızarıklık	2 (6)	0 (0)	0 (0)	2 (3,7)
Bulantı kusma	3 (9)	0 (0)	3 (15,7)	6 (11,3)
Ciltte yara	1 (3)	1 (100)	1 (5,2)	3 (5,7)
Şişlik	33 (100)	1 (100)	18 (94,79)	52 (98,2)
Üşüme	14 (42,4)	0 (0)	11 (57,8)	25 (47,2)
İştahsızlık	13 (39,3)	0 (0)	11 (57,89)	24 (45,3)
Kilo kaybı	7 (21,2)	0 (0)	3 (15,7)	10 (18,9)

Hastaların fizik muayenelerinde 52 (%98,1)'sinde lenfadenopati mevcuttu. Ateş 25 (%47,2), tonsillit 19 (%35,8), hepatomegali 3 (%5,6) hastada saptandı. Gözde hiperemi 2 (%3,8), ciltte yara 3 (%5,7), gövdede döküntü 2 (%3,8), oral

mukazol lezyon 3 (%5,7), konjunktivit 2 (%3,8), splenomegali 1 (%1,8) hastamızda tespit edildi. (Tablo 3).

Tablo 3. Tularemi formuna göre bulguların dağılımı

	Glandüler n(%)	Ülseroglandüler n(%)	Orofarengeal n(%)	Total n(%)
Lenfadenopati	33 (100)	1 (100)	18 (94,7)	52(98,1)
Ateş	5 (15,1)	0 (0)	7 (36,8)	12 (22,6)
Tonsillit	2 (6)	0 (0)	17 (89,4)	19 (35,8)
Hepatomegali	1 (3,03)	0 (0)	2 (10,5)	3 (5,6)
Konjunktivit	1 (3,03)	0 (0)	1 (5,2)	2 (3,7)
Ciltte yara	1 (3,03)	1 (100)	1 (5,2)	3 (5,6)
Gövdede döküntü	0 (0)	0 (0)	2 (10,5)	2 (3,7)
Oral mukozal lezyon	0 (0)	1 (100)	2 (10,5)	3 (5,6)
Splenomegali	0 (0)	0 (0)	1 (5,2)	1 (1,8)

Lenfadenopati lokalizasyonuna göre hastalar irdelendiğinde en sık 26 (%49,1) servikal yerleşim tespit edildi (Tablo 4).

Tablo 4. Lenfadenopati lokalizasyon dağılımı

	n	%
Submandibular	15	28,3
Servikal	26	49,1
Aksiller	1	1,9
İnguinal	1	1,9
Submandibuler+servikal	7	13,2
Servikal+tonsil	1	1,9
Tonsil	1	1,9
Parafarengeal	1	1,9
Total	53	100

Lenfadenopatilerin dağılımına göre incelendiğinde 31 (%58,5) hastada unilateral yerleşim görülürken, 21 (%39,6) hastada bilateral yerleşim saptandı. (Şekil 9).

Olguların 46'sına radyolojik görüntüleme yapıldı. Radyolojik görüntüleme yapılan 36 (%78,2) hastada lenfadenopati, 6 (%13) hastada abse tespit edilirken, 4 (%8,6) hastada ise lenfadenopati ve abse birlikteliği saptandı.

Olgulardan 34 (%64,2)'ünde lezyon drene oldu. Olguların 2 (%3,7) sinde spontan drenaj görüldü. 32 (%60,3) hastaya cerrahi drenaj yapıldı. 10 (%18,8) hastada İİAB yapıldı, 1(%1,8) hastada LAP eksizyonu yapıldı.

Hastalardan 38 (%71,7)' inin patoloji sonucuna ulaşıldı. Hastalardan 8 tanesinde (%15,1) granülatöz inflamasyon mevcuttu (Tablo 5).

Tablo 5. Patoloji sonucuna göre dağılım

	n	%
Süpüratif inflamasyon	19	50
Granülatöz lenfadenit	8	21,1
Tanı koydurucu olmayan materyal	7	18,4
Nonspesifik lenfadenit	2	5,3
Reaktif lenfoid hiperpalzi	1	2,6
Zeminde kokobasil şeklinde mikroorganizma	1	2,6

Hastaların şikayetlerinin başlaması ile tanı alana kadar geçen süreler ve hastalığın patoloji sonuçları karşılaştırıldığında, başvuru süresi arttıkça granülatöz lenfadenit formunun sıklığı görüldü. (p: 0,026)

Tablo 6. Başvuru süresine göre patoloji sonucu

Başvuru süresi	Patoloji sonucu						Toplam
	Süpüratif Granülatöz Lenfadenit	Tanı koydurucu olmayan materyal	Süpüratif inflamasyon	Nonspesifik	Reaktif lenfoid hiperplazi	Zeminde kokobasil şeklinde mikroorganizma	
1-30 gün	2 %8,7	6 26,1%	14 60,9%	0 ,0%	0 ,0%	1 4,3%	23 100,0%
30 günden fazla	6 40,0%	1 6,7%	5 33,3%	2 13,3%	1 6,7%	0 ,0%	15 100,0%
Total	8 21,1%	7 18,4%	19 50,0%	2 5,3%	1 2,6%	1 2,6%	38 100,0%

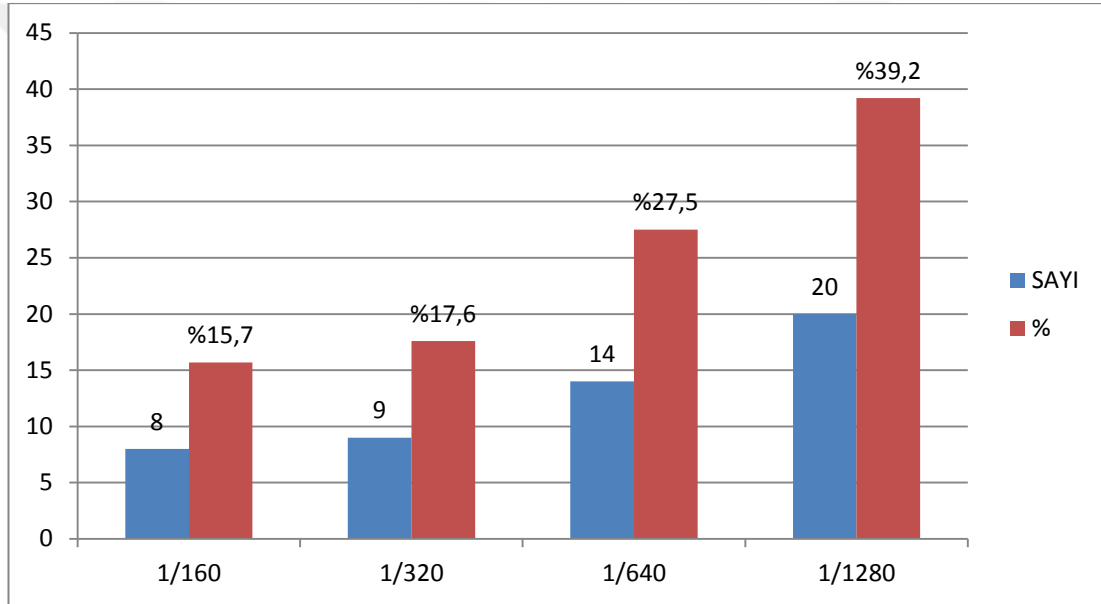
Tularemi tanı yöntemlerine göre hastalar irdelendiğinde, 4 (%7,5) hastada tularemi PCR bakıldığı bu hastalardan 3 (%5,6) ünde PCR pozitif saptanırken 1 (%1,8) hastada tularemi PCR negatif saptandığı tespit edildi. Hastalardan 52 (%96,2)' sinde tularemi aglütinasyon pozitif saptandı.

Mikroaglütinasyon titresine göre hastalar incelendiğinde 20 (%39,2) hastada 1/1280, 14 (%27,5) hastada 1/640, 9 (%17,6) hastada 1/320, 8 (%15,7) 1/160 pozitiflik bulundu. Hastaların 9 una tularemi kültürü yapıldığı saptandı. Hastalardan birinde üreme görülürken 8 hastada üreme saptanmadı. Hastaların başvuru süresi ile

mikroagglütinasyon titresi arasında çok zayıf negatif korelasyon vardı ve istatistiksel olarak anlamlı değildi. (rho: -0,05, p>0,05)

Tablo 7. Başvuru süresine göre mikroagglütinasyon sonucu

Başvuru süresi	Mikroagglütinasyon titresi				Total
	1/160	1/320	1/640	1/1280	
1-30 gün	6 18,8%	4 12,5%	9 28,1%	13 40,6%	32 100,0%
30 günden fazla	3 15,8%	4 21,1%	5 26,3%	7 36,8%	19 100,0%
Total	9 17,6%	8 15,7%	14 27,5%	20 39,2%	51 100,0%



Şekil 10. Mikroagglütinasyon düzeyine göre hasta sayısı

Olgularımızda lökosit median değeri 9600 / μ L (min-maks:3600-19000), platelet median değeri 350000 / μ L (min-maks:150000-530000), hemoglobin median değeri 13 g/dl (min-maks:10 -16) olarak saptandı. Hastalarımızın CRP değerleri 38 hastada (%71,6) >5 mg/L idi. Hastalarımızdan 38 (%71,6) inde ESH > 20 mm/h idi. Hastalarımızın % 16.9 'unda ALT, %11.3'ünde AST değerleri laboratuvarımızın normal değer aralığı olan 40 U/L'den yüksekti.

Tablo 8. Hastaların başvuru anındaki laboratuvar değerleri

n: 53	Median(interquartile)	Referans aralığı
WBC (mm ³)	9600 (7800-11000)	3800-8600
Nötrofil (mm ³)	5700(4600-6600)	2100-6100
ESH (mm/h)	34 (17-49)	0-20
CRP (mg/L)	8 (3-21)	0-5
Trombosit (/µL)	350.000(280.000-400.000)	140.000-360.000
Üre (mg/dl)	28(21-31)	10-50
Kreatinin (mg/dl)	0.6(0,4-0,8)	0.6-1.2
AST (U/L)	28(20-35)	5-40
ALT (U/L)	30(19-38)	5-40

Çalışmamızda hastalara dört farklı tedavi rejimi uygulandığı tespit edildi. En sık tercih edilen tedavi hastaların 18'inde (%34) doksisisiklin tedavisi idi. 14 (%26,4) hastamıza aminoglikozid, 9 (%17) hastamıza siprofloksasin, 12 (%22,6) hastamıza streptomisin+doksisisiklin kombinasyon tedavisi verildiği görüldü. 25 haftalık gebe hastamızın gentamisin ile 12 haftalık gebe hastamızın ise siprofloksasin ile tedavi edildiği saptandı. Olgularımızda gebelik esnasında komplikasyon gelişmediği gibi yenidoğanların uzun süreli izleminde herhangi bir patoloji gözlenmedi. Hastalardan 47 (%88,6)'sinin tularemi tanısı öncesi betalaktam grubu antibiyotik tedavisi aldığı saptandı.

Tedavi sürelerine göre hastalar irdelendiğinde hastaların 41(% 77,4)'ine 14 gün, 12 (%22,6)'sine 21 gün tedavi verildi.

Doksisisiklin ile 14 günlük tedavi uygulanan bir hastanın 2 yıl sonra nüks ile geldiği tularemi mikroaglutinasyon titresinin pozitif gelmesi üzerine hastada 14 günlük siprofloksasin tedavisi ve cerrahi drenaj sonrası kür sağlandığı tespit edildi.

Hastaların 26 (%49)'sı uzun dönem kontrol amaçlı çalışmaya katılmayı kabul etti. Kontrollerde şikayeti olan hasta yoktu ve fizik muayene bulguları normal saptandı. Lenfadenopati boyutları için ultrasonografi yapıldı. Hastaların 16 (%61,5)'sında lenfadenopati saptanmazken, 10 (%38,4) hastada lenfadenopati boyutlarında ilk başvurularına göre küçülme vardı. Tularemi klinik formu, tedavi süresi, cerrahi drenaj, şikayet başlangıcı ile tanı arasındaki süre, patoloji sonucu ile lenfadenopati kaybolması veya küçülmesi arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı (p>0,05). Hastaların kontrol lökosit median değeri 6100/µL (min-

maks:4000-10000), ESH median değeri 7 mm/h (min-maks:3-33), CRP median değeri 3 mg/L (min-maks:3-19) olarak saptandı (Tablo 9).

