

1900

T. C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Başkanı :
Doç. Dr. Eralp ARIKAN

BÖLGEMİZDE LEPTOSPIRA İNSİDANSI VE TIPLERİ

(DOKTORA TEZİ)

Uz. Kadri GÜL

Doktora Yöneticisi
Doç. Dr. Eralp ARIKAN

DIYARBAKIR - 1985

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1- 2
GENEL BİLGİLER	3-17
GEREÇ VE YÖNTEMLER	18-24
BULGULAR	25-34
TARTIŞMA	35-51
SONUÇ	52-53
ÖZET	54
KAYNAKLAR	55-60

GİRİŞ VE AMAÇ

Leptospirosis dünyada yaygın hastalıklardan birisidir. Özelliği gelişmiş ve gelişmemiş tüm ülkelerde görülmesidir(19, 36). Birçok infeksiyon hastalıklarının ortadan kalktığı ülkelerde leptospirosis hala bir problem olmakta devam etmekte olup bu infeksiyon hakkında bol yayınlar yapılmaktadır.

Ülkemizde klinik vakalara raslanmakla birlikte indirekt teşhis yöntemleri infeksiyonun yaygınlığını göstermektedir. Bundanda hastalığın subklinik şekilde veya gizli seyrettiği anlaşılmaktadır(2,3,14). Hastalığın gelişmiş ülkelerde de görülmesinin nedeni en yaygın zoonozlardan olmasıdır. Hemen hemen tüm evcil ve yaban hayvanları leptospirosis rezervuarı ve portörü olabilmektedir. Kemiriciler, besin olarak veya başka amaçlarla faydalandığımız evcil hayvanlardan koyun, sığır, domuz ve birçok hayvanlar infeksiyon etkenleri taşırlar(15,16). Ülkemizde de yapılan çalışmalar sonunda koyun, keçi, sığır ve atlarda infeksiyon belirlenmiştir(28,35,62).

Günümüze kadar gerek insanlar ve gerekse hayvanlarda yeni yeni serotipler teşhis edilmiş ve edilmektedir(8,37,58). Değişik hastalık tabloları ile seyreden leptospirozun genel bakteriyolojik yöntemlerle incelenmesi çok güç olduğundan insan ve hayvanlarda hastalığın teşhisi semptomatolojik veya serolojik yöntemlerle olmaktadır(21,61,65).

Halk sağlığı açısından önemli bir zoonoz olan leptospiroz ülkemizde de enfeksiyöz hastalıklar arasında yer almaktadır. İnsanlara rezervuar ve portörler yanında su ve gıda maddeleriy-lede geçmektedir. Ayrıca etkenlerin direkt olarak deriden geçme

özelliği olduğundan eltik işçileri, kanalizasyon işçileri ve hayvan kesimleri ile uğraşan kişilerin hastalığa yakalanma şansları daha yüksektir(48,6,3).

Bu bilgilerin işığında, bölgemizde leptospiralar üzerinde çalışma yapılmadığından ve bölgenin sosyo ekonomik durumundan hareketle, bölgemizde insan ve hayvanlarda indirekt yöntemle leptospirosis insidansı ve hastalık yapan serotiplerinin saptanması tez konusu olarak alınmıştır.



GENEL BİLGİLER

Leptospirosis ilk defa 1886 da WEIL tarafından tanımlanmış ve bundan sonra kendi adıyla anılmıştır.

INADA ve IDO 1915 de ilk defa hastalık etkenini bulmuşlar ve farelerin rezervuar olduğunu göstermişlerdir.

NAGUCHI 1917 yılında spirocheate veya treponema diye bilinen bu bakteriye leptospira adını vermiştir.

1917-1950 yılları arasında çeşitli araştırmacılar leptospira serogrup ve serotiplerini izole ve idantifiye ederek yayınlamışlardır(1,10,22,49,51).

Yurdumuzda bu konudaki ilk çalışma 1915 yılında REŞAT RIZA bey tarafından yapılmıştır(2,5,48,51). 1921 yılında HÜSAMETTİN ŞERİF bey yurdumuzda Weil hastalığının varlığını bildirmiştir(5).

İkinci Dünya Savaşı yıllarında KEMAL HÜSEYİN PLEVNELİOĞLU erlerden leptospira izole ederek, çamurdan geçtiği için çamur humması denilen hastalığın etkeni olan leptospira grippotyfoza'nın Türkiye'de bulunduğunu belirlemiştir.

1958'den sonraki yıllarda MESUDE AKTAN bu hastalığın ülkemiz için ne denli önemli olduğunu gösteren çeşitli araştırmalar yayınlamıştır(2,3,5,53).

Leptospiralar sık sarmalı, ince, esnek, boyları 5-20 mikrometre, enleri 0.1-0.2 mikrometre olan uçları genellikle yarım çember şeklinde bir bakteridir. Aktif hareketleri sayesinde C, O, S harfleri, elbise askısı, tenis raketi, çengel gibi çeşitli şekiller alan mikroorganizmalardır(27).

Vücutlarında 20 kadar sarmalın bulunduğu gözlenmiştir. Spirallerin arası 0.1 milimikron genişliğindedir. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde ortasında merkezi bir iplikçik, etrafında ince bir membran olduğu görülmüştür. Merkezi iplikçik burgumsu bir protoplazma silindiri şeklindedir(61). Ortalarında genellikle iki fibrilden oluşmuş bir aksial filament bulunur. Gövde bunun etrafına sarılmıştır. Vücut ve aksial filament bir kılıfla muhafaza altına alınmıştır. Membranın 3-5 tabakadan meydana geldiği belirtilmiştir(6,26). 2 flageli vardır.

Karanlık alan mikroskobunda görülmesi mümkün olan leptospiralar tesbih ve inci tanesine benzeyen parlak biçimli granüller halinde görülürler(6,45,46,51,61).

Hareketli bir bakteri olup hareketleri 3 şekilde görülür. Uzun eksen etrafında dönme, aksial filamentin kasılıp genişlemesi ve kayma hareketi şeklindedir(6,49).

Leptospiralar gram negatiftirler. Anilin boyaları ile iyi boyanmayan leptospiralar gimsa ve daha iyi olarakta gümüşleme (Levaditi, Fontana) ile boyanırlar(1,6,45,51,60,61). Çini mürekebi ile de görünür hale gelirler(6).

Exotoksin ve Endotoksinleri yoktur(6,51,61). Aerob bir bakteri olarak bilinir. 28°C-32°C arasında , pH 7.2-7.4 gibi hafif alkali ortamlarda üremelerini sürdürebilirler. Genellikle rutin çalışmalarda sıvı KORTOFF besiyeri kullanılır(6,46,47,51).

Yavaş üredikleri için ilk izolasyonda kültürlerin 3-5 hafta inkübasyonda tutulması tavsiye edilmektedir(57). Spiroket bakterileri arasında en kolay üretilenidir(46,51).

KORTOFF vasatından başka kullanılan besi yerleri; STUART, NAGUCHI, SCHÜFFNER, FLETCHER, WERWORD, yarı katı CHANG,

5 Fluorouracil, Ellinghausen albumin yağ asitleri buyonudur(11). Bundan başka tavuk embrionunun coryo-allantoik zarında ürerler(6, 27, 61).

Bazı araştırmacılar; % 1'lik yumuşak agarda üreyerek koloni oluşturduğunu ve dayanma sürelerinin daha çok olduğunu belirtmişlerdir(4,49). İnvitro pasajlar yaparak oluşturulan bu kolonilerin invivo yapılan pasajdan sonraki kültürde yüzeyde invitro yapılan pasajlardan sonra ise yüzey altında koloni oluşturma eğiliminde olduklarını belirtmişlerdir. Kolonileri küçük çiğ damlaları şeklinde görülmektedir. Yüzey altında koloni oluşturmalarının nedeni fakültatif anaerob olmaları ve hareket özelliklerindedir. Yüzeydekilerde ise oksijene olan gereksinimlerindedir. Sıvı vasatlarda yapılan çalışmalarda leptospiraların daha hareketli ve sayıca fazla olduğu görülmüştür(49).

Berkefeld süzgecinden virüsler gibi geçebilirler. Leptospiraların karakterleri diğer bakteriler gibi isimlendirmeye, bu yolla serogrup ve serotiplerine ayırmaya imkan tanımamaktadır. Serotiplere ait özgül ve ortak antijenleri vardır(45,51,52,61).

HAUPOLA ve arkadaşları, 1969 da leptospiraların DNA kombinasyonlarına göre patojen ve saprofit tiplerini ayırma olanağını bulduklarını söylemişlerdir. Patojen leptospiraların DNA' larını oluşturan guanine ve cytozine ile iki genetik guruba ayırdıklarını ve aralarında immunolojik benzerlik bulunduğunu söylemişlerdir. DNA' sında G+C miktarı % 36-39 mol.dur(45,61).

Leptospiraların klasifikasyonunda şu anda en geçerli tablo Leptospira Taxonomik Alt Komitesinin yaptığı tablodur. Buna göre iki büyük guruba ayrılırlar:

1- *Leptospira interrogans*

2- *Leptospira biflexa*

1- *Leptospira interrogans*: İnsan ve memeli hayvanlarda hastalık yapabilen tüm patojen ve parazit leptospiraları içerir. Bu grupta antijen yapılarına göre 18 serogrup ve her serogrupta çeşitli serotipler vardır. Bugün bilinen serotipler 180 civarındadır(26,61).

2- *Leptospira biflexa*: Bu grupta tüm saprofit leptospiralar toplanmıştır(45,52,61,69). Kendi aralarında antijenik benzerliklerinden dolayı kross reaksiyon vermektedirler. Bunun için bu çalışmalarda heterolog antijenler kross absorpsiyonu ile ortadan kaldırılır. Mikroskobik aglutinasyon testi ile iki kez denenmiş ve ancak % 10 civarında heterolog antijen varsa, bu suşlar serotip olarak kabul edilmiştir(34).

Hayvan ve insanlarda izole edilmiş olan *Leptospira* interorgans'ların serotiplerinin listesi:

Serogrup	Serotip		
Australis	Australis	Hawain	N.caragua
	Bangkok	Jalna	Peruviana
	Bratislava	Lora	Pina
	Fugis	Muenchen	Ramusi
Automnalis	Alice	Fort-bragg	Rachmati
	Automnalis	Lanka	Srebarna
	Bangkinang	Louisiana	Sumatrana
	Bulgarica	Mooris	Tingo-Maria
	Erinacei-auriti	Orleans	
Ballum	Arboreae	Ballum	Castellonis
Bataviae	Argentini-ensis	Brasiliensis	Kobbe
	Balboa	Claytoni	Paidjan
	Bataviae	Djatzi	
	Butembo	Butembo	
Canicola	Bafani	Canicola	Malaya
	Benjamin	Galtoni	Portland-vere
	Bindjei	Jonsis	Schueffneri
	Bromi	Kamituga	Sumneri
Celledoni	Celledoni	Whitcombi	
Cynopteri	Cynopteri	Tingo Mariensis	
Djasiman	Djasiman	Grungi	Sentot

Grippotyphosa	Canalzonae	Muelleri	Valbuzzi
	Grippotyphosa	Ratnapura	Vanderhoedeni
Hebdomadis	Beye	Kabura	Nona
	Borincona	Kambale	Perameles
	Georgia	Kremastos	Szwajizak
	Goiano	Maro	Tabaquite
	Hebdomadis	Mini	Worsfoldi
	Jules		
Icterohaemorrhagiae	Birkini	Icterohaemorrhagiae	Nelambari
	Bog-vere	Mankarso	Sarmin
	Budapest	Monymusk	Smithi
	Copenhageni	Mvogolo	Tonkini
	Dakota	Naam	Weaveri
	Gem	Ndahambukuje	
Javanica	Anhoe	Javanica	Sofia
	Ceylonica	Menoni	Sorex-Jalna
	Coxi	Poi	Vargonica
	Fluminense	Rio	Waskurin
Panama	Cristobali	Mangus	Panama
Pomona	Monjakov	Pomona	Tropica
	Mozdok	Proechimys	
Pyrogenes	Abramis	Hamptoni	Pyrogenes
	Alexi	Kawali	Robinsoni
	Biggis	Manilae	Varela
	Camlo	Myocastoris	Zanoni
	Guaratuba	Princetown	
Sejroe	Balcanica	Hardjo	Roumanica
	Caribe	Istrica	Rupa Rupae

	Dikkeni	Medanensis	Saxkoebing
	Geyaweera	Nyanza	Sejroe
	Gorgas	Polonica	Trinidad
	Guaricurus	Recreo	Wolffi
	Haemolytica	Ricardi	
Shermani	Babudieri	Shermani	
Tarassovi	Atchafalaya	Gatuni	Moldaviae
	Atlantae	Guidae	Navet
	Bakeri	Kanana	Osetica
	Bravo	Kaup	Rama
	Carimagua	Kisuba	Tarassovi
	Changres	Langati	Tunis
	Derien	Luis	Vughia

Leptospira hücre antijenleri P ve S diye ikiye ayrılır:

1- P antijeni hücre yüzeyine yerleşmiştir. Normal olarak aglutinin gibi çalışır. P antijeninin birleşimi tam olarak bilinmemektedir. Polisakkarit ile bereber bulunan bir protein olduğu sanılmaktadır.

