

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GÜVERCİN DIŞKILARINDA *CHLAMYDOPHILA PSITTACI* VARLIĞININ  
PCR METODU İLE ARAŞTIRILMASI**

**Özlem ALTINTAŞ**

**VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**DOKTORA TEZİ**

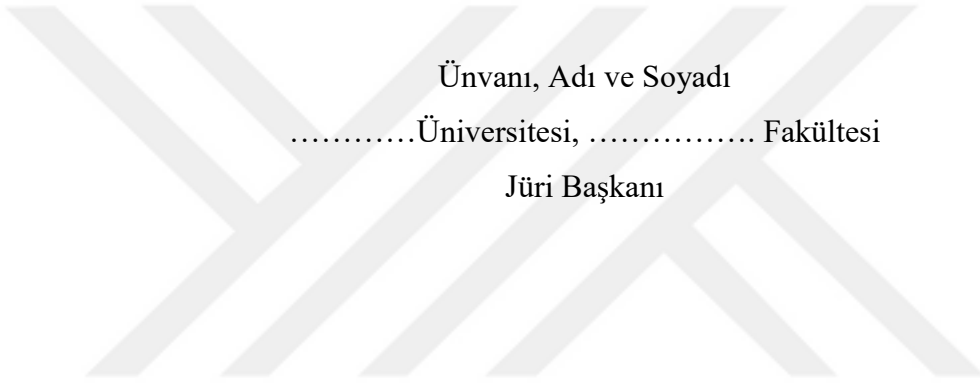
**DANIŞMAN  
Doç.Dr. Nilgün ÜNAL**

**2018 – KIRIKKALE**

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Mikrobiyoloji Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04/09/2018



Ünvanı, Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi, ..... Fakültesi

Jüri Başkanı

Ünvanı, Adı ve Soyadı

...Üniversitesi, ... Fakültesi

Üye

Ünvanı, Adı ve Soyadı

...Üniversitesi, ... Fakültesi

Üye

Ünvanı, Adı ve Soyadı

...Üniversitesi, ... Fakültesi

Üye

Ünvanı, Adı ve Soyadı

...Üniversitesi, ... Fakültesi

Üye

# İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Kısaltmalar	vi
Şekiller	vii
Çizelgeler	viii
<b>ÖZET</b>	1
<b>SUMMARY</b>	2
<b>1. GİRİŞ</b>	3
1.1. Avian Chlamydiosis	4
1.1.1. Tarihçe	5
1.1.2. Terminoloji	6
1.1.3. Etiyoloji	6
1.1.4. Epidemiyoloji ve Bulaşma	8
1.1.5. Semptomlar	10
1.1.6. Tanı	12
1.1.6.1. İzolasyon-İdentifikasyon	13
1.1.6.2. Serolojik Testler	15
1.1.7. Sağaltım	17
1.1.8. Koruma ve Kontrol	18
1.1.9. Hastalığın Dünyadaki ve Ülkemizdeki Durumu	20
1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	21
1.3. DNA Dizi Analizi	23
<b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	25
2.1. Gereç	25
2.1.1. Örneklerin Toplanması	25
2.2. Yöntem	26
2.2.1. Dışkı Örneklerinden Genomik DNA Ekstraksiyonu	26
2.2.2. PCR Amplifikasyonu	28
2.2.3. DNA Dizi Analizi	29

3. BULGULAR	31
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	52



## ÖNSÖZ

Günümüzde güvercin yetiştiriciliği halk elinde özellikle hobi amacıyla oldukça yaygın olarak yapılmaktadır ve yetiştiriciler bu hayvanlarla yakın bir ilişki içinde yaşamakta ve günlük olarak en az birkaç saatlerini bu hayvanlarla iç içe geçirmektedirler. Özellikle insan psikolojisi için olumlu katkıları olan böyle bir hobinin, sağlık açısından risklerinin de bulunduğu unutulmamalıdır. Güvercinlerde her zaman şiddetli bir hastalık yapmamasına rağmen, özellikle immun sistemi baskılanmış insanlara bulaşarak şiddetli hastalık yapma potansiyeline sahip olmasından dolayı *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*), halk sağlığı açısından önem arz eder. Ayrıca, son yıllarda, gerek dünyada gerekse ülkemizde halk sağlığına yönelik çalışmaların önemi artmıştır. Sunulan bu tez çalışması kapsamında; Ankara ve ilçelerinde yetiştiricilik yapan hayvan sahipleri ile temasa geçilerek, 2 farklı mevsimde güvercin kümeslerinden örneklemeler yapılması ve bu örneklerden PCR ile *C. psittaci* etkeni varlığı (*ompA* geni) ve *ompA* geninin dizi analizi ile de genotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Doktora eğitimim boyunca değerli yardım ve ilgilerini esirgemeyen başta Danışmanım Sayın Doç.Dr. Nilgün ÜNAL olmak üzere; Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Murat YILDIRIM'a, Tez İzleme Komitesinde yer alan İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Serkal GAZYAĞCI'ya, Doktora eğitimimde emeği geçen Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Kürşat AZKUR'a, tez çalışmamın laboratuvar analizleri aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç.Dr. Zafer CANTEKİN, Sayın Doç.Dr. Alper KARAGÖZ ve Sayın Dr.Öğr.Üyesi Nadir KOÇAK'a, ayrıca eğitimim aşamasında desteklerini esirgemeyen Annem, Eşim ve Çocuklarıma teşekkür ederim.

## SİMGELER ve KISALTMALAR

AGİD	Agar Jel İmmun Diffüzyon Testi
BGM	Buffalo Green Monkey
dNTP	Deoksinükleotid
EBA	Epidermolysis Bullosa Acquisita
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
İİFAT	İndirekt İmmun Floresans Antikor Testi
KFT	Komplement Fikzasyon Testi
LAT	Lateks Aglutinasyon Testi
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum Diklorid
MLST	Multi Locus Sequence Typing Yöntemi
MOMP	Major Outer Membran Protein
NCBI	National Center for Biotechnology Information
OIE	World Organisation for Animal Health (Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü)
<i>ompA</i>	Outer Membran Protein A Geni
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TBE	Tris-borikasit-EDTA

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1.1.</b> <i>Chlamydia</i> gelişim döngüsü.	7
<b>Şekil 3.1.</b> Ankara'nın ilçeleri.	31
<b>Şekil 3.2.</b> PCR amplifikasyon ürünleri.	32
<b>Şekil 3.3.</b> 13 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.	33
<b>Şekil 3.4.</b> 62 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.	33
<b>Şekil 3.5.</b> 63 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.	34
<b>Şekil 3.6.</b> 64 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.	35
<b>Şekil 3.7.</b> 65 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.	35
<b>Şekil 3.8.</b> 76 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.	36
<b>Şekil 3.9.</b> DNA dizi analiz sonucu yapılan dendogram (Filogenetik Analiz).	37

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 1.1.</b> Önemli Chlamydial infeksiyonlar.	10
<b>Çizelge 1.2.</b> PCR tekniğinin avantaj ve dezavantajları	22
<b>Çizelge 2.1.</b> Toplanan örneklerin ilçelere göre dağılımı.	25
<b>Çizelge 3.1.</b> Çalışılan örneklere göre pozitif ve negatifliklerin dağılımı.	31





## ÖZET

### Güvercin Dışkılarında *Chlamydia Psittaci* Varlığının PCR Metodu ile Araştırılması

Kanatlı Klamidiyozis'i; evcil ve yabani kuşlarda görülebilen, oldukça bulaşıcı, sistemik karakterde, zoonoz bir hastalıktır. Hastalık etkeni *Chlamydia psittaci*'dir. Etken; zoonoz bir karakter taşıdığı için, halk sağlığı yönüyle de önem arz eder. Gerçekleştirilen bu tez çalışması ile Ankara ve ilçelerinde aile yetiştiriciliği tarzında yetiştirilen kuşhanelerden toplanan 100 adet evcil güvercin dışkı örneğinde PCR ile *C. psittaci* etkeni varlığının (*ompA* geni) 2 farklı mevsimde araştırılması ve *ompA* geninin dizi analizi ile genotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda bu 100 örnekten 6 örnekte (%6) *C. psittaci ompA* geni pozitif olarak bulunmuştur. Bu pozitif örneklerin 2'si Bala (1'i Aralık-Mart/kış, 1'i Haziran-Ağustos/yaz dönemi numunesi), 2'si Haymana (1'i Aralık-Mart/kış, 1'i Haziran-Ağustos/yaz dönemi numunesi), 2'si Gölbaşı (1'i Aralık-Mart/kış, 1'i Haziran-Ağustos/yaz dönemi numunesi) ilçelerinden olmak üzere aynı kuşhanelerden farklı mevsimlerde izole edilmiştir. Ayrıca izole edilen örneklerin Dünya veri bankası ile yapılan sekans analizleri karşılaştırıldığında; bütün izolatların % 100 genotip B, % 99 oranında da genotip E ile uyumlu olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** *Chlamydia psittaci*, Dışkı, Güvercin, *ompA*, PCR.

## SUMMARY

### **The Assets of *Chlamydophila Psittaci* in Pigeon Feces Investigate by PCR Method**

Avian Chlamydiosis, is a highly contagious, systemic zoonotic disease occurring in domestic animals and wild birds; where *Chlamydia psittaci* is the main agent. As this agent has a zoonotic character, it is also important for public health perspective. With this thesis study, it was aimed to investigate the presence of *C. psittaci*, from 100 domestic pigeon fecal samples collected from family breeding structured aviaries in Ankara and around regions in 2 different seasons, were determined using PCR (*ompA* gene) and determine genotypes by sequence analysis of *ompA* gene. In the result of study, *C. psittaci ompA* was found to be positive in 6 samples (6%) of these 100 samples. Among these positive samples, 2 were from Bala (1 sample from December- March/winter, 1 sample from June-August/summer), 2 from Haymana (1 sample from December- March/winter, 1 sample from June-August/summer) and 2 were from Gölbaşı (1 sample from December- March/winter, 1 sample from June-August/summer); where the same agent was isolated in the same aviaries in different seasons. In addition when the sequence analysis of the isolated samples with the World database is compared; all isolates were found to be 100% genotype B and 99% genotype E.

**Keywords:** *Chlamydia psittaci*, Feces, *OmpA*, PCR, Pigeon.

## 1. GİRİŞ

Kanatlı Klamidiyozis'i; hem evcil hem de yabani kuşlarda görülebilen, oldukça bulaşıcı, sistemik ve zoonoz bir hastalıktır. Hastalık etkeni *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*)'dir. Etken zoonoz bir karakter taşıdığı için, halk sağlığı yönüyle de önem taşır. Chlamydia etkenlerine bağlı olarak memelilerde ve kuşlarda gelişen hastalıkların isimlendirilmesi zaman içerisinde değişikliklere uğramıştır. Parrot disease, parrot fever, psittacosis, pseudotiphosa, chlamydiosis, chlamyphilosis ve ornithosis bu isimlendirmelerden bazılarıdır. Bu tanımlar içerisinde yer alan "Psittacosis" psittacine kuşlar (papağan, muhabbet kuşu) ile insanlarda görülebilen hastalığı tanımlarken; "Ornithosis" ise psittacine sınıfında yer almayan (serçe, güvercin, evcil kanatlılar gibi) kuşlarda görülen hastalığı tanımlar. Günümüzde genellikle "avian chlamydiosis" terimi kanatlılarda görülen hastalığı tanımlamada tercih edilirken; "psittacosis" terimi ise insanlar ve psittacin kuşlarda görülen hastalığı tanımlamak için tercih edilir (Everet ve Andersen 1999, Bodetti ve ark. 2002, Kaleta ve Taday 2003, Aydın ve ark. 2006, Condon ve Oakey 2007, Özbey ve ark. 2008, Dickx ve ark. 2010, Baş ve Dinç 2015, Agunos ve ark. 2016, Guo ve ark. 2016, CFSPH 2017, Wannaratana ve ark. 2017).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR); virüs, bakteri, fungus, parazit ve protozoon gibi etkenlerin nükleik asit zincirlerinin, laboratuvar ortamında belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir (Sayada ve ark. 1995, Arı 2008, Çetinkaya ve Ayhan 2012, Alp 2018, Özekinci 2018, Uyar 2018). Yöntemin basit ve hızlı olması, kolaylıkla standardize edilebilmesi, spesifik ve sensitif olması, kısa sürede sonuç alınabilmesi, tek seferde birden fazla numune işlenebilmesi gibi yönleriyle geleneksel yöntemlere göre daha avantajlı ve ideal bir yöntemdir (Hewinson ve ark. 1997, Laroucau ve ark. 2007). Ayrıca; PCR yönteminde canlı mikroorganizmalara ihtiyaç duyulmaması; analizleri gerçekleştiren personel için, yumurta veya hücre kullanılan kültür yöntemine nazaran daha az risk oluşturur (Özbal 1999). Günümüzde Chlamydial kökenli nükleik asitlerin saptanmasında PCR yönteminin tercih edildiği pek çok çalışma mevcuttur (Messmer ve ark. 1997, Laroucau ve ark. 2001, Von Bomhard ve ark. 2003, Baş ve Dinç 2015, Cechova ve ark. 2016, Ornelas-

Eusebio ve ark. 2016, Razmyar ve ark. 2016, Wannaratana ve ark. 2017). *C. psittaci* etkeninin belirlenmesi için Multi Locus Sequence Typing (MLST) yöntemi kullanılarak *enoA*, *fumC*, *gatA*, *gidA*, *hemN*, *hflX*, *ompA* olarak bilinen 7 housekeeping gen bölgesinin parsiyel sekansı yapılabilmektedir (Van Loock ve ark. 2005).

### 1.1. Avian Chlamydiosis

Chlamydiales takımının sınıflandırılması; moleküler tekniklerin de ilerlemesine paralel olarak, dönem dönem gözden geçirilmiş ve Chlamydiaceae, Parachlamydiaceae, Waddliaceae ve Simkaniaceae diye isimlendirilen 4 familyaya bölünmüştür (Kılıç ve Doğancı 2003, Özbey ve ark. 2008, Dickx ve ark. 2010, Markey ve ark. 2013). Bu familyalar içerisinde yer alan Chlamydiaceae familyası; 16S ve 23S rRNA genleri üzerinde yapılan sekans analizleri esas alınarak; önce, *Chlamyphila* ve *Chlamydia* cinsleri içerisinde yer alan 9 tür olacak şekilde sınıflandırılmıştır (Zweifel ve ark. 2009, Madani ve ark. 2011).

Bu sınıflandırma 2015 yılında revize edilmiş ve tek cins (*Chlamydia*) içerisinde, toplamda 11 tür olacak şekilde güncellenmiştir (Sachse ve ark. 2015, OIE 2018). Bu türler; *C. trachomatis* (insanlarda), *C. suis* (domuzlarda), *C. muridarum* (hamster ve farelerde), *C. psittaci* (kanatlılarda), *C. felis* (kedilerde), *C. abortus* (sığır, koyun ve keçilerde), *C. caviae* (kobaylarda), *C. pecorum* (sığır ve koyunlarda), *C. pneumonia* (insanlarda) ve kanatlı hayvanlardan son olarak izole edilen iki tür *C. avium* ile *C. gallinacea*'dır (Sachse ve ark. 2015, OIE 2018).

Bu organizmalar yüksek oranda konakçı spesifik olsalar da; *C. pneumonia* ve *C. psittaci*'nin daha geniş bir konak aralığı vardır. Bu türlerin sadece kuşlarda ve insanlarda değil, aynı zamanda sığır, koyun, domuz, at ve diğer hayvanlarda da hastalık yapabildiği belirtilmiştir (OIE 2018).

*C. psittaci*; hem evcil hem de yabani kanatlı hayvanlarda görülebilen, bulaşıcı, sistemik bir enfeksiyona yol açan ve aynı zamanda da zoonotik karakterde bir etkidir (Kılıç ve Doğancı 2003, Dickx ve ark. 2010, OIE 2018). İnsanlarda ve psittacine grubunda yer alan kuşlarda (papağan ve muhabbet kuşu) etkenin sebep olduğu hastalığa “Psittakoz” ismi verilirken; bu grupta yer almayanlarda görülen hastalığa da “Ornithoz” ismi verilir. Son zamanlarda etken adına bağlı yapılan isimlendirmelerde; hastalığa “Klamidiyoz” ismi de verilebilirken, papağanlarda görülen hastalığa da “Parrot fever = Papağan ateşi” ismi verilebilmektedir (Arda 2008, Madani ve ark. 2011, Baş ve Dinç 2015).