Tablo 9. Uzun dönem lenfadenopati ile çeşitli klinik ve laboratuvar parametreleri ile karşılaştırılması

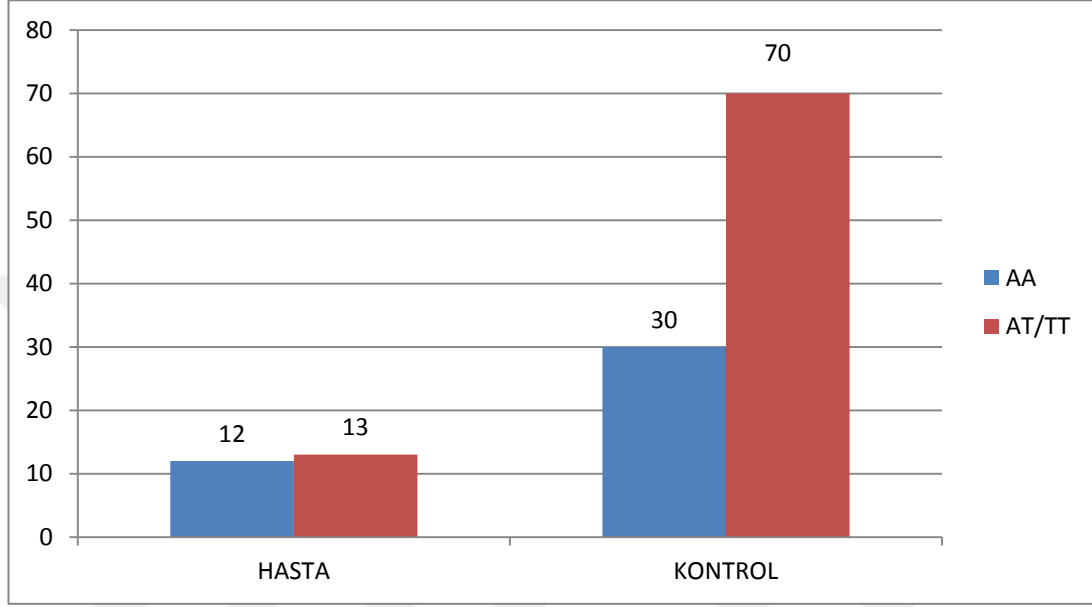
	Lenfadenopati		P değeri
	Küçüldü	Kayboldu	
Tedavi süresi			
14 gün (n: 21)	14 (%66,7)	7(%33,3)	0,274
21 gün (n: 5)	3 (% 60)	2 (%40)	
Tedavi rejimi			
Ciprofloksasin	1 (%14,3)	6(%85,7)	
Doksisiklin	5 (%55,6)	4 (% 44,4)	
Streptomisin	3(%50)	3(%50)	
Streptomisin + doksisiklin	1 (%25)	3 (%75)	
Drenaj			
Var	7 (%58,8)	10 (%41,2)	0,517
Yok	3 (%33,3)	6 (%66,7)	
Tularemi form			
Orofaringeal	7(%53,8)	6 (%46,2)	0,107
Glandüler	3 (23,1)	10 (% 76,9)	
Tanı-şikayet arası süre			
1-30 gün	6 (%57,1)	8 (%42,9)	0,464
30< gün	4 (%33,3)	8 (%66,7)	
Başvuru yılı			
2011-2012	1 (%12,5)	7 (%87,5)	
2013-2014	5 (%55,6)	4 (%44,4)	
2015-2016	3 (%37,5)	5 (%62,5)	
2017	1 (%100)	-	
Patoloji sonucu			
Granülomatoz lenfadenit	4 (%57,1)	3 (%42,9)	
Nonspesifik lenfadenit	1 (%20)	4 (%80)	
Süpüratif lenfadenit	2 (%22,2)	7 (%77,8)	

Çalışma 25 kişiden oluşan hasta grubumuzda ve 100 kişiden oluşan kontrol grubumuzda IFNG +874 A/T genotiplerinden; AA normal, TT polimorfizm açısından homozigot ve AT ise heterozigot olarak ifade edildi. Tularemi hastaları ile kontrol grubundaki IFNG +874 A/T alleli polimorfizm sıklıkları karşılaştırıldığında; 12 (% 48) hastada AA genotipi, 10 (% 40) hastada AT genotipi ve 3 (% 12) hastada TT genotipi bulundu. Kontrol grubunda ise 30 (% 30) hastada AA genotipine rastlanırken, TT genotipi 24 (% 24) kişide ve AT genotipi 46(% 46) kişide saptandı (Şekil).

Hasta grubunda IFNG +874 A/T polimorfik özellik gösteren varyant allel (AT/TT) görülme sıklığı ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p = 0,038) (Tablo 10)

Tablo 10. Hasta ve kontrol gruplarındaki IFNG +874 A/T genotip sıklıklarının karşılaştırılması

Genotip	Hasta n = 25 (%)	Kontrol n = 100 (%)	P
AA	12 (48)	30 (30)	0,038
AT / TT	13 (52)	70 (70)	



Şekil 11. Hasta ve kontrol gruplarındaki IFNG +874 A/T genotip sıklıklarının karşılaştırılması

Hastaların başvuru şikayeti ile AA ya da AT / TT alleli taşıma sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 11)

Tablo 11. Hasta grubunun genotiplerine göre başvuru sırasında sık görülen şikayetlerinin karşılaştırılması

Şikayet (n)	AA Genotipi (%)	AT / TT genotipi (%)	P
Şişlik (24)	13 (54)	11 (46)	0,28
Ateş (14)	5 (35)	9 (65)	0,075
Halsizlik (19)	10 (52)	9 (47)	0,6
Kas eklem ağrısı (14)	8 (57)	6 (42)	0,43
Boğaz ağrısı (11)	5 (45)	6 (55)	0,51
Üşüme (14)	5 (35)	9 (65)	0,075
Baş ağrısı (4)	3 (75)	1 (25)	0,31
Kilo kaybı (5)	4 (80)	1 (20)	0,18
Ciltte yara (1)	0 (0)	1 (100)	0,48

Benzer şekilde, hastaların başvuru sırasındaki fizik inceleme bulguları olan ateş, lenfadenopati, hepatomegali, döküntü, splenomegali, tonsillit, konjonktivit, oral mukozal lezyon saptanması ile varyant allel görülme sıklıkları kıyaslandığında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 12)

Tablo 12. Hasta grubunun genotiplerine göre başvuru sırasında sık görülen fizik muayene bulgularının karşılaştırılması

Fizik inceleme bulgusu	AA Genotipi (%)	AT / TT genotipi (%)	P
Ateş (n=5)	2 (40)	3 (60)	0,78
Lenfadenopati (n=25)	12(48)	13 (52)	0,723
Hepatomegali (n=1)	0 (0)	1 (100)	0,830
Döküntü (n=1)	0 (0)	1 (100)	0,83
Splenomegali (n=1)	0 (0)	1 (100)	0,83
Tonsillit (n=9)	3 (33)	6 (66)	0,16
Konjunktivit (n=2)	0 (0)	2 (100)	0,125

Hastaların tularemi klinik formu ile IFNG +874 T/A polimorfik özellik gösteren varyant allel görülme sıklığı arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 13).

Tablo 13. Hastaların tularemi klinik formu ile IFNG +874 T/A polimorfik özellik gösteren varyant allel görülme sıklığı

	AA Genotipi (%)	AT / TT genotipi (%)	p
Glandüler form	10 (58,8)	7 (41,2)	0,20
Orofarengeal form	2 (25)	6 (75)	

Hasta grubunun başvuru sırasındaki laboratuvar düzeyleri ile IFNG +874 T/A genotipinin dağılımı arasındaki ilişkiye bakıldığında; trombosit sayısı, lökosit sayısı

ile nötrofil dağılım oranları bakımından, AA genotipli ve AT ya da TT genotipli hastalar arasında genotip sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (tüm parametreler için $p > 0.05$). Yine başvuru sırasındaki CRP, ESH ve AST, ALT düzeyleri bakımından AA genotipli ve AT ya da TT genotipi saptanan olgular arasında genotip sıklıkları arasında anlamlı fark saptanmadı (tüm parametreler için $p > 0.05$). Patolojide granümatöz inflamasyon saptanması ile IFNG +874 A/T polimorfizmi arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Kontrol ultrasonografide lenfadenopati sebat etmesi ile IFNG +874 A/T polimorfizmi arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p > 0.05$).

Natural resistance-associated macrophage protein-1 polimorfizmlerinin analizinde, hasta grubunda NRAMP-1 Int4 G/G alleli 13 (%52), G/C alleli 10 (%40), C/C alleli ise 2 (%8) hastada belirlendi. Kontrol grubunda allel dağılımları, sırasıyla; G/G için 63 (%63), G/C için 35 (%35), C/C için 2 (%2) şeklindeydi.

Hasta grubunda NRAMP-1 Int4 polimorfizmi görülme sıklığı ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p = 0.248$) (Tablo 14)

Tablo 14. Hasta ve kontrol gruplarındaki NRAMP-1 Int4 genotip sıklıklarının karşılaştırılması

Genotip	Hasta n = 25 (%)	Kontrol n = 100 (%)	P
GG	13 (52)	63 (63)	0,248
GC / CC	12 (48)	37 (37)	

Hastaların başvuru şikayeti ile GG ya da GC / CC alleli taşıma sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (Tablo 15)

Tablo 15. Hasta grubunun NRAMP-1 Int4 genotiplerine göre başvuru sırasında sık görülen şikayetlerinin karşılaştırılması

Şikayet (n)	GG genotipi (%)	GC / CC genotipi (%)	P
Şişlik (24)	13 (54)	11(46)	0,288
Ateş (14)	7 (50)	7 (50)	0,821
Halsizlik (19)	10 (52,6)	9 (47,4)	0,910
Kas eklem ağrısı (14)	5 (35,7)	9 (64,3)	0,066
Boğaz ağrısı (11)	5 (45,5)	6 (54,5)	0,337
Üşüme (14)	7 (50)	7 (50)	0,821
Baş ağrısı (4)	2 (50)	2 (50)	0,930
Kilo kaybı (5)	2 (40)	3 (60)	0,54
Ciltte yara (1)	0 (0)	1 (100)	0,288

Benzer şekilde, hastaların başvuru sırasındaki fizik inceleme bulguları olan ateş, lenfadenopati, hepatomegali, döküntü, splenomegali, tonsillit, konjuktivit, oral mukozal lezyon saptanması ile varyant allel görülme sıklıkları kıyaslandığında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 16).

Tablo 16. Hasta grubunun NRAMP-1 Int4 genotiplerine göre başvuru sırasında sık görülen fizik muayene bulgularının karşılaştırılması

Fizik inceleme bulgusu	GG genotipi	GC /CC genotipi	P
Ateş (n=5)	2 (40)	3 (60)	0,719
Lenfadenopati (n=25)	13 (52)	12 (48)	0,79
Hepatomegali (n=1)	0 (0)	1 (100)	0,830
Döküntü (n=1)	0 (0)	1 (100)	0,288
Splenomegali (n=1)	0 (0)	1 (100)	0,83
Tonsillit (n=9)	4 (44,4)	5 (55,5)	0,571
Konjuktivit (n=2)	1 (50)	1 (50)	0,95

Hasta grubunun başvuru sırasındaki laboratuvar düzeyleri ile NRAMP-1 Int4 genotipinin dağılımı arasındaki ilişkiye bakıldığında; trombosit sayısı, lökosit sayısı, nötrofil dağılımları bakımından, GG genotipli ve GC ya da CC genotipli hastalar arasında genotip sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (tüm parametreler için $p > 0.05$). Yine başvuru sırasındaki CRP, ESH ve AST, ALT düzeyleri bakımından GG genotipli ve GC ya da CC genotipi saptanan olgular arasında genotip sıklıkları arasında anlamlı fark saptanmadı (tüm parametreler için $p > 0.05$) Patolojide granülomatöz inflamasyon saptanması ile NRAMP-1 Int4 polimorfizmi arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Kontrol ultrasonografide

lenfadenopati sebat etmesi ile NRAMP-1 Int4 polimorfizmi arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Hastaların tularemi klinik formu ile NRAMP-1 Int4 varyant allel görülme sıklığı arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 17)

Tablo 17. Hastaların tularemi klinik formu ile NRAMP-1 Int4 varyant allel görülme sıklığı

	GG Genotipi (%)	GC / CC genotipi (%)	p
Glandüler form	11 (64,7)	6 (35,3)	0,09
Orofarengeal form	2 (25)	6 (75)	

4. TARTIŞMA

Dünyadaki tularemi sıklığı, iklim değişiklikleri, rezervuar ve vektör popülasyonunun dağılımındaki değişikliklerden etkilenmiş ve özellikle son yıllarda önemli bir artış göstermiştir (19). Son yıllarda Türkiye’de de yeniden önem kazanan bir zoonoz olmuştur (109). Ülkemizde ilk tularemi olguları 1936 yılında Lüleburgaz’da askeri garnizondaki salgın ile saptanmıştır. Sonraki yıllarda da farklı bölgelerden sporadik olgular ve küçük noktasal salgınlar şeklinde bildirilmiştir (110, 111).

Akalın ve ark. (109) tüm yaş gruplarının ve her iki cinsin de enfeksiyondan eşit şekilde etkilendiğini bildirmişlerdir. Mengeloğlu ve ark. (112) kadınlarda daha sık olduğunu bildirmişlerdir. Erdem ve ark. (113) 1034 hastalık çalışmalarında olguların en sık 25-57 yaşları arasında olduğunu ve kadınlarda daha sık (%57) görüldüğünü tespit etmişlerdir. Kılıç (114), 2005-2009 yılları arasında tespit edilen 1091 tularemi olgusunu incelediği çalışmasında, olguların en sık 30-44 yaşları arasında olduğunu ve kadınlarda erkeklerden daha fazla (kadın/erkek: 1.2) izlendiğini yine Türkiye’de yapılan 139 hastanın irdelendiği bir çalışmada kadınlarda %80 oranı ile daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir (115). Bizim hasta grubumuzda en fazla olgu 20-40 yaş arasında görülürken kadın erkek oranları birbirine yakındı. Şubat 2018 de almanya’da 252 tularemi olgusunun irdelendiği çalışmada ise ülkemizdeki verilerin aksine erkeklerde kadınlardan 2 kat daha fazla görüldüğü saptanmıştır (116).