2- S antijeni somatik antijendir. Merkezi olduğu için ancak hücre parçalandıktan sonra açığa çıkar. Lipopolisakkarit yapısında bir maddedir. Diğer bakterilerdeki somatik antijenler le benzerlik gösterir(40,42).

Leptospiraların kendi aralarında kross reaksiyonları olduğu gibi bazı bakteriler lede aynı tip reaksiyon verirler. Schneider leptospiralardan elde ettiği bir antijenin Histoplazma ve Basillus dermatitis ile minor bir kross, Rothstein leptospira pomona tip 2 ile Shigella dysanteria antiserumu ile kross reaksiyon verdiklerini göstermişlerdir(40).

Reagin oluşumundan dolayı frengi testleri ile karışıma neden olurlar(51).

Leptospiraların virülansına etki eden faktörün ne olduğu tam olarak anlaşılamamıştır.İnvivo deneylerden sonra yapılan kültürlerde koloni ve hücre morfolojisinin değiştiği gibi virülans ve antijenik transformasyonun da oluştuğu gözlenmiştir (40,45).

Zoonoz bir hastalık olan leptospirosis, sıçan, fare, köpek, çakal, domuz, tarla faresi, yarasa, kirpi, sığır, tilki, sincap, kedi, at, koyun gibi birçok evcil ve yabani hayvanların idrarlarıyla doğrudan veya dolaylı olarak bulaşır (26,39).Kontamine olmuş içme ve kullanma suları önemli bir enfeksiyon kaynağıdır. Hastalığın alınışı burun, ağız, göz ve vajen mukozasından olmaktadır. İnsandan insana bulaşma oldukça seyrekdir. Hayvanların ısırılmaları ile ve sütleriyle de geçebilir (6,46,51,61,65,66).

Her mevsimde görülürse de, soğuk iklime fazla dayanıklı olmadığından sıcak ve rutubetli iklimlerde daha fazla görülür (29). Soğuk iklimlerde sıcak kanlı hayvanların vucutlarında barınmak suretiyle ertesi yıla ulaşırlar.Haziran ve ekim ayları arasında vakaların görülme sıklığı artar (29,61).

Leptospira enfeksiyonlarının klinik belirtilerle teşhisi pek güvenilir değildir. İki fazlı hastalık olan leptospiranın ilk dönemi grip, tifo, polio, brucella, çeşitli pnömoniler, tüberküloz ve menenjitle karışabilir. Tam ve kesin teşhis için laboratuvar çalışmalarına gerek vardır(1,5,20,29,46,51,56,60).

Hastalık alındıktan sonra birinci faz olan ilk dönemde hasta ateşlenir. 1-2 hafta süren bu ateşli dönemden sonra ateş düşer. 5-10 gün sonra tekrar yükselen ateşle hastalık ikinci

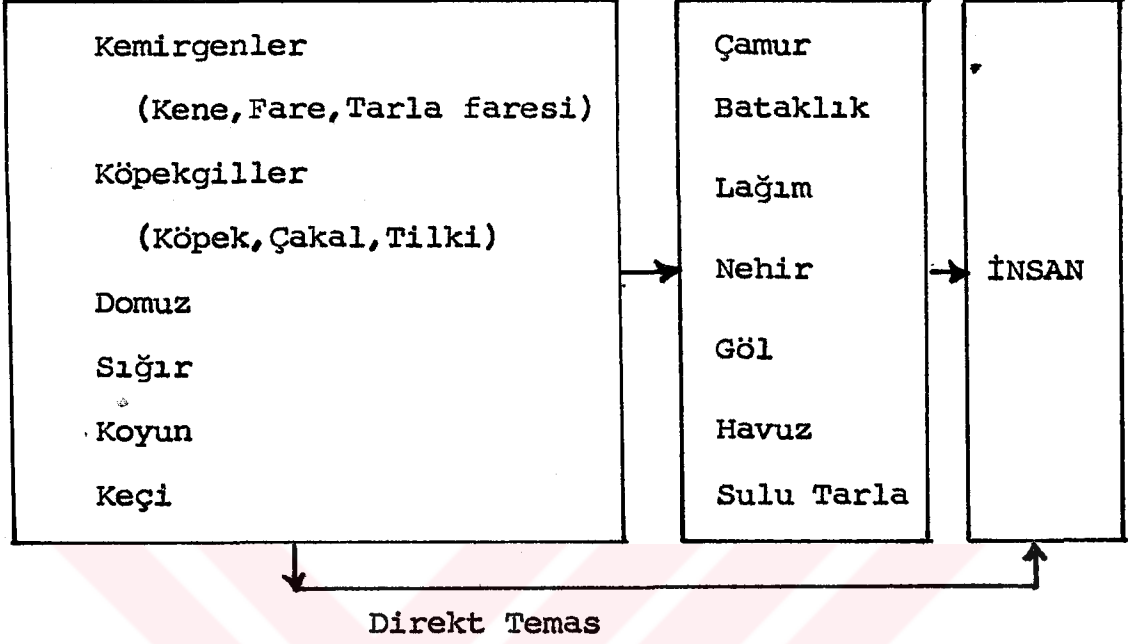
faza girer. 5-10 gün süren bu dönemden sonra ateş düşer, hasta nekahat dönemine girer(29).

İnsan ve hayvanlarda ikter, septisemi, anemi, memoglobüri, abortus, mastitis yaparlar. Mortalite sarılıklı vakalarda % 20-30, sarılıksız vakalarda % 1-2 dir(33,61).

Epidemiyolojik olarak leptospiraların yayılmasında en önemli etken fare ve sıcan popülasyonunun fazlalığıdır. Barınmaları genellikle kanalizasyon ortamıdır. Alt yapı yetersizlikleri ve buna bağlı olarak lağım ve hela sularının kuyulara ve zaman zaman bozulan şehir su şebekelerine, suların kesilmesiyle meydana gelen negatif tayik dolaysılada bozuk yerlerden borulara sızarak bu suları kontamine etmeleri mümkündür(20).

Leptospirosis meslek hastalığı olarakta kabul edilmektedir. Domuz ve köpek üreticilerinde, kanalizasyon işçilerinde, piriç tarlalarında ve ıslak ortamlarda çalışanlarda, kömür ve maden işçilerinde, veteriner hekimlerde, şeker kamışı tarlalarında çalışanlarda daha çok görülür. Kontamine olmuş su ve havuzlara girmekle deri yoluyla hatta bu sularda tutulan balıklardan bile geçtiği söylenmektedir(29).

Enfeksiyon Zinciri



Önlem almak için; kanalizasyon kontrolü, çıplak ayakla çalışma yapılmaması, çocukların sulara ve kontrolsüz havuzlara girmelerinin önlenmesi, hasta hayvanların veteriner hekimlerin kontrolünden geçirilmesi ve gecekondu semtlerindeki helaların kontrolü gerekmektedir. Aşılamanın da yararlı olduğu savunulmaktadır. Yurdumuzda aşılama konusunda çalışmalara ALTAN BULU tarafından öncelikle hayvanlarda denenerek başlanmıştır(12,29,64).

Hastalık şüphesinde leptospiraların laboratuvar tanımları için insan ve hayvanların çeşitli materyallerinden örnekler alınabilir. Bunlar kan, idrar, B.O.S., sternal fonksiyon sıvısı gibi materyaller olabilir. Gelen bu materyallerden direkt mikroskopi, kültür ve hayvan deneyleriyle serolojik çalışmalar yapılır (21,46,51,60).

Direkt Mikroskopi : Kan, Altona ve Ruls tekniği ile,

karanlık alan mikroskobunda incelenir. Dikkat edilecek nokta; alyuvarlardan köken alan ve myelin cisimleri diye adlandırılan flamanto artefaktların leptospira ile karıştırılmamasıdır. Bunlar leptospiraya benzediklerinden pozitif sonuç verme yanlıgısı yaratabilirler (21,46,51,60,65).

İdrar, B.O.S. ve sternal punksiyon sıvısındaki incelemede; 5000 rpm'de santrifüj edilen materyal dipten alınır ve direkt yahut boyanarak incelenebilir. Tipik mikroorganizmaların görülmesi tanı için yeterlidir (46,51).

Kültür : Leptospirayı izole etmek için en iyi yollardan biridir. Bütün alınan materyallerden kültür yapılabilir. Bundan başka, ölü insan ve hayvanlardan steril koşullarda, karaciğer ve böbrekten alınan materyal steril havanda ezildikten sonra kültür materyali olarak kullanılabilir.

Kültür için genellikle sıvı besi yerleri kullanılmaktadır. Bunların üretme potensisi daha fazladır. Ancak kontaminasyon ihtimali sıvı vasatlarda yüksek olduğundan bazı araştırmacılar katı vasatları önermektedir.

Hastalığın 5. ve 6. günlerinde yapılan kültürler % 60 civarında olumlu sonuç vermektedir (4).

Hayvan Deneyi : Kullanılan en duyarlı yöntemdir. Duyarlı olan hayvanlar hamster, kobay ve farelerdir. Hastalığın ilk günlerinde alınan materyal intraperitoneal olarak hayvana verilir. 24-48 saat içinde alınan vücut sıvıları; kan, beyin ve iskelet kaslarından alınan materyal, direkt mikroskopi ve kültür yöntemleriyle leptospirayı izole etmekte yardımcı olur. Levaditi yöntemi ile organ parçalarının boyanması mümkündür (48,51,60).

Sularda *Leptospira* Aranması : Şüpheli sulardan santrifüj yöntemi ile elde edilen çöküntünün birkaç kobaya inokülasyonu veya karın derisi traş edilmiş kobayın suyun içine batırılması yoluyla izolasyon mümkündür.

Serolojik Yöntemler : Geçirilen enfeksiyonlar organizmada çeşitli tipte spesifik antikorlar oluştururlar. Bunlar aglutinin, litik antikorlar, komplemanı fikse edici antikorlar, presipitin ve hemolizinlerdir. *Leptospira* antikorlarının immunglobulin M (IgM) ve immunglobulin G (IgG) yapısında olduğu hayvanlarda ve insanlarda deneysel olarak gösterilmiştir. Yalnız *leptospira* enfeksiyonu geçiren tüm insanlar IgM oluşturdukları halde IgG'yi hepsi oluşturmaz. IgG'yi oluşturmamasındaki nedenin kişisel farklılıklardan ileri geldiği düşünülmektedir. IgM antikorları IgG antikorlarına göre birkaç hafta önce oluşurlar. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda intravenöz verilen immunizasyonda IgM'lerin meydana geldiğini, subkutan verildiğinde de IgM olduğu kadar IgG'lerinde meydana geldiği gösterilmiştir. IgG'lerin IgM'lere nazaran daha özgül oldukları bildirilmiştir (6,26).

Leptospira antikorları hastalığın ortaya çıkmasını takiben 4. ve 6. günlerde belirir, 3. - 4. haftada maksimum titreye erişir. Enfeksiyondan sonra aglutinin titreleri aylarca ve yıllarca kalabilir. Ciddi bir enfeksiyonda 20-22 yıl kadar organizmada antikor bulunduğu belirlenmiştir (10,52).

Polysakkarit tabiatında olan *leptospira* antijenlerine karşı oluşan bu antikorlar spesifik bir antijen-antikor kompleksi oluşturdukları *invivo* ve *invitro* çalışmalarda gösterilmiştir (50).

Leptospiraların patojen ve saprofit tiplerinin morfolojik özellikleri aynıdır. Direkt preparat, kültür ve hayvan deneylerinde sadece etkenlere leptospira adı verilir. Epidemiyolojik yönden çok önemli olan tip tayini yapabilmek için serolojik testlere başvurmak gerekir (1).

Serodiyagnostik testler erken teşhise pek yardımcı olmazlar. Ancak klinik ve epidemiyolojik verilerle birlikte aktif veya geçmiş leptospira enfeksiyonlarının belirlenmesine yardımcı olurlar.

Leptospira teşhisinde hastalığın bugüne mi ait; yoksa geçirilmiş bir enfeksiyona mı ait olduğunu anlamak için birini hastalığın ilk günlerinde diğerini ise 10. gün ile 2 hafta sonra olmak üzere iki kan örneği ile çalışmak gerekir. Leptospira serolojisinde invitro olarak yapılacak çalışmalarda seçilebilecek materyal; kan serumu, plazma ve B.O.S. dur. İleri tetkiklerden floresan antikor tekniğinde özgül konjugat varsa bunların yanında dokularda, plevra ve periton sıvılarından da çalışılabilmektedir (6,10,50).