### **1.1.1. Tarihçe**

Kanatlı Klamidiyozis'i ilk kez Juergensen tarafından 1874 yılında tanımlanmış ve Morange tarafından da 1895 yılında “Psittakozis” olarak adlandırılmıştır (Grimes 1985, Kapakin ve ark. 2008). Andersen ve ark. (1997) tarafından 1942 yılında yapılan bir çalışma ile hindi ve ördeklerin doğal olarak enfekte olabileceği belirtilmiş ve etkenin hindilerden ilk izolasyonunun da 1951 yılında yapıldığı bildirilmiştir (Kapakin ve ark. 2008). Etken broilerler de ise ilk kez Barr ve ark. (1986) tarafından izole edilmiştir.

İnsanlarda ise enfeksiyon ilk kez İsviçre’de 1879 yılında görülmüş ve hastalığın insanlara, papağanlardan bulaştığı 1894 yılında kesinlik kazanmıştır. Hastalık insanlarda; özellikle kanatlı hayvan yetiştiricileri ve hayvan satıcıları ile veteriner hekimler gibi, kanatlı hayvanlarla temasta yüksek riske sahip olanlarda görülür. Enfeksiyonda mortalite %10-30, morbidite ise %50-80 arasında değişir. Etkenin biyolojik silahlar arasında yer alması, hastalığın önemini daha da artırmıştır (Huminer ve ark. 1992, Özbal 1999, Saito ve ark. 2005, Kılıç 2006, Baş ve Dinç 2015).

### 1.1.2. Terminoloji

Şimdiye kadar Chlamydia türleri için değişik isimlendirmeler yapılmış ve kullanılmıştır. İsimlendirmede yapılan bu değişikliklerin nedeni; etkenin kesin bir mikrobiyal doğasının bulunmaması veya belirsizliği, morfolojik yapısı, replikasyon şekli ve etkenin saptanması ile tanıya edilmesi için kullanılan yöntemlerdeki gelişmelerdir (West 2011).

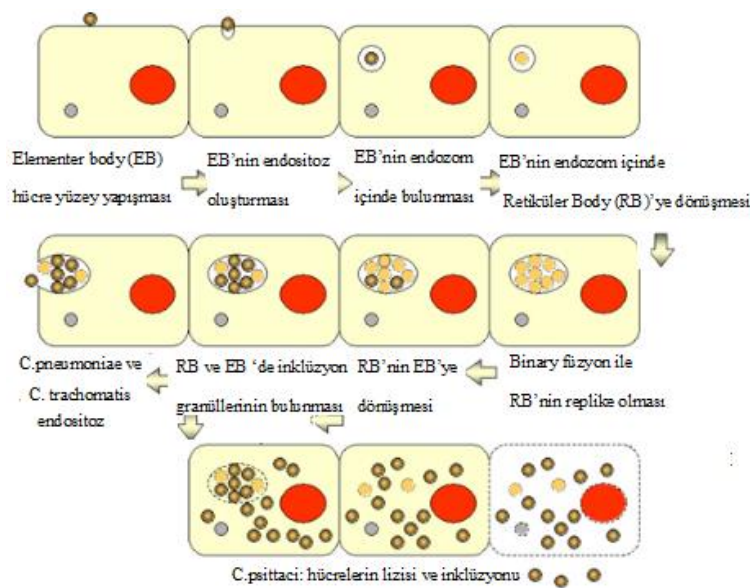
Aşağıda Chlamydia için zaman içerisinde kullanılmış olan terimler verilmiştir (Özbey ve ark. 2008, Sachse ve ark., 2015, OIE 2018):

- *Miyagawanella psittaci* (Miyagawa ve ark. 1935).
- Bedsonia (Meyer 1965).
- Psittacosis-Lymphogranuloma-Venerum grup (Page 1966).
- Chlamydozoon, Ehrlichia, Rickettsiaformis ve Rakeia (Kılıç ve Doğanç 2003).
- Levinthal-Coles-Lillie (LCL) bodies (Karakuzulu 2003, Çelebi ve Ak 2006, Herrmann ve ark. 2006).
- Psittacosis virus (Heddema ve ark. 2006).
- Rickettsia psittaci (Herrmann ve ark. 2006).
- Chlamydia (Kılıç 2006).
- Psittacosis-Lymphogranuloma-Trachoma grup (Sarıyüoğlu ve ark. 2007).
- Neo-Rickettsia mundi (Özbey ve ark. 2008).
- *Chlamydomphila psittaci* (Zweifel ve ark. 2009).
- *Chlamydia psittaci* (Sachse ve ark., 2015, OIE 2018).

### 1.1.3. Etiyoloji

Günümüzde *Chlamydia psittaci* olarak isimlendirilen etken; zaman içerisinde *Rickettsia psittaci*, *Ehrlichia psittaci*, *Rickettsia formis psittaci*, *Chlamydozoon psittaci*

ve *Chlamydophila psittaci* gibi isimlerle de adlandırılmıştır. Obligat intraselüler özellikte olan etken; Gram negatif, sporsuz, kapsülsüz ve hareketsiz bir bakteridir. Ayrıca Macchiavello ve Giemsa boyama yöntemleri ile boyanarak, etkenin tanısında önemli bir rol oynayan “Levinthal-Cole-Lillie” inklüzyon cisimciklerini de içerir. Etken embriyolu tavuk yumurtası, hücre kültürü ve deney hayvanları gibi canlı sistemlerde üretilir (Arda 2008, Baş ve Dinç 2015). Üremesi için canlı hücrelere ihtiyaç duyması ve bu aşamanın diğer bakteri türlerinden bir nebze farklı olması, izolasyonlarını zorlaştırır. Klamidyalar; bifazik yaşam döngüsüne sahip, zorunlu hücre içi bakterilerdir. Gram negatif bakterilere, üç tabakalı dış membranı ile yapısal olarak benzerlik gösterirler. Chlamydia genomu; peptidoglikan sentezi için sahip olunması gereken tüm genleri içerse de, prokaryot canlılarda ozmotik dengeyi sağlamada görevli olan peptidoglikan içermez. Bunun yerine, Chlamydia cinsi bakterilerin hücre dışı formu olan elementer cisimciklerde (EB), dış membran proteinleri içinde sisteinden zengin proteinler arasında disülfid çapraz bağları vardır. Chlamydia’lar; geçmişte virüs olarak düşünülse de (Kapakin ve ark. 2008); bölünerek çoğalmaları, hem RNA hem de DNA’ya sahip olmaları, sert bir hücre duvarı (Gram negatif bakteriler gibi) bulundurmaları ve antibakteriyel maddelere karşı duyarlı olmaları gibi sebeplerle, bakteriler içerisinde değerlendirilirler (Baş ve Dinç 2015, Kapakin ve ark. 2008, Balsamo ve ark. 2017). Chlamidiyanın gelişim döngüsü Şekil 1.1’de verilmiştir.



Şekil 1.1. Chlamydia gelişim döngüsü (Demirci, 2018).

Chlamydia cinsi bakteriler, infekte ettikleri hücrelerin sitoplazmalarında inklüzyon oluşturarak ürerler. Hücre dışı infekte form olan EB duyarlı konak hücreye bağlanır ve bu bağlanmadan, bakteri yüzey proteinlerinin mi yoksa reseptörlerin mi sorumlu olduğu henüz tam olarak açıklanamamıştır. Bakterinin hücreye girişi reseptöre bağlı endositoz, fagositoz veya pinositoz yoluyla gerçekleşir. Başlangıçta EB yaklaşık olarak 350 nm çapında iken; ilerleyen dönemlerde 800-1000 nm çapında çoğalan formu olan retiküler cisim (RB) dönüşürler. Etkenin EB formu; hücre duvarı sert, piliatsız, az flagellalı ve enfeksiyöz formudur. Silindirik epitel hücrelerine tutunarak, hedefe girişi sağlar. Etkenin RB formu ise; hücre duvarı ince, ortadan bölünerek ayrılan, hücre içi metabolik olarak aktif olmasına rağmen enfektif özelliği bulunmayan formudur. Etkenin her iki formu da bakterilere benzer bir metabolizmaya sahiptir ve yine bakteriler gibi RNA, DNA ile hücre duvarı içerir. Ancak ATP üretme enzimlerinden yoksundurlar. Bu sebeple konakçı hücrede bakteriler ATPaz ve yüksek enerjili fosfat ATP depolarlar. Bu yüzden “enerji paraziti” olarak da bilinirler; ancak, bunlar aynı zamanda aminoasitlere de gereksinim duyarlar (Kapakin ve ark. 2008, Balsamo ve ark. 2017).

#### **1.1.4. Epidemiyoloji ve Bulaşma**

Kanatlı Klamidiyozis'i; hindi, papağan, ördek ve güvercinlerde görülür; ancak etken; birçok yabani - evcil kanatlılar ve kümes hayvanları (muhabbet kuşu, kanarya, kumru, sülün, deniz ve sahil kuşları gibi) ile birlikte memeli hayvanlar ve insanlarda da hastalığa yol açar. Hatta etkenin 500'e yakın kanatlı türünde hastalığa yol açtığı bildirilmiştir. Bu türler içerisinde papağan, muhabbet kuşu, kumru, güvercin, kanarya, ördek, sülün, hindi ve su kuşları *C. psittaci*'nin doğal konakçıları olarak kabul edilir (Baş ve Dinç 2015, Balsamo ve ark. 2017; OIE 2018).

Kanatlı hayvanlarda bulaşma, sindirim ve solunum sistemi yoluyla olur. Bulaşmada fekal-oral bulaşma, kontamine kurumuş fekal tozlar ve havada bulunan mikroplu damlacıklar önemlidir. Özellikle kalabalık yetiştiricilik yapılan kümeslerde, hasta hayvanların tıksırması sonucu havaya bulaşan etken, solunum yolu ile (nefes



alma) sağlıklı hayvanların akciğerlerine kadar ulaşır. Etken, hasta hayvanların özellikle sekret ve ekskretleri ile tüylerinde bulunur. Hasta veya etkeni taşıyan hayvanların klinik olarak hangi periyot aralığında etkeni etrafa yaydıklarına ilişkin yeterli bir bilgi bulunmasa da; bu sürenin aylarca sürebileceği bildirilmiştir. Bunun yanısıra etken, böcek ve sokucu sinekler aracılığında da taşınabilir. Ayrıca bulaşma oranı diğer yollara nazaran daha düşük olsa da; muhabbet kuşu, ördek, kaz ve tavuk gibi hayvanlarda vertikal bulaşmanın da gözlemlendiği bildirilmiştir (Baş ve Dinç 2015, Balsamo ve ark. 2017; OIE 2018).

Özellikle stres (nakil, kalabalık ortamlar, soğuk, hayvanlara kötü muamele gibi), yetersiz beslenme, iyi olmayan bakım koşulları ve immün sistem üzerinde olumsuz etkiye yol açan diğer nedenler hastalığın oluşmasında predispoze faktörlerdir. Ayrıca; sağlıklı hayvanların bulunduğu ortama, sağlık kontrolünden geçirilmeden veya karantina süresine uyulmadan getirilmiş olan hasta hayvanlar da hastalığın yayılmasında önemli rol oynar (Baş ve Dinç 2015, Balsamo ve ark. 2017; OIE 2018).

Etkenin bulaşmasında artropodların rolünün olup-olmadığı henüz tam olarak belli olmamakla birlikte; sokucu artropodlar ve keneler aracılığında hindilerde enfeksiyonun bulaşabileceği bildirilmiştir. Yumurta ile bulaşma olup-olmadığı yönünde yapılan araştırmalarda da; tavuklarda enfeksiyonun bu yolla bulaşabileceği belirtilse de hindilerde bu yönde bir bulguya rastlanılmadığı bildirilmiştir (Kapakin ve ark. 2008).

*C. psittaci*, yabani hayvanlardan pet hayvanlarına veya kümes hayvanlarına geçebilir. Burada özellikle kontamine yem veya ekipman önemli rol oynar. Bu sebeple de özellikle hayvanlara verilen yemlerin, yabani kanatlılardan korunması önem arz eder. Ayrıca etken dışkı ve altlıkta 1 ay canlılığını korur, bu sebeple de ekipmanların özenli bir şekilde temizlenmesi gerekir (Andersen 1991, Andersen 1997, Vanrompay ve ark. 1995, Baş ve Dinç 2015).

Etken, insanlara ya doğrudan temas ile ya da dışkı tozlarının solunması; enfekte hayvanların salgıları aracılığıyla bulaşabilir. Özellikle kafes kuşu yetiştiriciliği yapanlar ve evde kuş besleyenlerde, etken ile kontamine gaita tozlarının inhalasyonu sonucu enfeksiyon şekillenir. Bu nedenle bu tür durumlarda maske kullanılması ve dikkatli olunması gerekir. Aerosol yolla insandan insana bulaşma oldukça nadir görülmekle birlikte; bu tür bulaşma sonucu gelişen vakalarda hastalığın çok daha ağır seyrettiği de bildirilmiştir (Pether 1981, Andersen ve ark. 1997, Dove ve ark. 2000, Raso Tde ve ark. 2002, Baş ve Dinç 2015).

Hastalığın insanlardan hayvanlara bulaşmasına ilişkin bir bilgi henüz bildirilmemiştir (Anon 2002, Özbey ve ark. 2008). Bazı önemli klamidyal enfeksiyonlar Çizelge 1.1’de verilmiştir.

**Çizelge 1.1.** Önemli Chlamydial enfeksiyonlar.

Etken	Canlı Türü	Enfeksiyon Belirtileri
<i>Chlamydia psittaci</i>	Kuş türleri İnsan	Pnömoni, diyare, konjunktivit Psittakoz
<i>Chlamydia abortus</i>	Koyun Sığır Domuz	Abort Abort Abort
<i>Chlamydia pecorum</i>	Koyun Sığır Koala	İntestinal enfeksiyon, konjunktivit Sporadik sığır ensefalomyeliti Ürogenital enfeksiyon
<i>Chlamydia felis</i>	Kedi	Konjunktivit
<i>Chlamydia caviae</i>	Kobay	İnklüzyon konjunktivit
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	İnsan At Kuala	Solunum yolu enfeksiyonu, ateroskleroz Solunum yolu enfeksiyonu Solunum yolu enfeksiyonu
<i>Chlamydia trachomatis</i> (A,B,C,D,K,L)	İnsan	Trahom, infant inklüzyon konjunktivit, infant solunum hastalığı
<i>Chlamydia suis</i>	Domuz	Bağırsak yolu enfeksiyonu
<i>Chlamydia muridatum</i>	Fare	Solunum yolu enfeksiyonu

### 1.1.5. Semptomlar

Hastalık kanatlı hayvanlarda; hayvana (ırkı, yaşı, etkene duyarlılığı gibi), etkene (virulensi, miktarı gibi) ve çevre şartlarına (hijyen, bakım-besleme, kalabalık, stres gibi) göre değişmekle birlikte; herhangi bir semptom göstermeyen olgulardan, kronik belirti gösteren olgulara kadar oldukça değişken bir görünüme sahiptir (Maluping ve ark. 2007, Arda 2008, Kapakin ve ark. 2008, Baş ve Dinç 2015, OIE 2018).

Hastalıkta inkübasyon süresi; hayvanın yaşına, duyarlılığına, etkenin vücuda alınma yoluna, miktarına, virülansına ve çevresel faktörlere bağlı olarak 5 ila 60 gün arasında değişir. Yine hastalıkta görülecek olan klinik belirtiler de enfeksiyonun şiddetine göre değişir (Heddema ve ark. 2006, Kapakin ve ark. 2008, Baş ve Dinç 2015).

Psittacine grubu kanatlılarda; asemptomatikten kroniğe kadar değişen derecelerde belirtiler gözlemlenir. Bu hayvanlarda genellikle mortalite düşüktür. Enfekte hayvanların çoğu herhangi bir klinik belirti göstermeksizin çevreyi kontamine eder ve hastalığın bulaşmasında önemli bir rol oynar (Özbey ve ark. 2008, Baş ve Dinç 2015). Bu tarz subklinik olgularda hayvanlar ancak yoğun stres altında kaldığı hallerde hastalık belirtilerini göstermeye başlar ve bu dönemde etkenin çevreye saçılımı da daha yoğundur (Arda 2008, OIE 2018).

Hastalığın ilerlediği olgularda ise; uyuşukluk, tüylerde kabarma, hipertermi, rinitis, nefes zorluğu, konjunktivit, burun ve göz akıntısı, tüylerde kabarma ve matlaşma, yumurta üretiminde azalma, zayıflama, poliüri ve ishal gözlenir. Ancak bu belirtilerin hepsinin tek bir hayvanda görülmesi mümkün değildir. Hastalıkta nadiren de olsa sinirsel belirtilere bağlı olarak boyunda bükülme ve bacaklarda paraliz hali de görülebilir. Hasta hayvanlar ölümden önce aşırı zayıflamış ve dehidre durumdadırlar ve ölümün solunum ve dolaşım yetmezliğine bağlı olarak geliştiği düşünülür. Nekropside; aşırı zayıflama ve dehidratasyon dikkati çeker. Multifokal karaciğer nekrozu, dalak ve karaciğerde büyüme, miyokarditis, perikardit, peritonit, pnömoni

ve akciğerde ödem gözlemlenebilir; ancak, bu belirtiler patognomik değildir (Arda 2008, Kapakin ve ark. 2008, OIE 2018).