Dünyada hastalığın en sık görülen bulaş yolu enfekte hayvan ve kenelerle temas olmasına rağmen, ülkemizde enfeksiyonun bulaşı ön sırada kontamine su ve besinlerin tüketimiyle olmaktadır. F.tularensis’in sulara birkaç ay canlı kalabilmesi bu düşünceyi desteklemektedir (106, 117). Ülkemizde en sık bulaş yolu kontamine su ve gıda tüketimi olmasına rağmen, bizim çalışmamızda olguların %71,7 si şebeke suyu kullanmaktaydı. Çalışmamızda görülen bu durumun su deposu temizlik ve bakımının düzenli olarak yapılmaması, zaman zaman ölü fare ve böceklerle kontaminasyonu, uygun şekilde klorlanmaması, kontamine gıda tüketimi ve kırsal yaşam ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Ülkemizden bildirilen salgınlarda da benzer şekilde, su depolarının bakım ve onarımlarının uygun olmadığı, kemiricilerin su

kaynağı ile temas ettiği ve klorlama işlemindeki aksaklıklar belirlenmiştir (75, 118-121).

Olgularımız riskli yaşam koşulları açısından değerlendirildiğinde %69,8 i kırsal kesimde yaşamakta ve %54 ü hayvancılıkla uğraşmaktaydı. Olgularımızda izlendiği gibi, ülkemizden bildirilen salgınlarda, tulareminin sıklıkla kırsal kesimlerde yaşayan kişilerde geliştiği, ancak böcek veya kene ısırması, av hayvanları ile temas öyküsünün yaygın olmadığı görülmektedir (17, 75, 109, 122) Kırsal bölgelerdeki F.tularensis rezervuarlarının, su kaynaklarının ve gıdaların kirlenmesinden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (114).

Tularemi hastalığının başlangıç semptomları sıklıkla soğuk algınlığına taklit eder. Miyalji, artralji, üşüme-titreme, halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı ve baş ağrısının eşlik ettiği ani başlangıçlı ateş sık görülen semptomlardır (117, 123). Sistemik bulgularını pnömoni, tifoidal tularemi ve lokalize bulgu olmaksızın ateş varlığı oluşturabilir (124). Ülkemizde izlenen tularemi epidemilerinde, olguların %92-100'ünde boyunda şişlik, %66-90'ında 3-10 gün süren ateş ve %58- 92'sinde boğaz ağrısı bildirilmektedir (117, 125, 126). Bizim çalışmamızda da en sık başvuru şikayetleri sırasıyla şişlik, halsizlik, ateş olarak saptandı. Hastalarımızın çoğu (%88,6'sine) akut evrede dış merkezlerde tedavi almış, fakat şikayetlerinin gerilememesi, boyunda şişliğin başlaması üzerine kliniğimize başvurmuşlardır. Dolayısıyla hastalarımızın semptom sıklığı sıralamasında ilk sırayı boyunda şişlik almaktadır. Olgularımızda en sık tespit edilen fizik muayene bulgusu ise %98.1'lik oran ile lenfadenopati olmuş; bu veri, literatürlerde bildirilen oranlarla (%85-100) uyumlu bulunmuştur (117, 125, 126).

Ülkemizde bulaşın ön planda kontamine su ve gıdalarla olması nedeniyle Türkiye'de en sık saptanan klinik form orofarengeal tularemidir (75, 127). Ülkemizde 2014'de 41 merkezden 1034 hasta ile yapılan çok merkezli bir çalışmada da en sık orofarengeal form (%85.3) saptanmıştır (113). Bizim çalışmamızda ise en çok glandüler form tespit edildi. Leblebicioğlu ve ark. nın 2008'de yaptığı 43 hastalık bir çalışmada da bizim çalışmamızla benzer şekilde %60.4 ile en sık glandüler form saptanmıştır (128). Ancak bu olguların geç başvuruları nedeniyle tonsillitin izlenmemiş olabileceği de düşünülmüştür. Zaman içerisinde halkın uygun su kullanımı ile ilgili bilinçlenmesi ve suların uygun şekilde klorlanıp denetimin

arttırılması, vakalarımızın sporadik olması ve su kaynaklı tespit edilen salgının sadece bir tane olması orofaringeal olguların daha az saptanmasının sebebi olabilir.

Glandüler tularemi olgularımızdan bir tanesi nadir bir prezentasyon olan inguinal LAP ile kliniğimize başvurmuştur. Ülkemizden bildirilmiş inguinal LAP ile seyreden glandüler tularemi olguları mevcuttur ancak bu olgular pediatrik yaş grubundandır (129). Genelde erişkinde bildirilen glandüler tularemi olguları servikal ve aksiller yerleşimli LAP şeklindedir (117). Bilateral inguinal LAP ve intraabdominal apse ile seyreden bir erişkin olgu Ankara' dan bildirilmiştir (130) Ülkemizde bugüne kadar kene kaynaklı üç tularemi olgusu bildirilmiştir ve bu olguların üçü de ülseroglandüler tularemi olgularıdır. Yozgat'tan bildirilen iki olgu aksiller LAP ile seyretmiştir (131). Manisa ilinden bildirilen bir olguda ise servikal LAP saptanmıştır (132). Bizim olgumuzda kene ile temas öyküsü yoktu, ancak hayvancılıkla uğraşmaktaydı. glandüler tularemi tanısı alan hastamızda 21 günlük siprofloksasin tedavisi ile kür sağlandı. Glandüler tularemi inguinal lenfadenopatinin ayırıcı tanısında düşünülmelidir.

Görüntüleme yapılan 53 hastamızın % 49.1 inde servikal yerleşimli lenadenopati tespit edildi. Bizim çalışmamızla benzer şekilde Ulu ve arkadaşlarının 139 hasta ile yaptığı bir çalışmada %88,8 ile en sık servikal lenfadenopati yerleşimi saptanmıştır (115). 2014 de yapılan çok merkezli Türkiye çalışmasında da en sık servikal yerleşimli lenfadenopati saptanmıştır (113). Çalışmamızda olguların %58.5'inde unilateral lenfadenopati yerleşimi saptandı. Uzun ve ark. (133)'nın 31 orofaringeal tularemi olgusu ile yaptıkları bir çalışmada %64.5 unilateral yerleşim saptanmıştır. Özdemir ve ark. (125)'nin yaptığı bir çalışmada lenfadenopatilerin solda olduğu tespit edilmiştir. Ohara ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada da lenfadenopatilerin solda olduğu tespit edilmiştir (112, 123). Bu durumun sağ elini kullanan insanların hayvanı boğazlarken sol elleriyle hayvanı sıkıca tutmalarına bağlı olabileceği düşünülmüş. Bizim olgularımızda ise %51,6 sağda yerleşim saptandı.

Tularemi tanısı klinik görünüm ve epidemiyolojik öyküye dayalı güçlü bir şüphe gerektirir. Rutin laboratuvar testleri nonspesifiktir. Lökosit sayısı düşük, normal ya da yüksek olabilir (134). Bizim hastalarımızın çoğunda akut faz reaktan düzeyleri yüksek saptandı. Yakın zamanda yapılan çok merkezli Türkiye

çalışmasında da çalışmamızla benzer şekilde hastaların % 83 ünde akut faz reaktanları yüksek saptanmıştır (113).

Tulareminin başlangıcı, gerek klinik belirti ve bulgularının gerekse laboratuvar değerlerinin özgül olmaması nedeniyle birçok hastalıkla karışabilmektedir (23, 36). Dünya sağlık örgütü'nün tularemi kılavuzunda en az bir mikroaglutinasyon titresinin $\geq 1:128$ 'in üstünde olması veya 14 gün ara ile alınan serum örneğinde titrede 4 kat artış tularemi için doğrulayıcıdır. "Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi Standart Tanı ve Sürveyans Rehberi"nde tularemi ile uyumlu klinik bulguları olan olguda; klinik örneklerden F.tularensis izolasyonu ve/veya MAT'da tek serum örneğinde yüksek titrede antikor varlığı ($\geq 1/160$) veya en az 10 gün arayla tekrarlanan serolojik incelemede antikor titresinde dört kat ve üzerinde artışı ile klinik tanı doğrulanmaktadır (77). F.tularensis'in kültür ile izolasyonu zordur. Serolojik olarak %84'ünde pozitiflik saptanan 1000 insan olgusunun sadece %10'unda organizma izole edilebilmiştir (124). Ülkemizde de etken izolasyonunun saptandığı çalışmalar kısıtlıdır. Helvacı ve ark. (117) (205 hastanın 10 klinik örneği) ile Ulukılıç ve ark. (118). (beş hastanın iki klinik örneği) çalışmalarında etken izolasyonu yapılmıştır. Olgularımızda, serolojik ve/veya PCR pozitifliği ve/veya kültür ile tularemi tanısı konuldu. Olgularımızın 52'sinde tularemi agglutinasyon pozitif olarak saptanırken kültür yapılan 9 hastadan sadece birinde üreme saptanmıştır. Enfeksiyonun ilk 2 haftasında, MAT titrelerinin düşük olduğu rapor edilmiştir ve bu nedenle tulareminin erken safhalarında PCR kullanımı düşünülmelidir (1, 135, 136). Bizim de üç olgumuzun lenf aspiratı örneğinde PCR ile F.tularensis pozitifliği tespit edilmiş; hastalığın erken tanısında moleküler yöntemlerin yararlı olabileceği düşünülmüştür. PCR pozitifliği saptanan 3 hastamızın ikisi şikayetler başladıktan sonraki ilk 15 günde başvurmuştur. Maksimum antikor titrelerinin, semptomların başlamasından 6 hafta sonra ortaya çıktığı bilinir ve tedaviden 2-3 ay sonra düşer (137). Boğaz ağrısı, ateş ve lenfadenopati şikayeti olan hastalarda MAT, endemik bölgelerdeki tulareminin ayırıcı tanısında kolaylıkla kullanılabilir. Bununla birlikte, enfeksiyonun ilk 2 haftasında, MAT titrelerinin düşük olduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle, tulareminin erken evrelerinde PCR kullanımı düşünülmelidir (135). Bizim çalışmamızda hastaların başvuru süresine

göre mikroaglutinasyon titrelerine bakıldığında anlamlı farklılık tespit edilmedi (p:0,73).

Tularemide görülen lenfadenomegalinin histopatolojik özellikleri ile ilgili veriler, küçük vaka serileri ile sınırlıdır (115, 128, 138). Genellikle başlangıç aşamasında nekroz saptanmayan reaktif değişiklikler bildirilmiştir. İkinci haftadan sonra, epitelooid hücre reaksiyonlarıyla veya epitelooid hücre reaksiyonları olmadan apse oluşumu görülmüştür. Ortada nekroz içeren çok sayıda küçük epitelooid granülom yaklaşık 2-6 hafta içinde ortaya çıkmakta ve çok çekirdekli dev hücreler dikkati çekmektedir. Hastalığın dördüncü haftasından sonra kazeöz nekroz genellikle tespit edilmiştir (139, 140). Tulareminin histopatolojik olarak, fokal kazeöz nekrotik alanlar içeren granümatöz lezyonlarla karakterize olduğu görülmüştür. Erdem ve arkadaşlarının 1034 hastayla yaptıkları çalışmada da en sık (%56) granümatöz inflamasyon saptanmıştır (113). Granümatöz ve süpüratif lenfadenit oluşumu nedeniyle enfeksiyöz ve enfeksiyon dışı etkenlerle tulareminin ayırıcı tanısının yapılması zorunludur. Özellikle, granümatöz lenfadenit tablosu sıklıkla tüberküloz olarak değerlendirilmesine neden olmaktadır (1, 141-143). Bizim çalışmamızda, patolojik inceleme yapılan olguların %50' sinde süpüratif inflamasyon saptandı. Başvuru süresi otuz günden uzun olan hastalarda granümatöz lenfadenit sıklığının arttığı saptandı. Uzun ve arkadaşlarının 31 orofarengeal tularemili hastada yaptıkları bir çalışmada da çalışmamıza benzer şekilde süpüratif inflamasyon saptanmıştır (133).

Sporadik lenfadenopati ile başvuran olgularda tulareminin akla gelmemesi, hastaların farklı tanı ve tedaviler almasına ve lenfoma gibi maligniteler açısından incelenmelerine neden olmaktadır (117, 122, 125, 126, 144, 145). Tüberkülozun ülkemizde endemik olması nedeniyle bazı olgulara, klinik ve histopatolojik incelemelerle hatalı olarak tüberküloz tanısı konulabildiği vurgulanmaktadır (75, 76, 144, 146). Bizim olgularımızdan birine de patoloji sonucuna göre tüberküloz tedavisi başlandı. Tularemi aglutinasyon pozitif gelince tüberküloz tedavisi kesilerek tularemi tedavisi başlandı ve hastada kür sağlandı. Bu nedenle, granümatöz lenfadenitli olguların ayırıcı tanısında tulareminin de düşünülmesi gereklidir.