Leptospira serolojisinde son yıllarda kullanılan belli başlı yöntemler şunlardır (17,22,37,40,54,58);

- a- Makroskobik Aglutinasyon ve Mikroskobik Aglutinasyon Testleri (canlı antijenle çalışılan).
- b- Makroskobik Aglutinasyon ve Mikroskobik Aglutinasyon Testleri (formalinle öldürülmüş antijenle çalışılan).
- c- İndirekt Hemaglutinasyon Testi.
- d- Kompleman Fiksasyon Testi.
- e- Lateks Aglutinasyon Testi.

f- İmmunofloresans Testi.

g- İmmunoelektroforez Testi.

h- ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

Bu testlerin içerisinde en duyarlı ve en özgüf olanları :

a- Mikroskobik Aglutinasyon Testi.

b- İmmunofloresans Testi.

c- ELISA Yöntemidir.

a- MAT.: Makroskobik aglutinasyon testi genellikle leptospira interorganslarla olan antijenik benzenliğinden dolayı Leptospira bifleksa Patoc I suşu kullanılır. Canlı antijenle çalışılan bir testtir. Lam üzerinde oldukça kolay, antijen titresi düşük ve gözle görülebilen test olması bakımından ekonomik bir testtir. Ön eleme yapmak için rutinde kullanılır. Ön elemde pozitif çıkan vakalarda üst titre tesbiti yapmak için Mikroskobik Aglutinasyon testine başvurulur. Bu teste eskiden Aglutinasyon- Lysis adı verilmekteydi. Artık olayda leptospiraların lyse olmadıkları, aglutinasyon bozulduğu zaman leptospiraların eski hareket özelliğini kazandıkları araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur. Bugün için Mikroskobik Aglutinasyon olarak anılmaktadır(5,10,26,67).

b- Mikroskobik ve makroskobik olarak çalışılan bu testlerde formalinle öldürülmüş antijen kullanılır. Leptospira Patoc I veya Leptospira interorgansların serogrup ve serotipleri ile hazırlanmış antijenlerle çalışılmaktadır. Bu test rutinde daha güvenilir sonuç verdiği için daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Canlı antijenlerle yapılan çalışmalarda antijenin stabil kalmadığı,

standardize edilememe güçlüğünden dolayı formalinle öldürülmüş antijenlerle yapılan mikroskobik aglutinasyon testi tercih edilmektedir(26,52).

c- İndirekt Hemaglutinasyon Testi : ORh(+) insan veya koyun kanı eritrositleri hassaslaştırılarak yüzeyleri leptospira antijeniyle kaplanmaktadır. Bağışık serumlarla karşılaşılan bu eritrositlerin aglutine olması esasına dayanan bir testtir(26,44).

d- Kompleman Fiksasyon Testi : Yaygın olarak kullanılmaktadır. Ölü antijen veya kimyasal ekstraktlar kullanılarak uygulanır. Akut vakalarda kullanılabilen bir testtir(10,52,69).

e- Lateks Aglutinasyon Testi : Lateks partiküllerine antijen fikse edilir. Özgül antiserum karşısında aglutine olurlar.

f- İmmunofloresans Test : Genellikle florescein izotiosiyanat maddesi konjugat olarak kullanılır. IgG ve IgM'leri ortaya çıkardığı için hassas bir testtir. Antijen olarak Leptospira bifleksa Patoc I ve Leptospira interrogans winjberg kullanılır(26).

g- İmmunoelektroforez : Leptospiraların IgG ve IgM'lerini ortaya çıkarmak için yapılan bir testtir.

h- Elisa : Spesifik IgG ve IgM'lerin ayırımında yardımcı bir testtir. Testin özelliği kullanılan insan ve hayvanların serum tipine ve antijenine bağlıdır. Suş olarak, Leptospira interrogans'lardan Kopenhagen winjberg kullanılmıştır.

GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda antileptospiral antikorları saptamak amacıyla toplam 900 serum kullanıldı. Bu serumların 400'ü klinik olarak şikayetleri olmayan normal kişilerden, 200'ü et ve et türevleri ile uğraşanlardan 300'ü de hayvanlardan alınmıştır.

Leptospiralar dış etkilere karşı çok duyarlı bakteriler olduğundan, çalışmamızda kullandığımız gereçler aşağıda belirtilmiş şekilde kullanılmaya hazır duruma getirildi (21,61,70).

Kullanılan cam malzemeler:

Deney tüpleri: Test için 10x80 mm'lik, kültür için 15x160 mm'lik vida kapaklı, santrifüj için 15x130 mm'lik, serum sulandırma ve kan alımı için 10x100 mm'lik tüpler,

Besiyeri yapımında 250 ml'lik vida kapaklı balon jojeler,

Preparat hazırlamada 25x70 mm'lik ebatındaki lamalar ve 18x18 mm büyüklüğündeki lameller ve amaca uygun pipetler kullanıldı.

Cam malzemenin yıkanması ve sterilizasyonu:

Çalışmamızda kullandığımız cam malzeme otoklavda 120°C de 20 dakika sterilize edildi. Sterilizasyondan sonra malzemeler çeşme suyunda deterjan ile temizce yıkandı. Daha sonra % 10 luk nitrik asit ihtiva eden suda 4 saat kadar bekletildi buradan alınan malzemeler tekrar çeşme suyundan geçirildikten sonra içerisinde distile su bulunan küvetlere bırakılarak buradada 18 saat kadar tutuldular. Bu süre sonunda kurutma dolabına alınan malzemeler kurutulduktan sonra Pastör fırınında 180°C de 1.5 saat sterilize edildikten sonra kullanılmaya hazır duruma getirildiler.

Çalışmamızda kullandığımız pipetlerde önce sulandırılmış zefiran içerisinde enaz 18 saat tutuldu. Sonra çeşme suyu ile yıkınarak buradan % 10 nitrik asit ihtiva eden yıkama kuvvetlerine alındılar. Burada enaz 4 saat bekletildikten sonra tekrar çeşme suyu ile yıkanarak distile su ihtiva eden kuvetlere alınıp buradada 18 saat kadar tutulduktan sonra kurutma dolabına alınıp kurutulmaları sağlandı. Kuruyan pipetler pipetej işlemine tabi tutuldu, daha sonra Pastör fırınında 180°C 1.5 saat sterilize edildi. Böylece pipetler kullanılmaya hazır duruma getirildi.

Lam ve lameller ise sulandırılmış zefiranda uzun süre tutulduktan sonra çeşme suyunda yıkanarak alkol-eter içerisinde alındılar. Alkol-eter içerisinde 4 saat kadar tutulduktan sonra buradan distile su içerisinde alıp iyice yıkandılar, temiz gazlı bezler ile silinip kurutulularak kullanılmaya hazır duruma getirildiler.

Kullanılan Besiyeri:

Leptospiraların kültürlerinin yapımında kullanılan besiyerleri genelde sıvı besi yerleridir. Bunların içerisinde en çok kullanılan ve önerileni Korthoff besiyeridir(4,6,10).

Çalışmamızda bizde Korthoff besiyerini kullandık.

Korthoff besiyerinin yapısında şu maddeler bulunmaktadır(7,16).

Pepton	0.8 gm
Sodium Klorür	1.4 gm
Sodium Bikarbonat	0.02 gm
Kalsiyum Klorür	0.04 gm
Potasyum Klorür	0.04 gm
Monopotasyum Fosfat	0.24 gm
Disodyum Fosfat	0.88 gm
Distile Su	1000 ml

Besiyerinin Hazırlanması:

Besiyerinin yapısında bulunan maddeler eritilerek 20 dakika 100°C de kaynatıldı. Süzgeç kağıdından süzildükten sonra 120°C de 20 dakika otoklavda sterilize edildi. Otoklavdan alınan besiyeri soğumaya bırakıldı. Besiyeri soğuduktan sonra içerisine % 8-10 oranında steril inaktive tavşan serumu ve % 0.8 oranında hemoglobinin çözeltisi ilave edildi. Besiyeri vida kapaklı tüplere steril koşullarda aktarılıp kullanıldı.

Kullanılan Deney Hayvanları:

Korthoff besiyerinde kullanılan serum ve hemoglobinin çözeltisinin sağlanması için tavşan kullanıldı.

Kontamine ve dejeneratif leptospiraların tekrar saf halde üretilmesi için Elazığ Viroloji Enstitüsü Hayvan Laboratuvarından Kobay getirildi. Uygun koşullar ve beslenmelerini sağlayamadığımız için kobayları kayıp ettik.

Kullanılan Suşlar:

Antijen olarak Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) nın önerdiği suşlar kullanılmıştır (72, 73, 74). Bu suşlar Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü Leptospira laboratuvarından sağlanmıştır.

Serotype _____ :

butembo

colledoni

canicola

bataviae

pomona

djasiman

Tip-Kütük _____ :

Butembo

Colledoni

Hord Utrecht IV

Swart

Mazzano

Djasiman

hyos	Mitis Johnson
automnalis	Fort Bragg
ballum	Mus 127
icterohaemorrhagiae	M 20
pyogenes	Sallinem
borincana	HS-622
wolffi	3705
javanica	Veldert Batavia 46
australis	Ballico
sejroe	M-84
monte	Walerio
australis	Italy
australis	926
grippotyphosa	3075
grippotyphosa	Moskova V
biflexa	Patoc I
patoc	Italy

Kültürel Çalışmalar:

Hazırlanan besiyerine 20-25 günlük leptospira kültürlerinden her serotip için enaz 3 kültür tüpüne ekim yapıldı. Ancak kültürler ekilmeden önce karanlık alan mikroskopunda incelendikten sonra ekimleri yapılabildi. Dejeneratif form ve spontan aglutinasyon gösteren kültürlerin ne pasajları yapıldı ne de antijen olarak kullanıldılar.

Çalışmamızda antijen olarak kullanılan kültürler en fazla 8 günde bir pasajları yapıldı. Pasajlardan sonra suşlar 30°C lik etüvde inkübasyona bırakıldı. 7-10 gün sonra makroskopik olarak

üreme olup olmaoığına bakıldı. Bu süre içinde genellikle besi yerinin yüzeyinden 0.5-1 cm aşağısında bir üreme halkası görülmektedir. Üreme olmayan tüplere karanlık alan mikroskobu ile bakıldı. Mikroskob sahasında 10-15 leptospira görülen kültürler tekrar 3-5 gün daha inkübasyona bırakıldı. Hiç üreme olmayan tüpler atıldı.

Çalışmamızın uzun sürmesi nedeniyle çok dikkat edilmesine rağmen yapılan sık sık pasajlar sonucunda bazı suşların kontamine olmasını önliyemedik.

Kontamine suşları saf kültür haline getirmek için şu işlem yapıldı(41,43).

Kontamine suşlar steril disposable HA tip 0.45 mikron por genişliği olan millipor filtreden steril bir tüpe süzüldü. Bu filtreler leptospiraları geçirdiği halde diğer bakterileri geçirmemektedir(PPLO organizmaları hariç). Filtre edilen süzün-tüden 3 adet Korthoff besiyerine ekildi. Böylece kontamine suş-lar saflaştırılarak tekrar üretilmeleri sağlandı.

Serolojik Çalışmalar:

Antileptospiral antikorların araştırılmasında bir çok testler bildirilmiştir. Çalışmamızda serolojik reaksiyon olarak üstünlüğü leptospiroloji otoriteleri ve Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) zoonozlar üzerindeki Eksperler Komitesi tarafından kabul edilmiş olan "Mikroaglutinasyon" testi uygulanmıştır. Bu testin esası hasta serumu ile canlı leptospira kültürlerinin karşılaştırılması ve karanlık alan mikroskobunda incelenmesidir(3,27,42,60,73,74).

Testte antijen olarak Korthoff besiyerinde üretilmiş 4-5 günlük leptospira suşları kullanıldı. Suşlar testte kullanılmadan önce karanlık alan mikroskobunda incelendi. Bunun için suş kültürlerinden 1 ml steril bir tüpe alındı. Üzerine 1 ml serum fizyolojik ilave edildi. Bu karışımdan bir damla alınarak mikroskobta incelendi. Her sahada yaklaşık 60-70 leptospira bulunacak şekilde tüpteki antijen yoğunluğu ayarlandı. Bu inceleme esnasında dejeneratif form ve spontan aglutinasyona da dikkat edildi.

Kullandığımız 23 serotip antijenin 19 tanesi farklı serotip olmasına rağmen 4 tanesinin serotipleri aynı fakat Tıp-Kütükleri farklı serotiplerdi. Bunlardan 3 tanesi australis, 2 tanesi grippotyphosa ve 2 tanesi de biflexa grubuna ait serotiplerdi.

Testin Yapılışı:

Kullanılan antijen sayısı kadar test tüpü alındı. Her tüpe kendisine ait antijenin sıra numarası verildi. Diğer bir tüpte serumun 1/50 dilüsyonu yapıldı ve bu serumdan tüm tüplere 0.2 ml bırakıldı. Daha sonra her antijen için ayrı pipet veya Pastör pipeti kullanılarak 0.2 ml antijen serum üzerine ilave edildi. Kullanılan antijenler 5-10 günlük canlı antijenler idi. tüpler 28°C lik etüvde 2 saat bekletildi. Bu süre sonunda tüpler etüvden çıkarıldı ve sıra ile her tüpten bir damla karışım alınarak karanlık alan mikroskobunda incelendi.

Mikroskob sahasındaki bulgular Dünya Sağlık Teşkilatının zoonozlar üzerindeki eksperler komitesinin önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Buna göre 1/100 lük dilüsyonlarda

leptospiralar aglutine oldukları zaman reaksiyon pozitif olarak kabul edilmiştir. Mikroskop sahasında % 50 den fazla serbest, aglutine olmamış canlı leptospiraların bulunması testin negatif olduğunu gösterir. Olumlu kabul edilen serumların kantitatif değerlendirmeleri için dilusyonları yapıldı.



BULGULAR

Mikroaglutinasyon yöntemi ile incelenen 900 serumun 400'ü klinik olarak normal şahıslardan, 200'ü et ve et türevleriyle uğraşanlardan, 300'ü de hayvanlardan alınmıştır.

Klinik olarak normal kişilere ait serumların 25'i (% 6.2), hayvan serumlarının 48'i (% 16), et ve et türevleri ile uğraşan kişilere ait serumların 25'i (%12.5), 1/100 ve üstündeki titrelerde pozitif sonuç verdi.