Psittacine grubunda olmayan kanatlılarda ise; göz ve burundan akıntı gelmesi, hareketsizlik, durgunluk, tüylerin kabarması, konjunktivit, iştahsızlık ve buna bağlı olarak zayıflama gibi genel belirtiler görülebildiği gibi; hırıltılı soluma ve soluk almada zorlanma, öksürük, tıksırık, ötmede isteksizlik, ses tonunda değişiklikler, dışkıda ürat kristalleri görülmesi ve yeşilimsi bir ishal gibi özel belirtiler de görülebilir (Tanaka ve ark. 2005, Chahota ve ark. 2006, Zweifel ve ark. 2009). Bu hayvanlarda hastalığın mortalitesi, hastalık şiddetine göre değişkenlik gösterir (Tanaka ve ark. 2005).

Hasta hayvanların nekropsisinde özellikle üst solunum yollarının hastalıktan daha fazla etkilenmiş olduğu dikkati çeker. Burun, soluk borusu, larinks ile bronş mukozaları hiperemiktir. Mukozalar üzerinde mukoid madde birikimi dikkati çeker. Hastalığın şiddetine bağlı olarak akciğerlerde tek veya çift taraflı pnömoni görülebilir (Arda ve ark. 2002, Baş ve Dinç 2015).

İnsanlarda etken, respiratuvar enfeksiyona neden olur ve hastalığın klinik belirtileri oldukça değişkenlik gösterir. Enfeksiyon; hiçbir klinik belirti göstermeksizin seyredebileceği gibi intersitisyel pnömoni ve ensefalitis'e varacak derecede şiddetli bir seviyede de seyredebilir. İnkübasyon süresi 7 ila 21 gün arasında değişir. Hastalığa yakalananlarda ateş, iştahsızlık, halsizlik, üşüme-titrete nöbetleri, öksürük, baş - boğaz ağrısı ve miyalji görülebilir. Vakaların çoğunda bronkopnömoni de gözlemlenir. Hafif seyreden vakalarda hastalık 10 ila 14 gün sürerken; ağır seyreden vakalarda ise hastalık 3 ila 7 hafta sürer. Hastalarda nadiren de olsa miyokardit, perikardit veya tromboembolik belirtiler de görülebilir. Uygun olarak tedavi edilemeyen hastalarda nadiren de olsa ölüm görülebilir. Bu sebeple hastalıkta erken teşhis önem arz eder. Hastalık; bruselloz, tifo, primer atipik pnömoni, tüberküloz ve influenza gibi hastalıklarla da karıştırılabilir (Andersen ve Vanrompay 2003, Kılıç ve Doğancı 2003, Anđ ve ark. 2011, Madani ve ark. 2011, Baş ve Dinç 2015).

### 1.1.6. Tanı

Etken pek çok bakteriyel (Pasteurellosis, Colibasillois, Mycoplasmosis, ORT, Listeriosis, Bordetellosis gibi), mantar (Aspergillozis) ve viral (Newcastle, Avian influenza) enfeksiyona benzer klinik belirti ve nekropsi bulgularına sebep olduğu için; klinik belirtilere ve lezyonlara bakılarak teşhis koymak oldukça zordur. Yine buna paralel şekilde geniş bir konakçı ağına sahip olması, klinik belirtilerdeki çeşitlilik ve enfeksiyon şiddetinin değişkenlik göstermesi; klamidiyozis'i teşhiste güçlüğe yol açar (Özbal 1999).

Hasta kanatlılarda yapılan nekropside; multifokal karaciğer nekrozu, karaciğer ve dalakta büyüme, miyokarditis, perikarditis, sinusitis, enteritis, solunum sistemi mukozalarında hiperemi ve mukoid madde birikimi, hava keselerinde yangı, akciğerde ödem, tek veya çift taraflı pnömoni ve peritonitis şekillendiği bildirilmiştir (Arda ve ark. 2002, Beeckman ve Vanrompay 2009, Baş ve Dinç 2015, OIE 2018).

OIE'ye verilerine göre avian klamidiyozis tanısında; hastalıkta görülen tipik klinik bulgularla birlikte etkenin de izolasyon ve identifikasyonunun yapılması ya da dokularda etkenin varlığının saptanması veya etkene spesifik antikor sayısında 4 kat artışın saptanması gerekir. Hastalığın teşhisinde klinik ve nekropsi bulgularının yetersiz kalması sebebiyle teşhis için laboratuvar muayenelerine ihtiyaç duyulur. Bunun için; hastalardan larinks ve trakeal svaplar, burun ve sinüs akıntıları ile kan numunesi alınabilir. Svap ve akıntılardan hazırlanan preparatlar, Giemsa veya Stamp boyama yöntemi ile boyanır. Stamp boyamada; boyutu çok küçük, pembe renkli etkenler preparat üzerinde aranmalıdır. Giemsa boyamada ise; mavi renkli etkenler, hücre içinde veya dışında aranmalıdır (Storz ve Krauss 1985, Arda 2008, OIE 2012). Yine alınan materyallerden hazırlanmış olan inokulumların, deney hayvanlarına (farelerde intranazal, genç kobaylarda ise intraperitoneal yolla) enjekte edilmesi ve/veya inokulumların embriyolu tavuk yumurtasına (6-7 günlük) ekim yapılması ile etkenin izolasyonu gerçekleştirilebilir. Her ne kadar etken izolasyonu geçerli bir yöntem olsa dahi izolasyon işleminden başarılı bir sonuç alınması oldukça zordur.

Bu sebeple; böyle durumlarda sonuçların olumsuz çıkması, hayvanlarda psittakoz varlığının olmadığı anlamına gelmez (Madani ve ark. 2011, Baş ve Dinç 2015).

#### 1.1.6.1. İzolasyon-İdentifikasyon

Hastalık belirtilerine bağlı olarak, aseptik şartlarda kültür örnekleri alınmalıdır. Olası bir kontaminasyon durumunda Chlamydia'nın izolasyonu sağlanamaz. Akut olgularda; kan, oküler ve nasal eksudat, akciğer, böbrek, dalak, perikardium, karaciğer ve organ içerisindeki lezyonlu bölgelerden veya etrafındaki fibrinöz eksudattan örnek alınabilir. İshal görülen olgularda kolon içeriği veya dışkı numunesinden kültür yapılmalıdır. Canlı hayvandan örnek alınması gerektiği hallerde ise; faringiyal, nazal ve kloakal svap, dışkı ve konjunktival kazıntı tercih edilmelidir. Dışkıdan örnek alınacağı durumlarda; etkenin aralıklarla saçıldığı unutulmamalı ve buna göre 3-5 gün aralıklarla dışkı veya kloakal svap örneği alınmalıdır (OIE 2012).

Örneklerin taşınması ve muhafaza edilmesi esnasında etkenin infektivitesini kaybetmemesi için mutlaka uygun bir transport besiyeri kullanılmalıdır. Chlamydial örneklerin taşınmasında süzkroz (74.6 g/l) /fosfat (0.512 g/l) /glutamat (1.237 g/l) (SFG) içeren özel bir ortam kullanılır. Kontamine örnekler, hayvanlar veya hücre kültürüne geçmek için kullanılmadan önce ön işlemden geçirilmelidir. Numuneler PBS (pH:7.2) içerisinde homojenize edilmelidir. Ayrıca numunelerde oluşabilecek bakteriyel ve mantar kontaminasyonuna karşı; Chlamydiostatik etki göstermeyen antibiyotikler (streptomisin 1 mg/ml, vankomisin 1 mg/ml, gentamisin 200 µg/ml) ile mikostatikler (nistatin) de kullanılabilir. Etken obligat intraselüler bir bakteridir. Bu sebeple de laboratuvar hayvanı, embriyolu tavuk yumurtası ve doku kültürü gibi canlı besi ortamlarında üretilir (OIE 2012).

**Hücre Kültürü:** Klamidyaların izolasyonu amacıyla sık kullanılan metotlardan birisidir. Bu amaçla; African green monkey kidney (Vero), McCoy, L hücreleri,

Buffalo green monkey (BGM) ve HeLa gibi hücre kültürleri kullanılarak, klamidyal inklüzyonlar tespit edilebilir (Kanakin ve ark. 2008, OIE 2012).

**Embriyolu Tavuk Yumurtası:** Klamidyalardan izolasyonu için 6-7 günlük spesifik patojen free tavuk embriyolarına inokulasyon yapılabilir (Kanakin ve ark. 2008).

**Histokimyasal Boyama:** Ziehl-Neelsen, Gimenez, Casteneda, Giemsa, Macchiavello gibi histokimyasal boyama teknikleri yardımıyla dalak ve karaciğerden alınan smear örneklerinde intrasellüler klamidyal etkenler görülebilir (Kanakin ve ark. 2008).

**İmmuno-histokimyasal Boyama:** Histolojik kesitlerde yapılan immuno-histokimyasal boyama ve Restriction Fragment Length Polymorphism iki yeni teknik olarak kabul görür ve gelecek için oldukça ümit vericidir. Her iki teknikte canlı etkene gerek duymaz ve oldukça hızlıdır. Son zamanlardaki gelişmeler ve otomatik boyama ekipmanlarına bağlı olarak, histolojik kesitlerde yapılan immunohistokimyasal boyama tekniğinin kullanılmasında da bir artış olmuştur (OIE 2012). Bu yöntemde bazı mantar ve bakterilerin çapraz reaksiyon verebilecekleri de unutulmamalıdır (Kapakin ve ark. 2008).

Etkenin EB formununun, elektron mikroskobu ile konakçı hücre membran mikrovilluslarından içeriye girişi de görüntülenebilir (Kapakin ve ark. 2008).

#### **1.1.6.2. Serolojik Testler**

Hastalığın tanısı için etken izolasyonu en iyi yöntem olsa da; yöntemin uzun sürmesi, izolasyon için gerekli ekipmanları ihtiva eden bir laboratuvara gereksinim duyulması, metodu gerçekleştirebilecek düzeyde yeterli deneyime ve bilgiye sahip teknik elemana ihtiyaç olması ve alınan örneklerin doğru bir şekilde laboratuvara

ulaştırılması gerekliliği yöntemin dezavantajları olarak değerlendirilir. Bu sebeple de teşhis laboratuvarlarında rutin olarak etkenin izolasyonuna gidilmesi yöntemi pek tercih edilmez (OIE 2012).

Alınan kan numunelerinden hazırlanan serumlarda serolojik yöntemlerle etkene karşı gelişen spesifik antikorların ELISA gibi duyarlı serolojik testlerle belirlenebilir. Yine aynı yöntem kullanılarak veya indirekt immun floresans antikor testi (IIFAT) ile dokularda etkene ait spesifik antijenler saptanabilir. Yeterli miktarda kan örneği alınabilirse; agar jel immun diffüzyon testi (AGID), komplement fikzasyon testi (KFT) ve lateks aglutinasyon testi (LAT) de teşhiste kullanılabilir. Son yıllarda moleküler yöntemlerin de devreye girmesiyle teşhiste daha etkili sonuçlar da alınmaya başlanmıştır (Karakuzulu 2003, Arda 2008, West 2011, Baş ve Dinç 2015, OIE 2018). Serolojik tanıda serum örneklerinde antikor titresindeki 4 kat artış baz alınır (OIE 2012, Reinhold 2018).

*C. psittaci*, virulansının yüksek olması ve olası laboratuvar kazası esnasında kolaylıkla çevreyi de kontamine edebileceği için; biyogüvenlik 3 düzeyinde, özel ekipmanlı laboratuvarlarda çalışılmalıdır. Son yıllarda moleküler teknikler daha fazla kullanıma girmiş ve özellikle de multiple nested PCR ile gerçekleştirilen *ompA* (outer membran protein) saptama testi rutin analizlerde tercih edilmeye başlanmıştır. Ayrıca; ayrıntılı genotipik incelemelerde, sekans analizi, microarray ve kantitatif Real Time PCR metodları da tercih edilir (Özbal 1999, Raso Tde 2002, Karakuzulu 2003).

KFT, *C. psittaci* için serolojik teşhis amacıyla kullanılan standart test olarak kabul edilir. Bu testin amacı etkene karşı gelişen antikorların tespit edilmesidir. Hastalığın tanısında, KFT sonucu saptanan yüksek antikor titresini ile klinik bulgular aktif infeksiyonun göstergesidir. Her hayvan için bireysel olarak yapılan değerlendirmede numunedeki titrede görülebilecek 4 kat artış, mevcut infeksiyonun göstergesi olarak kabul edilir. Serolojik teşhiste, ELISA, AGID, LAT, Epidermolysis Bullosa Acquisita (EBA) ve Mikro Immun Floresan Test (MIFT) gibi yöntemler geliştirilmiş olsa da; bu testlerin spesifiteleri yeterince değerlendirilmemiştir (OIE



2012, Baş ve Dinç 2015, OIE 2018, Reinhold 2018). LAT testi; yapılması hızlı ve kolay olmakla birlikte *C. psittaci*'ye karşı gelişen antikorları saptar. ELISA testi; hali hazırda devam etmekte olan enfeksiyonları saptar yani sadece IgM tespit edebilir. MIFT testinde mikropate üzerinde Major Outer Membran Protein (MOMP) antijenine özgü fluorescense boyalı antikorun bağlantısının görülmesine dayanır. Bu testin yapılması kolay ve hızlı olsa da; türe özgü antiserumları temin etmek her zaman mümkün olamayabilir. Yöntem daha ziyade, akut *C. pneumoniae* enfeksiyonunun tanısında tercih edilir (OIE 2012, OIE 2018).

**İzolatların Serolojik Tiplendirilmesi:** *C. psittaci* türlerinde, serotip-spesifik monoklonal antikorlar kullanılarak ve ana dış zar proteinini kodlayan *ompA* genine dayanan, 7'si kanatlılarda (A-F ve E/B) ve 2'si de memelilerde (sığırlarda WC, kemiricilerde M56) olmak üzere toplamda dokuz farklı serotip/genotip tespit edilmiştir (Andersen 1991, Andersen 1998, Zweifel ve ark. 2009, OIE 2018). Memelilerde tespit edilen WC ve M56 genotiplerinin izolasyonu tek bir salgından gerçekleştirilmiştir (Timms 1993).

Kanatlılarda görülen genotipler içerisinde ilk 5'i (A-E) daha yaygındır. Kanatlı hayvanlarda tespit edilen genotiplerin ilişkili olduğu türler ise; A (psittacine sınıfı); B (güvercin); C (kaz, ördek); D (hindi); E (ratites, ördek ve güvercin), E/B (hindi, ördek ve güvercin) ve F (muhabbet kuşları) şeklindedir. Özellikle, A, B ve E/B genotipleri, zoonotik bulaşma vakalarından izole edilen izolatlarda belirlenmiştir. Günümüzde daha heterojen genotiplerin üçü için alt gruplar (A-VS1, A-6BC, A-8455, EB-E30, EB-859, EB-KKCP, D-NJ1, D-9N) ve geçici genotipler de tanımlanmaya başlamıştır (Timms 1993, Madani ve ark. 2011, OIE 2018).

### 1.1.7. Sağaltım

Tedavide genellikle geniş spektrumlu antibiyotikler kullanılır ve kullanılacak ilaç seçimi de hastalığın görüldüğü ülkeye göre değişir (Madani ve ark. 2011). Tedavide

karşılaşılan en önemli problem hastalığın nüks etmesidir (Arda ve ark. 2002). Hastalık görülen kümeslerde hastalığa yakalanan kanatlılar mutlaka ayrı bir kafese alınmalı ve bu hayvanların bakım-beslenmesine dikkat edilmelidir. Bakıcılar, özellikle hasta hayvanların bulundurulduğu ortamlarda mutlaka koruyucu kıyafetlerini (maske, tulum, eldiven, başlık) giymelidirler (Madani ve ark. 2011).

Hastalığın tedavisinde tetrasiklinler, kinolonlar (enrofloksasin) ya da makrolidler (azitromisin) tercih edilir (Anon 2002, Kapakin ve ark. 2008, OIE 2018). Enrofloksasin bu amaçla yeme 250-1000 ppm miktarda katılarak kullanılabilir (Gerlach 1999). Bu uygulamanın 45 gün gibi uzun bir süre devam ettirilmesi tavsiye edilir (Vanrompay ve ark. 1995, Johnston ve ark. 1999, OIE 2018). Doksisisilin de hem yeme katılarak (1000 mg/kg) hem de enjeksiyon yolu ile kullanılabilir. Yine hayvan türü ve çevresel şartlara bağlı olarak 200-800 mg/litre dozunda doksisisiklin içme suyuna katılarak da kullanılabilir. Doksisisiklinin suda daha stabil olması ve ilacın bu yolla hayvanlar tarafından daha iyi alınabilmesi nedeniyle yeme katarak kullanılmasından ziyade suya katılarak kullanılması daha uygundur (Flammer 2000).