Özellikle hastalığın endemik olmadığı bölgelerde, orofarengeal tularemi sıklıkla enfeksiyöz mononükleoz ve streptokoksik tonsillit ile karıştırılır ve olguların

çoğu kez penisilin veya sefalosporin grubu antibiyotik kullanım öyküsü bulunmaktadır (118, 128). Çalışmamızda hastalardan 47 (%88,6)'sinin tularemi tanısı öncesi betalaktam grubu antibiyotik tedavisi aldığı saptandı.

Tularemi tedavisinde amaç, iyileşme süresini kısaltmak, komplikasyonları önlemek, relapsları ve mortaliteyi azaltmaktır (79). DSÖ kılavuzuna göre, tedavi için ilk seçenekler 10 gün boyunca streptomisin veya gentamisin gibi bakterisidal antibiyotiklerdir. Siprofloksasin ve doksisiklin oral verilebilecek alternatif ilaçlardır. Doksisiklin terapötik bir rejim olarak kullanıldığında, bakteristatik yapısı nedeniyle tedavi süresi 15 gün olmalıdır (147). Çalışmamızda hastalara dört farklı tedavi rejimi uygulandığı tespit edildi. En sık tercih edilen tedavi hastaların 18'inde (%34) doksisiklin tedavisi idi. 14 (%26,4) hastamıza aminoglikozid tedavisi, 9 (%17) hastamıza siprofloksasin, 12 (%22,6) hastamıza streptomisin+doksisiklin kombinasyon tedavisi verildiği görüldü. Verilerimize göre 12 hastada kombinasyon rejimleri uygulanmış olsa da, menenjit ve endokardit gibi özel durumların haricinde mevcut kılavuzda kombinasyon terapisi önerilmemektedir.

Hayvanlarda (koyunlarda) tularemi infeksiyonuna bağlı abortus ve intrauterin ölüm gibi komplikasyonlar görülmesine karşın, insanlarda gebelikteki infeksiyonun oldukça nadir tanımlanması nedeniyle, fetal ve maternal komplikasyonlarına yönelik veriler çok sınırlıdır (148). Uluslararası rehberlerde gebelerin tedavisi ve temas sonrası profilaksisinde gentamisin, streptomisin, siprofloksasin veya doksisiklin (risk kategori C) kullanımı önerilmektedir (23, 70, 149, 150). Gentamisin ve siprofloksasinin gebelikte kullanımı FDA tarafından onaylanmamış olmasına karşın, Dünya Sağlık Örgütü ve İngiltere Sağlık Koruma Ajansı tarafından ilk seçenek olarak önerilmektedir (23, 135, 150). Benzer şekilde Sivillerin Biyolojik Savunması İçin Çalışma Grubu (Working Group on Civilian Biodefence), gebelerdeki tularemi tedavisinde gentamisin veya streptomisini ilk seçenek olarak önerirken, siprofloksasinin veya doksisiklini alternatif olarak kabul etmektedir (151). Çalışmamızda 25 haftalık gebe hastamızın gentamisin ile 12 haftalık gebe hastamızın ise siprofloksasin ile tedavi edildiği saptandı. Olgularımızda gebelik esnasında komplikasyon gelişmediği gibi yenidoğanların uzun süreli izleminde herhangi bir patoloji gözlenmedi. Gebelikte gentamisinin ve siprofloksasinin başarılı bir şekilde kullanılmasının literatürde yer aldığı raporlar bulunmaktadır (152).

Erken başlanan tedavi ile başarı şansının daha yüksek olduğu; 2-3. haftadan sonra başlanan tedavilerde ise uygun tedavi verilse bile başarı şansının azaldığı ve lenf nodunda süpürasyon gelişimini önlemediği belirtilmiştir (112, 126, 144). Tularemi için özgül tedavi almayan ya da tedaviye yanıt vermeyen lenfadenopati olgularda fluktuasyon ve süpürasyon geliştiği, bazen de cerrahi drenajın gerekli olduğu izlenmektedir (117, 119, 126). Olgularımızın 32 (%60,3)' sine cerrahi drenaj uygulandığı görüldü. Drenaj ihtiyacı uygun antibiyotik tedavisine rağmen olabileceği gibi, tedaviye geç kalınmış olgularda daha sık rastlanmaktadır (120, 144, 153, 154). Bu durumun olgularımızın %60,2 sinin şikayetler başladıktan 15 gün sonra başvurmasıyla ilişkili olabileceği düşünüldü.

Tularemiye bağlı servikal lenfadenitlerin büyük bir çoğunluğu etkin medikal tedavi ile rezolüsyona uğramaktadır. Hastaların bir kısmında abse formasyonu oluşabilmekte ve başlangıçta apse içeriğinin iğne ile aspirasyonu tedavi açısından yeterli olabilmektedir. Eğer abse tekrarlıyor ise küçük bir insizyon ile drenaj yapılabilir. Özellikle kazeifikasyon gelişen çok nadir hastada lenf nodu eksizyonu yapılabilir (27, 113). Hastalarımızın 10 (%18,8)'una İİAB yapılırken ,1(%1,8) hastada LAP eksizyonu yapıldığı saptandı. Tedavi ile lenfadenopatilerin yavaş kaybolduğu, tam iyileşmenin dört aya kadar uzayabildiği bildirilmiştir (126, 144, 155, 156).

Hastalarımızdan 26 (%49)'sına ulaşılarak kontrol usg yapıldı. Kontrole gelen hastalarımızda aktif şikayet ve yakın zamanda geçirilmiş üst solunum yolu enfeksiyonu öyküsü yoktu. Hastalarımızdan 16 (%61,5)'sında kitlenin kaybolduğu tespit edilirken 10 (%38,4) hastada küçülerek sebat ettiği saptandı. Lenfadenopatinin sebat etmesi tedavi başarısızlığı olarak değerlendirilmedi. Uygun tedaviden sonra lenf gangliyonları sıklıkla sterildir, ancak süpürasyon gelişmeyen lenfadenopatilerin gerilemesi için oldukça uzun bir konvelasans dönemine (2-6 ay, ancak 3 yıla kadar uzayabilir) ihtiyaç vardır (23).

Olgularımızın hiçbirinde ciddi bir komplikasyon gelişmemiş ve ölüm izlenmemiştir. Ülkemizdeki tularemi serilerinde de, ölümlü sonuçlanan olgu veya majör komplikasyon bildirilmemiştir (117, 119, 126).

İnterferon- γ ; proinflamatuvar bir sitokindir. Kronik inflamatuvar süreçte immunmodülasyonun primer sitokinidir. T hücrelerine NK hücreleri tarafından

sekrete edilir. Parakrin ve otokrin etki ile inflamasyonun yönünü tayin eder (TH1 veya TH2). INF- γ 12. kromozomun q kolunda 4 ekzonlu INF- γ geni tarafından kodlanır. 166 amino asitten oluşur. Bu gende bilinen iki adet polimorfizm vardır (157). 874 T/A polimorfizmi genin 1. intronik parçasında olup, gen ekspresyonunda NF kb bağlanmasını etkileyerek gen ekspresyonunun düzenlenmesine etki etmektedir (157). İmmun uyarı halinde T alleleline sahip bireylerde INF- γ ekspresyonu A alleleline sahip bireylere göre daha fazladır. Tularemi ve tüberküloz hücre içi bakterilerden kaynaklanır. Her ikisi de benzer klinik ve histopatolojik özelliklere sahiptir. INF- γ 'nın M. tuberculosis enfeksiyonuna karşı koruyucu immün yanıtta önemli bir rolü olduğu belirtilmiştir. INF- γ defektli farelerin M. tuberculosis enfeksiyonuna karşı son derece duyarlı oldukları bulunmuştur. INF- γ geninde mutasyon bulunan insanlar, M. tuberculosis ve patojen olmayan mikobakteri enfeksiyonlarına karşı duyarlıdırlar. (6, 157). Literatürdeki çalışmalar INF- γ gen polimorfizminin tüberkülozla benzer klinik ve histopatolojik özelliklere sahip olan tularemiden de sorumlu olabileceğini düşündürmektedir.

Lio ve ark. (158), *Sicilia'da* INF- γ 'de + 874A / T polimorfizm (rs2430561) ile TB'ye karşı koruma arasında anlamlı bir ilişki olduğunu belirtmiştir ($P < 0.05$). Bu ilişkiyi saptayan ilk kişilerdir.

Sallakçı ve ark. (159), Türk popülasyonunda yapmış olduğu bir çalışmada INF- γ 874 T-A polimorfizmi ile akciğer tüberkülozu ve INF- γ cevabı arasındaki ilişki gösterilmiş olup INF- γ üretiminde azalma ile sonuçlanan AA genotipli bireylerde tüberküloz hastalığının progresyonunun kötü seyrettiği rapor edilmiştir. Buna ek olarak 124 tüberküloz hastası ve 200 kontrol grubu ile yapılan bir diğer çalışmada INF- γ 874 T-A polimorfizm varlığı ile tüberküloza dirençlilik arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (160). Hashemi ve ark. (161) 142 akciğer tüberkülozlu olgu ve 166 sağlıklı kişide yaptıkları bir çalışmada da INF- γ 'de + 874A / T polimorfizminin akciğer tüberkülozuna yatkınlığı artırdığı bildirilmiştir. Tunus'da 2011 yılında 223 akciğer tüberkülozu ve 150 sağlıklı kontrol grubu arasında yapılan çalışmada da NF- γ 'de + 874A / T polimorfizminin akciğer tüberkülozuna yatkınlığı artırdığı saptanmıştır (162).

Awad ve ark. (97) yapmış olduğu bir çalışmada, akciğer transplantasyonundan sonra allograft fibrozis ile INF- γ 874 T-A polimorfizmi

arasındaki ilişki gösterilmiştir. T alleleline sahip hastalarda allogreft fibrozisinde artış tespit edilmiştir.

Khani-Hanjani ve ark. (96) yapmış olduğu bir çalışmada, otoimmün hastalık olan romatoid artrit ile INF- γ 874 T-A polimorfizmi arasında ilişki gösterilmiştir.

Cavet ve ark. (98) kemik iliği transplantasyonu yapılmış olan hastalarda yapmış oldukları bir çalışmada, akut greft reddi ile INF- γ 874 T-A polimorfizmi arasında ilişki saptanmıştır.

On bir çalışmanın değerlendirildiği bir meta-analizde, INF- γ +874T allelinin *M. Tuberculosis* enfeksiyonuna karşı koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (95). Haziran 2002 ve nisan 2012 arasındaki makalelerin metaanalizinde TT genotipinin koruyucu etki gösterdiği AA genotipinin ise tüberküloza duyalılığın artması ile ilişkili olabileceği sağtanmıştır (163). Ağustos 2017’de yapılan 39 farklı makaleden 42 vaka kontrol (8,574 TB’lu ve 9,011 kontrol) çalışmasının alındığı bir metaanalizde *IFNG* +874 T / A (rs2430561) polimorfizmi ile tüberküloz riski arasında beş genetik modelde belirgin pozitif, azalmış ve koruyucu ilişkiler bulunmuştur. *IFNG*'nin+874 T / A (rs2430561) polimorfizminin potansiyel olarak tüberküloz hassasiyeti ile ilişkili olduğu ve prediktif bir biyobelirteç olarak kullanılabilceği sonucu çıkmıştır (164).

Bizim çalışmamızda da tularemi hasta grubunda INF- γ +874 A/T polimorfik özellik gösteren allel (AT / TT) görülme sıklığı ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p = 0,038).

Doğal dirence bağlı makrofaj protein 1 (NRAMP1) genleri, makrofajların endolizozomal bölmelerinde lokalize olan integral membran proteinleridir. Protein bir metal iyon taşıyıcı olduğundan, NRAMP1 geni Solute Carrier Family 11 Member 1 (SLC11A1) olarak da bilinir (165). NRAMP1, çeşitli hücre içi patojenlere karşı makrofaj aracılı doğal immünite nedeniyle önemlidir (10). Protonlar (H⁺) varlığında demir ve magnezyum alımına aracılık eden bir metal iyon taşıyıcı olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Aynı zamanda, fagolizozomlardan demir üretecek ve onu enfekte makrofajların plazma içine pompalayarak, fagolizozomlarda bakteri üremesi için gerekli olan demiri azaltacaktır. NRAMP1 aynı zamanda çinko ve bakır gibi metalleri fagolizozomlardan pompalamaktan sorumludur. Bu metaller, bakterilerin kendilerini aktif oksijen bileşiklerinden, fagosomlardan plazmaya karşı korumak için

kullandığı antioksidan savunma mekanizmalarının (Süperoksit dismutaz, katalaz) gerekli bir parçasıdır (166). Ek olarak, NRAMP1 makrofaj aktivasyon yolunda CXC kemokini düzenleyen birkaç önemli rol oynamaktadır (α interkokin-1beta, MHCII molekülleri, TNF- α ve nitrik oksit (NO) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) salınımına arabuluculuk yapar). NRAMP1 (SLC11A1) geninin kodladığı proteinin yukarıda belirtilen rolleri nedeniyle, bulaşıcı hastalıklarda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir NRAMP1, Salmonella ve Mycobacterium da dahil olmak üzere çeşitli hücre içi enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir (167). Literatürde tularemide NRAMP1 INT4 polimorfizmi ile ilgili çalışma sayısı kısıtlıdır. Bizim çalışmamızda tulareminin intrasellüler patojen olmasından yola çıkarak NRAMP1 INT4 polimorfizmi araştırılmıştır.