Et ve et türevleri ile uğraşanlara ait 25 pozitif serumun serotiplere göre dağılımı Tablo 1 de gösterilmiştir. Buna göre; 25 serumun 6'sı L.grippotyphosa (% 3), 4'ü (% 2) L.djasiman, 3'ü (% 1.5) L.butembo, 2'si (% 1) L.icterohaemorrhagiae, 2'si (% 1) L.sejroe, 2'si (% 1) L.pomona, 1'i (% 0.5) L.javanica, 1'i (% 0.5) L.monte ve 4'ü (% 2) L.australis ile aglutinasyon verdi.

Et ve Balık Kurumunda çalışanlardan alınan 184 serumun 24'ü (% 13) pozitif sonuç verdi.Sonuçların değerlendirilmesi Tablo II de gösterilmiştir.Buna göre; Kasaplarda % 22,rendelikte çalışanlarda % 14.2, sucuk servisinde çalışanlarda % 10,dericilikte çalışanlarda % 10, soğuk hava deposu işçilerinde % 10, iç hizmetlerde çalışanlarda % 5.8, kesim salonu işçilerinde % 2 olumlu sonuç alındı.

Ticari amaçla et satan 16 kişiden alınan serumların 1'i (% 6.6) pozitif sonuç verdi (Tablo II).

Ayrıca bu kişilerin mesleklerinde çalışma sürelerine göre de değerlendirme yapıldı (Tablo III). Buna göre; mesleğinde

12-15 yıl çalışanlardan alınan 40 serumun 7'si (% 17.5), 16 yıl ve daha fazla çalışan kişilerden alınan 55 serumun 10'u (% 18.5), 8-11 yıl çalışanlardan alınan 35 serumun 2'si (% 5.6), 4-7 yıl çalışanlardan alınan 25 serumun 3'ü (% 12), 1-3 yıl çalışanlardan alınan 30 serumun 2'si (% 6.6), 1-12 ay çalışanlardan alınan 15 serumun 1'i (% 6.6) olumlu bulundu.

Yaşa göre bulguların dağılımı Tablo IV de gösterilmiştir. Olumlu reaksiyon en fazla 41-50 yaşları arasında görüldü. Bu yaşlardaki kişilerden alınan 54 serumun 12'si (% 22.2), 31-40 yaşları arasındaki kişilerden alınan 80 serumun 9'u (% 11.2), 21-30 yaşları arasındaki kişilerden alınan 31 serumun 2'si (% 6.4), 51 ve daha yukarı yaşlardaki kişilerden alınan 35 serumun 2'si (% 5.7) olumlu bulunmuştur.

Klinik olarak herhangi bir şikayeti bulunmayan 400 kişiden alınan serumların 25'i (% 6.2) pozitif sonuç verdi. Bu serumların serotiplere göre dağılımı Tablo V te gösterilmiştir. Buna göre; *L. automnalis* ile 4 serum (% 1), *L. canicola* ile 4 serum (% 1), *L. icterohaemorrhagiae* ile 6 serum (% 1.5), *L. grippotyphosa* ile 4 serum (% 1), *L. wolffi* ile 2 serum (% 0.5), *L. sejroe* ile 2 serum (% 0.5), *L. australis* ile 3 serum (% 0.7) pozitif sonuç verdi.

Ayrıca bu 400 kişi hayvanlarla teması olanlar ve olmayanlar olmak üzere ayrıldılar. Hayvanlarla teması olan 120 kişiden 10'unda (% 8.3), teması olmayan 80 kişiden 4'ünde (% 5) antileptospiral antikor belirlendi (Tablo VI).

Cinse göre ayırırmda ise; hayvanlarla teması olan 83 erkeğin 7'si (% 8.4), 37 kadının 3'ünde (% 8.1) pozitif sonuç alındı.

Hayvanlarla teması olmayan 55 erkeğin 3'ünde (% 5.4) ve 25 kadının 1'inde (% 4) olumlu sonuç alınmıştır (Tablo VI).

Yaşa göre bulguların dağılımı da Tablo VII de gösterilmiştir. Buna göre; En yüksek oran 41-50 yaşları arasındaki yaşlılarda tesbit edildi (% 9.8). En düşük oran 11-20 yaşları arasındaki yaşlarda belirlendi (% 1.6).

Mesleklere göre bulguların dağılımı da Tablo VIII de gösterilmiştir. Buna göre; antileptospiral antikorlar en fazla işçilerde tesbit edildi. Öğrencilerde antikor belirlenemedi.

Bulguların sosyo-ekonomik duruma göre dağılımı da TABLO IX da gösterilmiştir. Buna göre; şehirde oturanlarda % 5.4, köyde oturanlarda % 7.2 olarak pozitif sonuç alındı.

Et ve Balık Kurumuna kesim için getirilen sığırlardan 165 ve koyunlardan 135 olmak üzere toplam 300 serum alındı. Bu serumların 48'i pozitif sonuç verdi (% 16), Tablo X.

165 sığır serumununun 29'u (% 17.5) olumlu sonuç verdi. Bu serumların serotiplere göre dağılımı Tablo XI de gösterilmiştir. Buna göre; 29 serumun 3'ü (% 1.8) *L.butembo*, 2'si (% 1.2) *L.bataviae*, 2'si (% 1.2) *L.pomona*, 4'ü (% 2.4) *L.automnalis*, 2'si (% 1.2) *L.icterohaemorrhagiae*, 8'i (% 4.2) *L.grippotyphosa*, 5'i (% 3) *L.wolffi* ve 3'ü (% 1.8) *L.australis* ile reaksiyon verdi.

135 koyun serumundan 19'u (% 14) olumlu sonuç verdi. Bu serumlarında serotiplere göre dağılımı Tablo XI de gösterilmiştir. Buna göre; *L.djasiman* ile 1 serum (% 0.7), *L.automnalis* ile 6 serum (% 4.4), *L.icterohaemorrhagiae* ile 4 serum (% 2.9), *L.grippotyphosa* ile 6 serum (% 4.4), *L.wolffi* ile 1 serum (% 0.7) ve *L.sejroe* ile de 1 serum (% 0.7) pozitif sonuç verdi.

SEROTİP	200 Seruma Göre				25 Pozitif Seruma Göre	
	Olumlu Sayısı	Olumlu %	Olumsuz Sayısı	Olumsuz %	Olumlu %	Olumsuz %
L.grippoty.	6	3	194	97	24	86
L.djasiman	4	2	196	98	16	84
L.butembo	3	1.5	197	98.5	12	88
L.icterohae.	2	1	198	99	8	92
L.sejroe	2	1	198	99	8	92
L.pomona	2	1	198	99	8	92
L.javanica	1	0.5	199	99.5	4	96
L.monte	1	0.5	199	99.5	4	96
L.australis	4	2	198	98	16	84
TOPLAM	25	12.5	175	87.5	100	87.5

T A B L O I : Et ve Et Türevleriyle Uğraşanlarda Serumların Serotiplere Göre Dağılımı.

SERUMUN KAYNAĞI	MESLEKLER	İncelenen Serum Sayısı	Olumlu		Olumsuz	
			Sayı	%	Sayı	%
ET ve ET TÜREVELERİYLE ÜĞRAŞANLAR	Dericilik	20	2	10	18	90
	Vet.Hekim	4	-	-	4	100
	Kesim Salonu iş.	10	2	20	8	80
	Tesisatçı ve Marangoz	15	-	-	15	100
	Soğuk Hava Deposu işçisi	20	2	10	8	90
	İç Hizmette Çalışanlar	34	2	5.8	32	94.2
	Sucuk Servisi İşçisi	10	2	10	8	90
	Kasap	50	11	22	39	78
	Rendelik İşçisi	21	3	14.2	18	86.8
	TOPLAM	184	24	13	171	87
	KASAPLAR	Ticari Kasap	16	1	6.6	15
TOPLAM		200	25	12.5	175	87.5

T A B L O II : Et ve Balık Kurumunda Çalışanların Çalıştıkları
Bölgelere Göre Bulguların Dağılımı.

Serumun Kaynağı	Çalışma Süresi	İncelenen Serum Sayısı	Olumlu		Olumsuz	
			Sayı	%	Sayı	%
Et ve Et Türevleriyle Uğraşanlar	1-12 Ay	15	1	6.6	14	93.4
	1-3 Yıl	30	2	6.6	28	93.4
	4-7 Yıl	25	3	12	22	88
	8-11 Yıl	35	2	5.6	33	94.4
	12-15Yıl	40	7	17.5	33	82.5
	16.....	55	10	18.5	45	81.5
	TOPLAM	200	25	12.5	175	87.5

T A B L O III : Çalışma Sürelerine Göre Bulguların Dağılımı.

Serumun Kaynağı	Yaş Grubu	İncelenen Serum Sayısı	Olumlu		Olumsuz	
			Sayı	%	Sayı	%
Et-Et Türevleriyle Uğraşanlar	21-30	31	2	6.4	29	93.6
	31-40	80	9	11.2	71	88.8
	41-50	54	12	22.2	42	77.8
	51.....	35	2	5.7	33	94.3
	TOPLAM	200	25	12.5	175	87.5

T A B L O IV : Yaşa Göre Bulguların Dağılımı.

TABLO V : Normal İnsan Serumlarının Serotiplere Göre Dağılımı.

SEROTİPLER	400 Seruma Göre				25 Pozitif Seruma Göre	
	Olumlu Sayısı	Olumlu %	Olumsuz Sayısı	Olumsuz %	Olumlu %	Olumsuz %
L.automnalis	4	1	396	99	16	84
L.canicola	4	1	396	99	16	84
L.icterohaemorr.	6	1.5	394	98.5	24	76
L.grippotyphosa	4	1	396	99	16	84
L.wolfii	2	0.5	398	99.5	8	92
L.sejroe	2	0.5	398	99.5	8	92
L.australis	3	0.7	397	99.3	12	88
TOPLAM	25	6.2	375	93.8	100	93.8

TABLO VI : Cinsiyete Göre Bulguların Dağılımı.

Serumun Kaynağı	CİNSİ	Değerlendirilen Serum Sayısı	Olumlu		Olumsuz	
			Sayı	%	Sayı	%
İNSAN	Erkek	83	7	8.4	76	91.6
	Kadın	37	3	8.1	34	91.9
TOPLAM		120	10	8.3	110	91.7

Hayvanlarla Teması Olanlar.

Hayvanlarla Teması Olmayanlar.

Serumun Kaynağı	CİNSİ	Değerlendirilen Serum Sayısı	Olumlu		Olumsuz	
			Sayı	%	Sayı	%
İNSAN	Erkek	55	3	5.4	52	94.6
	Kadın	25	1	4	24	96
TOPLAM		80	4	5	76	95

YAŞ	İncelenen Serum Sayısı	Olumlu	Olumsuz	Olumlu %
0-10	35	-	35	-
11-20	59	1	58	1.6
21-30	85	5	80	5.8
31-40	80	7	73	8.7
41-50	51	5	46	9.8
51-60	45	4	44	8.8
61.....	15	1	13	6.6
Yaşı Belli Olmayan	30	2	29	6.6
TOPLAM	400	25	375	6.2

T A B L O VII : Yaşa Göre Sonuçların Değerlendirilmesi.

MESLEK	İncelenen Serum Sayısı	Olumlu	Olumsuz	Olumlu %
Memur	165	10	155	6
Öğrenci	26	-	26	-
Ev Kadını	115	6	109	5.2
Çiftçi	41	4	37	9.7
Esnaf	23	2	21	8.6
İşçi	30	3	27	10
TOPLAM	400	25	175	6.2

T A B L O VIII : Mesleklere Göre Sonuçların Değerlendirilmesi.

Yerleşim Yeri	İncelenen Serum Sayısı	Olumlu	Olumsuz	Olumlu %
Şehir	220	12	208	5.4
Köy	180	13	167	7.2
TOPLAM	400	25	375	6.2

T A B L O IX : Sosyo-Ekonomik Duruma Göre Bulguların Dağılımı.

Serumun Kaynağı	İncelenen Serum Sayısı	Olumlu		Olumsuz	
		Sayı	%	Sayı	%
Sığır	165	29	17.5	136	82.5
Koyun	135	19	14	116	86
TOPLAM	300	48	16	252	84

T A B L O X : Olumlu Sonuç Veren Hayvan Serumlarının Dağılımı.

SERUMUN KAYNAĞI	SEROTİPLER	165 Seruma Göre				29 Pozitif Seruma Göre	
		Olumlu Sayısı	Olumlu %	Olumsuz Sayısı	Olumsuz %	Olumlu %	Olumsuz %
SİĞİR	L.butembo	3	1.8	162	98.2	10.3	89.7
	L.bataviae	2	1.2	163	98.8	6.8	93.2
	L.pomona	2	1.2	163	98.8	6.8	93.2
	L.automnalis	4	2.4	161	97.6	13	87
	L.icterohae.	2	1.2	163	98.8	6.8	93.2
	L.grippoty.	8	4.8	155	95.2	27	73
	L.wolffi	5	3	160	97	17.2	82.8
	L.australis	3	1.8	162	98.2	10.3	89
	TOPLAM	29	17.5	136	82.5	100	82.5
		135 Seruma Göre				19 Pozitif Seruma Göre	
KOYUN	L.djasiman	1	0.7	134	99.3	5.2	94.8
	L.automnalis	6	4.4	129	95.6	31.5	68.5
	L.icterohae.	4	2.9	131	97.1	25	75
	L.grippoty.	6	4.4	129	95.6	31.5	68.5
	L.wolfii	1	0.7	134	99.3	5.2	94.8
	L.sejroe	1	0.7	134	99.3	5.2	94.8
	TOPLAM	19	14	116	86	100	86

T A B L O XI : Sığır ve Koyunlardan Alınan Serumların

Serotiplere Göre Dağılımı.