Tetrasiklinler hastalığın tedavisinde alternatif ilaç grubu olarak düşünülür (Anon 2002). Tetrasiklinlerle tedavide asıl problem hayvanların tetrasiklin ilave edilmiş yemleri yemedeki isteksizliktir. Büyük kanatlılar için kas içi yolla oksitetrasiklin enjeksiyonu da tercih edilebilir. Ancak bu uygulamada yan etkiler (enjeksiyon yapılan bölgede şiddetli kas nekrozu oluşabilmesi gibi) görülebilir (Gerlach 1999). Tetrasiklinlerle tedavi esnasında hayvanların yemindeki Ca ve diğer bivalent katyonların miktarına dikkat edilmelidir. Bu mineraller, tetrasiklinlerin emilimini azaltır (Kapakin ve ark. 2008).

Hastalığın insanlarda tedavisinde; doksisisiklin, tetrasiklin hidroklorid başta olmak üzere azitromisin, eritromisin gibi etken maddeler kullanılır (Raso Tde ve ark. 2002, Kılıç ve Doğancı 2003, Baş ve Dinç 2015).

### 1.1.8. Korunma ve Kontrol

Hastalığın bulaşmasının önlenmesinde biyogüvenlik önlemlerine riayet edilmesi oldukça önemlidir. Enfeksiyonun sürüye bulaşmasını engellemek için hayvanların bakım ve beslenmesine özen gösterilmeli; dışarıdan sürüye muayenesiz ve kontrolsüz hayvan sokulmamalı; kanatlı hayvanların diğer hayvanlarla teması sınırlandırılmalı; yemlik, suluk ve yem deposuna yabancı kuş ve diğer hayvanların erişimi önlenmeli; hasta hayvanlar sağlam hayvanlardan ayrılmalı; genç hayvanlarla yaşlı hayvanlar bir arada bulundurulmamalı; hayvanlar üzerinde strese yol açabilecek tüm faktörler ortadan kaldırılmalı ve kümes hijyenine önem verilmelidir. Bu önlemler içerisinde de özellikle hijyen ve dezenfeksiyona bağlı olan uygulamalar ayrı bir öneme sahiptir. Kümese dışarıdan yeni bir kuş getirileceği zaman, hayvan kümese katılmadan önce 20 ila 25 gün arasında karantina altında tutularak, bazı spesifik testler uygulanmalıdır. Hastalık etkeninin olup-olmadığının belirlenebilmesi için kloakal svap alınarak, moleküler yöntemlerle etkenin varlığı aranabilir. Hayvanların bulundurulduğu kafesler belirli aralıklarla temizliğe tabi tutulmalıdır. Bu amaçla kümeslerde etkili bir dezenfeksiyon için 1:1000 oranında sulandırılmış kuarterner ammonyum bileşikleri, klorofenoller, %0.5'lik perasetik asit, %70'lik izopropil alkol ve 1:100 oranında sulandırılmış çamaşır suyu kullanılabilir. Ayrıca hayvanların bulundurulduğu ortaların havalandırılmasına da dikkat edilmelidir (Gümüşsoy ve Arda 1998, Smith ve ark. 2005, Kapakin ve ark. 2008, Baş ve Dinç 2015).

İnsanların hastalığa karşı korunmasındaki en önemli etkenlerden biri; hayvanların hastalık etkeninden korunması ve hayvanların belirli aralıklarla testlere tabi tutulmasıdır. Hayvanlarla temasta bulunanların mutlaka ellerini yıkaması; eğer kalabalık bir yetiştiricilik yapıyorsa, bu tür ortamlara girerken maske, eldiven, bone ve koruyucu kıyafetlerin kullanılması; hayvan kümeslerinde hijyen şartlarına özen gösterilmesi; kümeslerde havalandırmanın yeterli bir düzeyde sağlanması ve hayvanların bulundurulduğu ortamlar ile kafeslerin belirli aralıklarla düzenli bir şekilde dezenfektan maddeler kullanılarak temizlenmesi önemlidir (Raso Tde ve ark. 2002, Smith ve ark. 2005, Baş ve Dinç 2015).

**Aşılama:** Cinsel yol ile bulaşan hastalıklar içerisinde en sık görülen hastalıklardan biri olan klamidya enfeksiyonları; genellikle bulgu vermemeleri ve sessiz bir seyir göstermeleri sebebiyle çoğu zaman tanı konulamadığı için tedavi edilemezler. Her yıl sadece Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) 3 milyon civarı yeni klamidya enfeksiyonu olduğu tahmin edilmektedir. Kanada’da bulunan McMaster Üniversitesi bünyesindeki Michael G. DeGrootte Enfeksiyon Hastalıkları Araştırma Enstitüsünden David Bulir ve arkadaşları ilk kez klamidya enfeksiyonlarına karşı etkili bir antijen keşfetmişlerdir. Araştırmacılar BD584 adını verdikleri bu antijenin; fareler üzerinde klamidya enfeksiyonunun önemli bulgularından biri olan “chlamydial shedding” adı verilen durumu, %95 oranında azalttığını tespit etmişlerdir. Yine enfeksiyonun önemli bulgularından bir olan tüplerin tıkanması ve sıvı ile dolması olarak tanımlayabileceğimiz “hidrosalpinks”in görülme sıklığında ise %87.5 oranında azalma gözlemlemişlerdir. Bu bulguların ışığında araştırmacılar BD584 antijeninin klamidya aşısı olarak kullanılabilceğini bildirmişlerdir (Bulir ve ark. 2017).

Aşı üretimine yönelik olarak yapılan çalışmalarda etkenin konsantre süspansiyonlarının formalin ile inaktive edilmesi benimsenmiştir (Madani ve ark. 2011). Bununla birlikte; etkenin dış zarında yer alan büyük membran protein antijenine karşı geliştirilen plazmid DNA aşısının; hindilerde solunum belirtileri ile kendini gösteren hastalığa karşı başarılı bir koruma sağlandığı da bildirilmiştir (Andersen ve Vanrompay 2003, Kapakin ve ark. 2008).

### **1.1.9. Hastalığın Dünyadaki ve Ülkemizdeki Durumu**

Avrupa’da serolojik testlerde (ELISA) seropozitiflik oranı % 25-95 arasında bulunmuştur. Amerika’da %25-30 oranında *C. psittaci* etkeni saptandığı bildirilmiştir. Türkiye’de ise bu oran %30-34 olarak saptanmıştır.

Çeşitli ülkelerde dışkı örneklerinden yapılan çalışmalarda; Brezilya’da 2002 yılında papağanlardan alınan kloakal svap’ların %35’inde, Japonya’da 2005 yılında

alınan kloakal svap'ların %22'sinde, Hollanda'da 2007 yılında havuz sistemi ile alınan örneklerin % 7.9'unda *C. psittaci* etkeni belirlenmiştir (Raso Tde ve ark. 2002, Prukner-Radovic ve ark. 2005, Tanaka ve ark. 2005, Chahota ve ark. 2006, Heddema ve ark. 2006, Maluping ve ark. 2007).

Page (1966), tarafından ABD'de yabani kuş bakım evinden alınan numuneler (svap) üzerinde ELISA yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada; kuşların %26'sında ve yine aynı yerde çalışan 10 yetiştiriciden alınan numunelerin de (svap) üçünde (yaklaşık %30'unda) *C. psittaci* varlığına rastlanıldığı bildirilmiştir. Miyagawa ve ark. (1995) tarafından Japonya'da hücre kültürü kullanarak yapılan bir çalışmada; yetiştiricilerden alınan numuneler (svap) üzerinde yapılan incelemerde %93.5 oranında *C. psittaci* etkeninin bulunduğu bildirilmiştir.

Hermann ve ark. (2006), tarafından İngiltere'de havuz sistemi ile topladıkları evcil kuş numuneleri (svap) üzerinde PCR kullanarak yapılan bir çalışmada; numunelerin %10'undan pozitif sonuç alındığını bildirmişlerdir. Vanrompay ve ark. (2007), tarafından Hollanda'da yabani kuşlardan alınan numuneler (svap) üzerinde PCR kullanarak yapılan bir çalışmada; alınan numunelerin %19.2'sinde etken DNA'sının görüldüğü bildirilmiştir. Dickx ve ark. (2010) tarafından Belçika'da havuz sistemi ile topladıkları evcil kuş numuneleri üzerinde PCR kullanarak yapılan bir çalışmada; %12.5 oranında *C. psittaci* etkeninin bulunduğu bildirilmiştir.

Ülkemizde ise kanatlılarda hastalığın yaygınlığı üzerine yapılan çalışma sayısı çok azdır. Bu çalışmalardan birinde hayvanat bahçelerinde barındırılan kaz, ördek, kuğu ve pelikanlardan oluşan toplam 140 adet su kuşunun % 65'inde *C. psittaci* etkeninin saptandığı bildirilmiştir (Karakuzulu 2003). Çelebi ve Ak (2006), tarafından yabani güvercinlerden alınan numuneler üzerinde (svap) PCR kullanarak yapılan bir çalışmada; alınan dışkı numunelerinin %34.4'ünde *C. psittaci* DNA'sı (*ompA* geni) belirlendiği bildirilmiştir. Sareyyüpoğlu ve ark. (2007) tarafından kafes kuşlarında yapılan diğer bir çalışmada ise; dışkı (svap) örneklerinin %91.5'inde, PCR yöntemi (*ompA* geni) ile etkenin DNA'sının saptandığı bildirilmiştir.

## 1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Gelişen teknolojinin mikrobiyoloji alanına sunmuş olduğu en önemli yeniliklerden biri Moleküler Tanımlama Yöntemleri'dir ve bu yöntemlere her geçen gün yenisi eklenmektedir. Geliştirilen bu teknikler, farklı amaçlar için yürütülen bilimsel faaliyetlere de büyük fayda sağlar. Bu tekniklerin kullanımını sınırlayan en önemli faktörler deneyimli personele ihtiyaç duyulması ve maliyetleri olsa da; günümüzde, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de; özellikle bilimsel araştırmalar olmak üzere, yaygın olarak kullanılırlar (Çetinkaya ve Ayhan 2012).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda en çok tercih edilen moleküler tanımlama teknikleri arasında; Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve 16S rDNA dizilim analizi gelir (Çetinkaya ve Ayhan 2012).

PCR, ABD'de Cetus şirketinde çalışan Kary Mullis tarafından 1985 yılında bulunmuş, spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek enzimatik olarak sentezlenmesi (2<sup>n</sup> siklus) şeklinde tanımlanan in vitro (canlı dışında, tüpte) bir yöntemdir (Sayada ve ark. 1995, Arı 2008, Çetinkaya ve Ayhan 2012, Alp 2018, Özekinci 2018, Uyar 2018).

Bu teknik ile hastalık etkenlerine ait (bakteri, virüs, parazit, fungus ve protozoon gb) hedeflenmiş olan nükleik asit zincirleri, özgül tamamlayıcı oligonükleotitler (primerler) ile ısıya dayanıklı enzimler aracılığında laboratuvar ortamında çoğaltılabilir. Hatta çalışılması hedeflenen genetik materyal çok az miktarda ya da ilgisiz birçok DNA molekülü arasına karışmış olsa bile; bu yöntem kullanılarak rahatlıkla çoğaltılabilir, homojen hale getirilebilir ve böylelikle de kolaylıkla tanımlanabilir (Çetinkaya ve Ayhan 2012).

Yöntemin temelini; hedeflenmiş bölgenin iki ucunda bulunan baz dizilerine özgü, tamamlayıcı nitelikte bir çift sentetik oligonükleotid primer kullanılarak sınırlandırılmış olan genin, enzimatik olarak sentezlenmesi esası oluşturur.

Reaksiyon; polimeraz enzimi ile gerekli olan diğer maddelerin ortamda bulunması halinde, DNA'nın karşıt sıraları sentezleyebilme yeteneği ile gerçekleşir. Bu yöntemde bir taraftan seçilen DNA dizisi çoğaltılırken, diğer taraftan da istenmeyen diziler baskı altına alınabilir. Böylelikle de DNA dizisinin tanımlanması da kolaylaştırılmış olur (Durmaz ve ark. 2007, Arı 2008, Çetinkaya ve Ayhan 2012).

PCR tekniğinin avantaj ve dezavantajları Çizelge 1.2.'de verilmiştir (Çetinkaya ve Ayhan 2012).

**Çizelge 1.2.** PCR tekniğinin avantaj ve dezavantajları (Çetinkaya ve Ayhan 2012).

Avantaj	Dezavantaj
<ul style="list-style-type: none"><li>• Hızlı ve özgül bir yöntemdir.</li><li>• Kurumuş, eskimiş ya da DNA miktarı az olan örneklerde bile çalışır.</li><li>• Tespiti güç olan toksinlerin, zehir üretebilen mikroorganizmaların, bakteri alt tiplerinin ve laboratuvar şartlarında üretimi güç olan virüslerin teşhisinde kullanılır.</li><li>• Antibakteriyel maddelere karşı direnç geliştiren bakteri türlerinin saptanmasında kullanılır.</li><li>• Epidemiyolojik ve popülasyon genetiği çalışmaları ile babalık testi de dahil olmak üzere geniş bir kullanım alanına sahiptir.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Primer ile ortamda bulunan istenmeyen DNA arasında ortak dizilime sahip olma riski vardır.</li><li>• Deneyimli personel gereksinim vardır.</li><li>• Pahalı ekipmanlar gerektirir.</li></ul>

Teknik ilk kullanılmaya başlanıldığında, belirlenmiş bir genin sadece küçük bir bölümü elde edilebiliyorken; günümüzde tek bir genden sadece birkaç saat içerisinde milyonlarca kopya elde edilebilmektedir. Bu yöntem özellikle; özel DNA parçacıklarının klonlanması, diagnostik ve adli tıpta gen belirlenmesi, gen ifade modellerinin tespiti ile bakteri kontaminasyonu, gıda içeriklerinin özgünlüğünün kontrolü ve genetiği değiştirilmiş DNA'nın varlığı gibi alanlarda kullanılır. Günümüzde; Multipleks, Nested, In Situ, Real-Time, Hot-Start PCR ve Lokus Spesifik PCR-RFLP olmak üzere çeşitli PCR teknikleri kullanılmaktadır (Sayada ve ark. 1995, Çetinkaya ve Ayhan 2012, Kılınç 2018, Somma ve Querci 2018).

### 1.3. DNA Dizi Analizi

DNA sekanslama ya da dizi analizi; aslında DNA nukleotid dizilerinin saptanmasını ifade eder ve DNA'nın temel (birincil) yapılarının belirlenmesinde faydalanılan metotlardandır. Günümüzde gen yapısı ve genetik kontrol mekanizmaları hakkında elde edilen bilgilerin büyük bir kısmı, DNA dizi analizi metodu sayesinde kazanılmıştır. Özellikle; kalıtsal nitelikteki hastalıkların tedavisinde başarıya ulaşabilmek için; bu hastalıkların oluşumu, gelişimi ve tedavi süreçlerindeki mekanizmaların açıklanması oldukça önemlidir. Bunun için de araştırılan konuya ilişkin gen bölgelerinin saptanması gerekir. Bu yönüyle de DNA dizi analizi oldukça önem arz eder. Günümüzde bu yöntem ile pek çok organizmanın gen yapısı ve organizasyonuna ilişkin önemli bilgiler elde edilmiş; birçok canlının gen haritası tanımlanmıştır. Yine bu yöntemin sıklıkla kullanıldığı diğer bir alan da; gen mutasyonlarının (insersiyon, delesyon gibi) tespiti ya da rekombinant DNA oluşumunun tayin edilmesidir (Çetinkaya ve Ayhan 2012).

*C. psittaci* ile ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda sekans sonuçları dünya veri bankası ile karşılaştırıldığında % 100 oranında genotip B, % 99 oranında da genotip E ile uyumlu olduğu bildirilmektedir (Heddema ve ark. 2006).

Bu tez çalışması ile Ankara ve ilçelerinde aile yetiştiriciliği tarzında evcil güvercin yetiştirilen kuşhanelerden toplanan 100 adet kuru dışkı örneğinde PCR ile *C. psittaci* etkeni varlığının (*ompA* geni) 2 farklı mevsimde araştırılması ve *ompA* geninin dizi analizi ile genotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Gereç

#### 2.1.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmada araştırılacak dışkı örneklerinin alınması amacıyla Ankara ve ilçelerinde (Çizelge 2.1) evcil güvercin yetiştiren 50 kuşhaneden, kış ve yaz dönemi olmak üzere iki farklı zamanda (aynı çiftlikler ziyaret edilerek), her dönemde her kuşhaneden 10'ar gram kuru dışkı örneği olacak şekilde toplamda 100 adet örnek steril falkon tüplere alındı. Örnekler alınırken, kuşhanenin beş farklı bölgesinden numune alınmasına özen gösterildi. Toplanan örnekler soğuk zincir şartları altında en kısa sürede laboratuvara getirildi. PCR çalışması yapılana kadar tüm örnekler falkonlar içerisinde -20°C'de muhafaza edildi.

**Çizelge 2.1.** Toplanan örneklerin ilçelere göre dağılımı.

İlçe	Alınan Örnek Sayısı		Toplam
	Kış	Yaz	
Beypazarı	5	5	10
Haymana	5	5	10
Kızılcahamam	5	5	10
Çubuk	5	5	10
Pursaklar	5	5	10
Bala	5	5	10
Çankaya	5	5	10
Polatlı	5	5	10
Gölbaşı	5	5	10
Merkez	5	5	10
<b>Toplam</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>100</b>

#### Moleküler Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Kimyasal Solüsyonlar

**PCR Cihazı:** Thermo Scientific marka cihaz kullanıldı.

**Elektroforez tankı:** Thermo Scientific marka cihaz kullanıldı.

**Yatay Elektroforez Ünitesi:** Tetra Handcast Systems(Bio-Rad) cihazı kullanıldı.

**Thermal cyler:** Benchmark T5000-96 TC 9639 marka cihaz kullanıldı.

**Vorteks:** Biosan Vorteks V-1 Plus marka cihaz kullanıldı.

**Sekans cihazı:** ABI Prism 3700 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) cihazı kullanıldı.

**10x TBE (Tris-borikasit-EDTA):** 1litre hazır TBE kullanıldı (Thermo Scientific).

**TBE (Tris-Boric Acid-EDTA):** 216 g Tris, 110 g borik asit, 80 ml 0.5 M EDTA alındı ve karışım distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan stok çözelti kullanmadan önce 20 kez distile su ile dilue edildi.

**Etidium Bromide Boya Solüsyonu:** 10 mg/ml stok solüsyonu 100 ml distile su içinde 1 g Etidium Bromide ilave edilerek hazırlandı.

**TES buffer Hazırlanışı:**

10X Tris-HCl (0.5M Tris Base, pH7.6):

Trizma Base 61 g

Distile Su 1000 ml

pH 7.6'da stok konsantre HCl (25 °C).

Kullanmadan önce 1:10 oranında distile su ile seyreltildi ve pH'sı ayarlandı.

**DEPC'li su Hazırlanışı:**

1lt (Dietilpirokarbonatlı su): 1ml DEPC, 999 ml distile su.

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Dışkı Örneklerinden Genomik DNA Ekstraksiyonu

Toplanan örnekler -20°C'de derin dondurucudan çıkartılıp, oda ısısında çözdürüldü. Steril falkon tüpler içerisindeki 10'ar g'lık örnekler 50 ml steril fizyolojik tuzlu su (FTS) ile iyice karıştırıldı ve dışkının sıvı içerisinde çözünmesi sağlandı.

Çözünme işlemini takiben 30 dakika beklenip, kaba partiküllerin tüpün dibine çökmesi beklendi. Ardından üstteki sıvıdan 5 ml alınarak, steril tüpler içerisine aktarıldı ve 5000 devirde 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Üstteki sıvı atıldıktan sonra, dipteki peletten DNA izolasyonu; Sambrook ve Russell (2002)'ın bildirdiği metoda göre yapıldı ve hazırlanan bu DNA süspansiyonları PCR amplifikasyon işlemlerinde kullanıldı.

Bildirilen yöntemeye göre; cam santrifüj tüplerindeki pelet PCR inhibitörü olabilecek enzimlerin uzaklaştırılması amacıyla 1 ml metil alkol içerisinde süspanse edildi ve bu süspansiyon steril plastik eppendorf tüplere aktarıldı. Hazırlanan süspansiyonlar 3500 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra süpernatant atıldı. Dipteki yıkanmış pelet tekrardan 1 ml steril PBS ile süspanse edildi ve aynı santrifüj işlemi uygulandı. Bu adımın arkasından dipte oluşan pelet 1ml TES buffer eklenerek süspanse edildikten sonra tekrar santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra pelet, lizozim (12.5 µg/ml) içeren 500 µl TES buffer ile süspanse edilerek 37°C de 60 dakika inkübe edildi. Bu sürenin sonunda 20 µl %10'luk SDS ve 10 µl Proteinaz K (10 µg/µl) ilave edilip, vorteksledikten sonra 65°C 30 dakika inkübe edildi.

Tüm inkübasyonlar sırasında enzimlerin etkinliğinin artırılması amacıyla 15 dakikada bir tüpler hafifçe vortekslendi. İnkübasyon işlemlerinin bitmesinden sonra protein ve diğer hücre artıklarının bağlanması için karışım üzerine, eşit miktarda fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1) ilave edildi ve vortekslendi. Takiben 10000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüj edildi. Üst tabaka dikkatlice yeni bir tüpe alındı ve üzerine 0.1 hacim 3 M sodyum asetat ve 1-2 hacim absolut etanol ilave edilerek, bir gece -20°C'de bekletildi.

Ertesi gün karışım 13000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüj edildikten sonra süpernatant atıldı ve dipteki pelet önce %96'lık, sonra % 70'lik etanol ile yıkamayı takiben kurutulup, 100 ml DEPC su ile süspanse edildi. Bu süspansiyon PCR analizlerinde kullanılmak üzere -20°C'de saklandı. PCR amplifikasyonu amacıyla karışım hazırlanırken, ekstrakte edilerek hazırlanmış olan bu sıvıdan 5 µl alınarak PCR'de kalıp DNA olarak kullanıldı (Sambrook ve Russell 2002).

## 2.2.2. PCR Amplifikasyonu

Çalışmamızda *C. psittaci* etkeninin PCR ile belirlenmesi işlemi Laroucau ve ark. (2007), tarafından önerilen protokole göre gerçekleştirildi. PCR ve DNA dizi analizi yöntemlerinde referans suşu olarak *C. psittaci* ATCC VR-125 (AY581777.1) suşu kullanıldı.

**Referans:** *C. psittaci* strain ATCC VR-125 GenBank: AY581777.1.

Çalışmada *C. psittaci* etkeninin PCR ile belirlenmesi işlemi Laroucau ve ark. (2007), tarafından önerilen pmp gen bölgesi dış membran faktör (OMF) hedef alan Cpsi A (5'-ATG AAA CAT CCA GTC TAC TGG -3') ve Cpsi B (5'-TTG TGT AGT AAT ATT ATC AAA-3') primerleri kullanılarak çoğaltıldı. PCR çalışmaları yapılırken CFX96 thermal cyclar kullanıldı ve ayrıca Vivantis (Malezia) marka PCR kimyasalları kullanılarak, PCR işlemi gerçekleştirildi.

Her bir örnek için PCR Karışımının hazırlanması;

10 x PCR tamponu	2.5 µl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	3 µl
dNTP (10 mM; 200 µM)	0.5 µl
Primer I (100 pmol)	0.25 µl
Primer II (100 pmol)	0.25 µl
Taq DNA Polimeraz	0.5 µl
5 µl kalıp DNA ve toplam 25 µl hacimde çalışıldı.	

Amplifikasyon işlemi;

94°C'de 3 dakika ön denatürasyon

94°C'de 30 saniye denatürasyon

50°C'de 30 saniye primer bağlanması

72°C'de 120 saniye yeni DNA zincirinin sentezlenmesi olmak üzere toplam 30 döngü ve en son aşamada 72 °C'de 7 dakika bekletilerek reaksiyon tamamlandı.

**Agaroz Jel Elektroforez:** Amplifikasyon sonrasında oluşan ürünlerin değerlendirilmesi için % 1.5'luk agaroz jel hazırlanarak kullanıldı. Agaroz jel hazırlanırken tampon solüsyon olarak 1x TBE tamponu kullanıldı ve soğumakta olan Agaroz Jel solüsyonuna 10 µl ethidium bromid ilave edilerek, yatay jel elektroforez tablasına dökülüp, soğumaya bırakıldı. Katılaştıran jel, elektroforez işleminde kullanıldı (Sambrook ve Russell 2002).

**Elektroforez İşlemi:** Elde edilen amplifikasyon ürünlerinden 10 µl alınarak, 2 µl 6X loading dye ile karıştırıldı ve bu karışımın hepsi jele yüklenerek, amplifikasyon ürünleri 120 voltta 60 dakika süreyle elektroforeze tabi tutuldu (Sambrook ve Russell 2002).

**Görüntüleme İşlemi:** Jeldeki örnekler bilgisayarlı UV transillüminatör kutusu içine yerleştirilerek görüntülendi ve fotoğrafları çekildi (Sambrook ve Russell 2002).

### 2.2.3. DNA Dizi Analizi

PCR reaksiyonu sonucu elde edilen amplifiye ürün (*ompA* geni) jelden ekstrakte edildikten sonra, elde edilen DNA'dan çalışmada kullanılan primerler ile iki yönlü sekans analizi yapıldı. DNA dizi analizi işlemi için; üretici firma önerisi ile ABI Prism 3700 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) cihazı ile BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) kullanıldı. Filogenetik analizler için ise; Gen Bankası üzerinden temin edilen dizilerle Mega 4.0 programı (Neighbor-Joining Method) kullanıldı (Laroucau ve ark. 2001).

#### DNA Dizi Analizi Aşamaları

- PCR amplifikasyonu
- Dyex 1 (Alkolle temizleme işlemi)
- Cycle sekans (2<sup>n</sup> düzeyinde ampliconları çoğaltmak için yapılan PCR işlemi)
  - Quigen kit buffer mix (10x) 4 µl

Primer F	1 µl
Su	3 µl
Amplifiye DNA	2 µl
Total	10 µl

- Dyex 2 (Alkolle temizleme işlemi)
- Cihaza yükleme işlemi.

### **Kullanılan Program ve Dendogram İsimleri**

#### ***Filogenetik Analiz:***

- Clustal W
- Neighbour-Joining (NJ) Method
- MEGA4.

### 3. BULGULAR

Çalışmada Ankara ve çevresinde (Şekil 3.1) evcil güvercin yetiştirilen kuşhanelerden toplanan 100 adet kuru dışkı örneğinde DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş olup; 100 örnekten 6 örnekte (%6) *C. psittaci ompA* geni pozitif olarak bulunmuştur.



Şekil 3.1. Ankara'nın ilçeleri.

Pozitif olarak bulunan örneklerin;

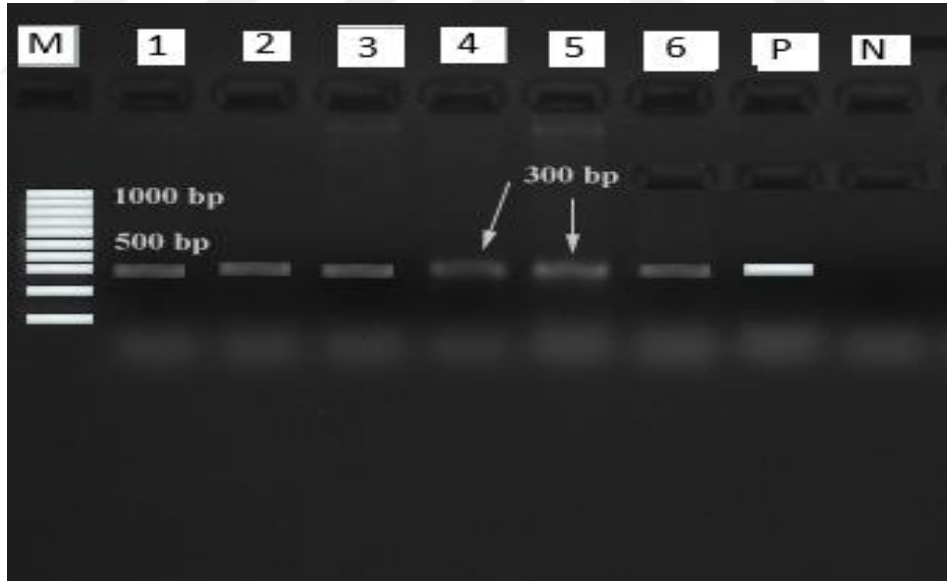
- 2'si Bala (1'i Aralık-Mart/kış, 1'i Haziran-Ağustos/yaz dönemi),
- 2'si Haymana (1'i Aralık-Mart/kış, 1'i Haziran-Ağustos/yaz dönemi),
- 2'si Gölbaşı (1'i Aralık-Mart/kış, 1'i Haziran-Ağustos/yaz dönemi),

olmak üzere toplam 6 örnek, aynı kuşhanelerden farklı mevsimlerde izole edilmiştir (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Çalışılan örneklere göre pozitif ve negatifliklerin dağılımı.

İlçe	Alınan Örnek Sayısı		Pozitif/Toplam
	Pozitif/Kış	Pozitif/Yaz	
Beypazarı	0/5	0/5	0/10
Haymana	1/5	1/5	2/10
Kızılcahamam	0/5	0/5	0/10
Çubuk	0/5	0/5	0/10
Pursaklar	0/5	0/5	0/10
Bala	1/5	1/5	2/10
Çankaya	0/5	0/5	0/10
Polatlı	0/5	0/5	0/10
Gölbaşı	1/5	1/5	2/10
Merkez	0/5	0/5	0/10
<b>Toplam</b>	<b>3/50</b>	<b>3/50</b>	<b>6/100</b>

Çalışmada klasik PCR yöntemi kullanılarak, jel elektroforezde yürütülen PCR örnekleri görüntülenmiştir. Jel elektroforez yöntemi kullanılarak görüntülenen PCR amplifikasyon ürünleri Şekil 3.2’de görülmektedir.

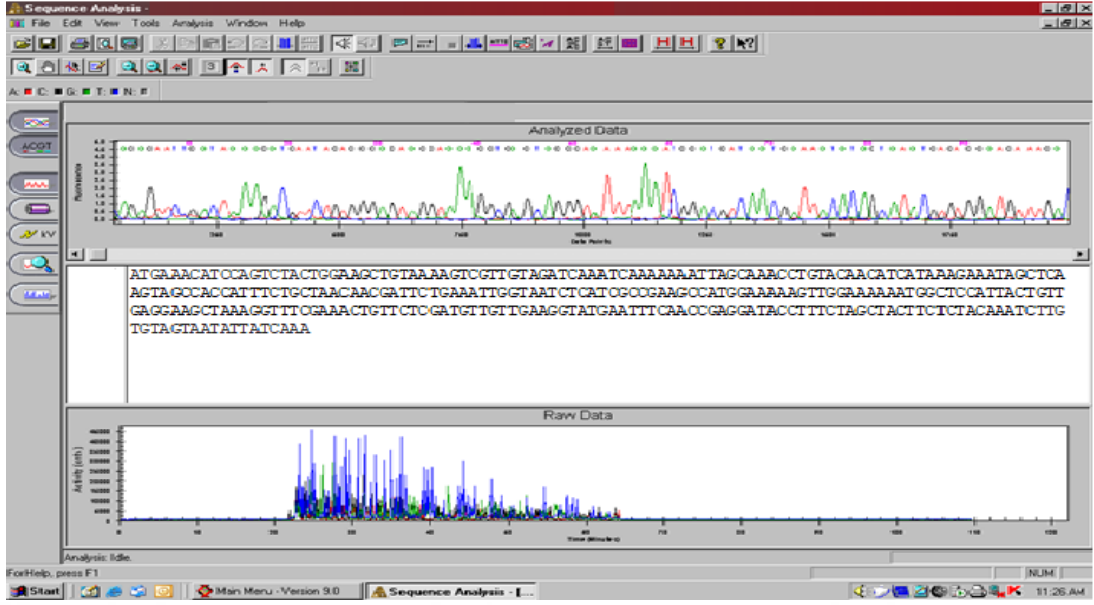


**Şekil 3.2.** PCR amplifikasyon ürünleri.

### **Suşların DNA Dizi Analiz Sonuçları:**

Pozitif olarak bulunan numunelerin DNA dizi analiz sonuçları ve pikleri (Şekil 3.3-Şekil 3.8)’de verilmiştir.



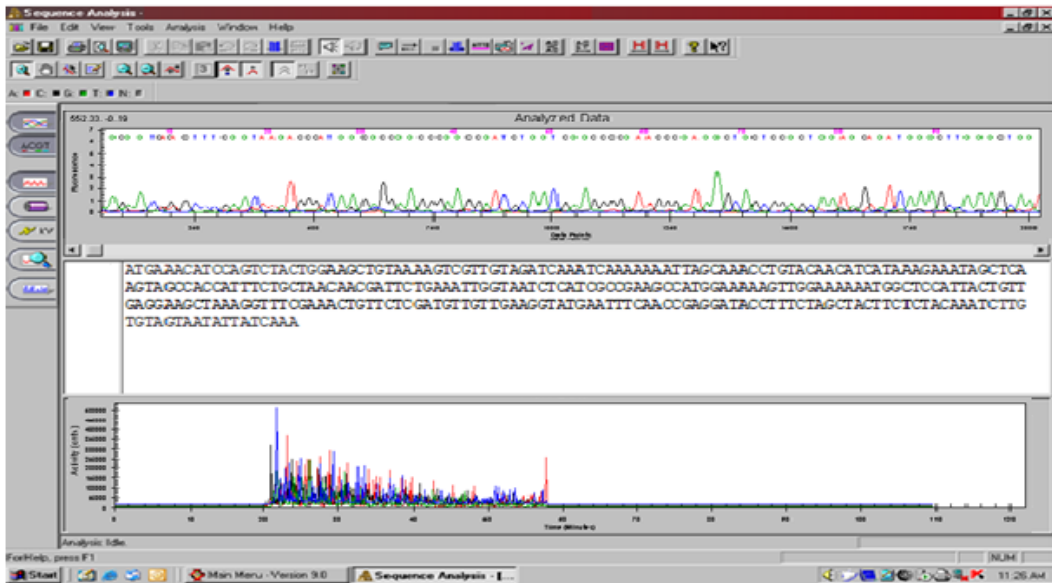


Şekil 3.3. 13 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.

1. 13

```

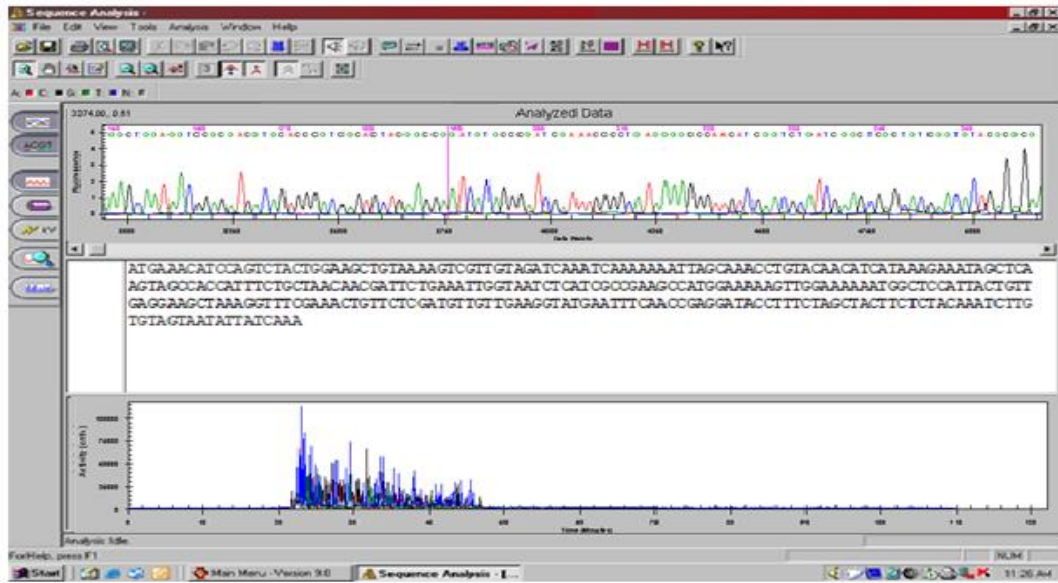
ATGAAACATCCAGTCTACTGGAAGCTGTAAAAGTCGTTGTAGATCAAAT
CAAAAAAATTAGCAAACCTGTACAACATCATAAAGAAATAGCTCAAGT
AGCCACCATTTCTGCTAACACGATTCTGAAATTGGTAATCTCATCGCC
GAAGCCATGGAAAAAGTTGGAAAAAATGGCTCCATTACTGTTGAGGAA
GCTAAAGGTTTCGAAACTGTTCTCGATGTTGTTGAAGGTATGAATTTCA
ACCGAGGATACCTTTCTAGCTACTTCTCTACAAATCTTGTGTAGTAATAT
TATCAAA
  
```



Şekil 3.4. 62 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.

2. 62

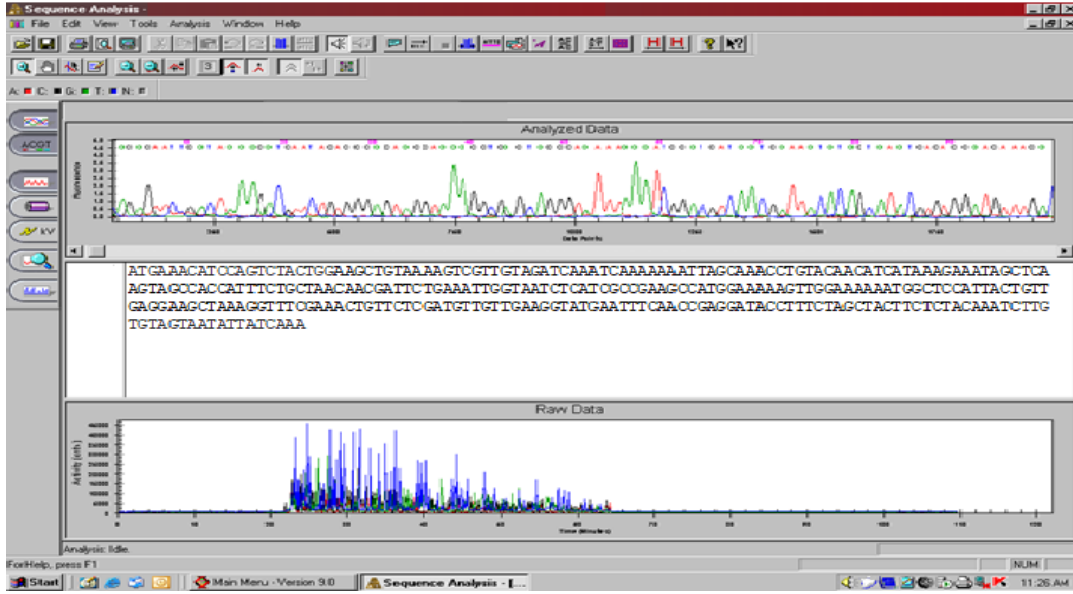
ATGAAACATCCAGTCTACTGGAAGCTGTAAAAGTCGTTGTAGATCAAAT  
CAAAAAAATTAGCAAACCTGTACAACATCATAAAGAAATAGCTCAAGT  
AGCCACCATTTCTGCTAACAAACGATTCTGAAATTGGTAATCTCATCGCC  
GAAGCCATGGAAAAAGTTGGAAAAAATGGCTCCATTACTGTTGAGGAA  
GCTAAAGGTTTCGAAACTGTTCTCGATGTTGTTGAAGGTATGAATTTCA  
ACCGAGGATACCTTTCTAGCTACTTCTCTACAAATCTTGTGTAGTAATAT  
TATCAA



Şekil 3.5. 63 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.

3. 63

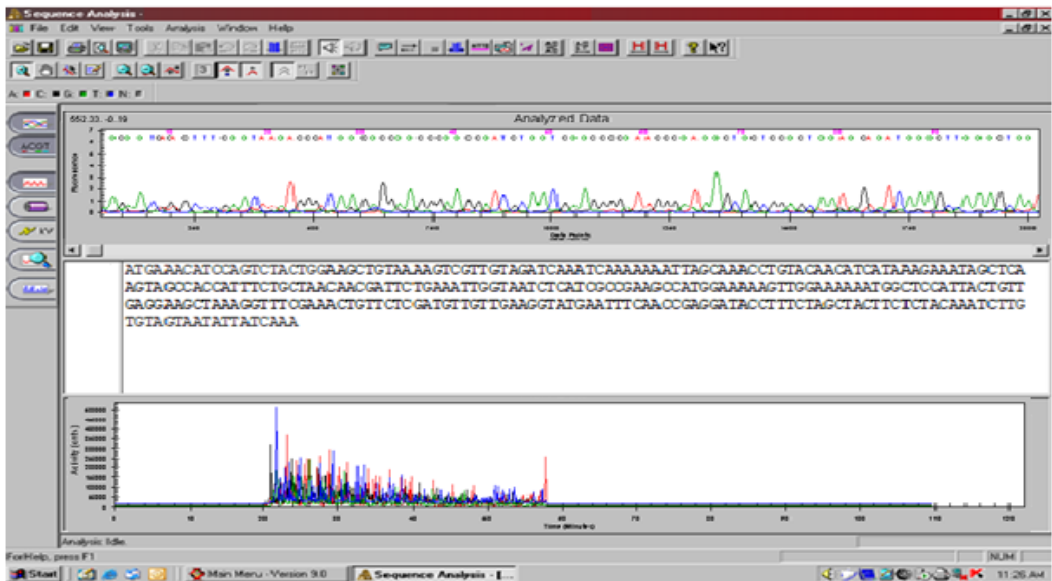
ATGAAACATCCAGTCTACTGGAAGCTGTAAAAGTCGTTGTAGATCAAAT  
CAAAAAAATTAGCAAACCTGTACAACATCATAAAGAAATAGCTCAAGT  
AGCCACCATTTCTGCTAACAAACGATTCTGAAATTGGTAATCTCATCGCC  
GAAGCCATGGAAAAAGTTGGAAAAAATGGCTCCATTACTGTTGAGGAA  
GCTAAAGGTTTCGAAACTGTTCTCGATGTTGTTGAAGGTATGAATTTCA  
ACCGAGGATACCTTTCTAGCTACTTCTCTACAAATCTTGTGTAGTAATAT  
TATCAA



Şekil 3.6. 64 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.

4. 64

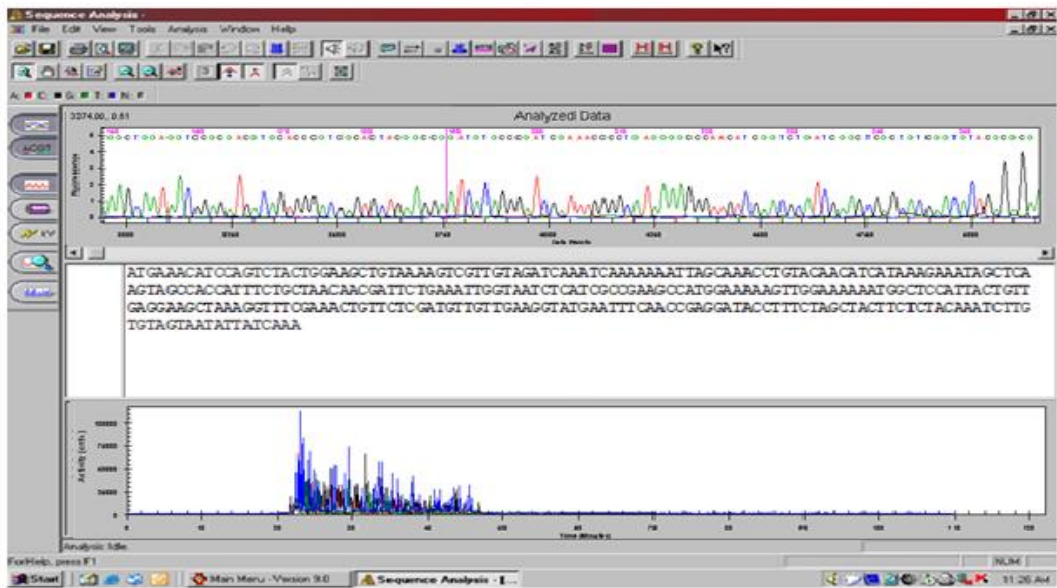
ATGAAACATCCAGTCTACTGGAAGCTGTAAAAGTCGTTGTAGATCAAAT  
 CAAAAAATTAGCAAACCTGTACAACATCATAAAGAAATAGCTCAAGT  
 AGCCACCATTTCTGCTAACACGATTCTGAAATTGGTAATCTCATCGCC  
 GAAGCCATGGAAAAGTTGGAAAAATGGCTCCATTACTGTTGAGGAA  
 GCTAAAGGTTTCGAAACTGTTCTCGATGTTGTTGAAGGTATGAATTTCA  
 ACCGAGGATACCTTTCTAGCTACTTCTCTACAAATCTTGTGTAGTAATAT  
 TATCAAA



Şekil 3.7. 65 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.

5. 65

```
ATGAAACATCCAGTCTACTGGAAGCTGTAAAAGTCGTTGTAGATCAAAT
CAAAAAAATTAGCAAACCTGTACAACATCATAAAGAAATAGCTCAAGT
AGCCACCATTTCTGCTAACACGATTCTGAAATTGGTAATCTCATCGCC
GAAGCCATGGAAAAAGTTGGAAAAAATGGCTCCATTACTGTTGAGGAA
GCTAAAGGTTTCGAAACTGTTCTCGATGTTGTTGAAGGTATGAATTTCA
ACCGAGGATACCTTTCTAGCTACTTCTCTACAAATCTTGTGTAGTAATAT
TATCAAA
```

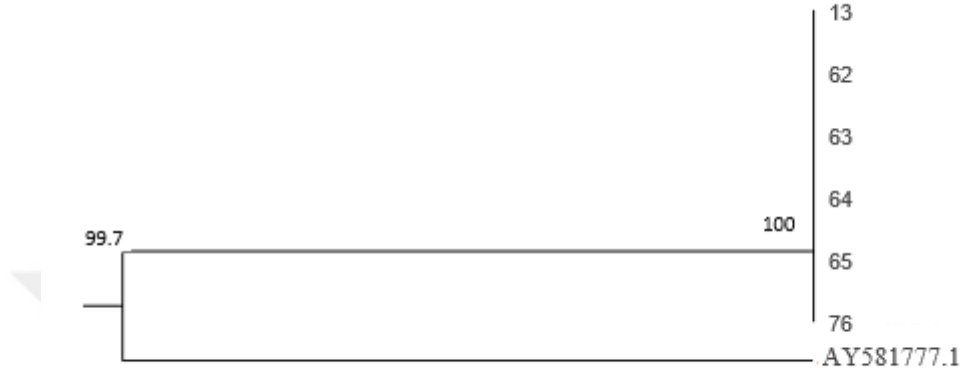


Şekil 3.8. 76 numaralı örneğe ait dizi analiz piki.

6. 76

```
ATGAAACATCCAGTCTACTGGAAGCTGTAAAAGTCGTTGTAGATCAAAT
CAAAAAAATTAGCAAACCTGTACAACATCATAAAGAAATAGCTCAAGT
AGCCACCATTTCTGCTAACACGATTCTGAAATTGGTAATCTCATCGCC
GAAGCCATGGAAAAAGTTGGAAAAAATGGCTCCATTACTGTTGAGGAA
GCTAAAGGTTTCGAAACTGTTCTCGATGTTGTTGAAGGTATGAATTTCA
ACCGAGGATACCTTTCTAGCTACTTCTCTACAAATCTTGTGTAGTAATAT
TATCAAA.
```

Pozitif bulunan 6 örnek, birbirleri ile %100 uyum göstermektedir (Homoloji: % 100). Yine bu 6 örneğin referans suş (AY581777.1) ile karşılaştırılmasında ise; hepsinin referans suş ile %99.7 uyum gösterdiği belirlenmiştir (Homoloji: % 99.7); NCBI (National Center for Biotechnology Information) (Şekil 3.9).



**Şekil 3.9.** DNA dizi analiz sonucu yapılan dendrogram (Filogenetik Analiz).

Dünya veri bankası ile yapılan sekans analizleri karşılaştırıldığında bütün izolatlar % 100 oranında genotip B ile % 99 oranında da genotip E ile uyum gösterdiği belirlenmiştir.

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında; Ankara ve ilçelerinde aile yetiştiriciliği tarzında yetiştirilen evcil güvercin kuşhanelerden toplanan 100 adet kuru dışkı örneğinde PCR ile *C. psittaci* etkeni varlığının (*ompA* geni) 2 farklı mevsimde araştırılması ve *ompA* geninin dizi analizi ile genotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Son yirmi yılda yapılan pek çok çalışmada *C. psittaci* vahşi kuş türlerinden yüksek oranlarda izole edilmiştir. Almanya (Flammer ve ark. 2000, Eidson 2002, Kaleta ve Taday 2003, Greco ve ark. 2005, Senn ve ark. 2005, Herrmann ve ark. 2006, Heddema ve ark. 2006, Maluping ve ark. 2007, Madani ve ark. 2011, Kalmar ve ark. 2014), İngiltere (Johnston ve ark. 1999, Raso Tde ve ark. 2002, Smith ve ark. 2005, Ramon ve ark. 2007, Condon ve Oakey 2007, Beeckman ve Vanrompay 2009), Hollanda (Vanrompay ve ark. 1997, Dove ve ark. 2000, Von Bomhard ve ark. 2003, Dickx ve ark. 2010), İsveç (Messmer ve ark. 1997, Schlossberg 2000, Harkinezhad ve ark. 2009) Belçika (Geens ve ark. 2005, Sachse ve ark. 2008), Avusturya (Everett 2000, Bodetti ve ark. 2002, Laroucau ve ark. 2007, Zweifel ve ark. 2009, West 2011), İsviçre (Woldehiwet 2001) gibi pek çok Avrupa ülkesinde çok sayıda çalışmada yabani güvercinlerden alınan svap örneklerinden PCR ile *C. psittaci* varlığının (*ompA* geni) belirlendiği bildirilmiştir. Tüm bu çalışmalarda %30-34 arasında *C. psittaci* varlığı ortaya konmuştur. Bu çalışmaların bir kısmında, sekans analizi ile tüm izolatların genotip B ile % 100 uyumlu olduğu bildirilirken; bir kısmında tüm izolatlar yine genotip B ile % 100 uyumlu ve genotip E ile de % 99 uyumlu olduğu bildirilmiştir.

Hindistan'da *C. psittaci* belirlenmesine yönelik vahşi kuşlar üzerinde yapılan bir çalışmada PCR yöntemi kullanılmış; % 30 oranında *C. psittaci* varlığı tespit edilmiş ve bunun da genotip B ile uyumlu olduğu bildirilmiştir (Dhama ve ark. 2013). Çin'de kanatlı sektöründe *C. psittaci* enfeksiyonlarını belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada ise; ELISA yöntemi kullanılmış ve % 40.8 oranında yumurta ve yumurta ürünlerinde, %14.2 piliç, % 69.3 ördek ve %91.1 kaz etlerinde *C. psittaci* varlığına rastlanmış; bu durum PCR yöntemi kullanılarak da teyit edilmiştir (Yin ve

ark. 2015). ELISA yöntemi kullanılarak, ABD’de yapılan bir diğer çalışmada; yabani kuş bakım evinden alınan (svap) numunelerin %26’sında ve yine aynı yerde çalışan 10 yetiştiriciden alınan (svap) numunelerin de %30’unda *C. psittaci* varlığına rastlanıldığı bildirilmiştir (Page 1966). Japonya’da hücre kültürü kullanarak yapılan bir çalışmada ise; yetiştiricilerden alınan (svap) numunelerin %93.5’inde *C. psittaci* etkenine rastlanıldığı bildirilmiştir (Miyagawa ve ark. 1995).

Çeşitli ülkelerde dışkı örneklerinden yapılan çalışmalarda; Brezilya’da 2002 yılında papağanlardan alınan kloakal svap’ların %35’inde, Japonya’da 2005 yılında alınan kloakal svap’ların %22’sinde, Hollanda’da 2007 yılında yapılan bir çalışmada yabani kuşlardan alınan numunelerin (svap) %19.2’sinde *C. psittaci* etkeni belirlenmiştir (Raso Tde ve ark. 2002, Tanaka ve ark. 2005, Vanrompay ve ark. 2007). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçların (%35, %22, %19.2), yaptığımız çalışma sonucuna göre (%6) daha yüksek oranlarda pozitif değere sahip olmasının; diğer çalışmalarda seçilen hayvanların vahşi hayvanlardan olması ve bu sebeple de aralarında yetiştiricilik farkı (hayvanların evcil ya da vahşi olması, kafesde bakım gibi) bulunması, hayvan türlerinin farklı olması, yaşam ve bakım koşullarının farklı olması, materyal seçiminin farklılığı, bölge, yıl ve mevsim farkından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Kuşhanelerden altlık alınarak yapılan çalışmalarda ise; Hollanda’da 2007 yılında havuz sistemi ile alınan örneklerin % 7.9’unda, İngiltere’de 2006 yılında havuz sistemi ile alınan evcil kuş numunelerinin %10’unda, Belçika’da 2010 yılında havuz sistemi ile alınan evcil kuş numunelerinin %12.5’inde, Güney Kore’de yabani güvercinlerden alınan numunelerin %1.8’inde *C. psittaci* etkeni belirlenmiştir (Hermann ve ark. 2006, Maluping ve ark. 2007, Dick ve ark. 2010, Jeong 2017). Bulunan bu sonuçlar yaptığımız çalışma sonucunda elde edilen verilere (%6) benzerlik gösterir.

Ülkemizde ise hastalığın kanatlı hayvanlarda görülme sıklığı üzerine çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde hayvanat bahçelerinde barındırılan kaz, ördek, kuğu ve pelikanlardan oluşan toplam 140 adet su kuşunun %

65'inde *C. psittaci* etkeninin saptandığı bildirilmiştir (Karakuzulu 2003). Çelebi ve Ak (2006), tarafından yabancı güvercinlerden alınan numuneler üzerinde (svap) PCR kullanarak yapılan diğer bir çalışmada da alınan dışkı numunelerinin %34.4'ünde *C. psittaci* DNA'sı (*ompA* geni) belirlendiği bildirilmiştir. Sareyyüpoğlu ve ark. (2007) tarafından kafes kuşlarında yapılan bir diğer çalışmada ise; dışkı (svap) örneklerinin %91.5'inde PCR yöntemi (*ompA* geni) ile etkenin DNA'sının saptandığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, yaptığımız çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek oranda pozitiflik içerir. Bunun sebebinin; örneklerin alındığı hayvanların yetiştirilme, barınak, ırk, bölge ve yıl farkından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yine tez çalışmasında kullanılan örneklerin alındığı güvercinlerin doğal ortamdan ziyade kafeslerde yetiştirilen evcil güvercinler olması ve daha kontrollü bir şekilde bakılmaları da burada önemli olabilir. Ayrıca; çalışmamızda pozitif çıkan numunelerin 3'ünün kış dönemi, 3'ünün de yaz döneminde alınan örneklerden ve aynı işletmelerden olması; pozitif örnek sayısının az olması nedeniyle mevsimsel bir etkinin bulunmadığını söylemek mümkün olmasada, etkenin kuşhanelerde kontaminasyonun uzun süre devam edebildiğini gösterebilir.

Avrupa ülkeleri (Herrmann ve ark. 2006, Vanrompay ve ark. 2007, Maluping ve ark. 2007), Amerika (Madani ve ark. 2011, West 2011) ve Japonya (Tanaka ve ark. 2005; Chahota ve ark. 2006, Zhou ve ark. 2010) gibi ülkelerde yapılan çalışmalarda tüm *C. psittaci* izolatlarının; genotip B ile % 100 uyumlu ve genotip E ile de % 99 uyumlu olduğu bildirilmiştir. Amerika ve Kanada'da ise benzer çalışmalarda yabancı güvercinlerde yine %30 (Andersen ve Vanrompay 2000, Smith ve ark. 2005) ve %32 (Black 1997) oranlarında *C. psittaci* varlığı bildirilmiş olup; tüm izolatlar genotip B ile %100, genotip E ile %99 uyumlu bulunmuştur. Japonya'da ise Saito ve ark. (2005), Tanaka ve ark. (2005), Zhou ve ark. (2010) tarafından yabancı güvercinlerdeki *C. psittaci* izolatlarının belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan bu çalışmada da elde edilen pozitif sonuçların NCBI (National Center for Biotechnology Information) dünya veri bankasında mevcut sekans analizleri ile karşılaştırıldığında %100 genotip B ve %99 genotip E ile uyum gösterdiği ortaya çıkmıştır. Türkiye'de ilk defa *C. psittacii* izolatlarında genotip belirlenmiş olup, sonuç daha önce diğer ülkelerde yapılan çalışmalar ile benzer bulunmuştur.



Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde önemli hastalıklardan biri olan Klamidiyozis'in zoonoz bir hastalık olması ve hayvanlarda salgınlar halinde seyretmesi hem pet hayvanı yetiştiriciliğinde hem de gıda sektöründeki önemini arttırmıştır. Bu nedenle de hastalığın epidemiyoloji ve patogenezi ile korunma ve tedavi yöntemlerinin bilinmesi; ayrıca hastalığa karşı önerilen tedbirlerin alınması, gerek ekonomik gerekse de insan sağlığı yönünden zorunluluk haline gelmiştir.

Yapılan bu çalışmada; Ankara ve ilçelerinde hobi amaçlı olarak yetiştirilen evcil güvercin kuşhanelerinden alınan kuru dışkı örneklerinde %6 oranında *C. psittacii ompA* geninin varlığı PCR metodu ile belirlenmiştir. Yine bu genin sekans analizi ile de %100 genotip B ve %99 genotip E ile uyumluluk gösterdiği de ortaya konmuştur. Türkiye'de ilk defa *C. psittacii* izolatlarının genotipi bu çalışma ile belirlenmiştir. Özellikle son yıllarda, gerek dünyada gerekse ülkemizde halk sağlığına yönelik çalışmaların öneminin arttığı da düşünüldüğünde; yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen verilerin benzer çalışmalara kaynak oluşturacağı ve özellikle de yetiştiricilerimizin bilgilendirilmesine yönelik eğitim projelerine de katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

AGUNOS A, PIERSON FW, LUNGU B, DUNN PA, TABLANTE N (2016) Review of nonfoodborne zoonotic and potentially zoonotic poultry diseases. *Avian Dis*, 60 (3), 553-575.

ALP A (2018) Mikrobiyolojide Moleküler Tanı Yöntemleri: Nereden Nereye? Erişim: [[http://tmc-online.org/images/37\\_kongre/alpaslan\\_alp.pdf](http://tmc-online.org/images/37_kongre/alpaslan_alp.pdf)], Erişim tarihi: 10.06.2018.

ANDERSEN AA (1991) Serotyping of *Chlamydia psittaci* isolates using serovar-specific monoclonal antibodies with the microimmunofluorescence test. *J Clin Microbiol*, 29 (4), 707-711.

ANDERSEN AA (1997) Two new serovars of *Chlamydia psittaci* from North American birds. *J Vet Diagn Invest*, 9 (2), 159-164.

ANDERSEN AA (1998) Chlamydiosis. In: A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens 4th edition. Eds. D.E. Swayne et al. Kennett Square, PA: American Association of Avian Pathologists. p: 81-88.

ANDERSEN AA, GRIMES JE, WYRICK PB (1997) Chlamydiosis (Psittacosis, Ornithosis). In: Diseases of Poultry, 10th edition. Eds. Calnek BW, Barnes JJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM. Ames, IA: Iowa State University Press. p: 333-349.

ANDERSEN AA, VANROMPAY D (2000) Avian chlamydiosis. *Rev Sci Tec*, 19 (2), 396-404.

ANDERSEN AA, VANROMPAY D (2003) Avian chlamydiosis (psittacosis, ornithosis). In: Diseases of Poultry, 11th edition. Ed. Saif YM. Iowa State Press, Ames, Iowa. p: 863-879.

ANĞ Ö, TÜMBAY E, ANĞ KÜÇÜKER M (2011) Zoonozlar Hayvandan İnsana Bulaşabilen İnfeksiyon Hastalıkları. 1. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.

ANON (2002) Avian chlamydiosis as a zoonotic disease and risk reduction strategies. C2- Management of scientific committees; scientific co-operation and Networks: European Commission Health & Consumer Protection Directorate-

General. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare Adopted 16 April 2002. p: 1-25.

ARDA M (2008) Kafes Kuşu Hastalıkları. 1. Baskı. Ankara: Ayban Matbaacılık ve Yayıncılık.

ARDA M, MİNBAŞ A, AYDIN N, AKAY Ö, İZGÜR M, YARDIMCI H, ESENDAL ÖM, ERDEĞER J, AKAN M (2002) Kanatlı Hayvan Hastalıkları. 1. Baskı. Ankara: Medisan Yayın Serisi No: 50.

ARI Ş (2008) DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Çoğaltılması. Alınmıştır: Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Ed. Temizkan G, Arda N. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. s: 101–117.

AYDIN N, İZGÜR M, DİKER KS, YARDIMCI H, ESENDAL ÖM, PARACIKOĞLU J, AKAN M (2006) Chlamydia ve Chlamydophila İnfeksiyonları In: Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). Ed. Paracıkoğlu J. İlke-Emek Yayınları, Ankara. s: 305-312.

BALSAMO G, MAXTED AM, MIDLA JW, MURPHY JM, WOHRLE R, EDLING TM, FISH PH, FLAMMER K, HYDE D, KUTTY PK, KOBAYASHI M, HELM B, OIULFSTAD B, RITCHIE BW, STOBIEFSKI MG, EHNERT K, TULLY TN JR (2017) Compendium of measures to control *Chlamydia psittaci* infection among humans (Psittacosis) and pet birds (Avian chlamydiosis), 2017. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 31 (3), 262-282.

BAŞ B, DİNÇ G (2015) Kuşlarda ve insanlarda *Chlamydophila psittaci* enfeksiyonu. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 72 (1), 73-78.

BARR DA, SCOTT PC, O'ROURKE MD, COULTER RJ (1986) Isolation of *Chlamydia psittaci* from commercial broiler chickens. *AVA*, 63, 377-378.

BEECKMAN DS, VANROMPAY DC (2009) Zoonotic *Chlamydophila psittaci* infections from a clinical perspective. *Clin Microbiol Infect*, 15 (1), 11-17.

BLACK CM (1997) Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev*, 10 (1), 160-184.

BODETTI TJ, JACOBSON E, WAN C, HAFNER L, POSPISCHIL A, ROSE K, TIMMS P (2002) Molecular evidence to support the expansion of the host range of

*Chlamydomonas pneumoniae* to include reptiles as well as humans, horses, koalas and amphibians. *Syst Appl Microbiol*, 25, 146-152.

BULIR D, MAHONEY J, LIANG S (2017) Researchers produce first widely protective vaccine against chlamydia. *Vaccine*. Erişim: [[https://www.eurekalert.org/pub\\_releases/2016-07/mu-rpf071916.php](https://www.eurekalert.org/pub_releases/2016-07/mu-rpf071916.php)], Erişim tarihi: 30.09.2017.

CECHOVA L, HALANOVA M, KALINOVA Z, CISLAKOVA L, HALAN M, VALENCAKOVA A (2016) Detection of *Chlamydia psittaci* in Feral Pigeons (*Columba Livia Domestica*) in Slovakia and their Characterisation. *Ann Agric Environ Med*, 23 (1), 75-78.

CFSPH (2017). The Center for Food Security&Public Health. Psittacosis/Avian Chlamydiosis. Erişim: [<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/psittacosis.pdf>], Erişim tarihi: 30.11.2017.

CHAHOTA R, OGAWA H, MITSUHASHI Y, OHYA K, YAMAGUCHI T, FUKUSHI H (2006) Genetic diversity and epizootiology of *Chlamydomonas psittaci* prevalent among the captive and feral avian species based on VD2 region of *ompA* gene. *Microbiol Immunol*, 50 (9), 663-678.

CONDON K, OAKEY J (2007) Detection of Chlamydiaceae DNA in veterinary specimens using a family-specific PCR. *Lett Appl Microbiol*, 45, 121-127.

ÇELEBİ B, AK S (2006) A comparative study of detecting *Chlamydomonas psittaci* in pet birds using isolation in embryonated egg and polymerase chain reaction. *Avian Dis*, 50 (4), 483-489.

ÇETİNKAYA E, AYHAN K (2012) Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler. *Karaelmas Science and Engineering Journal*, 2 (1), 53-62.

DEMİRÇİ M (2018) Bakteriyoloji - Klamidya (*Chlamydia*) ve Klamidofila (*Chlamydomonas*). Erişim: [<http://www.microbiologybook.org/Turkish-bact/bactchapter20turk.htm>], Erişim tarihi: 10.06.2018.

DICKX V, BEECKMEN DSA, DOSSCHE L, TAVERNIER P, VANROMPAY D (2010) *Chlamydomonas psittaci* in homing and feral pigeons and zoonotic transmission. *J Med Microbiol*, 59, 1348-1353.