Plevral biyopsi ile ispatlanmış 56 tüberküloz plörezi olgusu NRAMP1 polimorfizmleri açısından araştırılmıştır (168). Kim ve ark.'nın (169) çalışmasında, intron 4'de tek baz değişikliği (469 +14G/C, INT4) ve 3' untranslated bölgede TGTG delesyonu (1729+55del4, 3'UTR) plörezi grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.01$ ve $p=0.02$).

Cervino ve ark.'nın (170) çalışmasında, 44 ailede tüberküloz ile NRAMP1 arasındaki ilişki araştırılmıştır. INT4 tek baz değişikliği tüberküloza duyarlılıkla ilişkili bulunmuştur ($p=0.036$).

Tüberküloz ve NRAMP1 polimorfizmleri arasında bağlantı kurmaya yönelik pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Batı Afrika'da Gambiya popülasyonunda 410 tüberküloz ve 417 sağlıklı kontrol grubunda yapılan çalışmada NRAMP1 geninin 4 polimorfik bölgesi ile tüberküloz arasında anlamlı bağlantılar bulunduğu bildirilmiştir (12).

Peru'da 507 tüberküloz hastası ve 507 kontrol grubunda yapılan çalışmada NRAMP1 INT4 ve D543N polimorfizmleri ile tüberküloz arasında anlamlı bağlantı bulunurken 3'UTR polimorfizmi ile anlamlı bir fark gözlenmemiştir (171). Venezuela'da yapılan 93 pulmoner tüberkülozlu hasta ve 102 kontrol grubunda yapılan çalışmada, bizim çalışmamızla benzer şekilde NRAMP1 INT4 gen polimorfizmi ile tüberküloza yatkınlık arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. $p: 0,31$ (172).

Tüberküloz ve NRAMP1 gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir meta analizde Meilang ve ark. (173) toplam 82 vaka kontrol çalışmasını gözden geçirmişler ve tüberküloz ile NRAMP1 polimorfizmi arasında anlamlı ilişki bulmuşlardır.

Zhang ve ark. (175) yaptığı başka bir çalışmada int-4 gen polimorfizmi ile pulmoner tüberkülozun progresyonu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (175).

Japonya'da yapılan bir çalışmada *Mycobacterium avium kompleks* enfeksiyonu ile NRAMP1 polimorfizmi ilişkisi incelenmiş ve INT4 polimorfizmi ile anlamlı ilişki saptanmamıştır. p: 0.056 (176). Hsu ve ark. (177) yaptığı bir çalışmada tüberküloza yatkınlık ve NRAMP1 INT4 polimorfizmi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (p: 0,007)

Muayad ve ark. (178) 2009'da İran'da yaptığı bir çalışmada 117 kişilik tüberküloz hastası ve 60 kişilik kontrol grubunda NRAMP1 INT4 gen polimorfizmi her iki grupta eşit oranda saptanmıştır. p:0,52. Ekim 1999 ile 2000 yılları arasında Aichi, Japonya, Obu'da bulunan Çubu Ulusal Hastanesi'nde akciğer tüberkülozu olan 95 hasta ile yapılan çalışmada NRAMP1 polimorfizminin, kavite oluşum ve daha geniş pulmoner tutulum gibi çoklu ilaç direnci ve klinik özelliklerin ortaya çıkışı ile ilişkili olduğunu ileri sürülmüştür (179).

Ülkemizde Somuk ve ark. (174) 2010-2013 yılları arasında 120 orofarengeal tularemi hastası ve 120 sağlıklı kontrol grubunda yaptıkları çalışmada NRAMP1 İNT-4 gen polimorfizmi ile orofarengeal tularemi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (p: 0.014). Hasta grubunun %41'inde kontrol grubunun %25 inde polimorfik allel saptanmıştır. NRAMP1 Int4 gen bölgesinde C alelinin varlığının orofarengeal tularemi oluşumunu muhtemel hale getirdiği düşünülmüştür. Somuk ve ark. (174) çalışması NRAMP1 İNT-4 gen polimorfizmi ile orofarengeal tularemi arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk literatür çalışmasıdır.

Yakın zamanlı deneysel hayvan çalışmasında francisella canlı aşı suşu inokule edilen sıçanlarda NRAMP1 genine sahip olanların enfeksiyona dirençli olduğu tespit edilmiştir (168).

Bizim çalışmamızda hasta grubunda NRAMP1 İNT-4 varyant allel sıklığı daha fazlayken istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Sonuç olarak, son yıllarda dünyada ve ülkemizde görülme sıklığı artan tularemi çok zengin klinik tablolarla karşımıza çıkabilmekte ve birçok hastalıkla

(enfeksiyöz ve non enfeksiyöz) klinik benzerlik yönünden, ayırıcı tanıya girmektedir. Tanıda tulareminin düşünülmemesi nedeniyle tanıda gecikmeler ve ekonomik kayıplar olmaktadır. Tularemi zoonotik bir hastalık olduğu için vektör ve rezervuar temasından kaçınmak hastalığın kontrolünde önemli rol oynar. Hastalığın artmasındaki küresel ısınma, kuşların göç ile kene taşınması gibi faktörler kontrol edilemez ancak bu vektör ve rezervuarların insan ile teması önlenir. Kırsal alanlarda koruyucu giysi ve kovucular kullanarak, ölü hayvan ve vahşi hayvanlarla temastan kaçınarak, hastalıktan korunma sağlanabilir. Ülkemizde orofaringeal form daha sık görüldüğü için yiyecek ve içeceklerin hijyeni, suların uygun şekilde klorlanması ve etlerin iyi pişirilerek tüketilmesi hastalığın önlenmesinde önemlidir.

Bağışıklık sisteminin karmaşık doğası ve tularemi gibi kompleks hastalıkların poligenik doğası nedeniyle, gen-gen etkileşimlerinin önemi giderek artmaktadır. Sitokin yanıtlarına yol açan yolaktaki genlerin polimorfizmleri, hastalık patogenezinde ve klinik tablonun çeşitliliğinde önemlidir. Bu çalışmada otoimmün ve enfeksiyöz hastalıkların etiolojisinde rolü olabileceği düşünülen NRAMP1 ve INF- γ genindeki polimorfizmlerin tularemi hastalığındaki olası rolleri araştırıldı. Çalışmamızda INF- γ 874 T/A gen polimorfizmi ile tularemiye yatkınlık arasında anlamlı ilişki saptanırken ve NRAMP1 INT4 gen polimorfizmi ile tularemiye yatkınlık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Olgu sayımızın azlığı bu sonucun sebeplerinden biri olabilmekle birlikte, sonuçlarımız hastalık oluşumunda, her üç genotipi gösteren INF- γ ve NRAMP1 ile birlikte diğer sitokinlerin de rol aldığı kompleks bir konak hücre yanıtının olması ile de ilişkilendirilebilir. Yaş, cinsiyet, çevresel ve yaşam tarzı faktörleri, tularemi ile INF- γ , NRAMP1 gen polimorfizmleri arasındaki ilişkileri muhtemelen değiştirebilir. Bu nedenle, hastalık prognozunda spesifik çevresel faktörlerin ve yaşam biçimlerinin rollerini değerlendirmek gereklidir. Hastalığa direnç ve yatkınlıkla ilgili genetik faktörlerin aydınlatılması, hastalık patogenezinin ortaya konmasına, konak savunmasında kullanılan mekanizmaların aydınlatılmasına katkıda bulunacağı gibi, ilaç geliştirilmesinde yeni farmakolojik hedeflerin ortaya konulmasında, yeni ve etkinliği daha yüksek olan aşıların geliştirilmesinde de yardımcı olacaktır. Böylece hastalığın önlenmesi ve tedavi stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır. İnsanlarda tularemiye yatkınlık ile ilgili az

sayıda çalışma bulunmaktadır. Literatürde tularemide NRAMP1 polimorfizmini inceleyen insan ve hayvan çalışmaları bulunmaktayken INF- γ 874 T/A polimorfizmini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamız tularemi olgularında INF- γ 874 T/A gen polimorfizmi ilişkisinin araştırıldığı ve anlamlı sonuç bulunduğu ilk çalışmadır. Bu ilişkinin varlığını araştırarak deneysel ve yüksek olgu sayısına sahip çok merkezli klinik çalışmalar ile hastalık oluşumundaki mekanizmaların anlaşılması, komplikasyon gelişiminin tanısının rahatlıkla konulması, komplike olguların daha kolay ve etkin tedavisi ile korunma önlemlerine katkıda bulunulacaktır.



5. KAYNAKLAR

1. Ellis J, Oyston PC, Green M, Titball RW. Tularemia. *Clin Microbiol Rev* 2002;15: 631-646.
2. Pechous RD, McCarthy TR, Zahrt TC. Working toward the future: insights into *Francisella tularensis* pathogenesis and vaccine development. *Microbiol Mol Biol Rev* 2009; 73: 684-711.
3. Gotschlich BT. 1936 yılında Trakya’da Tüla remiye ait yapılan epidemiyolojik ve bakteriyolojik araştırmalar. *Türk Hij Tec Biol Der* 1938; 1: 115-122.
4. Penn RL. *Francisella tularensis* (Tularemia). Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (ed). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010: 2927-2937.
5. Nathan C, Murray HW, Wiebe ME, Rubin BY. Identification of interferon-gama as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J Exp Med* 1983; 158: 670–681.
6. Pravica V, Asderakis A, Perrey C, Hajeer A, Sinnott PJ, Hutchiso IV. In vitro production of IFN-gamma correlates with CA repeat polymorphism in the human IFN gamma gene. *Europ J Immunogenet* 1999; 6: 1-3.
7. Blackwell JM, Searle S, Goswani T, Miller EN. Understanding the multiple functions of Nramp1. *Microbes Infect* 2000; 2: 317–321.
8. Gomes MS, Appelberg R. Evidence for a link between iron metabolism and nramp 1 gene function in innate resistance against *Mycobacterium avium*. *Immunology* 1998; 95: 1165-1688.
9. Li HT, Zhang TT, Zhou YQ, Huang QH, Huang J. SLC11A1(formerly NRAMP1) gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility: a metaanalysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 3-12.
10. Blackwell JM, Barton CH, White JK, Searle S, Baker AM, Willams H, Shaw MA. Genomic organization and sequence of human nramp gene: identification and mapping of promoter region polymorphism, *Molecular Medicine* 1995; 1: 194-205.

11. Canonne-Hergaux F, Calafat J, Richer E, Cellier M, Grinstein S, Borregaard N, Gros P. Expression and subcellular localization of nramp1 in human neutrophil granules. *Blood* 2002; 100: 268-275.
12. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Whittle HC, Hill AV, et al. Variations in the Nramp1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med* 1998; 338: 640-644.
13. Abel L, Dessein AJ. The impact of host genetics on susceptibility to human infectious diseases, *Current Opinion Immunology* 1997; 9: 509-516.
14. Özinel MA. Francisella ve Brucella, *Tıbbi Mikrobiyoloji*. Basustaoğlu AC, Yıldırım ST, Tanyüksel M, Yapar M (editör) 6. Baskı, Ankara: Atlas Kitapçılık, 2010: 357-363.
15. Gerceker D. Francisella, *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Kitabı*, Ustacelebi S (editor), Ankara: Güneş Kitabevi Ltd Sti, 1999: 567-570,
16. Eliasson H, Broman T, Forsman M, Back E. Tularemia: Current epidemiology and disease management. *Infectious Disease Clinics North America* 2006; 20: 289–311.
17. Karadenizli A, Gürcan S, Kolaylı F, Vahaboğlu H. Outbreak of tularaemia in Golcuk, Turkey in 2005: Report of 5 cases and an overview of the literature from Turkey, *Scand J Infect Dis* 2005; 37: 712-716.
18. Topçu A. Tularemi. *Ankem Derg* 2006; 20: 222-226.
19. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı. Tularemi Hastalığının Kontrolü İçin Saha Rehberi. Ankara: Sağlık Bakanlığı Yayın No: 2011: 799.
20. Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL (eds). Francisella tularensis. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Baltimore, MD Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 491-497.
21. Pathogen Profile Dictionary. <http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/tularensis.htm>. Erişim Tarihi: 05.01. 2018