TARTIŞMA

Leptospirosis doğada değişik yerlerde ve farklı zamanlarda görülen enfeksiyöz bir hastalıktır. Hastalık primer olarak kemirici hastalığı olup, ikinci derecede insanlara bulaştığı birçok araştırmacı tarafından kabul edilmiştir(1,5,10,27).

Leptospiralar tarafından oluşturulan salgınlar uzun süre diğer enfeksiyonlarla karıştırılmış olup değişik ajanlar leptospiroz etkeni olarak kabul edilmiştir(28,64,69).Klinik bulgular hastalığın tanısında yeterli olmayıp, hastalığın başlıca belirtisi olan sarılığın DAVIDSON'a göre vakaların % 60' da, WALCH-SORDRAGER'e göre vakaların % 55'inde ve diğer bazı araştırmacılara göre ortalama vakaların % 25'inde görülmektedir (60).

İndirekt teşhis yöntemlerinin gelişmesiyle hastalığın olduğundan daha fazla olduğu belirlenmiştir(27).

Polonya da 1918'e kadar iki WEILL hastalığı vakası bildirilmiş iken 1923'te yapılan araştırmalarda kemelerin % 10-90'ı leptospiroz taşıyan oldukları tespit edilmiştir.

Hollanda da 1931'de 30 hastalık olgusu bildirilmiş iken 1932'de 207 vaka belirlenmiştir. 1951 yılına kadar tüm dünyada Leptospira canicola olguları 250'yi geçmediği halde yalnız Hollanda da vakaların sayısı 49 olarak bildirilmiştir. Buda Hollanda da leptospiralar üzerindeki çalışmaların ileri düzeyde olduğunu göstermektedir(60).

Amerika Birleşik Devletlerinde 1947-60 yılları arasında

483 olgu bildirilmiş iken Atlanta da 18 ay içersinde 1573 olgu tespit edilmiştir. Yine CALERO adlı araştırmacı Panama Kanalında 670 serum üzerinde yaptığı çalışmada 10 serotip belirlemiştir(48).

Bütün dünyada yaygın olan bu hastalığın doğada yayılımını birinci derecede kemiriciler ikinci derecede evcil ve yabancı hayvanlar sürdürmektedir(48,60,72,74).

GORSHANOVA (31), bir domuz çiftliğinde yakaladığı 47 *Rattus norvegicus*'un 11'inde (% 23.6), 31 *Mus musculus*tan 2'sinde (% 6.4) antikor tespit etmiştir.

Leptospirozun indirekt teşhisinde mikroaglutinasyon yöntemi indirekt yöntemler içersinde en ideal yöntem olduğu bir çok araştırmacı ve bu arada Dünya Sağlık Teşkilatı (DST) zoonozlar üzerindeki eksperler komitesince kabul edilmiştir(5,27,73,74). Testin başlıca dezavantajı kullanılan antijenlerin stabil olmayışından dolayı elde tüm serotiplere ait antijenlerin bulunmasını gerektirmektedir(72,74). Bu güçlüğü bir dereceye kadar biri biri ile antijenik yakınlık gösteren tipleri guruplandırmak, monovalan test serumlarını biri birine karıştırıp grup polivalan test serumları hazırlamakla giderilebilir(74).

STONNER (72), bazı serotiplerle oldukça stabil antijen hazırlamış isede bunun her serotip için kullanılması mümkün olmadığı gibi canlı antijen kadar da özgül olmadığını belirtmiştir.

Leptospira biflexa suşu ile diğer birçok patojen *Leptospira interorgans* suşları arasında antijenik benzerlik bulunmaktadır. *Leptospira interorgans*'a karşı antikor bulunduran serumlar aynı zamanda *Leptospira biflexa* suşu ilede aglutinasyon verebilmektedir(5,25,63,72).

PIKE ve arkadaşları (48), leptospiralardaki aglutinojen özelliğın 7S fraksiyonundaki aglutinojenlerden ileri geldiğini bildirmişlerdir.

HEKER ve arkadaşları (48), L.biflexa için de aynı bulguları elde etmişlerdir.

VOSTA (63), adlı araştırmacı da L.biflexa ile hazırladığı antijenle 21 bağışık, 120 olumlu ve 100 olumsuz insan serumu incelemiş immun serumlarla, olumlu serumların tümü pozitif sonuç verdiği, olumsuz serumların hepsi negatif sonuç verdiği bildirmiştir.

ELIAN ve arkadaşları (25,48), L.biflexa Patoc I ile hazırladıkları antijenle saha taraması yapmışlar, saha taramalarında inceledikleri serumları ikinci defa kompleman birleşmesi reaksiyonu ve mikroaglutinasyonla incelemişler, sahada olumlu buldukları 152 serumdan 138'i aglutinasyonla pozitif sonuç vermiştir. Ki bu % 90 lık bir uygunluk demektir. Biz de çalışmamızda L.biflexa suşu ile olumlu serumlarla pozitif sonuçlar elde ettik. Sapofit olan bu suş ile mikroaglutinasyon çalışmalarında pozitif serumlar ile negatif serumların ilk etapta ayırt edilmesi olanaklıdır. Daha sonra pozitif serumlar patojen suşlarla karşılaştırılarak çalışmalar sürdürülür. Bulgularımız araştırmacıların bulgularını doğrulamaktadır.

Leptospiroz bir meslek hastalığı olup genel olarak tarım, kanalizasyon, mezbaha, temizlik işçileriyle, bahçıvan, hayvan bakıcıları, hayvan kesimleriyle uğraşanlarda, besin ve konserve sanayinde çalışanlarda, şeker kamışı, piriç tarlalarında çalışanlarda, veteriner hekimler ve hayvan sağlık memurları gibi meslek sahiplerinde daha çok görülür (5, 8, 48, 59).

AKTAN ve arkadaşları (2,35), ülkemizin güney bölgelerinde piring tarlalarında çalışan işçiler arasında serolojik çalışmalar yapmışlardır. Mezbaha işçileri arasında BİLGEHAN ve arkadaşları bir çalışma yapmışlar (14). Bunların çalışmalarından başka et ve et türevleriyle uğraşanlarda epidemiyolojik bir leptospirosis taraması yapan araştırmacılara literatürde rastlıyamadık. Çalışmamızda et ve et türevleri ile uğraşan kişilerde leptospirozise en çok neden olan serotipin *L.grippotyphosa* (% 24) serotipi olduğu belirlendi. Bunu sırasıyla *L.djasiman* (% 12), *L.icterohaemorrhagiae* (% 2), *L.australis* (% 2), *L.butembo* (% 1.5), *L.sejroe* (% 1), *L.pomona* (% 1), *L.javanica* (% 0.5) ve *L.monte* (% 0.5) izlemektedir.

AKTAN (5), karacabey harasında işleri gereği hayvanlarla teması olan 105 kişiden aldığı serumlarda mikroaglutinasyon yöntemi ile 19 serum olumlu bulmuştur (% 18). Bunlardan 3'ü (% 16) *L.grippotyphosa*, 5'i (% 26) *L.australis*, 4'ü (%21) *L.icterohaemorrhagiae*, 3'ü (% 16) *L.alexi* ve 4'ü (% 21) *L.djasiman* ile reaksiyon vermiştir.

TUNCEL, et ve et türevleriyle uğraşanlardan aldığı 256 serumda mikroaglutinasyon yöntemi ile 35 (% 13.7) olumlu serum bulmuştur. Leptospirozise neden olan serotipleri de sırasıyla şöyle belirlemiştir; *L.grippotyphosa* (% 34), *L.djasiman* (% 14.7), *L.butembo* (% 11.4), *L.icterohaemorrhagiae* (% 8.6), *L.sejroe* (%8.6), *L.pomona* (% 5.7), *L.automnalis* (% 5.7), *L.australis* (% 5.7), *L.javanica* (% 2.8) ve *L.monte* (% 2.8) (56).

BİLGEHAN ve arkadaşları mezbaha işçilerinden aldıkları 138 serumdan 9'unda (% 6.5) değişik serotiplere karşı antikor tespit etmişlerdir (14).

Serotiplerin pozitiflik oranları AKTAN'ın çalışmasında % 18, BİLGEHAN'ın çalışmasında % 6.5, TUNCEL'in çalışmasında % 13.7 olarak belirlenmiştir. Biz çalışmamızda bu oranı % 12.5 olarak bulduk. Bizim çalışmamız ile TUNCEL'in çalışması paralellik göstermektedir. Diğer araştırmacıların sonuçları ile bizim sonuçlarımız arasındaki farkın, çalışmaların değişik bölgelerde yapılmasına ve vaka sayısının farklı olmasından ileri geldiği kanısındayız.

AKTAN'ın çalışmasında serotipler içersinde L.australis'e karşı % 26 ve L.djasiman'a karşı % 21 oranında antikor belirlenmiştir. TUNCEL çalışmasında L.grippotyphosa'ya karşı % 34, L.djasiman'a karşı % 14.7 oranında antikor tesbit etmiştir. Bizim çalışmamızda L.grippotyphosa'ya karşı % 24 ve L.djasiman için % 12 lik bir oran belirlendi. L.grippotyphosa AKTAN'ın çalışmasında dördüncü sırayı alırken, TUNCEL ve bizim çalışmalarımızda birinci sırayı almaktadır. L.icterohaemorrhagae bizim çalışmamızda üçüncü sırayı alırken, TUNCEL'in çalışmasında % 8.6 ile dördüncü sırayı, AKTAN'ın çalışmasında % 16 ile üçüncü sırayı almıştır. Buna göre sıralama açısından bizim ve AKTAN'ın sonuçları uygunluk göstermektedir.

Yugoslavya'da Zagreb mezbahasında çalışan 84 işçide yapılan aglutinasyon testi sonucunda % 30 oranında antikor belirlenmiştir (76). Bulgaristan'da Sofya mezbahası işçilerinde % 19, Burgaz mezbahasında % 29 oranında muhtelif serotiplere karşı antikor tespit edilmiştir (38). Madagaskar'da 18 kasap ve mezbaha işçilerinde antileptospiral antikorların araştırılmasında % 51 oranında pozitiflik bulunmuş ve aynı işçilerin klinik olarak muayenelerinde 23 kişide L.grippotyphosa tanısı konmuştur (55)

Farklı lkelede yapılan çalışmalar arasındaki farklar-
danda anlaşıldığı gibi bir meslek hastalığı olan bu zoonozun
dağılımlı o yerin iklimi, mevsim koşulları, toprağın jeolojik
zelliği ve bölgede rezervar ödevini gören kemiricilerin çevreye
adaptasyonu gibi özelliklere bağlı olarak değişmektedir(23,24,
30,31,54).

Bölgemizde, Karacabey harasında yapılan çalışma sonuç-
larına göre daha az antikor titresi saptanmıştır. Fakat TUNCEL'in
Erzurumda yaptığı çalışma ile bizim çalışmalarımız uygunluk
göstermektedir. Karacabey harası gibi nemli, sulak pH'sı hafif
alkali toprağa sahip bir yerde leptospirozis enfeksiyonuna
fazla rastlanması beklenen bir sonuçtur. Örneğin; lkemizin
pirinç ekimi yapılan güney illerinde ve yağmuru bol olan
Karadeniz bölgesinde de aynı nedenlerden dolayđ enfeksiyon
yaygındır(35,62).

Serotiplerin dağılımlı aasındaki farklılık, etkenlerin
taşıyıcısı olan muride familyasına bağlı *Rattus norvegicus*,
Rattus rattus, *Mus musculus*, *Microtus guntheri* ve *Microtus*
arvealis gibi türlerin bölgeler arasındaki dağılışı ile açıkla-
nabilir. Ayrıca bu kemiricilerin hangi serotiple enfekte olduk-
larıda epidemiyolojik çalışma sonuçlarını etkilemektedir.
Örneğin; *Leptospira grippotyphosa*'nın rezervuarı olan *Microtus*
arvealis İngilterede bulunmadığından bu serotipin oluşturduğu
hastalık İngilterede görülmemiştir(56). Fakat sovyetlerde aynı
tür kemirici oldukça yaygındır ve *Leptospira grippotyphosa*'nın
neden olduğu enfeksiyonda sık görülmektedir(43).

TUNCEL, et ve et türevleriyle uğraşan kişilerin çalıştığı bölümlere göre bir değerlendirme yapmış, Buna göre; anti-leptospiral antikolar sırası ile ençok kasaplarda % 33.3 ve rendelikte çalışanlarda % 21.2 görülmüştür. Bunları sırası ile dericilikte çalışanlar % 9.1, soğuk hava deposu işçileri % 9.1, sucuk servisi işçileri % 6.1, iç hizmetlerde çalışanlar % 6.1 ve tesisat işçileri % 3 olarak izlemiştir(56). Bizde çalışmamızda kasaplarda % 22 ve rendelikte çalışanlarda % 14'lük bir sonuç elde ettik. Bunları sırası ile sucuk servisinde çalışanlar % 10, dericilikte çalışanlar % 10, soğuk hava deposu işçilerinde % 10 ve iç hizmetlerde çalışanlar olarak % 5.8 izledi. Bulgularımız ile TUNCEL'in bulguları genellikle uygunluk göstermektedir. Fakat bizim sonuçlarımızda sucuk servisinde çalışanlar üçüncü sırayı alırken, TUNCEL'in çalışmasında bu kesimde çalışan işçiler dördüncü sırada yer almışlardır.