- DOVE A, KOS U, SLAVEC B, GOLJA J (2000) The spread of chlamydiosis (Chlamydia) in free living pigeons (*Columba livia domestica*) in Ljubljana. *Veterinarske Novice*, 26 (Supplement 1), 73-75.
- DURMAZ R, OTLU B, ÇALIŞKAN A, GÜRSOY N (2007) *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella* türlerinin moleküler tiplendirilmesinde kullanılabilir kısa süreli "Pulsed Field Gel" elektroforez (PFGE) protokolü. *ANKEM Derg*, 21 (2), 113-117.
- EIDSON M (2002) Psittacosis/avian chlamydiosis. *JAVMA*, 221 (12), 1710-1712.
- EVERETT KD (2000) Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye. *Vet Microbiol*, 75, 109-126.
- FLAMMER K (2000) Preliminary notes on treatment of chlamydiosis with doxycycline medicated water. Proceedings of the Annual Conference of Association of Avian Veterinarians, August 30-September 1, 2000, Oregon, USA. p: 3-5.
- GEENS T, DEWITTE A, BOON N, VANROMPAY D (2005) Development of a *Chlamydia psittaci* species-specific and genotype-specific real-time PCR. *Vet Res*, 36, 787-797.
- GERLACH H (1999) Chlamydia. In: Avian medicine: Principles and Application. Eds. B.W. Ritchie, G.J. Harrison and L.R. Harrison. HBD International Inc., Delray, Bech, Florida. p: 984-996.
- GRECO G, CORRENTE M, MARTELLA V (2005) Detection of *Chlamydia psittaci* in asymptomatic animals. *J Clin Microbiol*, 43, 5410-5411.
- GRIMES JE (1985) Enigmatic psittacine chlamydiosis: results of serotyping and isolation attempts, 1978 through 1983 and considerations for the future. *JAVMA*, 186, 1075-1079.
- GUO W, LI J, KALTENBOECK B, GONG J, FAN W, WANG C (2016) *Chlamydia gallinacea*, not *C. psittaci*, is the endemic chlamydial species in chicken (*Gallus gallus*). *Sci Rep*, 6, 19638.
- GÜMÜŞSOY KS, ARDA M (1998) Avian klamidiosis (Psittakosis-Ornithosis). *Çiftlik Dergisi*, 172, 71-73.

- HARKINEZHAD T, VERMINNEN K, BUYZERE MD, RIETZSCHEL E, BEKAERT S, VANROMPAY D (2009) Prevalence of *Chlamydothila psittaci* infections in a human population in contact with domestic and companion birds. *J Med Microbiol*, 58, 1207-1212.
- HEDDEMA ER, SLUIS S, BUYS JA, VANDENBROUCKE-GRAULS CME, WIJNEN JH, VISSER CE (2006) Prevalence of *Chlamydothila psittaci* in fecal dropping from feral pigeons in Amsterdam, The Netherlands. *Appl Environ Microb*, 72 (6), 4423-4425.
- HERRMANN B, PERSSON H, JENSEN JK, LOENSEN HD, KLINT M, OLSEN B (2006) *Chlamydothila psittaci* in fulmars, the Faroe Islands. *Emerg Infect Dis*, 12 (2), 330-332.
- HEWINSON RG, GRIFFITHS PC, BEVAN BJ, KIRWAN SE, FIELD ME, WOODWARD MJ, DAWSON M (1997) Detection of *Chlamydia psittaci* DNA in avian clinical samples by polymerase chain reaction. *Vet Microbiol*, 54 (2), 155-166.
- HUMINER D, PITLIK S, KITAYIN D, WEISSMAN Y, SAMRA Z (1992) Prevalence of *Chlamydia psittaci* infection among persons who work with birds. *Isr J Med Sci*, 28 (10), 739-741.
- JEONG J, AN I, OEM J, WANG S, KIM Y, SHIN J, WOO C, KIM Y, JO S, SON K, LEE S, JHEONG W (2017) Molecular prevalence and genotyping of *Chlamydia* spp. in wild birds from South Korea. *J Vet Med Sci*, 79 (7), 1204-1209.
- JOHNSTON WB, EIDSON M, SMITH KA, STOBIERSKI MG (1999) Compendium of chlamydiosis (psittacosis) control, 1999. Psittacosis Compendium Committee, National Association of State Public Health Veterinarians. *J Am Vet Med Assoc*, 214 (5), 640-646.
- KALETA EF, TADAY EMA (2003) Avian host range of *Chlamydothila* spp. based on isolation, antigen detection and serology. *Avian Pathology*, 32, 435-461.
- KALMAR ID, DICXK V, DOSCHE L, VANROMPAY D (2014) Zoonotic infection with *Chlamydia psittaci* at an avian refuge centre. *Vet J*, 199, 300-302.
- KAPAKİN KAT, KAPAKİN S, KUTSAL O (2008) Kanatlılarda klamidyal enfeksiyonlar. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 3 (2), 20-28.

KARAKUZULU H (2003) Türkiye’de önemli hayvanat bahçelerinde bulunan su kuşları ve bakıcılarında *Chlamydia psittaci* prevalansının belirlenmesi. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

KILIÇ A, DOĞANCI L (2003) Chlamydia cinsi bakteriler. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 33, 365-376.

KILIÇ S (2006) Biyolojik silah olarak bakteriler “kategori A ajanlar” *Türk Hij Den Biyol Derg*, 63 (1), 21-46.

KILINÇ AA (2018) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR: Polymerase Chain Reaction). Erişim: [<http://ulvireha.fidanci.org/wp-content/uploads/Ayten-A%C5%9Fk%C4%B1n-K%C4%B1n%C3%A7-Polimeraz-Zincir-Reaksiyonu.pdf>], Erişim tarihi: 10.06.2018.

LAROUCAU K, SOURIAU A, RODOLAKIS A (2001) Improved sensitivity of PCR for *Chlamydia* using *pmp* genes. *Vet Microbiol*, 82 (2), 155-164.

LAROUCAU K, TRICHEREAU A, VORIMORE F, MAHE AM (2007) A *pmp* genes-based PCR as a valuable tool for the diagnosis of avian chlamydiosis. *Vet Microbiol*, 121 (1-2), 150-157.

MADANI SA, PEIGHAMBARI SM, BARIN A (2011) Isolation of *Chlamydia psittaci* from pet birds in Iran. *Int JVR*, 5 (2), 95-98.

MALUPING RP, ORONAN RB, TOLEDO SU (2007) Detection of *Chlamydia psittaci* antibodies from captive birds at the Ninoy Aquino Parks and Wildlife Nature Center, Quezon City, Philippines. *Ann Agric Environ Med*, 14 (1), 191-193.

MARKEY B, LEONARD F, ARCHAMBAULT M, CULINANE A, MAGUIRE D (2013) *Clinical Veterinary Microbiology*. 2nd Edition. Mosby Ltd.

MAXAM AM, GIBERT W (1977) A new method of sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74, 560-564.

MESSMER TO, SKELTON SK, MORONEY JF, DAUGHARTY H, FIELDS BS (1997) Application of a nested, multiplex PCR to psittacosis outbreaks. *J Clin Microbiol*, 35 (8), 2043-2046.

MEYER KF (1965) Psittakosis-lymphogranuloma Venerum Agents. In: Viral and Rickettsial Infections of Man, 4 th edition. Eds. Lennette EH, Schmidt NJ. Philadelphia, PA: Lippincott. p: 603-625.

MIYAGAWA Y, MITAMURA T, YAOI T, ISHII N, OKANISHI J (1935) Studies on the virus of lymphogranuloma inguinale Nicolas, Favre, and Durant I, II, III, IV, V. *Japan J Experiment Med*, 13, 331-338.

OIE (2012) Avian Chlamydiosis. Version adopted by the World Assembly of Delegates.

OIE (2018) Avian Chlamydiosis. Erişim: [[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.03.01\\_AVIAN\\_CHLAMYD.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.03.01_AVIAN_CHLAMYD.pdf)], Erişim tarihi: 06.04.2018.

ORNELAS-EUSEBIO E, SÁNCHEZ-GODOY FD, CHÁVEZ-MAYA F, DE LA GARZA-GARCIA JA, HERNÁNDEZ-CASTRO R, GARCIA-ESPINOSA G (2016) First identification of *Chlamydia psittaci* in the acute illness and death of endemic and endangered Psittacine Birds in Mexico. *Avian Dis*, 60 (2), 540-544.

ÖZBAL Y (1999) Klamidyalar. In: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1.Baskı. Ed. Ustaçelebi Ş. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti. s: 705-714.

ÖZBEY G, KALENDER H, MUZ A (2008) Avian klamidiyozis. *FÜ Sağ Bil Derg*, 22 (1), 41-48.

ÖZEKİNCİ T (2018) Mikrobiyolojide Moleküler Tanı Yöntemleri. Erişim: [<https://www.dicle.edu.tr/Contents/cefc0709-844d-4d95-9d23-be198ae97ac1.pdf>], Erişim tarihi: 10.06.2018.

PAGE LA (1966) Interspecies transfer of psittacosis-lymphogranuloma venereum trachoma agents: pathogenicity of two avian and two mammalian strains for eight species of birds and mammals. *Am J Vet Res*, 27, 397-407.

PETHER JVS (1981) Psittacosis infection from patient to staff. Communicable Disease Report (PHLS) 81/05.

PRUKNER-RADOVCIĆ E, HORVATEK D, GOTTSTEIN Z, GROZDANIĆ IC, MAZIJA H (2005) Epidemiological investigation of *Chlamydophila psittaci* in pigeons and free-living birds in Croatia. *Vet Res Commun*, 1, 17-21.



- RAMON PM, ORONAN RB, TOLEDO SU (2007) Detection of *Chlamydophila psittaci* antibodies from captive birds at the Ninoy Aquino Parks and Wildlife Nature Center, Quezon City, Philippines. *Ann Agric Environ Med*, 14, 191-193.
- RASO TDE F, JÚNIOR AB, PINTO AA (2002) Evidence of *Chlamydophila psittaci* infection in captive Amazon parrots in Brazil. *J Zoo Wildl Med*, 33 (2), 118-121.
- RAZMYAR J, RAJABIOUN M, ZAEEMI M, AFSHARI A (2016) Molecular identification and successful treatment of *Chlamydophila psittaci* (genotype B) in a clinically affected Congo African grey parrot (*Psittacus erithacus erithacus*). *IJVR*, 17 (4), 281-285.
- REINHOLD P (2018) Overview of Chlamydiosis. Erişim: [<https://www.merckvetmanual.com/generalized-conditions/chlamydiosis/overview-of-chlamydiosis>], Erişim tarihi: 04.06.2018.
- SACHSE K, BAVOIL PM, KALTENBOECK B, STEPHENS RS, KUO CC, ROSSELLÓ-MÓRA R, HORN M (2015) Emendation of the family Chlamydiaceae: proposal of a single genus, Chlamydia, to include all currently recognized species. *Syst Appl Microbiol*, 38, 99-103.
- SACHSE K, LAROUCAU K, HOTZEL H, SCHUBERT E, EHRLICH R, SLICKERS P (2008) Genotyping of *Chlamydophila psittaci* using a new DNA microarray assay based on sequence analysis of *ompA* genes. *BMC Microbiol*, 8, 63.
- SAITO T, OHNISHI J, MORI Y, IINUMA Y, ICHIYAMA S, KOHI F (2005) Infection by *Chlamydophila avium* in an elderly couple working in a pet shop. *J Clin Microbiol*, 43 (6), 3011-3013.
- SAMBROOK J, RUSSELL DW (2002) Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd Edition. Science Press, Beijing. p: 461-471.
- SAREYYUPOGLU B, CANTEKİN Z, BAS B (2007) *Chlamydophila psittaci* DNA detection in the faeces of cage birds. *Zoonoses Public Hlth*, 54 (6-7), 237-42.
- SAYADA C, ANDERSEN AA, STOREY C, MILON A, EB F, HASHIMOTO N, HIRAI K, ELION J, DENAMUR E (1995) Usefulness of *omp1* restriction mapping for avian *Chlamydia psittaci* isolate differentiation. *Res Microbiol*, 146 (2), 155-165.

SCHLOSSBERG D (2000) *Chlamydia psittaci*. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition. Eds. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Philadelphia: Churchill Livingstone.

SENN L, HAMMERSCHLAG MR, GREUB G (2005) Therapeutic approaches to Chlamydia infections. *Expert Opin Pharmacol*, 6 (13), 2281-2290.

SMITH KA, BRADLEY KK, STOBIEFSKI MG, TENGELSEN LA (2005) Compendium of measures to control *Chlamydophila psittaci* (formerly *Chlamydia psittaci*) infection among humans (psittacosis) and pet birds. *J Am Vet Med Assoc*, 226, 532–539.

SOMMA M, QUERCI M (2018) Gıda Örneklerinde Genetiği Değiştirilmiş Organizma Analizleri. Bölüm 6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR). Erişim: [<http://gmo-rl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual%20TR/bolum6.pdf>], Erişim tarihi: 10.06.2018.

STORZ J, KRAUSS H (1985) Chlamydia. In: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren Jena. Eds. Blobel H, Schließer T. Fischer. p: 447-531.

TANAKA C, MIYAZAWA T, WATARAI M, ISHIGURO N (2005) Bacteriological survey of feces from feral pigeons in Japan. *J Vet Med Sci*, 67 (9), 951-953.

TIMMS P (1993) Chlamydiosis in Birds, Wild and Domestic Animals: Pathology, Serology, Microbiology, DNA and Antigen Detection. In: Australian Standard Diagnostic Techniques for Animal Diseases. Eds. Corner LA, Bagust TJ, East Melbourne. CSIRO for the Standing Committee on Agriculture and Resource Management.

UYAR NY (2018) Moleküler Yöntemlerin Mikrobiyolojide Uygulanması. Erişim: [<https://www.duzen.com.tr/artfiles/molekulermikro.pdf>], Erişim tarihi: 10.06.2018.

VAN LOOCK M, VERMINNEN K, MESSMER TO, VOLCKAERT G, GODDEERIS BM, VANROMPAY D (2005) Use of a nested PCR-enzyme immunoassay with an internal control to detect *Chlamydophila psittaci* in Turkey. *BMC Infect Dis*, 5, 76.

VANROMPAY D, BUTAYE P, SAYADA C, DUCATELLE R, HAESBROUCK F (1997) Characterization of avian *Chlamydia psittaci* strains using omp1 restriction

mapping and serovar-specific monoclonal antibodies. *Res Microbiol*, 148 (4), 327-333.

VANROMPAY D, DUCATELLE R, HAESEBROUCK F (1995) *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. *Vet Microbiol*, 45 (2-3), 93-119.

VANROMPAY D, HARKINEZHAD T, WALLE M, BEECKMAN D, DROOGENBROECK C, VERMINNEN K, LETEN R, MARTEL A, CAUWERTS K (2007) *Chlamydophila psittaci* transmission from pet birds to humans. *Emerg Infect Dis*, 13 (7), 1108-1110.

VON BOMHARD W, POLKINGHORNE A, LU ZH, VAUGHAN L, VOGTLIN A, ZIMMERMANN DR, SPIESS B, POSPISCHIL A (2003) Detection of novel chlamydiae in cats with ocular disease. *Am J Vet Res*, 64 (11), 1421-1428.

WANNARATANA S, THONTIRAVONG A, AMONSIN A, PAKPINYO S (2017) Persistence of *Chlamydia psittaci* in various temperatures and times. *Avian Dis*, 61 (1), 40-45.

WEST A (2011) A brief review of *Chlamydophila psittaci* in birds and humans. *J Exot Pet Med*, 20 (1), 18-20.

WOLDEHIWET Z (2001) Avian Chlamydiosis (Psittacosis/Ornithosis). In: Poultry Diseases. 5th edition. Ed. Saunders WB. London: UK. p: 194-202.

ZHOU J, QIU C, LIN G, CAO X, ZHENG F, GONG X, WANG G (2010) Isolation of *Chlamydophila psittaci* from laying hens in China. *Vet Res*, 3 (3), 43-45.

ZWEIFEL D, HOOP R, SACHSE K, POSPISCHIL A, BOREL N (2009) Prevalance of *Chlamydophila psittaci* in wild birds-potential risk for domestic poultry, pet birds, and public health? *Eur J Wildl Res*, 55, 575-581.

## ÖZGEÇMİŞ

### Bireysel Bilgiler

**Adı:** Özlem  
**Soyadı:** ALTINTAŞ  
**Doğum Yeri/Tarihi:** Ankara/01.01.1981  
**Uyruğu:** T.C.  
**Medeni Durumu:** Evli

**İletişim Adresi:** T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, Bakteriyojoloji Bölümü. Ahmet Şefik Kolaylı Cad. No: 21/21-A 06020 Etlik – ANKARA.

### Eğitimi:

Hamdullah Suphi İlkokulu	1987-1992
Bahçelievler Cumhuriyet Ortaokulu	1992-1995
Bahçelievler Cumhuriyet Lisesi	1995-1998
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2000-2005

### Mesleki Deneyimi:

Haymana İlçe Tarım Müdürlüğü	2007-2012
Pursaklar İlçe Tarım Müdürlüğü	2012-2016
Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü	2016- -