22. McLendon MK, Apicella MA, Allen AH. Francisella tularensis: taxonomy, genetics, and immunopathogenesis of a potential agent of biowarfare. Annual Review of Microbiology 2006; 60: 167-185.
23. World Health Organization WHO Guidelines on Tularaemia. Switzerland. Available from http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_EPR_2007_7.pdf: WHO Press, 2007.
24. Lındaquist D. Chu MC, Probert WS. Francisella ve Brucella, Klinik Mikrobiyoloji, Manual of Clinical Microbiology, Murray PR(ed) s: 815-834, 9. Baskı Türkçe çevirisi, Ankara: Atlas Kitapçılık, 2009.
25. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (eds). Francisella (Chapter 40), Bailey&Scott's Diagnostic Microbiology. 12th Edition: Mosby Elsevier Press, St. Louis, Missouri, 2007; 440-443.
26. World Health Organization WHO Press; 2007, Tärnvik A, Berglund L. Tularaemia. European Respiratory Journal 2003; 21: 361-373.
27. Karabay O, Kilic S, Gurcan S, Pelitli T, Karadenizli A, Bozkurt H, et al. Cervical lymphadenitis: tuberculosis or tularaemia? Clin Microbiol Infect 2013; 19: 113-117.
28. Petersen JM, Carlson JK, Dietrich G, Eisen RJ, Coombs J, Janusz AM, et al. Multiple Francisella tularensis subspecies and clades, tularemia outbreak, Utah. Emerg Infect Dis 2008; 14: 1928-1930.
29. Christova I, Velinov T, Kantardjiev T, Galev A. Tularaemia outbreak in Bulgaria. Scand J Inf Dis 2004; 36: 785-789.
30. Willke A, Meric M, Grunow R, Sayan M, Finke E, Splettstösser W, et al. An outbreak of oropharyngeal tularaemia linked to natural spring water. J Med Microbiol 2009; 58: 112-116.
31. Gürcan Ş, Otkun MT, Otkun M, Arikan OK, Ozer B. An outbreak of tularemia in Western Black Sea region of Turkey. Yonsei Med J 2004; 45: 17-22.
32. Kılıç S. Ülkemizde önem kazanan zoonotik hastalıkların güncel durumu: Tularemi. 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı 2013: 184-187.

33. Gürcan S. Epidemiology of tularemia. *Balkan Med J* 2014; 31: 3-10.
34. Akalın H. Türkiye’de tularemi salgınları. *Klinik Gelişim* 2010; 23: 36-39.
35. T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı. Sağlık Bakanlığı. Tularemi Hastalığının Kontrolü için Saha Rehberi Ankara. [http://www.saglik.gov.tr/TR/dosya/1-71840/h/tularemi-saha-rehberi.pdf/\(2011\)](http://www.saglik.gov.tr/TR/dosya/1-71840/h/tularemi-saha-rehberi.pdf/(2011)). Erişim Tarihi 02.02.2018
36. Sjostedt A. Tularemia: history, epidemiology, pathogen physiology, and clinical manifestations. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1105: 1–29.
37. Khanna R, Sharma AD, Khanna S, Kumar M, Shukla RC. Usefulness of ultrasonography for the evaluation of cervical lymphadenopathy. *World J Surg Oncol* 2011; 9: 29.
38. Feldman KA, Stiles-Enos D, Julian K, Matyas BT, Telford III SR, Chu MC, et al. Tularemia on Martha’s Vineyard: seroprevalence and occupational risk. *Emerging Infectious Diseases* 2003; 9: 350-354.
39. Porsch-Özcürümez M, Kischel N, Priebe H, Splettstösser W, Finke E-J, Grunow R. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, Western blotting, microagglutination, indirect immunofluorescence assay, and flow cytometry for serological diagnosis of tularemia. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 2004; 11: 1008-1015.
40. Esmaeili S, Gooya MM, Shirzadi MR, Esfandiari B, Amiri FB, Behzadi MY, et al. Seroepidemiological survey of tularemia among different groups in western Iran. *Int J Infec Dis* 2014; 18: 27-31.
41. Şahin M, Gürcan S (editör). *Francisella Tularensis’in Vektörleri ve Doğal Rezervuarları, Francisella Tularensis ve Tularemi*. İstanbul: Nobel Kitabevleri, 2008: s. 139-160.
42. Otlı S, Gürcan S (ed). *Hayvanlarda Tularemi Araştırmaları ve Dünyada Tularemi. Francisella Tularensis ve Tularemi*. İstanbul: Nobel Kitabevleri, 2008: 161-168.
43. Tokgöz S. Tularemidde laboratuvar araştırmaları. *Türk Hıfzısıhha ve Tecrübi Biyoloji Dergisi* 1938;1: 137-53.

44. Kılıc S. A General Overview of *Francisella tularensis* and the epidemiology of Tularemia in Turkey. *Flora* 2010; 15: 37-58.
45. Tärnvik A, Priebe HS, Grunow R. Tularaemia in Europe: An Epidemiological Overview. *Scand J Inf Dis* 2004; 36: 350-355.
46. Hornick R. Tularemia. Alfred S, Philip S (eds). *Bacterial Infections of Humans Epidemiology and Control*. New York: Plenum Publishing Co, 1991: 787-802.
47. Tärnvik A, Eriksson M, Sandström G, Sjöstedt A. *Francisella tularensis* a model for studies of the immune response to intracellular bacteria in man. *Immunology* 1992; 76: 349-350.
48. Cherwonogrodzky JW, Knodel MH, Spence MR. Increased encapsulation and virulence of *Francisella tularensis* live vaccine strain (LVS) by subculturing on synthetic medium. *Vaccine* 1994; 12: 773-775.
49. Sandström G, Löfgren S, Tärnvik A. A capsule deficient mutant of *Francisella tularensis* LVS exhibits enhanced sensitivity to killing by serum but diminished sensitivity to killing by polymorphonuclear leukocytes. *Infection and Immunity* 1988; 56: 1194-1202.
50. Elkins KL, Rhinehart-Jones TR, Culkın SJ, Yee D, Winegar RK. Minimal requirements for murine resistance to infection with *Francisella tularensis* LVS, *Infection and Immunity* 1996; 64: 3288-3293.
51. Elkins KL, Cooper A, Colombini SM, Cowley SC, Kieffer TL. In vivo clearance of an intracellular bacterium, *Francisella tularensis* LVS, Is dependent on the p40 subunit of Interleukin-12 (IL-12) but not on IL-12 p70. *Infection and Immunity* 2002; 70: 1936-1948.
52. Oral BH. Tularemi İmmünopatogenezi ve Patolojisi, Gürcan Ş (editör). *Francisella Tularensis ve Tularemi*, İstanbul, Nobel Kitabevleri, 2008: 193-200.
53. Gedikoğlu SB. *Pasteurella, Francisella, Bordetella*. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, 2. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000; 14: 1658-1666.

54. Meriç M, Willke A, Finke J. Kocaeli'nde saptanan tularemi olgularının değerlendirilmesi: Klinik, laboratuvar ve iyileşme sürecinin incelenmesi, XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları. Kongresi, Kongre Kitabı Klimik 2005: 210.
55. Tularemia. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Tularemia-Missouri, 2000-2007. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009; 58: 744-748.
56. Evans ME, Gregory DW, Schaffner W, McGee ZA. Tularemia: a 30-year experience with 88 cases. *Medicine (Baltimore)* 1985; 64: 251-269.
57. Reintjes R, Dedushaj I, Gjini A, Jorgensen TR, Cotter B, Lieftucht A, et al. Tularemia outbreak investigation in Kosovo: case control and environmental studies. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 69-73.
58. Meric M, Willke A, Finke EJ, Grunow R, Sayan M, Erdogan S, et al. Evaluation of clinical, laboratory, and therapeutic features of 145 tularemia cases: the role of quinolones in oropharyngeal tularemia. *APMIS* 2008; 116: 66-73.
59. Matyas BT, Nieder HS, Telford SR. Pneumonic tularemia on Martha's Vineyard: clinical, epidemiologic, and ecological characteristics. *Ann NY Acad Sci* 2007; 1105: 351-77.
60. Jounio U, Renko M, Uhari M. An outbreak of holarctica-type tularemia in pediatric patients. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29: 160-162.
61. Weber IB, Turabelidze G, Patrick S, Griffith KS, Kugeler KJ, Mead PS. Clinical recognition and management of tularemia in Missouri: a retrospective records review of 121 cases. *Clin Infect Dis* 2012; 55: 1283-1290.
62. Penn RL, Kinasewitz GT. Factors associated with a poor outcome in tularemia. *Arch Intern Med* 1987; 147: 265-268.
63. Chitadze N, Kuchuloria T, Clark DV, Tsertsvadze E, Chokheli M, Tsertsvadze N et al. Water-borne outbreak of oropharyngeal and glandular tularemia in Georgia: investigation and follow-up. *Infection* 2009; 37: 514-5121.
64. Scofield RH, Lopez EJ, McNabb SJ. Tularemia pneumonia in Oklahoma, 1982-1987. *J Okla State Med Assoc* 1992; 85: 165-170.

65. Çelebi B. 3.Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu, Ankara, 2010.
66. Karahan CZ, Kılıç S. Tanı İçin Örneklerin Alınması, Saklanması ve Tasınması. Gürcan Ş (editör). Francisella tularensis ve Tularemi. İstanbul: Nobel Kitabevleri, 2008: 259-268.
67. Johansson A, Berglund L, Eriksson U. Comparative analysis of PCR versus culture for diagnosis of ulceroglandular tularemia. J Clin Microbiol 2000; 38: 22-26.
68. Karabay O, Gürcan Ş, Karadenizli A, Vahaboglu H. Second tularemia outbreak within 5 years in same village of Bolu, Turkey. The First International Congress of Central Asia Infectious Diseases. Bishkek, Kyrgy Republic. Program and Abstracts Book, 2006: 80-81.
69. Karadenizli A. Moleküler tanı ve tiplendirme yöntemleri. Gürcan Ş, (ed). Francisella tularensis ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009: 283-288.
70. Tarnvık A, Chu CM. New Approaches to diagnosis and therapy of tularemia. Ann NY Acad Sci 2007; 1105: 378-404.
71. Koskela P, Salminen A. Humoral Immunity against Francisella tularensis after natural infection. J Clin Microbiol 1985; 22: 973-979.
72. Gürcan Ş. Serolojik tanı yöntemleri, Francisella tularensis ve Tularemi, Gürcan Ş (editör). İstanbul: Nobel Kitabevleri, 2008: 283-288.
73. Kılıç S, Çelebi B, Yeşilyurt M. Evaluation of a commercial immunochromatographic assay for the serologic diagnosis of tularemia. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2012; 74: 1-5.
74. Schmitt P, Splettstosser W, Özçürümez MP, Finke EJ, Grunow R. A novel screening ELISA and a confirmatory Western blot useful for diagnosis and epidemiological studies of tularemia. Epidemiol Infect 2005; 133: 759-766.
75. Gürcan Ş, Tatman OM, Otkun M. Bolu-Gerede-Yazıkara Köyü'nde Tularemi Epidemisi. İnfeksiyon Derg 2003; 17: 145-149.
76. Gürcan Ş, Uzun C, Karagöl A. The first tularemia case in Thrace Region of Turkey in the last 60 years. Turk J Med Sci 2006; 36: 127-128.

77. Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi, Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi, Sağlık Bakanlığı 2004, Ankara. <http://www.shsm.gov.tr/public/documents/legislation/bhkp/asi/bhibs/BulHastBilSistStanSurveLabReh.pdf>. Erişim Tarihi 05.01.2018
78. Topçu WA. Tedavi, Francisella tularensis ve Tularemi. Gürcan Ş (ed), İstanbul: Nobel Kitabevleri, 2008: 283-288.
79. Kılıç S, Yeşilyurt M. Tularemi: Güncel tedavi seçeneklerine genel bir bakış. Klimik Dergisi 2011; 24: 2-10.
80. Enderlin GL, Morales RF, Cros JT. Streptomycin and alternative agents for the treatment of tularemia: review of the literature. Clin Infect Dis 1994; 19: 42-47.
81. Maurin M, Mersali NF, Raoult D. Bactericidal activities of antibiotics against intracellular Francisella tularensis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2000; 44: 3428– 3431.
82. Johansson A, Urich SK, Chu MC, Sjoestedt A, Taernvik A. In vitro susceptibility to quinolones of Francisella tularensis subspecies tularensis. Scandinavian Journal of Infectious Diseases 2002; 34: 327-330.
83. Hepburn MJ, Simpson JH. Tularemia: current diagnosis and treatment options. Expert Rev Anti Infect Ther 2008; 6: 231–240.
84. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. Parslaw TG, Stites OP, Terr AI, Imoden JB (eds.). Lange Medical Immunology. 10th Ed. New York: Lange Medical Books/McGraw Hill, 2001: 148-167.
85. Elgert KD. Immunology: Understanding the Immune System. New York: Wiley Liss/ A John Wiley&Sons Inc Publishing Company, 1996: 199-217.
86. Schoenborn JR, Wilson CB. Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses. Adv Immun 2007; 96: 41-101.
87. Buchmüller Y, Mauel J. Studies on the mechanisms of macrophage activation. II. Parasite destruction in macrophages activated by supernates from concanavalin A stimulated lymphocytes. J Exp Med 1979; 150: 359–370.

88. Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol* 2004; 75: 163–189.
89. Glimcher LH, Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up. *Genes Dev* 2000;14: 1693–1711.
90. Peng SL, Szabo SJ, Glimcher LH. T-bet regulates IgG class switching and pathogenic autoantibody production. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 5545–5550.
91. Mach B, Steimle V, Martinez-Soria E, Reith W. Regulation of MHC class II genes: lessons from a disease. *Annu Rev Immunol* 1996;14: 301–331.
92. Gray PW, Goeddel DV. Structure of the human immune interferon gene. *Nature* 1982; 298: 859-863.
93. Rossouw M, Nel HJ, Cooke GS, van Helden PD, Hoal EG. Association between tuberculosis and a polymorphic NF-kappa-B binding site in the interferon gamma gene. *Lancet* 2003; 361: 1871-1872.
94. Bream JH, Carrington M, O'Toole S, Dean M, Gerrard B, Shin HD et al. Polymorphisms of the human IFNG gene noncoding regions. *Immunogenetics* 2000; 51: 50-58.
95. Pacheco AG, Cardoso CC, Moraes MO. IFNG +874T/A, IL10 -1082G/A and TNF -308G/A polymorphisms in association with tuberculosis susceptibility: a meta-analysis study. *Hum Genet* 2008; 123: 477-484.
96. Khani-Hanjani A, Lacaille D, Hoar D, Chalmers A, Horsman D, Anderson M, Balshaw R, Keown PA. Association between dinucleotide repeat in non-coding region of interferon-gamma gene and susceptibility to, and severity of, rheumatoid arthritis. *Lancet* 2000 2; 356: 820-825.
97. Awad M, Pravica V, Perrey C, El Gamel A, Yonan N, Sinnott PJ, Hutchinson IV. CA repeat allele polymorphism in the first intron of the human interferon-g gene is associated with lung allograft fibrosis. *Hum Immunol* 1999; 60: 343.
98. Dickinson AM, Cavet J, Cullup H, Wang XN, Jarvis M, Sviland L, Middleton PG. Predicting outcome in hematological stem cell transplantation. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2002; 50: 371-378.

99. Cellier M, Govani G, Vidal S, Kwan T, Groulx N, Liu J et al. Human Natural resistance-associated macrophage protein: cDNA cloning, chromosomal mapping, genomic organization, and tissue-specific expression. *Experimental Medicine* 1994; 180: 1741-1752.
100. Searle S, Bright NA, Roach TIA, Atkinson PGP, Barton CH, Melen RH, Blackwell JM. Localisation of Nramp1 in macrophages: modulation with activation and infection. *Journal of Cell Science* 1998; 111: 2855-2866.
101. Fleming MD, Trenor CC, Su MA, Foernzler D, Beier DR, Dietrich WF, Andrews NC. Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nature Genetic* 1997; 16: 383-386.
102. Bruce SW, Donald EK, Lisa W, David B, William L. Role of Iron in Nramp1-Mediated Inhibition of Mycobacterial Growth. *Infectious. Immunity* 1999; 48: 1386-1392.
103. Nathon N. Metal ion transporters and homeostasis. *The EMBO Journal* 1999; 18: 4361-4371.
104. Mc Nicholl JM. Host genes and infectious diseases. *Emergency Infectious Disease* 1998; 4: 423-426.
105. Searle S, Blackwell JM. Evidence for functional repeat polymorphism in the promoter of human NRAMP1 gene that correlates with autoimmune versus infectious disease susceptibility. *Journal of Medical Genetic* 1999; 36: 295-299.
106. Kazunobu O, Yoich S, Taro S, Fumio K. Polymorphism of SLC11A1 (Formerly NRAMP1) gene confers susceptibility to Kawasaki disease. *The Journal of Infectious Diseases* 2003; 187: 326-329.
107. Graham AM, Dollinger MM, Sem H, Harrison DJ. Identification of novel alleles at a polymorphic microsatellite repeat region in human NRAMP1 gene promoter: analysis of allele frequencies in primary biliary cirrhosis. *J Med Gen* 2000; 37: 150-152.
108. Canonne-Hergaux F, Calafat J, Richer E, Cellier M, Grinstein S, Borregaard N, Gros, P. Expression and subcellular localization of NRAMP1 in human neutrophil granules. *Blood* 2002; 100: 268- 275.

109. Akalin H, Helvacı S, Gedikoglu S. Re-emergence of tularemia in Turkey. *Int J Infect Dis* 2009; 13: 547-551.
110. Gotschlich E, Berkin T. The epidemiological and bacteriological investigation related to tularemia in Thrace in 1936. *Türk Hij Tec Biol Der* 1938; 1: 115-34.
111. Kilic S. Epidemiological Characteristics of Tularemia in Turkey. *International Symposium on Francisella tularensis and Tularemia, 19-23 June 2013, Urgup, Nevsehir, Turkey. Symposium Book, 2013: 15.*
112. Mengeloglu Z, Duran A, Hakyemez IN, Ocak T, Küçükbayrak A, Karadağ M, Taş T, Akdeniz H. Evaluation of patients with Tularemia in Bolu province in northwestern Anatolia, Turkey. *J Infect Dev Ctries* 2014; 8: 315-319.
113. Erdem H, Ozturk-Engin D, Yesilyurt M, Karabay O, Elaldi N, Celebi G, et al. Evaluation of tularaemia courses: a multicentre study from Turkey. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20: 1042-1051.
114. Kilic S. Francisella tularensis ve Türkiye’de tularemi epidemiyolojisine genel bir bakış. *FLORA* 2010; 15: 37-58.
115. Ulukilic A, Gulen G, Sezen F, Kilic S, Sencan I. Tularemia in central Anatolia. *Infection* 2013; 41: 391–399.
116. Faber M, Heuner K, Jacob D, Grunow R. Tularemia in Germany—A Re-emerging Zoonosis *Front Cell. Infect Microbiol* 2018: 16.
117. Helvacı S, Gedikoglu S, Akalin H, Oral B. Tularemia in Bursa, Turkey: 205 cases in ten years. *Eur J Epidemiol* 2000; 16: 271-276.
118. Ulu Kilic A, Kilic S, Sencan I. A water-borne tularemia outbreak caused by Francisella tularensis subspecies holarctica in Central Anatolia region. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45: 234-247.
119. Turhan V, Ardic N, Sahinoglu L, Besirbellioglu BA, Gedikoglu S. A general view to tularemia cases in Turkey: on to a pure oropharyngeal type outbreak. *AJCI Anatolian J Clin Invest* 2007; 1: 71-77.

120. Dikici N, Ural O, Sümer S. Tularemia in Konya Region, Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46: 225-235.
121. Özden K, Özden A, Albayrak A, Özkurt Z, Döneray H, Parlak M. Doğu Anadolu Bölgesi'nden Hastanemize Başvuran Orofarengeal Tularemi Olgularının Epidemiyolojik ve Klinik Özelliklerinin Değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2018; 52: 108-110.
122. Erbay A, Dokuzoğuz B, Baykam N, Güvener E, Diker S, Yıldırım T. Ankara yöresinde tularemi. *İnfeksiyon Dergisi* 2000; 14: 453-458.
123. Ohara Y, Sato T, Fujita H, Ueno T, Homma M. Clinical manifestations of tularemia in Japan - Analysis of 1355 cases observed between 1924 and 1987. *Infection* 1991; 19: 14-7.
124. Richard FJ, Gordon ES. Tularemia. Dennis LK, Anthony SF (editors). *Harrison's Infectious Diseases*. New York: The McGraw-Hill, 2010: 552-57.
125. Ozdemir D, Sencan I, Annakkaya AN. Comparison of the 2000 and 2005 outbreaks of tularemia in the Duzce region of Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2007; 60: 51-52.
126. Meriç M, Willke A, Finke EJ. Evaluation of clinical, laboratory, and therapeutic features of 145 tularemia cases: the role of quinolones in oropharyngeal tularemia. *APMIS* 2008; 116: 66-73.
127. Kilic S. Tularemi: Etken ve Epidemiyoloji. *Türkiye Klinikleri J Inf Dis Special Topics* 2014; 7: 52-61.
128. Leblebicioglu H, Esen S, Turan D, Tanyeri Y, Karadenizli A, Ziyagil F, Goral G. Outbreak of tularemia: a case-control study and environmental investigation in Turkey. *Int J Infect Dis* 2008; 12: 265-269.
129. Bayhan GI, Tanir G, Celebi B. Two Cases of Glandular Tularemia From Turkey. *Turk J Pediatr* 2012; 54: 203-206.
130. Grassie SS, Kılıç S, Kılıçkalp G, Ocak F, Akduran S, Kayaaslan B. Bilateral İnguinal LAP ve İntroabdominal Apse ile Seyreden Bir Tularemi Vakası. 5. EKMUD Bilimsel Platformu, 1-4 Nisan 2015, İzmir. Kongre Kitabı PB-052, 2015: 221.

131. Yeşilyurt M, Kılıç S, Çağışar Ö, Çelebi B, Gül S. Two cases of tick-borne tularemia in Yozgat province, Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2010; 45: 746-754.
132. Aydınli S, Atasoylu G, Ince A, Karadenizli A. The first ulceroglandular tularemia case occurred after a tick bite in Turkey where oropharyngeal tularemia is prevalent. (Poster presentation no:072) The 4th Eurasia Congress of Infectious Diseases, 01-05 June 2011, Sarajevo, Bosnia-Herzegovina, 2011: 183.
133. Uzun MO, Yanik K, Erdem M, Kostakoglu U, Yılmaz G, Çaycı Tanrıverdi Y. Epidemiological and clinical characteristics and management of oropharyngeal tularemia outbreak. *Turk J Med Sci* 2015; 45: 902-906.
134. Karabay O, Öğütlü A. *Turkiye Klinikleri J Inf Dis Special Topics* 2015: 8.
135. Tarnvik A, Chu MC. New approaches to diagnosis and therapy of tularemia. *Ann NY Acad Sci* 2007; 1105: 378–404.
136. Tatman Otkun M, Akcali A, Karadenizli A. Epidemiological evaluation of a rapidly-prevented tularemia outbreak in Canakkale province, Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45: 48–57.
137. Maurin M, Pelloux I, Brion JP, Del Bano JN, Picard A. Human tularemia in France, 2006–2010. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 133–141.
138. Strehl J, Schoerner C, Hartmann A, Agaimy A. Tularemia lymphadenitis: an emerging differential diagnosis of necrotizing granulomatous cervical lymphadenitis. *Pathologe* 2014; 35: 166–172.
139. Dogan-Gun B, Bahadır B, Celebi G, Numanoglu G, Ozdamar S O, Mocan-Kuzey G. Fine needle aspiration cytology finding in cases diagnosed as oropharyngeal tularemia lymphadenitis. *Turk J Pathol* 2007; 23: 38–42.
140. Asano S. Granulomatous lymphadenitis. *J Clin Exp Hematopathol* 2012; 52: 1–16.
141. Sjöstedt A. Tularemia: history, epidemiology, pathogen physiology, and clinical manifestations. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1105: 1-29.

142. Penn RL. Francisella tularensis (tularemia). Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 2674-85.
143. Tärnvik A, Berglund L. Tularemia. Eur Respir J 2003; 21: 36173.
144. Celebi G, Baruonu F, Ayoglu F. Tularemia, a reemerging disease in northwest Turkey: epidemiological investigation and evaluation of treatment responses. Jpn J Infect Dis 2006; 59: 229-234.
145. Özyürek H, Şencan İ, Öksüz Ş, Kaya D, Kocabay K. Orofaringeal tularemili bir olgu sunumu. Türk Pediatri Arşivi 2001; 36: 94-96.
146. Barut Ş, Tülek NE, Köseoğlu D, Şahin İ. Nekrotizan lenfadenit tanısı alan bir ülseroglandüler tularemi olgusu. Klimik Dergisi 2007; 20: 23-26.
147. WHO Guidelines on Tularaemia http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789241547376_eng.pdf. Erişim Tarihi: 02. 02. 2018
148. O'Toole D, Williams ES, Woods LW. Tularemia in range sheep: an overlooked syndrome. J Vet Diagn Invest 2008; 20: 508-513.
149. Bricker D. Tularemia Infection during pregnancy. Am J Nursing 1931; 31: 979-982.
150. Health Protection Agency (UK). Tularemia guidelines for action in the event of a deliberate release. In. London: HPA Centre for Infections; 2009. Version 2.4.1 31. <http://www.hpa.org.uk/web/HPAwebFile/HPAwebC/1194947357555>. Erişim Tarihi: 02. 02. 2018
151. Dennis DT, Inglesby TV, Henderson DA et al. Tularemia as a biological weapon: medical and public health management. JAMA 2001; 285: 2763-2773.
152. Yesilyurt M, Kilic S, Celebi B, Gul S. Tularemia during pregnancy: report of four cases. Scand J Infect Dis 2013; 45: 324-328.
153. Meric M, Sayan M, Willke A, Gedikoglu S. A small water-borne tularemia outbreak. Mikrobiyol Bul 2008; 42: 49-59.
154. Akıncı E, Ulgen F, Kılıç S, Yılmaz S, Yıldız S, Ozdemir B, et al. Orta Anadolu kaynaklı tularemi olgularının değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2011; 45: 762-764.