Leptospirozis epidemiyolojisinde hayvanlarla direkt teması olan kombine kasaplarında enfeksiyonun yaygınlığı bekle-nirdi ki, bulgularımız da bu durumu doğrulamaktadır. Kuzeydoğu Madagaskar da yapılan epidemiyolojik taramada leptospirozis yönünden olumlu bulunan 118 kişiden 23'ünün kasapve mezbaha işçileri olduğu belirlenmiştir(55).

Çalışmamızda rendelikte çalışanlarda % 14 gibi bir oranın pozitif bulunması bu işte çalışan kişilerin leptospirozis'e yakalanma şanslarının yüksek olduğunu göstermektedir. Rendelikte çalışanlar hayvanların barsakları ile uğraşmakta ve barsakların yıkanması, mucoza tabakalarının ayırt edilmesi gibi işlemler çıplak ellerle yapılmaktadır. Leptospiraların sağlam deriden bulaşabileceği belirlendiğinden ellerin uzun süre suda kalmasıyla

sağlam derinin yumuşaması sonucu etkenler kolay bir şekilde buralardan organizmaya yerleşebilirler(43). Bu nedenle rendelikte çalışanlarda pozitifliğin yüksek bir oranda görülmesi bizce normaldir.

Leptospiroz bir meslek hastalığı olmasına rağmen biz çalışmamızda veteriner hekimlerde antileptospiral antikor tesbit edemedik. Bunu da kan alınan veteriner hekimlerin sayısının azlığına bağlamaktayız. TUNCEL, yaptığı çalışmada veteriner hekimlerde % 3'lük bir pozitif sonuç almıştır. Buda bize yeterli vaka taraması yapıldığında veteriner hekimler arasında da pozitif sonuçlar alınabileceğini göstermektedir.

Yine aynı araştırmacı ticari kasaplardan aldığı 21 serumdan 2'sinde % 9.5 olumlu sonuç almıştır. Biz çalışmamızda % 6.6 lık bir sonuç elde ettik. Bu grup kasaplarda et kombinasyonunda çalışan kasaplardan daha düşük bir oranda leptospiral antikorlar belirlenmiştir. Aradaki fark ticari kasapların hayvanlarla temaslarının et kombinasyonu kasaplarına oranla daha az oluşu ile açıklanabilir.

TUNCEL (56), et ve et türevleriyle uğraşanlarda çalışma sürelerine göre yaptığı değerlendirmede şu sonuçları almıştır; araştırmacıya göre 12 yıl ve daha fazla çalışanlarda en yüksek % 18.4 , 1-12 ay çalışanlarda en düşük % 5.2 oranda antikor bulunmuştur. Biz 12 yıl ve daha fazla çalışanlarda % 17.5 ve 1-12 ay çalışanlarda % 6.6 lık bir oran bulduk. Bizim ve araştırmacının sonuçları arasında tam bir paralellik vardır. Uzun süre çalışanlarda antikor titresinin ve pozitif serum sayısının fazla çıkmasını şuna bağliyabiliriz; Herhangi bir leptospira

enfeksiyonu geçirdikten sonra vücutta bir bağışıklık oluşur. Aynı kişinin ikinci defa bir leptospira ile enfekte olması sonucunda antikor oluşumu daha hızlı ve daha yüksek titrelerde belirir. Biz çalışmamızda iki kişide 1/800 titrede antikor belirledik. Bundan dolayı uzun süre et ve et türevleriyle uğraşan kişilerde yüksek titrede antikorların ve pozitif serumların belirlenebileceği düşüncesindeyiz (32,48).

Yaşa göre bulguların değerlendirilmesinde, TUNCEL (56), 41-50 yaşları arasındaki kişilerde % 23.4 , 21-30 yaşları arasındaki kişilerde % 8.3 lük bir sonuç almıştır. 51 ve daha yukarı yaşlardaki kişilerde % 3.8 lik bir pozitiflik bulmuştur. Biz de çalışmamızda yaşa göre yaptığımız değerlendirmede 41-50 yaşları arasındaki kişilerde % 22.2, 21-30 yaşları arasındaki kişilerde % 6.4, 51 ve daha yukarı yaşlardaki kişilerde % 5.7 lik bir sonuç aldık. Bulgularımız araştırmacıların bulguları ile tam uygunluk göstermektedir. 51 ve daha yukarı yaşlardaki kişilerde düşük oranların saptanmasını kişilerin immun sistemlerinin yaşamlarının doğal bir sonucu olarak yeterli oranda antikor sentezlemediği düşüncesindeyiz (21,32).

Çalışmamızda ayrıca klinik olarak hiçbir şikayeti olmayan 400 kişiden aldığımız serumları leptospirozis açısından değerlendirdik. 25 serumdan (% 6.2) pozitif sonuç aldık, bu serumların serotiplere göre dağılımı Tablo V te gösterilmiştir. Buna göre; *L. autumnalis* ile 4 serum (% 1), *L. canicola* ile 4 serum (% 1), *L. icterohaemorrhagiae* ile 6 serum (% 1.5), *L. grippotyphosa* ile 4 serum (% 1), *L. wolffi* ile 2 serum (% 0.5), *L. sejroe* ile 2 serum (% 0.5) ve *L. australis* ile 3 serum (% 0.7) pozitif sonuç verdi.

FAZLI (28), yaptığı çalışmada 1405 insan serumu incelemiş bunlardan 42'sinden (% 3) olumlu sonuç almıştır. 42 serumdan 16'sı (% 38) *L.icterohaemorrhagiae* , 1'i (%2.4) *L.canicola* , 1'i (% 2.4) *L.automnalis*, 18'i (% 42.9) *L.butembo* ve 8'i (% 19) *L.grippotyphosa* ile pozitif sonuç vermiştir.

AKTAN (5), widal için gönderilen serumları aynı zamanda leptospira serotipleri ile de karşılaştırmış ve % 6.8 gibi bir sonuç elde etmiştir.En fazla *L.australis* ve *L.butembo*'ya karşı (% 22.5) antikor belirlemiştir.Bunları sırasıyla, *L.grippotyphosa* (% 16.8), *L.icterohaemorrhagiae* (% 12.1), *L.dijasiman* (% 9), *L.sejroe* (% 4.5), *L.wolffi* (% 2.3), *L.automnalis* (% 1.1) ve diğer tipler (% 11.2) izlemiştir.

UNAT ve arkadaşları (60), yaptıkları çalışmada *L.icterohaemorrhagiae* ile % 4 lük bir sonuç elde etmişlerdir.

AKSOYCAN (2), leptospiral antikorları belirlemek amacıyla 80 insan serumunu *L.icterohaemorrhagiae* ile karşılaştırmış,hiç birisinden olumlu sonuç almamıştır.

PAYZIN (48), farklı yerlerden gelen 102 serumun 3'ünde (% 2) *L.habdomatis* ile pozitif sonuç almıştır.

AKTAN (2) ve HAKIOĞLU (35), güney bölgelerinde leptospira serotiplerine karşı % 13 ile % 9.6 arasında antikor belirlemişlerdir.Bizim bulgularımıza göre bu oran % 6.2 dir.Bulgular arasındaki farkı kan örneklerinin farklı bölgelerden ve farklı gruplardan alınmasına bağlamaktayız. Aynı zamanda bu iki araştırmacının serum aldıkları bölgelerde piring ekimi de yapılmaktadır. Piring ekimlerinin yapıldığı alanlarda bol oranda kemirici bulunur.Bu hayvanlar leptospiraların tabii portörleri olduğundan,

sekresyonları ile hastalık etkenlerini bitkiler arasına özellikle pirinç ekimi yapılan tarlalardaki su birinkitilerine bırakırlar. Böyle ortamlar leptospiralar için en uygun ortamlardır. Pirinç tarlalarında çıplak ayaklar ile gezen çeltik işçileri, ayak derilerindeki çatlak ve kesiklerden etkenleri kolayca alabilirler(39,48).

Genelde tüm araştırmacılar pirinç ekimi yapılan bölgelerin epidemik odaklar olduğunu kabul etmektedirler(2, 4, 35, 48).

TUNCEL (56), yaptığı çalışmada serotiplere karşı %8.3 lük bir sonuç almıştır.

AKTAN ve FAZLI(5, 28), Ankara ve çevresinde leptospira serotiplerine karşı % 6.8 ve % 3 oranında antikor saptamışlardır. Bu araştırmacıların sonuçları ile bizim sonuçlar arasında belirgin bir fark bulunmamaktadır. Bölgemiz hayvancılık yapılan ve pirinç ekilen bir bölge olmasına rağmen sonuçlarımızın düşük çıkmasını çeltik işçilerinden serum almadığımızıza bağlamaktayız.

HAKIOĞLU (35), çeltik işçilerinden aldığı serumlarda % 8.6 oranında bir pozitiflik elde etmiştir. En sık görülen serotipler L.grippotyphosa (% 81), L.borincana (%12.5) ve L.sejroe (% 6.5) olmuştur.

TUNCEL, AKTAN ve HAKIOĞLU bulgularında L.grippotyphosa birinci sırayı almasına rağmen, bizim bulgularımızda L.icterohaemorrhagiae % 0.5 gibi düşük bir farkla birinci sırayı almıştır.

Ankara ve çevresinde AKTAN'a göre en fazla L.australis , FAZLI'ya göre L.butembo'nun hakim olduğu ileri sürülmektedir. Birçok araştırmacıların çeltik tarlalarında ve hayvancılık yapılan bölgelerde en fazla L.grippotyphosa'nın bulunduğu yolundaki bulguları çalışmamızda da belirlenmiştir(2, 5, 28, 35).

İtalya'da genelde aglutinasyon veren serotipler *L.icterohaemorrhagiae* , *L.copenhageni*, *L.pomona*, *L.bataviae* ve *L.canicola* olarak belirlenmiştir(7). Aynı şekilde Amerika Birleşik Devletlerinde en yaygın serotip *L.icterohaemorrhagiae* dir. Bunu sırasıyla *L.canicola*, *L.pomona*, *L.grippotyphosa* ve *L.australis* izlemektedir (18). Taiwan'da yapılan çalışmada en çok *L.javanica* ve *L.sejroe* serotipleri bulunmuştur(75). Tüm bu veriler bize, çeşitli faktörlerin etkisi altında değişik ülkelerde leptospira enfeksiyonlarının farklı serotipler tarafından oluştuğunu göstermektedir(2,7,18,35).

Bu durum ülkelerin coğrafik alanları içinde geçerlidir. Bunun en iyi örneği İtalyada belirlenmiştir. Kuzeyde Po ovasında *L.icterohaemorrhagiae*, *L.canicola*, *L.bataviae*, *L.pomona* ve *L.grippotyphosa* serotipleri görülmesine karşılık, güney İtalya'da sadece *L.icterohaemorrhagiae* ve *L.canicola* serotipleri saptanmıştır.

Ülkemizde araştırmacılar değişik bölgelerde yaptıkları çalışmalarda farklı serotipler tesbit etmişlerdir(2, 3, 28, 56).

TUNCEL (56), klinik olarak şikayeti olmayan kişilerden aldığı serumları, hayvanlarla teması olan ve olmayanlar diye ayırarak sonuçları değerlendirmiş ve buna göre; Hayvanlar la teması olanlarda % 9.4, teması olmayanlarda % 7 oranında sonuç almıştır. Biz hayvanlarla teması olanlarda % 8.3 , teması olmayanlarda % 5 lik bir sonuç aldık. Sonuçlarımız birbirine paralellik gösterdiği gibi aynı zamanda etkenlerin daha çok hayvanlarla geçtiğini de göstermektedir.

FAZLI (28), yaptığı çalışmada erkeklerde % 3.2 , kadınlarda % 2.8 lik bir sonuç almıştır.

TUNCEL (56), çalışmasında hayvanlarla teması olan erkeklerde % 9.5, kadınlarda % 9 luk bir pozitiflik bulmuştur. Teması

olmayanlarda, % 7.4 ve % 5.7 lik bir sonuç almıştır. Biz hayvanlarla teması olan erkek ve kadınlarda % 8.4 ve % 8.1 lik bir sonuç aldık. Hayvanlarla teması olmayan erkek ve kadınlarda % 5.4 ve % 4 lük sonuç elde ettik. Sonuçlarımız araştırmacıların sonuçları ile paralellik gösterdiği gibi aynı zamanda leptospiroza yakalanmada cinsiyetler arasında bir farklılığın olmadığını da göstermektedir. Bazı araştırmacılar hernekadar iki cins arasında farklılığın bulunduğunu bildirmişlerse de bu durumun çalışma alanlarının farklılığından ileri geldiğini de belirtmişlerdir (7,57,69).

Aynı araştırmacı serum aldığı kişilerin mesleklerine göre yaptığı değerlendirme de en az öğrencilerde, en fazla işçilerde (% 13.3) antikor belirlemiştir. Bunları esnaf (% 11.7), çiftçiler (% 10.6), ev hanımları (% 10.4) ve memurlar (% 6) izlemiştir.