155. Sahin M, Atabay HI, Bicakci Z, Unver A, Otlu S. Outbreaks of tularemia in Turkey. *Kobe J Med Sci* 2007; 53: 37-42.
156. Barut S, Cetin I. A tularemia outbreak in an extended family in Tokat Province, Turkey: observing the attack rate of tularemia. *Int J Infect Dis* 2009; 13: 745-748.
157. Pravica V, Perrey C, Stevens A, Lee JH, Hutchinson IV. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Hum Immun* 2000; 61: 863-866.
158. Lio D, Marino V, Serauto A, Gioia V, Scola L, Crivello A et al. Genotype frequencies of the +874T-->A single nucleotide polymorphism in the first intron of the interferon-gamma gene in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis. *Eur J Immunogenet* 2002; 29: 371-374.
159. Sallakci N, Coskun M, Berber Z, Gürkan F, Kocamaz H, Uysal G. Interferon-gamma gene+874T-A polymorphism is associated with tuberculosis and gamma interferon response. *Tuberculosis (Edinb)* 2007; 87: 225-230.
160. Asgharzadeh M, Ghorghanlu S, Rashedi J, Mahdavi Poor B. Association of Promoter Polymorphisms of Interleukin-10 and Interferon-Gamma Genes with Tuberculosis in Azeri Population of Iran. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2016;15: 167-173.
161. Hashemi M, Sharifi-Mood B, Nezamdoost M, MoazeniRoodi A, Naderi M, Kouhpayeh H et al. Functional polymorphism of interferon-gamma (IFN-gamma) gene+ 874T/A polymorphism is associated with pulmonary tuberculosis in Zahedan, Southeast Iran. *Prague Med Rep* 2011; 112: 38-43.
162. Selma WB, Harizi H, Bougmiza I, Hannachi N, Kahla IB, Zaieni R et al. Interferon gamma+ 874T/A polymorphism is associated with susceptibility to active pulmonary tuberculosis development in Tunisian patients. *DNA Cell Biol* 2011; 30: 379-387.
163. Albuquerque AC, Rocha LQ, de Moraes Batista AH, Teixeira AB, dos Santos DB, Nogueira NA. Association of polymorphism +874 A/T of interferon-gamma and susceptibility to the development of tuberculosis: meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012; 31: 2887-2895.

- 164.** Wei Z, Wenhao S, Yuanyuan M, Yang L, Daming Z, Jiangchun X, Jijun J. A single nucleotide polymorphism in the interferon- γ gene (*IFNG* +874 T/A) is associated with susceptibility to tuberculosis. *Oncotarget* 2017; 8: 50415-50429.
- 165.** Ates O, Dalyan L, Musellim B, Hatemi G, Turker H, Ongen G et al. NRAMP1 (SLC11A1) gene polymorphisms that correlate with autoimmune versus infectious disease susceptibility in tuberculosis and rheumatoid arthritis. *Int J Immunogenet* 2009; 36: 15–19.
- 166.** Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; 388: 482–488.
- 167.** Govoni G, Gros P. Macrophage NRAMP1 and its role in resistance to microbial infections. *Inflamm Res* 1998; 47: 277–284.
- 168.** Powell DA, Frelinger JA. Efficacy of Resistance to Francisella Imparted by ITY/NRAMP/SLC11A1 Depends on Route of Infection. *Front Immunol* 2017; 8: 206.
- 169.** Kim JH, Lee SY, Lee SH. NRAMP1 genetic polymorphisms as a risk factor of tuberculous pleurisy. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7: 370-375.
- 170.** Cervino AC, Lakiss S, Sow O, Hill AV. Allelic association between the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in Guinea-Conakry. *Ann Hum Genet* 2000;64: 507-512.
- 171.** Taype CA, Castro JC, Accinelli RA, Herrera-Velit P, Shaw MA, Espinoza JR. Association between SLC11A1 polymorphisms and susceptibility to different clinical forms of tuberculosis in the Peruvian population. *Infection, Genetics and Evolution*, 2006; 6: 361–367.
- 172.** Fernández-Mestre M, Villasmil Á, Takiff H, Alcalá ZF. NRAMP1 and VDR Gene Polymorphisms in Susceptibility to Tuberculosis in Venezuelan Population. *Dis Markers* 2015; 2015: 1-7.
- 173.** Meilang Q, Zhang Y, Zhang J, Zhao Y, Tian C, Huang J et al. Polymorphisms in the SLC11A1 gene and tuberculosis risk: a meta-analysis update. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012;16: 437–446.

- 174.** Somuk BT, Koc S, Ates O, Göktas G, Soyalic H, Uysal IO et al. MBL, P2X7, and SLC11A1 gene polymorphisms in patients with oropharyngeal tularemia. *Acta Oto-Laryngologica* 2016; 11: 1168-117.
- 175.** Zhang W, Shao L, Weng X, Hu Z, Jin A, Chen S et al. Variants of the natural resistance-associated macrophage protein 1 gene (NRAMP1) are associated with severe forms of pulmonary tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1232–1236.
- 176.** Tanaka G, Shojima J, Matsushita I, Nagai H, Kurashima A, Nakata K, Toyota E, Kobayashi N, Kudo K, Keicho N. Pulmonary Mycobacterium avium complex infection: association with NRAMP1 polymorphisms. *Eur Respir J* 2007; 30: 90-96.
- 177.** Hsu YH, Chen CW, Sun HS, Jou R, Lee JJ, Su IJ. Association of NRAMP 1 gene polymorphism with susceptibility to tuberculosis in Taiwanese aboriginals. *J Formos Med Assoc* 2006;105: 363-369.
- 178.** Muayad PF, Sabar A, Mohammed V, Mehdi K, Omid P, Shima S et al. The NRAMP1, VDR and TNF- α Gene Polymorphisms in Iranian Tuberculosis Patients: The Study on Host Susceptibility. *Braz J Infect Dis* 2009;13: 252-256.
- 179.** Takahashi K, Hasegawa Y, Abe T, Yamamoto T, Nakashima K, Imaizumi K, Shimokata K. SLC11A1 (formerly NRAMP1) polymorphisms associated with multidrug-resistant tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)* 2008; 88: 52-7.

6. EKLER

EK-A

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sayın hasta/hasta yakını. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları bölümü olarak Tularemi hastalığında bağışıklıkla ilgili olan bir genetik araştırma yapmaktayız. Bu katıldığınız araştırma bilimsel bir çalışma olup adı “TULAREMİDE INTERFERON GAMA 874 T/A, NRAMP1 INT4 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI”dır.

Çalışmanın amacı Tularemi hastalığında yatkınlığa sebep olabilecek olası genetik farklılıkları tespit etmektir. Bu çalışmada sizin için bir risk ya da zarar söz konusu değildir. Çalışma kapsamında sizden alınacak bir tüp kan numunesi kullanılacaktır. Size bir ödeme yapılmayacaktır, ücret de istenmeyecektir.

Yapılacak bu çalışmanın getireceği olası riskler:

İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Yapılacak bu çalışmanın getireceği olası yararlar:

Hayvanlardan bulaşan ve kişiye göre farklı seyredebilen bu enfeksiyon hastalığının ortaya çıkmasında ve seyrinde farklılıklara sebep olabilecek genetik yatkınlığın tespit edilmesi.

Bu çalışmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır, çalışmada yer almayı reddedebilirsiniz veya herhangi bir aşamada çalışmadan ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir yaptırıma veya sizin yararınıza engel duruma yol açmayacaktır ve tıbbi bakımınızı etkilemeyecektir. Çalışma ile ilgili olarak istediğiniz zaman Dr Hatice ÜDÜRGÜCÜ ile 0532 366 80 87 numaralı telefon ile irtibata geçebilirsiniz.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır, çalışmadan çekilmeniz veya araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda sizinle ilgili tıbbi veriler gerekirse bilimsel amaçlı kullanılabilir. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileri gizli tutulacaktır.

Bu çalışmaya katılmak istediğiniz takdirde formun alt kısmında bulunan gönüllü beyanı kısmına kendi el yazınız ile onayınızı belirtip imzalayınız.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Dr. Hatice Üdürüğü tarafından FTM Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr Hatice Üdürgücü'yü 0532 366 80 87 numaralı telefonda ve FTM Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları servisinden arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu formun bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

İmza

Tel.

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı, soyadı:

Adres:

İmza

Tel.

EK-B TULAREMİ TAKİP FORMU

HASTA BİLGİLERİ			
Adı – Soyadı:		Yaşı:	Cinsiyet: E () K ()
Adres (yaşadığı yer): Mahalle:		Telefonu:	
Köy:			
İlçe:			
İl:			
Halen yürüttüğü iş/meslek:			
HASTANIN ŞİKAYETLERİ			
İlk şikâyet (kendi ifadesiyle):			Başlangıç tarihi:
Boğaz ağrısı:	Var () Yok ()	Halsizlik	Var () Yok ()
Yüksek ateş:	Var () Yok ()	Kas ve eklem (adale)	Var () Yok ()
Üşüme – titreme	Var () Yok ()		
Lenf bezinde büyüme - ağrı	Var ()	Yok ()	
Lenfadenopati bölgesi ve özellikleri:			
Baş ağrısı	Var () Yok ()	Öksürük:	Var () Yok ()
Gözde şişme, kızarma	Var () Yok ()	Balgam:	Var () Yok ()
Ciltte ülser-yara	Var () Yok ()	Diğer	
Yeri ve özellikleri:			
Ciltte döküntü – eritem	Var ()	Yok ()	
yeri ve özellikleri:			
Mukozada lezyon	Var ()	Yok ()	
Yeri ve özellikleri:			
Hane dışında benzer hastalık	Var () Yok ()	Mahallede / köyde benzer hastalık	Var () Yok ()
EPİDEMİYOLOJİK HİKAYE			
Kullandığı su kaynağı/kaynakları	Şebeke () Pınar () Dere () Diğer:		
İçme suyu klorlanıyor mu?	Evet () Hayır ()		
Göl ve/veya dere suyuyla temas (yüzme, temas)	Var () Yok ()		
Kırsal bölgede yaşama	Evet () Hayır ()		
Çiğ sebze tüketimi	Evet () Hayır ()		
Hayvan besleme (Evde/ Ahırda / Bahçede	Var () Yok ()		
Av hayvanıyla temas (yeme, kesme, yıkama... vb)	Var () Yok ()		
Ev çevresinde fare, tavşan, kemirici varlığı (ölü veya yaş)	Var () Yok ()		
Çevrede kemirici hayvan veya dışkısı ile temas etme	Var () Yok ()		
Çevrede kene varlığı	Var () Yok ()		
Böcek ısırığı (kene, sivrisinek...)	Var () Yok ()		
Seyahat öyküsü ve doğada aktivite (spor, piknik, avlanma...)	Var () Yok ()		

FİZİK MUAYENE	
Ateş	
Tonsillit / farenjit	Var () Yok ()
Oral mukoza lezyonu	Var () Yok ()
Lenfadenopati	Var () Yok ()
Konjonktivit	Var () Yok ()
Cilt lezyonu	Var () Yok ()
Yeri ve özellikleri:	
Splenomegali	Var () Yok ()
Hepatomegali	Var () Yok ()
Tularemi formu	<ul style="list-style-type: none"> Ülseroglandüler tularemi () Glandüler tularemia () Oküloglandüler tularemia () Faringeal (orofaringeal) tularemia () Tifoidal tularemia () Pnömonik tularemia ()
DAHA ÖNCE ALDIĞI TANILAR	
	1- 2- 3-
Antibiyotik tedavisi aldı mı?	Evet () Hayır ()
Antibiyotikten yarar	Gördü () Görmedi ()
Boyundaki kitle	Kayboldu () Küçüldü () Aynı boyutta () Büyüdü ()
Yeni kitle ortaya çıktı mı?	Evet () Hayır ()
Kitle süpüre oldu mu?	Evet () Hayır ()
Kitle direne oldu mu?	Evet () Hayır ()
	Spontan () Cerrahi ()
Patolojik inceleme yapıldı mı? Sonuç:	Evet () Hayır ()
Mikroskopik inceleme yapıldı mı? Sonuç:	Evet () Hayır ()
LABORATUVAR BULGULARI	
Mikro-aglütinasyon titresi:	
Tularemi PCR	Yap () Yapılmadı ()
Tularemi kültürü	Yap () Yapılmadı ()
Radyolojik inceleme	Yap () Yapılmadı ()
Patolojik inceleme	Yap () Yapılmadı ()
ÖNERİLEN TEDAVİ	
STREPTOMİSİN ()	GENTAMİSİN () DİĞER () DOKSİSİKİLİN()

7. ÖZGEÇMİŞ

24 Nisan 1985 de Kahramanmaraş'ta doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimimi Kahramanmaraş'ta tamamladıktan sonra 2009 yılında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 2012 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavını kazanarak 4.12.2012 de Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nde araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Yabancı dilim İngilizce, evli ve iki çocuk annesiyim.