FAZLI (28), yaptığı değerlendirmede öğrencilerde % 1, işçilerde % 6.3 ve çiftçilerde % 5.6 lık bir sonuç almıştır. Bizim çalışmamızda öğrencilerde antikor belirlenmedi. En yüksek antikor düzeyini işçilerde (% 10) tesbit ettik. Bunları; çiftçiler (% 9.7), esnaf (% 8.6), memurlar (% 6) ve ev hanımları (% 5.2) izledi. Çalışmamızda en yüksek oranın işçilerde bulunması ile sonuçlarımızın diğer araştırmacıların sonuçları tarafından desteklendiğini göstermektedir (5,28,56).

Klinik olarak şikayeti olmayan kişilerden aldığımız 400 serumun yaşlara göre dağılımı Tablo IV de gösterilmiştir. Buna göre; antikor oranı en fazla 21-60 (% 6.5) yaşları arasındaki yaşlarda belirlendi, 11-20 yaşları arasındaki yaşlarda (% 1.6) lık bir sonuç elde ettik.

TUNCEL (56), yaşa göre yaptığı değerlendirmede 26-50 yaşları arasındaki kişilerde % 15 ve 6-25 yaşlarındaki kişilerde antikor tespit edememiştir.

FAZLI (28), 26-50 yaşları arasındaki kişilerde % 4.5 , 6-10 yaşları arasındaki kişilerde ise % 3.8 oranında antikor tespit etmiştir. Bulgularımız ile araştırmacıların bulguları arasında uygunluk vardır. Fakat bazı araştırmacılar hastalığın en fazla 10-55 yaşları arasındaki yaşlarda görüldüğünü ileri sürmektedirler(28,56).

Amerika Birleşik Devletlerinde leptospirozun 15 ve daha yukarı yaşlarda görüldüğü bildirilmiştir. Hastalığa yakalanma aynı zamanda ailelerin geçim kaynağında bağlıdır. Örneğin; geçim kaynağını hayvancılık oluşturan ailelerin çocukları küçük yaştan itibaren hastalığa yakalanma şansına sahiptirler(43).

TUNCEL (56), sosyo-ekonomik duruma göre yaptığı çalışmada şehirde oturanlarda % 6.8, kırsal kesimde oturanlarda ise % 10 oranında antikor tespit etmiştir.

FAZLI (28), kırsal kesim için % 8.8, şehirler için ise % 1.5 bir sonuç bildirmiştir. Biz çalışmamızda kırsal kesim için % 7.2, şehirler için % 5.4 oranında olumlu sonuç elde ettik. Bulgularımız araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermektedir. Sonuçlardanda anlaşıldığı gibi kırsal kesimde oturanlar şehirde oturanlara nazaran daha çok enfeksiyona yakalanmaktadırlar(28,56).

Hayvanlarla teması olanlarda leptospiroz insidansı, teması olmayanlardan daha yüksek olduğu bulgularımız ortaya

koymaktadır. Bundan dolayı hayvanlar arasında da epidemiyolojik çalışma yaptık.

Hayvanlardan aldığımız 300 serumdan (% 16) 48 serum pozitif sonuç verdi. Bu 300 serumun 165'i sığırlardan 135'i koyunlardan alınmıştır. Koyunlarda %14, sığırlarda ise %17.5 oranında antikor belirlenmiştir.

HAKIOĞLU (35), yaptığı çalışmada sığırlarda % 59, koyunlarda % 22.4 oranında leptospiroz tespit etmiştir.

ULAŞ (62), ülkemizin çeşitli bölgelerinden topladığı sığır serumlarında % 9.7, koyun serumlarında % 17.3 oranında antikor saptamıştır.

TUNCEL (56), çalışmasında 345 hayvan serumundan 62 sinde (% 18) olumlu sonuç almıştır. Bu oran sığırlarda % 18.5, Koyunlarda ise % 17.5 olarak bildirmiştir.

FAZLI (28), sığırlarda % 7.5, koyunlarda ise % 3.3 olumlu sonuç almıştır. Bu sonuçlara göre HAKIOĞLU leptospirozis insidansını sığırlarda, ULAŞ koyunlarda ve FAZLI'da sığırlarda yüksek bulmuşlardır. TUNCEL ise her iki hayvan grubunda da aynı oranda bir sonuç elde etmiştir. Biz çalışmamızda sığırlarda yüksek oranda antikor tespit ettik. Bu bulgulara dayanarak sığır ve koyunların leptospiroza yakalanma açısından aralarında bir farkın olmadığı görüşündeyiz(15,16,19).

Çalışmamızda sığır ve koyun serumlarının serotiplere göre dağılımı tablo-11 de gösterilmiştir. Buna göre; sığır serumları en çok *L. grippotyphosa* (% 4.2) ve *L.wolffi* (% 3) ile reaksiyon vermişlerdir. Bunları sırasıyla *L.automnalis* (% 2.4), *L.australis* (% 1.8), *L.batavae*, *L.pomona* ve *L.icterohaemorrhagae* (% 1.2) izlemektedir. Olumlu seaksiyon veren 19 koyun serumu

ise ençok *L.automnalis* ve *L.grippotyphosa* (% 4.4) ile aglutinasyon verdi. Bunlarıda sırasıyla *L.icterohaemorrhagiae* (% 2.9), *L.wolfii* ve *L.sejroe* (% 0.7) izlediler.

HAKIOĞLU (35), sığırlarda ençok *L.sejroe* (% 61) ve *L.grippotyphosa* (% 26) ya karşı antikor bulmuştur. Koyunlarda ise 11 pozitif serulun tümü *L.grippotyphosa* ile reaksiyon vermiştir.

ULAŞ (62), sığırlarda 137 pozitif serumun % 55'nin *L.sejroe* ile % 45'ninde *L.grippotyphosa*'yı aglutine ettiğini belirtmiştir.

FAZLI (28), pozitif bulduğu 4 sığır serumundan 2'sinin (% 50) *L.butembo*, 1'inin (%25) *L.canicola* ve 1'inin de (% 25) *L.icterohaemorrhagiae* ile reaksiyon verdiğini bildirmiştir. Ayrıca koyunlardan aldığı 33 serumdan 1'inin (% 3.3) *L.butembo* ile reaksiyon verdiğini belirtmiştir.

TUNCEL (56), sığır serumlarında en çok *L.grippotyphosa* (% 30.6) ve *L.wolffi* (% 25) ile sonuç almıştır. Bunları sırası ile, *L.automnalis* (% 11.1), *L.butembo*, *L.australis* (% 8.4), *L.icterohaemorrhagiae* ve *L.bataviae* (% 5.5) izlemiştir. Olumlu reaksiyon veren 26 koyun serumunda da en çok *L.automnalis* (% 34.6) ve *L.grippotyphosa*'ya (% 30.8) karşı antikor belirlemiştir. Ayrıca *L.icterohaemorrhagiae* (% 19), *L.djasiman* (% 7.8), *L.sejroe* ve *L.wolffi* de (% 3.9) serumlarla olumlu sonuç vermiştir.

HAKIOĞLU ve arkadaşları (35), Çukurca, Hatay ve Gaziantep bölgelerinden aldıkları 914 sığır serumunda % 59, 109 keçi serumunda % 58 oranında leptospira antikorları tesbit etmişlerdir.

Bu konudaki bulgularımız araştırıcıların bulguları ile uygunluk göstermektedir (35,75). Yalnız olumlu vakaların genel oranı ile leptospira serotiplerinin oranları arasında, farklar vardır.HAKIOĞLU ve ULAŞ sığırılarda L.automnalis serotipine karşı antikor belirliyemedikleri halde biz antikor tesbit ettik. Koyun serumlarındaki bulgularımızda L.automnalis birinci sırayı aldığı halde, ULAŞ'ın bulgularında L.sejroe ilk sırayı almıştır. Bu durumu da etkenlerin değişik ortamlarda, değişik serotiplerinin bulunmasına bağlamaktayız (5,28,38,56,75,76).

SONUÇ

Halk sağlığı açısından önemli bir hastalık olan leptospirosis bölgemiz içinde önem taşımaktadır. Hastalığa karşı etkin mücadelede koruyucu hizmetlerin yanında enfeksiyon kaynağı olan rezervuarların ortadan kaldırılması ve hastalığa yakalanmış hayvanların tedavilerinin öncelikle yapılması büyük önem taşır.

Hastalık karmaşık bir klinik bir tablo göstermektedir. Yalnız klinik semptomlarla teşhisi zor olan bir hastalıktır. Menenjit, tifo, brusella, tüberküloz ve pnömoni gibi hastalıklarla karışabilmektedir. Hastalıkta kesin tanı kültürel ve indirekt teşhis yöntemleri ile olmaktadır.

Çalışmamızda et ve et türevleri ile uğraşanlarda % 12.5 luk bir pozitiflik saptanmıştır. Bu oran ülkemizde diğer araştırmacılar tarafından % 13.7, % 18 ve % 6.5 olarak belirlenmiştir. Bu meslek grubunda çalışan kişilerde ençok L.grippotyphosa, L.djasiman ve L.australis'e karşı antikor bulunmasına karşı, Aktan en çok L.australis ve L.djasiman'a karşı antikor belirlemiştir.

Klinik olarak hiçbir şikayeti olmuyanlarda % 6.2 oranında antileptospiral antikor tesbit edilmiştir. Bulgular bölümünde açıkladığımız gibi bu gruptaki kişilerde ençok L.icterohaemorrhagiae, L.automnalis, L.canicola ve L.grippotyphosa'ya karşı antikor saptanmıştır. Bu grupta bulunan kişilerin ayrıca hayvanlar ile teması olanlarda % 8.3, hayvanlar ile teması olmuyanlarda % 5 oranında olumluluk saptanmıştır. Bu oranlar bölgemizde enfeksiyonun hayvanlardan insanlara geçtiğini göstermektedir. Aynı kişilerde cinsiyete göre yaptığımız ayırimda hayvanlar ile teması olan erkeklerde % 8.4 oranında, hayvanlar ile teması olan kadınlarda

ise % 8.1 oranında antikor belirlenmiştir. Enfeksiyona yakalanma açısından erkek ve kadınlar arasında herhangi bir farkın olmadığını sonuçlarımız ortaya koymaktadır. Enfeksiyonun sosyo-ekonomik duruma göre dağılımında ise kırsal kesimde oturanların daha çok enfeksiyona yakalandığı görülmektedir.

Leptospirozun hayvanlar arasındaki insidansını saptamak amacıyla hayvan serumları üzerinde yaptığımız çalışmada % 16 oranında bir enfeksiyon insidansı belirlenmiştir.

Çalışmamızın ortaya koyduğu sonuçlara göre bölgemizde hastalık etkeni serotipler şunlardır: *L.automnalis*, *L.canicola*, *L.icterohaemorrhagiae*, *L.grippotyphosa*, *L.wolffi*, *L.sejroe*, *L.butembo*, *L.djasiman*, *L.australis*, *L.pomona*, *L.javanica* ve *L.monte*'dir.

Araştırmamızın tüm bu verilerine göre bölgemizde leptospiros insidansının küçümsenmeyecek kadar yüksek olduğu, bir zoonos olan bu enfeksiyonun hayvanlardan insanlara geçtiği , rezervuarlara karşı mücadele edilmesi gerektiği, hasta hayvanların saptanarak gerekli önlemlerin alınması gerektiği ve hastalığın tüm dünyada olduğu gibi ülkemiz için de önemli bir zoonos olduğu kanısındayız.

ÖZET

Bölgemizde leptospirozun indirekt teşhis yöntemi ile insidansının belirlenmesi amacıyla 900 serum mikroaglutinasyon yöntemi ile incelenmiştir. Bu serumlardan 200'ü et ve et türevleri ile uğraşanlardan, 400'ü klinik olarak hiçbir şikayeti olmayanlardan ve 300'de hayvanlardan alınmıştır.

Klinik olarak şikayeti olmayanlardan alınan serumların 25'i (% 6.2), hayvan serumlarının 48'i (%16), et ve et türevleri ile uğraşan kişilere ait serumların 25'de (%12.5) pozitif sonuç saptanmıştır.

Et ve et türevleriyle uğraşanlarda belirlenen serotipler tablo I'de gösterilmiştir. Ayrıca bunların çalışma alanlarına göre hastalık insidansıda tablo II'de belirtilmiştir. Buna göre hastalık en çok kasaplarda saptanmıştır.

Klinik olarak herhangi bir şikayeti olmayanlarda saptanan serotipler ise tablo V'te gösterilmiştir. Buna göre en çok *L.icterohaemorrhagiae* serotipine karşı antikor saptanmıştır. Ayrıca bu kişiler hayvanlarla teması olanlar ve olmayanlar olmak üzere ayrılarak bu kişilerdeki hastalık insidansı tablo VI'da belirtilmiştir. Bulguların sosyo-ekonomik duruma göre dağılımıda tablo IX'da gösterilmiştir. Buna göre kırsal kesimde oturanların daha çok hastalığa yakalandığı saptanmıştır.

Hayvan serumları üzerinde yaptığımız çalışmada serumların serotiplere göre dağılımıda tablo XI'de belirtilmiştir. Buna göre bölgemizde sığırlarda ve koyunlarda hastalık yapan serotipler şunlardır; *L.butembo*, *L.bataviae*, *L.pomona*, *L.automnalis*, *L.icterohaemorrhagiae*, *L.wolffi*, *L.australis*, *L.grippotyphosa*, *L.djasiman* ve *L.sejroe*'dir.

KAYNAKLAR

- 1- AKMAN, M., GÜLMEZOĞLU, E.: Tıbbi Mikrobiyoloji, II. Baskı, H.Ü. Basımevi, Ankara, 1976, 397-399.
- 2- AKTAN, M.: Türkiye'de 3 Cenup Vilayetinde Leptospira Enfeksiyonları, Türk.Hij.Tec.Biol.Der., Ayrı Baskı, Cilt XX, Sayı I, 1959, 97-103.
- 3- AKTAN, M.: Memleketimizde Leptospira Enfeksiyonları Üzerinde Araştırma, Türk.Hij.Tec.Biol.Der., 1959, 28:253-259.
- 4- AKTAN, M., ERTUĞRUL, Ş.: Leptospiraların Katı Besiyerinde Üretilmeleri, Türk.Hij.Tec.Biol.Der., 1960, 20:260-265.
- 5- AKTAN, M.: Leptospirozisler ve Yurdumuzda İnsan Leptospirozislerinin Üzerinde Yapılan Çalışmalar, Türk.Hij.Tec.Biol.Der., Ayrı Baskı, Gürsoy Basımevi, Ankara, 1968.
- 6- ARDA, M., MÜNBAŞ, A., AYDIN, N.: Bakteriyel Enfeksiyon Hastalıkları, Vet.Fak.Yay., Ankara, 1982, 386+ 511-546.
- 7- ADDAMIANO, L., BABUDIERI, B.: Water Strains of Leptospira in the Serodiagnosis of Human and Animal Leptospirosis, Bull.WHO, 1968, 39: 925-934.
- 8- ALEXANDER, A.D. et al.: Serological Studies on Leptospirosis in Guatemala, Am.J.Trop.Med.Hyg., 1963, 12/4:580-585.
- 9- AKSOYCAN, N.: Anadolu Kliniği, 1953.
- 10- BABUDIERI, B.: Laboratory Diagnosis of Leptospirosis, Bull.WHO, 1961, 2: 45-48.
- 11- BEŞE, M.: Mikrobiyolojide Kullanılan Biyokimyasal Testler ve Besiyerleri, Vet.Fak.Yay., 1974, 467-480.
- 12- BULU, A.: Leptospirosise Etkin Bir Aşı Hazırlanması ile Bu Aşının Keçi, Tavşan, Kobay ve Hamsterlerde Bağışıklık Denemeleri, Etlik Vet.Mik.Enst.Der., 1979-1981, 44-58, 78-86.

- 13- BENJENARU, C., BURDUJA, A., et al.: Immunobiological relationship between Parasitic and Saprophytic Leptospira, *Exc.Med.Microb.*, 1968, 21/6: 450.
- 14- BİLGEHAN, H., UĞUR, A.: İzmir Mezbaha İşçilerinde Leptospiralara karşı Rezidual Antikor Araştırması, *E.Ü.Tıp Fak.Der.*, 1965, 414.
- 15- BALL, M.G.: Animal Hosts of Leptospire in Kenya and Uganda, *Am.J.Trop.Med.Hyg.*, 1966, 15:523.
- 16- BUSCH, L.A.: Leptospirosis 1965-1968. *J.Inf.Dis.*, 1970, 121:458.
- 17- CHERRY, W.B.: Immunofluorescence Techniques. In: LENNETTE, E.H., BALOWS, A., HAUSLER, W.J., TRAUNT, J.P., *Manual of Clinical Microbiology*, 3rd ed. Washington. American Society for Microbiology, 1980, 501-508.
- 18- CLARK, W., ALEXANDER, D., MILDRED, M.: Leptospirosis in the United States, *Med.Prog.*, 1961, 273/17: 857-922.
- 19- COGHLAN, J.D., BAIN, A.D.: Leptospirosis in Human Pregnancy Followed by Death the Foetus, *Brit.Med.J.*, 1969, 1:228.
- 20- ÇETİN, E.T.: *İnfeksiyon Hastalıkları, İ.Ü.Kli.Ders Kitap.*, 3.Baskı, 1979, 199-201.
- 21- ÇETİN, E.T.: *Genel ve Pratik Mikrobioloji*, İstanbul, Sermet Matbaası, 1973.
- 22- DIKKEN, H., KMETY, E.: Serological Typing Methods of Leptospire. In: BERGAN, T., MORRIS, J.R.: *Methods in microbiology*, II. London, New York, San Francisco, Academic Press, 1978, 260-295.
- 23- DIESCH, S.L., et al.: Human Leptospirosis Acquired From squirrels. *New England J.Med.*, 1967, 276/15:838-842.
- 24- DIESCH, S.L., et al.: Experimental Leptospirosis in Frogs, *Nature*, 1967, 214/5093:1139-1140.

- 25- ELAIN,M.,et al.: The use of L.biflexa Patoc Antigen in Field Investigation of leptospirosis, Bull.WHO.,1964,31/3:359-363.
- 26- FAINE,S.: Guidelines for the control of leptospirosis,Who offset Publication,No:67,Geneva,1982.
- 27- FAZLI,A.Ş.: Leptospiroloji'de son gelişmeler ve şimdiye kadar Türkiye'de tesbit edilen leptospira serotipleri,Mik. Bult.,1970,4:215-230.
- 28- FAZLI,A.: Türkiye'de insan, evcil hayvan ve yabani kemirici serumlarında leptospira yönünden serolojik incelemeler, Türk Hij. ve Tec.Biyo.Der.XXX,1970,2.
- 29- GÖNÜL,U.: Yenice Sağlık Ocağı Bölgesinde Görülen Leptospirosis Olgularıyla İlgili Epidemiyolojik Araştırma,Türk.Hij.Deney. Bio.Der.,1982,39:49-60.
- 30- GRAVES,S.,and FAINES.: Antileptospiral Agglutinins Produced in Rabbits,Bull.WHO.,1970,43/4:579-587.
- 31- GORSHANOVA,H.N.: Syntrophic Rodents As. Carriers of L.tarassewi: Exc.Med.Mic.,1963,16/2.
- 32- GÜLMEZOĞLU,E.: Bağışıklığın Temelleri,H.Ü. Yayınları,1983, A 116.
- 33- HEKİMOĞLU,H.: Sığır Leptospirosisi ve Abortusu , Etlik Vet. Bak.Ens.Der.,1960,2:87-97,98-107.
- 34- HENNENBERG,R.C.,COX,C.D.: Antigenic Analysis of Water Forms of Leptospirae, Jour.of Bact.Oct.,1968,1419-1420.
- 35- HAKİOĞLU,F.,BREWER,A.,and ALEXADER,D.: Rice-Field Leptospirosis in Turkey, A serological Survey. Am.J.Trop.Med.Hyg.,1960, 9/3:229-239.
- 36- JOSEPH,K.M.,KALRA,S.L.: Leptospirosis in Indian,Indian J.Med. Res.,1966,54/7:611-614.

- 37- KELEN, A.E., LABZOFFSKY, N.A.: Studies on Latex Agglutination test for Leptospirosis, *Canad J. Microbiol.*, 1960, 6:463-473.
- 38- KUJUMDIJEV, D., BUDUROW, I., STOJANOW, D.: Leptospirosis as an occupational disease of slaughter house workers in Bulgaria, *Zbl. Bact. 1. Abst.*, 1961, 183/2:213-216.
- 39- LERNETTE, E.H.: Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections, forth edition, 1959, 359.
- 40- MAZONELLI, J., DORTA De MAZZONELLI, G., MAILLOUX, M.: Possibilite de diagnostic serologique des leptospire a l'aide d'un antigene unique, *Med. Mal. Infect.*, 1974, 4:253.
- 41- MORVING, B., WILLIAM, D.: Simple method for separating leptospirae from contaminating microorganisms, 1958, 76:6.
- 42- MILDRED, M., and et al.: Application of a microtechnique tu the agglutination test for leptospiral antiboides, *Appl. Microbiol.*, 1965, 13:1.
- 43- MILDRED, M., and et al.: Leptospirosis national communicable disease center Atlanta, 1962.
- 44- OLDS, R.J.: A color atlas of microbiology, wolfe medical atlases II, 2 nd, Impression, 1976, 230-251.
- 45- ONUL, B.: Enfeksiyon hastalıkları, Ankara Üni. Basımevi, 6 ncı Baskı, 1980, 916-925.
- 46- ONUL, M.: Sistemik enfeksiyon hastalıkları, Hacettepe Tac Kitabevi, 2 nci Baskı, 1983, 910-913.
- 47- ÖZSAN, K., AKTAN, M., FAZLI, A., BEYOĞLU, K.: Ankara, Konya ve Urfa'da yakalanan yabancı hayvanlarda leptospirosis yönünden araştırma, *Mik. Bült.*, 1974, 8:271-275.
- 48- PAYZIN, S.: Leptospiralar, Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji II., A.Ü. Tıp Fak. Yayınları, Ankara, 1968.

- 49- RUSSELA, J.W., JOHNSON, C., FALIN, C.: Journal of Clinical Microbiology, 1981, 102-105.
- 50- SERTER, F.: Genel Bakteriyoloji , E.Ü. Matbaası, 1975, İzmir.
- 51- SERTER, F.: Klinik Mikrobiyoloji, E.Ü. Matbaası, İzmir, 1978, 409-423.
- 52- SONNENWINTH, A.C., LANETT, L.: Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, Grad Whol's, Volume Two, 1980, 1882-1869, 2307-2310.
- 53- SOY, S., AKTAN, M.: Sığır serumlarında leptospira antikorlarının araştırılması, Mik.Bült.Cilt 6, Sayı 2, 1972.
- 54- SULZER, C.R., GLOSSER, J.W., ROGERS, F., JONES, W.L., FRIX, M.: Evaluation of an indirect haemagglutination test for the diagnosis of human leptospirosis, J.Clin.Microbiol., 1975, 2:218-221.
- 55- SILVERIE, R., MONNIER, M.: New study of leptospirosis in Madagascar contribution to the study of human, Bovine and Porcine leptospirosis in ten southern region, Bull.Soc.Pathol.Exot., 1968, 61/3:346-359.
- 56- TUNCEL, E., ÖGÜTMAN, R.: Erzurum ve çevresinde leptospirosis insidansı üzerine çalışmalar, Türk.Hij.Tec.Der., 1974, 101-102.
- 57- TURNER, L.H.: Leptospirosis, Brit.Med.Jour., 1973, 1:537-540.
- 58- TERPSTRA, W.J., LIGTHART, G.S., SCHOONE, G.J.: Serodiagnosis of human leptospirosis by Enzymelinked-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) ., Zentblt.Bact.Hyg.Abst I Orig., 1980, 247:400-405.
- 59- TOBIE, J.E., Me CULLOUGH, N.B.: Serological evidence of L.pomona infection in Meat Inspectors. J.Am.Vet.Med.Ass., 1961, 138/8:434-436.
- 60- UNAT, E.K., GÜRTÜRK, S.: Leptospira etiyolojik teşhisleri ile ilgili metodlar, İ.Ü., Tıp Fak.Mec.Monog.Servisi, 1955, 17:115-127.

- 61- UNAT,E.K.: Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, Dergah Yayınları, İstanbul,1982,777-791.
- 62- ULAŞ,H.: Türkiyede Sığır ve Koyunlarda Leptospirosisin Yayılışı ve Tipleri Üzerinde Serolojik Araştırmalar, Ticaret Matbaacılık,T.A.Ş.,1962.
- 63- VOSTA,C.: Leptospirosis Diagnosis by Latex Agglutination Test with Antigen from L.biflexa.Exc.Med.Micro.,1964,17:298
- 64- WHO Chronicle: Leptospirosis, 1959,13:229.
- 65- WHO Chronicle: Leptospirosis in Latin America, 1960,14:237-238.
- 66- WHO Chronicle: Zoonoses,1960,20:444.
- 67- WHO Chronicle: The Serodiagnosis of leptospirosis,1969,23: 405-406.
- 68- WHO Chronicle: Research Needs in Leptospirosis,1972,26:578.
- 69- WHO Technical Report Series,Current Problems in Leptospirosis, Research,1967,380.
- 70- WHO Guidelines for the control of leptospirosis,1982,67.
- 71- WHO Expert Group: Current Problems in Leptospirosis Research, Geneva: World Health Organization,1967.
- 72- WHO: Classification of leptospirosis and recent advances in leptospirosis, Bull.WHO.,1965,32/6:881-891.
- 73- WHO: Expert Committee Report Current Problems in Leptospirosis Research, 1967,380:32.
- 74- WHO: Leptospirosis, Expert Committee on Zoonosis,WHO.Tech. Ser.Rep.,1967,378:54-61.
- 75- WILLAM,D.: Leptospiral Antibodies in the Atayol Tribe of Central Taiwan, Chen,J.Microbiol.,1970,3:25-28.
- 76- ZAHARIJA,I.,FALISEVAC,I.: Exposure of Slaughterhouse-Workers to Infection with Leptospira,Arch.Hyg.Rada.Zagreb.,1955, 6/3:221-229.

TEŐEKKÜR

Mikrobiyoloji ve Parazitoloji Anabilim Dalında Asistan olarak göre ve baŐladıđım günden beri büyük ilgi ve yardımlarıyla yetiŐmeme katkıları olan sayın hocalarım Doç.Dr.Eralp ARIKAN'a, Doç.Dr.Ömer METE'e ve tüm diğer çalışma arkadaşlarıma teŐekkürü zevkli bir görev sayıyorum.

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi