

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIĞIR VE KOYUN SÜRÜLERİNDEN ALINAN  
ÖRNEKLEDE *COXIELLA BURNETII* (Q FEVER)  
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Arş. Gör. Aliye GÜLMEZ  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

Danışman  
Prof. Dr. Mitat ŞAHİN

2013-KARS

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIĞIR VE KOYUN SÜRÜLERİNDEN ALINAN  
ÖRNEKLERDE *COXIELLA BURNETII* (Q FEVER)  
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Arş. Gör. Aliye GÜLMEZ  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

Danışman  
Prof. Dr. Mitat ŞAHİN

Bu çalışma KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Fonu tarafından  
desteklenmiştir. Proje No: 2011-VF-09

2013-KARS

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Arş.Gör. Aliye GÜLMEZ tarafından hazırlanmış olan “Sığır ve Koyun Sürülerinden Alınan Örneklerde *Coxiella burnetii* (Q Fever) Varlığının Araştırılması” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 01/07/2013

Adı Soyadı

**Başkan:** Prof.Dr. Mitat ŞAHİN

**Üye** : Prof.Dr. Salih OTLU

**Üye** : Doç.Dr. Oktay GENÇ

**Üye** : Doç.Dr. Yakup YILDIRIM

**Üye** : Yrd.Doç.Dr. Özgür ÇELEBİ

İmza

.....*M.Şahin*.....  
.....*Salih*.....  
.....*Oktay*.....  
.....*Yakup*.....  
.....*Özgür*.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 02.07.2013 gün ve 16.1.72 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
Prof.Dr. Mehmet ÇİTİL  
Enstitü Müdürü

**İÇİNDEKİLER**

	<b><u>Sayfa No.</u></b>
İçindekiler	I
Simgeler ve Kısaltmalar	IV
Tablo Listesi	VI
Resim Listesi	VII
Önsöz	VIII
<b>1.GENEL BİLGİLER</b>	
1.1. Tarihçe	1
1.2. Etiyoloji	3
1.2.1. Sınıflandırma ve Diğer Türler ile İlişkisi	3
1.2.2. Morfoloji	4
1.2.3. Moleküler Yapı	5
1.2.4. Faz Varyasyonu	6
1.2.5. Yaşam Döngüsü	8
1.2.6. Doku Tropizmi	13
1.2.7. Fiziksel ve Kimyasal Etkenlere Direnç	14
1.3. Epidemiyoloji	15
1.3.1. Bulaşması	15
1.3.2. Enfeksiyon Rezervuarları	17
1.3.3. Coğrafik Dağılım	18
1.3.4. İnsidans ve Mevsimsel Değişim	25
1.3.5. Risk Faktörleri	25
1.4. Patogenez ve Patoloji	26
1.4.1. Konak İmmun Cevabı	26
1.4.1.1. Doğal ve Edinsel Bağışıklık	28
1.4.1.2. Hücresel Bağışıklık	29
1.4.1.3. Humoral Bağışıklık	30
1.4.2. Patogenez	31
1.4.2.1. İnokulum Oranı	34
1.4.2.2. Enfeksiyon Yolu	34
1.4.2.3. Bakteriyel Faktörler	35
1.4.2.4. Cinsiyet	35

1.4.2.5.	İmmun Yetmezlik	35
1.5.	Klinik Bulgular	37
1.5.1.	İnsanlarda Klinik Bulgular	37
1.5.2.	Hayvanlarda Klinik Bulgular	38
1.6.	Laboratuvar Tanı Yöntemleri	40
1.6.1.	Kültür	41
1.6.2.	İmmunolojik Testler	42
1.6.2.1.	İndirekt İmmunofloresan Test (IFA)	43
1.6.2.2.	Komplement Fiksasyon Testi (KFT)	43
1.6.2.3.	Enzyme Linked İmmunosorbent Assay (ELISA)	44
1.6.3.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	45
1.6.4.	Hayvan İnokulasyonu	46
1.7.	Tedavi	47
1.8.	Koruma ve Kontrol	48
1.8.1.	Aşılama	49
<b>2.</b>	<b>MATERYAL ve METOT</b>	<b>51</b>
2.1.	Materyal	51
2.1.1.	Çalışma Alanı	51
2.1.2.	Hayvan Kaynağı	51
2.1.3.	Örnekleme Stratejisi	51
2.1.3.1.	Örnek Hacminin Belirlenmesi	52
2.1.3.2.	Kan ve Süt Örnekleri	52
2.1.4.	Serolojik Teşhis	54
2.1.4.1.	ELISA	54
2.1.4.1.1.	ELISA Test Kiti	54
2.1.4.1.2.	ELISA İçin Kullanılan Araç ve Gereçler	55
2.1.5.	Moleküler Teşhis	55
2.1.5.1.	Moleküler Teşhis İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler	56
2.1.5.2.	DNA Ekstraksiyonu	56
2.1.5.2.1	DNA Ekstraksiyon Kit İçeriği	56
2.1.5.3.	Moleküler Teşhis İçin Kullanılan Araç ve Gereçler	57
2.1.5.4.	Elektroforez İçin Kullanılan Solüsyonlar	57

2.1.5.4.1.	5xTBE (Tris-Borik asit-EDTA) Stok Solüsyonu	57
2.1.5.4.2.	Elektroforez Yürütme Tamponu (1XTBE)	58
2.1.5.4.3.	%1,5'lik Agaroz Jel Solüsyonu	58
<b>2.2.</b>	<b>Metot</b>	<b>59</b>
2.2.1.	ELISA Yöntemi	59
2.2.1.1.	Protokol	59
2.2.1.2.	Değerlendirilme	60
2.2.2.	Süt Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu	61
2.2.2.1.	DNeasy Kan ve Doku Kiti	61
2.2.2.1.1	Protokol	61
2.2.3.	Genomik DNA Konsantrasyonunun tespiti ve Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması	62
2.2.4.	PZR İşlemi	63
2.2.4.1.	Amplifikasyon İşlemi	63
2.2.4.1.1	Primerler ve Reaksiyon Bileşenleri	63
2.2.4.1.2	Reaksiyon Isıları ve Döngü Sayıları	64
2.2.5.	PZR Ürünlerinin Elektroforezi	65
<b>3.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>66</b>
3.1.	ELISA Sonuçları	66
3.1.1.	Sığır Kan Serum Örneklerinin ELISA Sonuçları	67
3.1.2.	Koyun Kan Serum Örneklerinin ELISA Sonuçları	69
3.1.3.	Sığır Süt Serum Örneklerinin ELISA Sonuçları	70
3.1.1.	Koyun Süt Serum Örneklerinin ELISA Sonuçları	71
3.2.	Süt Örneklerinin PZR Sonuçları	73
3.2.1.	Sığır Süt Örneklerinin PZR Sonuçları	73
3.2.2.	Koyun Süt Örneklerinin PZR Sonuçları	74
<b>4.</b>	<b>TARTIŞMA</b>	<b>75</b>
<b>5.</b>	<b>SONUÇ</b>	<b>83</b>
<b>6.</b>	<b>ÖZET</b>	<b>85</b>
<b>7.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>86</b>
<b>8.</b>	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>87</b>
<b>9.</b>	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>109</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR

### Simge-kısaltma

ADCC

APC

Bç

Dot/Icm

ELISA

Hsp

IFA

IFN

IgA

IgG

IgM

IL

IS

KA

Kbp

KFT

LAMP

LCV

LOS

LPS

MAT

Mbç

OIE

PFGE

PNL

PV

PZR

### Acıklama

Antikor Bağımlı Hücrel Sitotoksiste

Antijen Sunan Hücre

Baz Çifti

Defect in Organella Trafficking/

Intracelluler Multiplication

Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Isı Şok Proteini

Immunofloresan Antikor Testi

İnterferon

Immunoglobulin A

Immunoglobulin G

Immunoglobulin M

İnterlökin

İnsersiyon Sekansı

Kapiller Aglütinasyon

Kilo Baz Çifti

Komplement Fiksasyon Testi

Lizozom-ilişkili Membran Protein

Büyük Hücre Formu

Lipooligosakkarit

Lipopolisakkarit

Mikro-aglütinasyon Testi

Mega Baz Çifti

Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (World

Organisation for Animal Health)

Pulsed Field Gel Electrophoresis

Polimorf Nükleer Lökosit

Parazitoforus Vakoul

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RML	Rocky Mountain Laboratuvarı
RNI	Reaktif Nitrojen Ara Ürünleri
ROI	Reaktif Oksijen Ara Ürünleri
SCV	Küçük Hücre Formu
SDC	Küçük Yoğun Hücre Formu
T4SS	Tip 4 Sekrasyon Sistemi
TLR	Toll Like Reseptörü
TNF	Tümör Nekrozan Faktör



## Tablo Listesi

<b>Tablo No</b>	<b>Adı</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1</b>	Farklı ülkelerde çeşitli hayvanlarda Q hummasının seroprevalansına ilişkin araştırmalar ve sonuçları	20
<b>Tablo 2</b>	Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinde hayvanlarda Q hummasının seroprevalansı ile ilgili araştırmalar ve sonuçları	24
<b>Tablo 3</b>	Sığır süt ve kan örneklerinin alındıkları yerleşim yerleri ve örnek sayıları	53
<b>Tablo 4</b>	Koyun süt ve kan örneklerinin alındıkları yerleşim yerleri ve örnek sayıları	53
<b>Tablo 5</b>	PZR karışımının bileşenleri ve konsantrasyonları	64
<b>Tablo 6</b>	PZR termal şartlar ve siklus sayıları	64
<b>Tablo 7</b>	Sığır serum örneklerinin ELISA sonuçları	68
<b>Tablo 8</b>	Sığır serum örneklerinde <i>C. burnetii</i> antikorlarının belirlendiği köyler ve pozitif örnek sayıları	68
<b>Tablo 9</b>	Koyun serum örneklerinin ELISA sonuçları	69
<b>Tablo 10</b>	Koyun serum örneklerinde <i>C. burnetii</i> antikorlarının belirlendiği köyler ve pozitif örnek sayıları	69
<b>Tablo 11</b>	Sığır süt örneklerinin ELISA sonuçları	70
<b>Tablo 12</b>	Sığır süt örneklerinde <i>C. burnetii</i> antikorlarının belirlendiği köyler ve pozitif örnek sayıları	71
<b>Tablo 13</b>	Koyun süt örneklerinin ELISA sonuçları	72
<b>Tablo 14</b>	Koyun süt örneklerinde <i>C. burnetii</i> antikorlarının belirlendiği köyler ve pozitif örnek sayıları	72
<b>Tablo 15</b>	PZR ile <i>C. burnetii</i> saptanan sığır süt örneklerinin köylere göre dağılımı	74
<b>Tablo 16</b>	PZR ile <i>C. burnetii</i> saptanan koyun süt örneklerinin köylere göre dağılımı	74

**Resim Listesi**

<b>Resim No</b>	<b>Adı</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Resim 1</b>	<i>Coxiella burnetii</i> 'nin faz değişimi ve morfolojik varyantları	10
<b>Resim 2</b>	Parazitoforus vakolün (PV) <i>Coxiella</i> modülasyonu ve intraselüler çoğalma sırasında konak hücre sinyalizasyonu	12
<b>Resim 3</b>	<i>Coxiella burnetii</i> 'nin epidemiyolojisi ve ana klinik tabloları	16
<b>Resim 4</b>	1947-1953 yılları arasında Q humması olgularının saptandığı bölgeler	23
<b>Resim 5</b>	Akut Q hummalı bir hastada karaciğerin bir bölümünde halka granülom oluşumu	36
<b>Resim 6</b>	ELISA Test Kiti	55
<b>Resim 7</b>	Örneklemenin yapıldığı ve çalışma sonucunda seropozitif bulunan köyler.	66
<b>Resim 8</b>	ELISA sonrası mikropleytdeki görünüm	67
<b>Resim 9</b>	Trans-PZR ile amplifiye edilen <i>IS1111A Transposase</i> geninin jel-elektroforez görüntüsü	73

## Önsöz

Q humması, tüm dünyada yaygın olarak bulunan *Coxiella burnetii* tarafından oluşturulan zoonotik karakterde bir enfeksiyondur. *C. burnetii*, vahşi ve evcil memeliler, kuşlar ve kene gibi artropodlar olmak üzere geniş bir konakçı spektrumuna sahiptir. Q hummasından evcil hayvanlar arasında en fazla etkilenen türler sığır, koyun ve keçilerdir. Hasta hayvanlarda ön plana çıkan klinik belirtiler abort ve infertilite ile birlikte seyreden reproduktif bozukluklardır. Enfekte hayvanlar doğum sıvıları, plasenta, idrar, dışkı ve sütleriyle çevreyi kontamine eder ve insanlar için enfeksiyon kaynağı oluştururlar.

Q humması'nın spesifik semptomu olmadığı için teşhisi laboratuvar testleriyle mümkündür. Teşhis için en iyi yöntem izolasyon olmasına rağmen zorunlu intraselüler bir bakteri olan *C. burnetii* suni ortamlarda üretilemez. İzolasyonu uzun, zor ve kültürü tehlikeli olduğu için biyogüvenlik düzey 3 koşullarına ihtiyaç duyulmaktadır. Mevcut PZR kitleri ile geliştirilen PZR yöntemleri, klinik örneklerden *C. burnetii*'nin teşhisinde önemli yer tutmaktadır. Transpozon benzeri elementi baz alan primerlerle yapılan PZR (Trans-PCR), *C. burnetii*'nin laboratuvar teşhisi için son derece spesifik ve duyarlıdır.

Bu araştırmada, yöremizin en önemli geçim kaynaklarından hayvancılıkta ekonomik kayıplara neden olabilen ve aynı zamanda zoonotik karakteri ile ciddi bir halk sağlığı problemi oluşturan Q hummasının seroepidemiolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmam süresince ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Mitat ŞAHİN'e, araştırmamın her aşamasında desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Salih OTLU, Doç. Dr. Barış SAREYYÜPOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Atila Taner KALAYCIOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Özgür ÇELEBİ, Yrd. Doç. Dr. Fatih BÜYÜK'e, örneklerin alınması ve değerlendirilmesinde yaptıkları katkıları için Arş. Gör. Elif TAZEGÜL'e, Vet. Hek. Sezgin SAĞLAM'a, Vet. Hek. Şafak Çağlar GÜLYİYEN'e, maddi desteğinden dolayı KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Fonu Yönetim Kurulu'na ve her zaman yanımda olan maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen anneme, babama ve kardeşlerime çok teşekkür ederim.

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Tarihçe

İlk olarak 1935 yılında Avustralya'nın Queensland Bölgesindeki mezbaha çalışanlarında yüksek ateş ve grip benzeri semptomlar ile kendini gösteren Q humması, Queensland Sağlık Teşkilatı mikrobiyoloji ve patoloji laboratuvar müdürü Edward Holbrook Derrick tarafından tanımlanmıştır (59, 142). Hastalık “şüpheli” anlamında kullanılan “query” kelimesinin baş harfi ve ateş anlamına gelen “fever” kelimesi alınarak “Q fever” (Q humması) şeklinde isimlendirilmiştir (112, 210). Derrick, Q humması hastalarından aldığı kan ve idrarı deneysel olarak kobaylara aktarmış ve kobaylarda ateş meydana geldiğini görmüştür. *Rickettsia* benzeri mikroorganizma olmasına rağmen başlangıçta virüs gibi düşünülen etken enfekte laboratuvar hayvanlarının dalaklarından identifiye edilmiştir (188).

Derrick, bir virolog olan Dr. Francis Macfarlane Burnet'e kobay ve farelerde enfeksiyon oluşturmak için enfekte kobay karaciğeri yollamıştır. Dr. Burnet ve Dr. Mavis Freeman, Derrick'in hastalarından aldıkları kan, idrar ve enfekte kobay örneklerini enjekte ettikleri deney hayvanlarında ateşli hastalık oluşturmayı başarmışlardır. İnsanlarda olduğu gibi kobaylarda da enfeksiyona karşı uzun süren bir immünite gelişmiştir. Dr. Burnet, enfekte dalak preparatlarında tipik *Rickettsiae* belirlemiştir. Araştırmacılar, mikroorganizmanın hücre içi lokalizasyonu ve mikroskopik görünümü nedeniyle etkene *Rickettsia burnetii* ismini vermişlerdir (154, 186, 211). Queensland Bölgesinde 5 yıl içinde 112'si mezbaha ve 26'sı süthane çalışanı olmak üzere toplam 156 Q humması olgusu tanımlanmıştır (142).

Gordon Davis ve Dr. Herald Rea Cox, 1935 yılında ABD'de Montana Eyaletindeki Nine-Mile bölgesinden toplanan *Dermacentor andersoni* türü kenelerin kobaylarda patojen olduğunu gözlemlemiş ve etkeni filtreden geçebilen bir enfeksiyon ajanı olarak belirlemişlerdir. Bu ajan ile enfekte kobayda yüksek ateş ve dalakta büyüme meydana gelmiştir. Cox, *Rickettsiae*'lar ile virusların benzer özelliklerinin olması nedeniyle bu etkene *Rickettsia diasporica* adını vermiştir. Cox, etkeni embriyolu

tavuk yumurtasında üretmeyi başarmıştır. Bu sırada Rocky Mountain Laboratuvarında (RML) yürütülen çalışmalar esnasında hastalanan laboratuvar çalışanlarından birinin kanı kobaylara verilerek enfeksiyon oluşturulmuş ve enfeksiyon etkeninin insanlar için patojen olduğu kanıtlanmıştır. Ulusal Sağlık Enstitüsü müdürü Dr. Rolla Dyer, 1938 yılının Mayıs ayında raporlarında embriyolu tavuk yumurtalarında çok sayıda *Rickettsiae* ürettiğini bildiren Cox'u ziyaret ettikten 10 gün sonra, retro-orbital ağrı, ateş, titreme gibi hastalık belirtileri göstermiştir. Hastalığın 6. gününde alınan 5 mililitre kan kobaylara verildiği zaman ateş oluşturmuş ve bir sonraki çalışmada bu ajanın kenelerden izole edilen Nine-Mile ajanı ile aynı olduğu görülmüştür (58, 112, 154, 177).

Burnet, 1938 Nisan ayında Dyer'e Q humması etkeni ile enfekte olan fareden dalak örneği göndermiş ve araştırmacı etkenin Nine-Mile etkeniyle aynı olduğunu saptamıştır. Aynı dönemlerde Avusturalya ve ABD'de bakteriyi izole eden Cox ve Burnet'in isimlerine atfen etken son olarak *Coxiella burnetii* olarak adlandırılmış ve bu isim genel kabul görmüştür (12, 70, 210).

Akdeniz bölgesindeki Alman askeri birliklerinde II. Dünya savaşı sırasında bronkopnömoni ile karakterize ilk olgular belirlenmiş ve 1000'in üzerinde olgu tanımlanmıştır. İtalya, Korsika, Ukrayna, Kırım, Bulgaristan ve Yunanistan'da 1943-1944 yıllarında askeri birliklerde görülen atipik pnömoni tablosu ile seyreden salgınlar "Balkan Gribi" olarak isimlendirilmiştir. Caminepetros, hastaların kan ve balgam örneklerindeki Balkan Gribi etkenini deney hayvanlarından izole etmiştir. ABD'de yapılan inceleme sonucu Balkan Gribinden sorumlu etkenin Q humması ajanı ile aynı olduğu kanıtlanmıştır (130, 154, 186).

Hastalığın ilk görüldüğü bölgeler ve en sık tanımlandığı meslek grubu nedeniyle Avustralya Q humması, mezbaha ateşi, Nine Mile ateşi ve Balkan Gribi gibi isimlerle de anılmaktadır. Etkenin biyoterörizm ajanı olarak kullanılabilir potansiyele sahip olması nedeniyle daha fazla araştırılması gerektiği düşünülmektedir (24, 70, 112, 130, 154, 210).

## 1.2. Etiyoloji

### 1.2.1. Sınıflandırma ve Diğer Türler ile İlişkisi

Q hummasının etkeni *Coxiella burnetii*'dir. *Rickettsia* benzeri bir mikroorganizma olarak bilinmesine rağmen, etken *Gammaproteobacteria* sınıfı, *Legionellales* takımı ve *Coxiellaceae* ailesinde yer almaktadır (13, 23, 112, 124, 167, 186). *Coxiellaceae* ailesinde tek tür olan *C. burnetii*'nin *Francisella* spp., *Legionelle* spp. ve *Rickettsiella grylli* ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir (12, 13, 112, 121, 186). *Coxiella*'nın yaşam siklusu ve parazitik stratejileri *Rickettsiae* ve *Chlamydiae*'nin diğer üyeleriyle benzer olmasına rağmen genom analizleri, metabolik özellikleri ve genetik elementlerin varlığı açısından türler arasında önemli farklılıklar saptanmıştır (202). *C. burnetii*'nin filogenetik analizleri sonucu patojen *Rickettsiae* ve *Legionella* ile yakın ilişkili olduğu saptanmıştır. *L. pneumophila* ve *C. burnetii*'nin alveolar makrofajların fagozomlarında çoğaldıkları ve hücre içi çoğalmalarına yardım eden benzer bir patogeneiz mekanizmasına sahip oldukları belirlenmiştir (240).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda henüz kültüre edilmemiş ve adlandırılmamış çok sayıda *Coxiella* türünün olduğu vurgulanmıştır. *Coxiella* benzeri mikroorganizmalar çeşitli coğrafik bölgelerde birkaç kene türünde belirlenmiş ve genetik metotlarla karakterize edilerek etkenin *C. burnetii*'ye çok benzediği bildirilmiştir. Bakteri genlerini belirlemek için yapılan PZR sonuçları negatif çıkarken, belirlenen bu genlerinin sekizinin eksik olduğu ve sekans farklılıklarının bulunduğu görülmüştür (187). Bernasconi ve ark. (32) İsviçre'de yaptıkları çalışmada 8 kenede *Coxiella* türü bulmuşlardır. İzolatlardan biri hariç diğerlerinin 1997'de Noda ve ark. (157) tarafından identifiye edilen endosimbiont ile aynı olduğunu belirlemişlerdir. Bu endosimbiont, 16S rDNA sekansının filogenetik analizleri kullanılarak *C. burnetii*'den ayırt edilmiştir.

### 1.2.2. Morfoloji

*Coxiella burnetii*, 0,2-0,4x0,4-1,0 µm boyutlarında, pleomorfik, flagellasız, hareketsiz, kapsülsüz ve zorunlu hücre içi üreme özelliğine sahip Gram negatif bir bakteridir (12, 63, 112). Hücre duvar yapısı Gram negatif bakterilerde olduğu gibi peptidoglikan, protein ve lipopolisakkarit (LPS) yönünden zengindir. Gram negatif bakterilere benzer dış yapıya sahip olmasına rağmen Gram boyama yöntemi ile iyi boyanmayıp Castaneda ve Gimenez boyaları ile boyanır. Hücre duvarı 6,5 nm kalınlığında iki membran ve bu iki membran arasını dolduran elektrondan yoğun tabakadan meydana gelmiştir. *C. burnetii*'nin LPS yapısı, hidrofilik ve hidrofobik bölgeler ve lipid A'dan oluşmuştur. *C. burnetii* Nine-Mile suşunun LPS tabakasının embriyolu yumurta ve deney hayvanları üzerindeki toksik etkisi *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium*'un etkisine göre çok daha azdır. LPS tabakasının iç katmanları ise Gram negatif bakterilerin LPS yapısına benzerlik gösterir (9, 112, 142, 146).

*Coxiella* cinsi zorunlu hücre içi olması, boyanma özelliği ve küçük genom içermesiyle *Rickettsiae* cinsindeki bakteriler ile benzerlik gösterirler (10, 17, 154, 185, 211). *C. burnetii*'nin *Rickettsiae*'lardan ayrı cins olarak sınıflandırılmasındaki temel özellikleri arasında; sahip oldukları endosporlar ile fiziksel ve kimyasal etkenlere dayanıklı olmaları, *Rickettsiae*'ların geçemediği filtrelerden geçebilmeleri, Weil-Felix reaksiyonunun negatif olması, enfeksiyonun genellikle döküntüsüz ve pnömoni ile seyretmesi, deney hayvanlarında toksik etki yapmaması, yaşamını devam ettirebilmesi için bir artropod vektöre ihtiyaç duymaması ve faz değişikliğine bağlı olarak virülensinin değişmesi yer almaktadır (121, 210).

### 1.2.3. Moleküler Yapı

Seshadri ve ark. (202) tarafından 2003 yılında *C. burnetii* Nine Mile suşunun genom analizi yapılmış olup, *C. burnetii* Nine Mile Faz I RSA493 suşunun genom dizilimi çözülmüştür. *C. burnetii*'nin genomu tek bir kromozom ile henüz işlevi açıklanamayan 36-42 kilobaz (kb) büyüklüğünde bir plazmidten (QpH1) meydana gelmektedir. *C. burnetii*'nin genom büyüklüğü Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) ile 1,5-2,4 milyon baz çifti (Mbç) olarak belirlenmiştir (10, 63, 112, 154, 202, 230). *C. burnetii* kromozomu, %99'un üzerinde DNA homolojisi gösteren 83 pseudogen, 29 insersiyon elementi (IS) ve 21 tane tek tip IS1111 transpozonu içermektedir. Nine Mile Faz I RSA493 suşunun uzunluğu 1.995.257 bç ve genomunda G+C oranı %42,6 iken, QpH1 plazmidinde %39,3'dür (154, 164, 202). Sekans analizi sonrası adezyon, invazyon, intraselüler lokalizasyon, detoksifikasyon mekanizmaları ve konak hücre modülasyon mekanizmaları ile ilişkili *C. burnetii* genleri ortaya çıkarılmıştır (202). *C. burnetii*'nin yaşam siklusu *Rickettsia* ve *Klamidya* bakterileriyle yüksek oranda benzerlik göstermesine rağmen genom sekansı diğer intraselüler bakteri türlerinden oldukça farklıdır (202). DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarında *C. burnetii* suşları arasında düşük düzeyde genetik heterojenite saptanmıştır (121, 182). Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), spesifik plazmid analizi ve LPS değişkenlerine yönelik yapılan çalışmalar ile akut veya kronik Q humması ile ilişkili *C. burnetii* izolatlarında 6 genomik grubun varlığı ortaya konulmuştur (154, 209).

Nine Mile suşunun genomunda en yaygın olarak IS elementi görülmektedir. Fakat IS, QpH1 plazmidinde bulunmamaktadır. Buna ilaveten *C. burnetii* genomu Tip I, II ve IV sekresyon sistemleri için genler içermektedir. Özellikle Tip IV sekresyon sistemi *Legionella* genomunda gözlenen sistem ile benzerdir (53, 131, 200). Hayvan, kene (Nine Mile izolatu) ve akut Q hummalı insan izolatları genomik grup I, II ve III (Hamilton, Vacca, Rasche suşları) akut suşlar olarak tanımlanırken, endokardit ilişkili genomik grup IV ve V izolatları (Biorzere, Corazon suşları) ise kronik suşlar olarak tanımlanmaktadır. ABD'nin Utah Dugway Bölgesi'nde yabani kemirgenlerden izole edilen genomik grup VI'nın ise patojenitesi bilinmemektedir (142, 233). *C. burnetii*'deki suş farklılıklarının virülens ve hastalık gelişimi ile ilgili



olduğu öne sürülmüştür. Son yıllarda çok sayıda izolat üzerinde plazmid tiplendirme, LPS'nin immüblotlama yöntemiyle incelenmesi ve gen dizilim analizi gibi çalışmalar sonucu suşlarda virülens farklılıklarının olmadığı ve izolatların coğrafik bölgelere dayanan kümelenme eğiliminde olduğu gösterilmiştir (112, 142, 154, 185, 209, 210).

*Coxiella burnetii* suşları arasındaki farklı varyasyonlar ve bunların boyutları PFGE ile belirlenmiştir. *C. burnetii* Nine Mile suşu dışındaki diğer *C. burnetii* izolatlarının QpH (36 kb), QpRS (39 kb), QpDG (42 kb), QpDV (32 kb) 4 değişik tipte plazmid içerdiği bildirilmiştir (29, 112, 121, 154, 185, 210). Plazmidlerdeki ortak dizilerin tüm *Coxiella* izolatlarında korunmuş olması nedeniyle plazmidlerin insanlarda önemli bir virülens faktörü ve hastalık şiddetiyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Başlangıçta plazmid profilleri akut ve kronik hastalardan elde edilen *C. burnetii* izolatlarıyla ilişkili olarak bulunmuş, fakat kronik Q hummalı suşların moleküler analizi sonrası plazmid tipi ile enfeksiyonları arasında bir ilişki olmadığı gösterilmiştir (194). Günümüzde enfeksiyonun gelişiminde konağa ait faktörlerin etkenin genetik farklılıklarından daha önemli olduğu kabul edilmektedir (17, 142, 154, 185).

#### 1.2.4. Faz Varyasyonu

Doğadan ve laboratuvar hayvanlarından izole edilen *C. burnetii* virulent olup insan ve hayvanlarda hastalık meydana getirebilmektedir. Virulent *C. burnetii* Faz I olarak tanımlanmaktadır. Faz I'in hücre kültürlerinde ve embriyolu yumurtadaki tekrarlayan seri pasajlarının ardından düşük enfeksiyözite gösteren Faz II gelişmektedir. Bakterinin faz değişimi dikkat çekici bir olgu olarak görülmektedir (25, 131, 221). Birçok Gram negatif bakteride görülen rough/smooth fenomenlerine benzer antijenik varyasyonlar, *C. burnetii*'nin çeşitli suşlarında da gözlemlenmiştir. *C. burnetii* Faz I smooth form ile eşdeğer bulunurken Faz II varyasyonu ise rough form ile eşdeğerdir. En çok incelenen örnek Montana'da nehir kenarındaki kenelerden izole edilen Nine Mile suşudur. Embriyolu yumurtalarda bu suşun seri pasajlarının ardından elde edilen suş, orijinal izolattan antijenik olarak farklılık göstermektedir (86).

Her iki faz arasında morfolojik olarak fark olmamasına rağmen, antijenik bileşenleri, LPS yapısındaki karbonhidrat bileşimleri, aglütine olma özellikleri, boyalara karşı affiniteleri, fagositoza dirençlilikleri açısından farklar söz konusudur (210, 227). Nine Mile suşunda Faz I'den (doğal tip) Faz II'ye (non-patojenik) geçiş "O" antijen yan zincirlerindeki  $\beta$ -D-virenöz, galaktozamin üronil- $\alpha$ -(1,6)-glukozamin ve dihidroksistreptoz gibi karbonhidratların kademeli kaybı sonucunda meydana gelmektedir (198). Fazlar arasındaki geçiş muhtemelen immun yanıtından kaçış stratejisi olarak kullanılmaktadır (95, 146, 227). Lipopolisakkaritin (LPS) çeşitli antijenik yapılarındaki kayıp, doku kültüründe pasajlar sonucunda meydana gelmektedir (232). Yapılan denemeler sonucunda Faz II LPS'in konak immun sistem yapılarına Faz I'den daha fazla maruz kaldığı görülmüştür. Bu durum Faz II *Coxiella*'nın konak immun sistemi tarafından daha kolay uzaklaştırıldığını açıklamaktadır. Faz II formu, Faz I ile karşılaştırıldığında daha az virulense sahip olduğu görülmektedir (155). Ormsbee ve ark. (162) yaptıkları çalışmada Faz I'in kobaylarda Faz II'den çok daha enfektif olduğunu saptamışlardır. Hücre kültürlerinde Faz II hücreleri Faz I hücrelerinden daha enfektifdir (26).

Nine Mile suşlarında Faz I'in Faz II'ye dönüşümünü sağlayan kromozomal bir kayıp söz konusudur. Bu kayıp, LPS, lipopoligosakkarit (LOS) sentezi ve genel karbonhidrat metabolizmasıyla ilişkili olan çok sayıda genin bulunduğu bölgede görülmüştür. Ancak faz varyasyonu, kromozomal delesyonun konum ve boyutuyla ilgili olarak izolatlar arasında aynı değildir ve LPS sentezleyen genleri her zaman içermeyebilir (222).

*Coxiella* LPS'si konak immun sistemine karşı organizmanın savunmasında çok önemli bir molekül olup hastalığın şiddetiyle doğrudan ilişkilidir. *C. burnetii* faz varyantlarında farklı LPS yapıları belirlenmiştir. Faz I tam LPS yapısını içerirken, Faz II lipid A ve bazı temel şekerlerden oluşan fakat O-antijeni içermeyen bir LPS yapısına sahiptir (84, 86).

### 1.2.5. Yaşam Döngüsü

*Coxiella burnetii* spor benzeri formlar oluşturan kompleks bir yaşam döngüsüne sahiptir. Elektron mikroskopik incelemeler sonucunda bakterinin aktif büyük hücre formu (large cell variants-LCV), küçük hücre formu (small cell variants-SCV) ve küçük yoğun hücre formu (small dense cell-SDC) olmak üzere üç formu tanımlanmıştır. Bu formlar morfolojik, antijenik ve metabolik farklılıklar göstermekte, fiziksel ve kimyasal dirençleri ile birbirinden ayırt edilebilmektedir (112, 141).

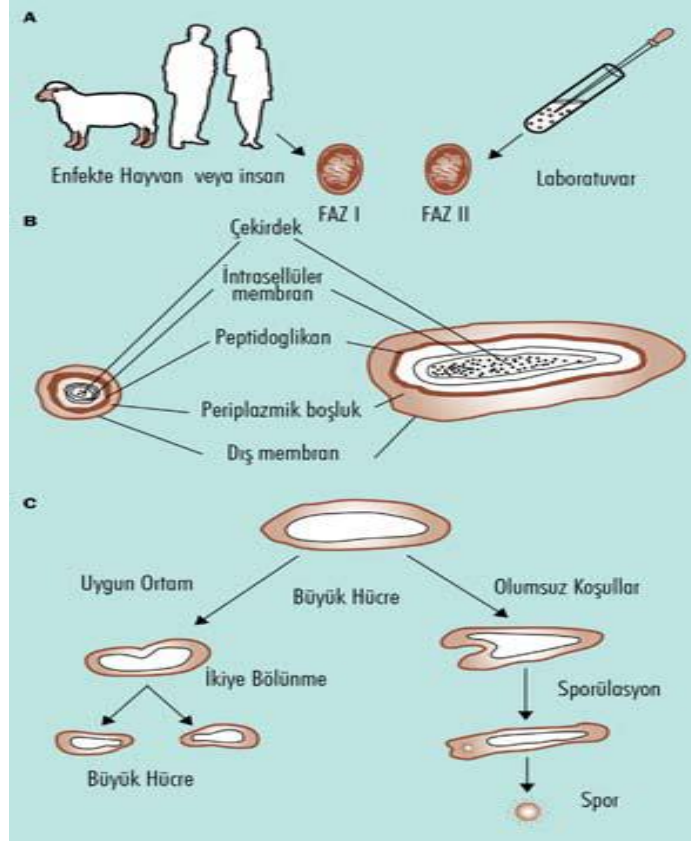
Gram negatif bakteriler ile ortak özelliklere sahip LCV formu, yaygın kromatin, dış membran ve stoplazmik membrandan oluşmaktadır. Bunlar, yoğunlaşmış kromatine sahip olan SCV ve SDC'den daha büyük, daha pleomorfik ve metabolik olarak daha aktif, daha az elektron yoğunluğu ile dikkat çekerler. Hem LCV hem de SCV, periplazmik boşlukla ayrılmış iki farklı tabaka içeren Gram negatif hücre duvar yapısına sahiptir (17, 91, 146). Yapılan son çalışmalarda, *C. burnetii*'nin LCV ağırlığının %2'si, SCV ağırlığının ise %32'si kadar peptidoglikan içerdiği görülmüştür. Peptidoglikan çapraz bağlarının yetersizliği nedeniyle LCV lizis, ozmotik şok ve diğer çevresel faktörlere oldukça duyarlıdır. SCV'nin kalın hücre duvarına sahip olması bu hücreyi fiziksel ve kimyasal faktörlere karşı daha dirençli kılar (9, 146). Ayrıca LCV, genel olarak 2µm uzunluğunda, dağınık kromatin ve daha yuvarlak bir yapı gösterirken, SCV yaklaşık 0,45µm uzunluğunda ve çubuk şeklinde bir morfolojiye sahiptir. Bu iki varyant metabolik olarak aktiftir. Fakat glukoz ve glutamat metabolizması yönünden SCV, LCV'den daha düşük aktiviteye sahiptir (9, 146, 224).

Hem LCV hem de SCV *C. burnetii*'nin intraselüler ve ekstraselüler yaşam siklusunda önemli rol oynamaktadır. *C. burnetii*'nin bu iki formu da enfeksiyözdür. Ekstraselüler yaşamda LCV'nin SCV'ye dönüşümü *C. burnetii*'nin stabil yaşamasına imkan sağlarken, SCV'nin LCV'ye intraselüler dönüşümü organizmanın gelişimi ve çoğalmasına olanak sağlar (91, 131, 224). Konak hücreye bağlanan SCV, hücre içine alınarak LCV formuna dönüşür. Düşük fagosomal pH ve enzim sistemlerinin

SCV'den LCV'ye dönüşümü tetiklediği düşünülmektedir (112, 130, 147, 154, 185, 227).

Morfolojik olarak SDC, SCV'ye benzer fakat daha yüksek bir fiziksel dayanıklılık ile bu formdan ayrılır. SDC, endospor olarak LCV'de de görülebilir. LCV'nin lize olması sonucu serbest kalabilir ya da eşit olmayan hücre bölünmesi ile ikili enine bölünmeye uğrayabilir. SDC yalnız başına izole ve purifiye edilmemiş olmasına rağmen, serbest yaşayan amipler SDC formasyonu ve *C. burnetii*'nin yaşamı için intraselüler bir ortam sağlayabilirler. Bifazik bölünme, hücre kültürlerinde hem SCV hem de LCV'de gözlemlenir. Farklı formların oluşumu, parazitoforus vakoul (PV) içinde ve dışında yaşam için gerekli bir strateji olarak *C. burnetii*'nin yaşam siklusu ile yakından ilişkilidir (17).

Küçük hücre formu ve SDC, konakta kalıcı formlar ve çevrede dirençli *C. burnetii* formları olarak kabul edilirler. Gerçekten de UV radyasyon, ısı, kuruma, sonikasyon, osmotik basınç ve oksidatif strese karşı yüksek direnç belirlenmiştir. Bu direnç enfeksiyöz partikül olarak en az 150 gün ekstraselüler ortamda yaşamına olanak sağlar. *C. burnetii*'nin bu olağan üstü direnci, intraselüler bakterilerin spesifik bir özelliğidir. Çevrede geniş çaplı yayılım ve ilk konak tarafından atıldıktan sonra hayvan ve insanları uzun süre enfekte etmesi bu şekilde açıklanabilir. *Coxiella* formları spesifik belirleyiciler ile tanımlanmasına rağmen *C. burnetii*'nin farklılaşma süreci tam olarak aydınlatılamamıştır (17). Coleman ve ark. (53) tarafından yapılan çalışmada, *C. burnetii*'nin farklılaşmasının analizini yapıp, yaşam döngüsü ve bakteriyel gelişim siklusu takip edilmiştir. *C. burnetii*'nin faz değişimi Resim 1'de gösterilmiştir.



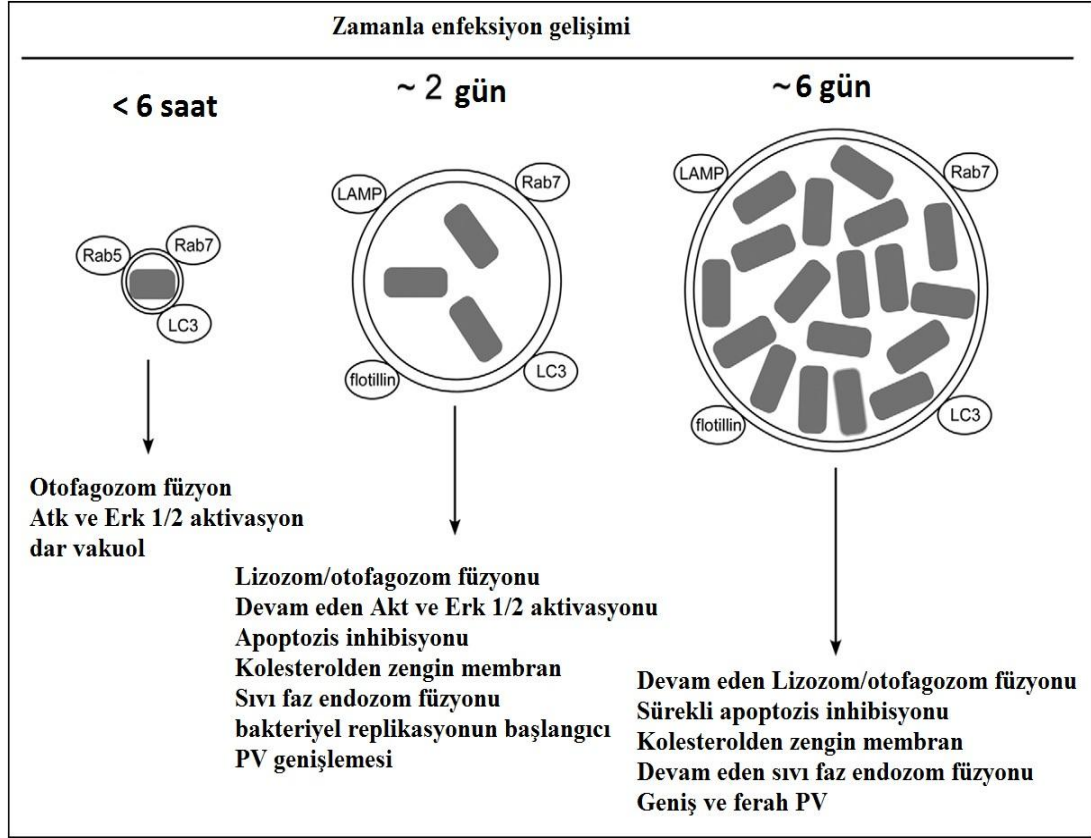
**Resim 1.** *C. burnetii*'nin faz değişimi ve morfolojik varyantları (130).

*Coxiella burnetii* inhalasyon yoluyla alındığı zaman ilk olarak alveolar makrofajlarla temas kurar ve daha sonra sistemik enfeksiyona yol açar. İntraselüler bakterilerin enfeksiyon oluşturması için konak hücrelerine tutunması, çoğalması ve enfekte olmayan hücrelere ulaşması gerekmektedir (151). Diğer etkenler gibi *C. burnetii*'de gelişimi, çoğalması ve bir başka konak hücreye geçişi için henüz belirlenmemiş çoklu istila stratejisi kullanmaktadır (131).

Konak hücrelerine *C. burnetii*'nin alımı bir mikroflament aracılı endositik süreçten oluşmaktadır. İnsan akut monositik lösemi hücreleri (THP-1) üzerinde yapılan çalışmalarda Faz I *C. burnetii*'nin hücre yapısında köklü bir değişikliğe neden olduğu ortaya konulmuştur. Aktin hücre iskeletinin yeniden yapılandırılması bakteriyel bağlanma yerinde belirgin bir membran çıkıntısına neden olur. F-aktin bu membran çıkıntısında birikir ve bu birikim konak hücrelerindeki sitokin kinaza bağlanır (149). F-aktinin yeniden dağılması sitokalazin D tarafından engellenir ve böylece morfolojik değişiklikler meydana gelmez. Faz II *C. burnetii*'nin hücreye

tutunması böyle hücresel değişiklikler meydana getirmez (131, 150). THP-1 hücrelerinde Faz I *C. burnetii*'nin alımı  $\alpha v\beta_3$  integrin reseptörüne ve CD3 reseptörlerine bağlı iken Faz II *C. burnetii*'nin alımı  $\alpha v\beta_3$  integrinine bağlıdır (44). Faz I *C. burnetii*'nin CD3 ko-reseptörlerine bağlanarak onların etkinliğini engellediği düşünülmektedir. Faz I *C. burnetii*'nin LPS yapısı maskelenen yüzey proteinleriyle CD3 reseptörlerinin bakteri ligandlarıyla etkileşimini engeller (44, 131). Faz varyantlarının hücreye alınma şekillerindeki farklılık  $\alpha v\beta_3$  integrini ve CD3 reseptörlerini içermeyen VERO epitelyal ve L-929 fibroblast hücrelerinde görülmektedir (224).

Konak hücre tarafından alımı takiben *C. burnetii*, standart endozomal yolla yıkımlanmaz. Bunun yerine sekonder lizozoma benzer bir PV oluşumunu sağlayabilir. Oluşmaya başlayan fagozom küçük bir bölümdür. Oluşan ilk PV (< enfeksiyon sonrası 6 saat) membran trafiğini düzenleyen ilk ve son endozomun prototipik markerları olan küçük GTPase Rab5 ve daha az oranda Rab7'den meydana gelir. Yine ilk oluşan Coxiella-PV membranı otofagozom markerları mikrotübül ilişkili protein hafif zincir 3 (LC3) ve Rab24 ile donatılmıştır. Enfeksiyondan yaklaşık 2 gün sonra, çoğalma fazında *Coxiella*'nın girişi ile karşılaşılabilir. Olgun PV konak hücre sitoplazmasının çoğunu işgal eder. Bu noktada PV rastgele endolizozomal vezikül ile birleşir ve otofajik yol ile etkileşimlerden korunur. Vakoul, lizozomal enzimler, asit fosfataz, 5'- nükleotidaz ve katepsin D içerir. Orta derece asidik pH'ya sahiptir. Ayrıca PV membran vakoular H<sup>+</sup> ATPase, Rab7, lizozom-ilişkili membran protein (LAMP)-1, LAMP-2 ve LAMP-3, fitolitin 1 ve 2, LC3 ve Rab7 donatılarını kaybeder (225). Bu gelişim süreci Resim 2'de gösterilmiştir.



**Resim 2.** Parazitoforus vakoul (PV) 'ün *Coxiella* modülasyonu ve intraselüler çoğalma sırasında konak hücre sinyalizasyonu. Olgunlaşmamış, küçük *Coxiella* PV'nin (< enfeksiyon sonrası 6 saat) oto fagozomlar ile etkileşimi ve sırasıyla LC3 ve Rab5 markerları ile kuşatılmış ilk endozomlar. Otofajik veziküllerle etkileşim *Coxiella* protein sentezini gerektirir. Enfeksiyon sonrası iki gün içinde ve *Coxiella* replikasyonunun başlamasıyla birlikte olgunlaşan PV geniş ve ferah hale gelir ve genellikle düşük sayıda organizma barındırır. Bu noktada PV net bir şekilde asidik olan (pH 5) aktif asit hidrolazları içermektedir. LC3 ve Rab7 kaybederken lizozomla ilişkili zar proteini olan LAMP-1, LAMP-2 ve LAM-3 ile çevrelenmektedir. Enfeksiyon sonrası iki gün içinde *Coxiella* ile enfekte olan hücreler apoptozise karşı korunur (225).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, *C. burnetii* ile enfekte Vero hücrelerinde kolesterol metabolizması incelenerek bu konudaki boşluk doldurulmaya çalışılmıştır. PV kolesterol, *Coxiella* enfeksiyonu esnasında hem önemli yapısal hem de sinyalizasyon rolleri ile hizmet edebilirler. Yapısal bir komponent olarak kolesterol fosfolipid katmanlarının mekanik gücünü artırır. Bu özelliği ile olgun *Coxiella*, PV genişliğine rağmen mekanik bozulmalara son derece dayanıklıdır. Kolesterol aynı zamanda membranın iyonik permeabilitesini azaltır ve böylece protonların girişini minimize ederek luminal asidik pH'yı korumada PV'ye yardımcı olur (224).

### 1.2.6. Doku Tropizmi

*Coxiella burnetii*, farelerin makrofaj benzeri hücreleri (P388D1 ve J774 hücre hatları), fibroblast hücreleri (L929 hücre hattı) ve VERO hücreleri gibi pek çok hücre tipinde in vitro gelişebilir. *C. burnetii*'nin in vivo çoğalması için embriyolu yumurta, fare ve kobay gibi laboratuvar hayvanları, yaygın olarak kullanılır. İnsan ve hayvanlarda monosit ve makrofajlar tek bilinen hedef hücrelerdir. Solunum yoluyla enfeksiyon olduğu zaman, akut Q humması esnasında akciğerlerde alveolar makrofajlar enfekte olan ilk hücrelerdir. Karaciğerde Kupffer hücreleri de duyarlı olabilir ve kan yolu ya da sindirim yolu ile enfeksiyon gelişebilir. Yalnızca birkaç hastanın sindirim yoluyla hastalandığı bildirilmiştir (142).

*Coxiella burnetii*'nin mononükleer fagositlere kuvvetli bir affinitesi olduğu ve akut hastalık döneminde dalak, karaciğer ve kemik iliğinde kolayca bulunabildiği ifade edilmiştir. Farelerde yapılan denemelerde dalağın diğer organlardan 20 kat daha fazla *C. burnetii* içerdiği görülmüştür (25, 239). Dalak dokusunda bakteri sayısının 13 gün boyunca yüksek kaldığı fakat kan ve akciğer dokusunda enfeksiyon seviyesinin nispeten daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu da *C. burnetii*'nin çoğalması için en uygun dokunun dalak olduğunu göstermektedir (239).

*Coxiella burnetii* gebe hayvanlarda üreme organlarına bir tropizm göstermektedir. *C. burnetii* ile deneysel enfekte edilen gebe keçi plasentalarında koriyoallantoik membranın trofoblast hücreleri etkilenen ilk hücrelerdir. Yine yoğun bakteriyel çoğalma gebeliğin son haftasında fötüsle ilişkili olan plasental kısımda görülürken, maternal kısım nisbeten lezyonsuz kalır ve az sayıda *Coxiella* içerir. Fötal plasentada artan bakteriyel hücre çoğalması abort ile sonuçlanır (196).



### 1.2.7. Fiziksel ve Kimyasal Etkenlere Direnç

*Coxiella burnetii*'nin SCV formu; yüksek ısı, basınç, kuruma, ozmotik şok ve bazı kimyasal dezenfektanı da içeren fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı yüksek düzeyde direnç göstermektedir (145). Etkenin, kurumuş balgamda 30 gün, tozda 120 gün, kurumuş kobay idrarında 49 gün, kene dışkısında 586 gün ve yünde 12-16 ay yaşayabildiği görülmüştür (176). Metabolik olarak aktivitesi yüksek LCV'nin direnci daha azdır. Bu iki varyant, LCV'nin uğradığı plazmoliz ve osmotik şok ile ayrılabilir (141, 232).

*Coxiella* 4-6 °C'de saklandığı zaman sütte 42 aya kadar enfeksiyöz olarak kalır. 63 °C'de 30 dakika, 72 °C'de 15 saniye sonra inaktif hale gelir. Bu veriler modern pastörizasyon metodunda kullanılmaktadır (49). *Coxiella burnetii*, SCV ve SDC spor formunda iken *Bacillus subtilis* ile benzer karakteristik özellik göstermektedir. Spor çekirdeğinde düşük seviyede su bulunması yüksek dirence katkı sağlamaktadır (55, 200). Enfeksiyöz *C. burnetii*'nin %0,5 sodyum klorit, %5 lizol, %5 formalin ile 24 saat muamele edilmesi sonucunda etkene hala rastlanabiliyor iken aynı şartlar altında *Bacillus* sporları inaktive olmaktadır. Bununla birlikte %70'lik etanol, %5'lik kloroform ile 30 dakika muamelenin *C. burnetii*'yi inaktif hale getirmek için yeterli olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, *C. burnetii*'nin çevreye dirençli formları (SCV ve SDC) ile ilgili spekülasyonlara yol açmıştır (199).

### 1.3. Epidemiyoloji

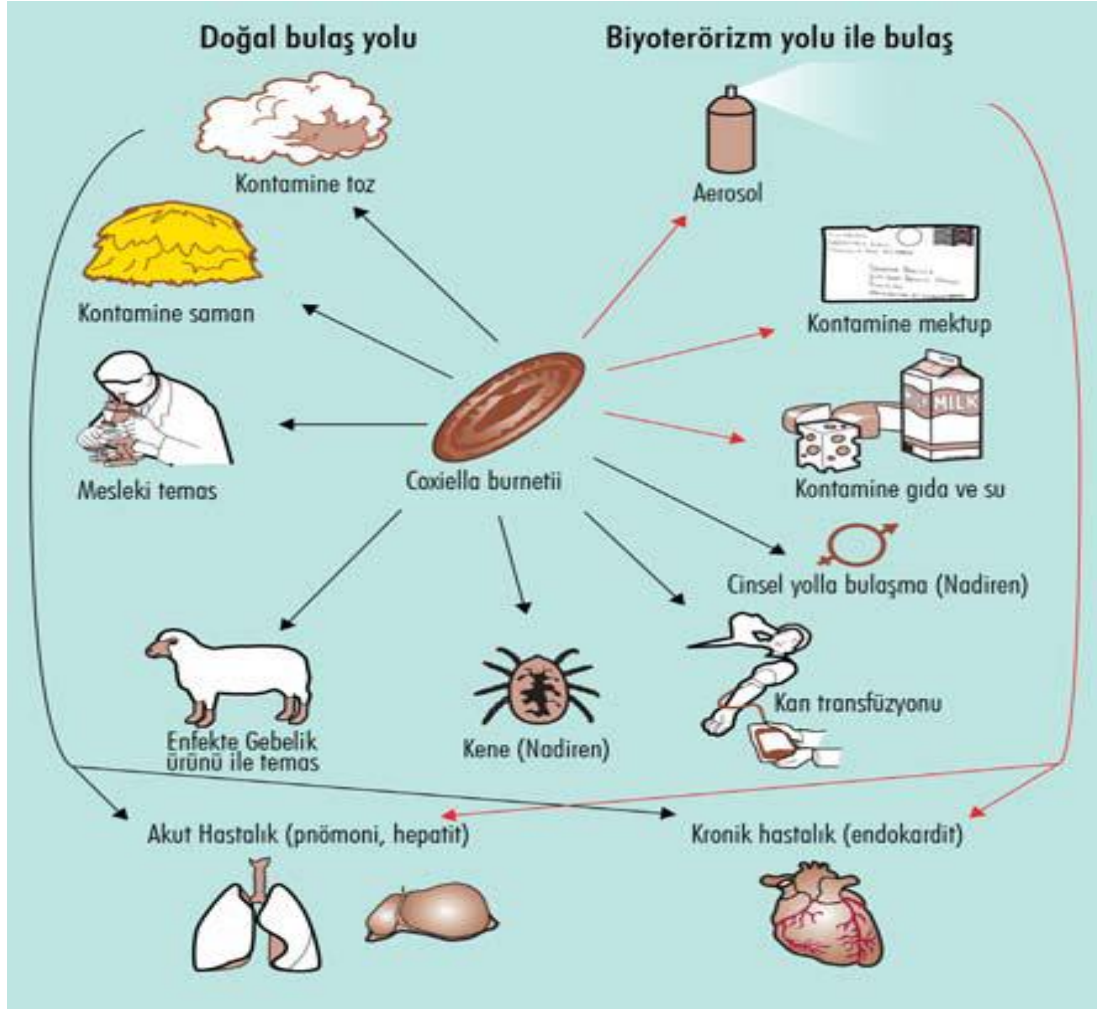
#### 1.3.1. Bulaşması

Q humması dünyada yaygın olarak görülen zoonotik hastalıklar arasında yer almaktadır. Etken; sığır, koyun, keçi gibi ruminantlar, kedi, köpek, nadiren kuşlar, sürüngenler, keneler ve insanları da içeren geniş bir konakçı spektrumuna sahiptir (89, 167). Q humması epidemiyolojisine yönelik kobaylarda yapılan bir çalışma sonucunda Faz I *C. burnetii*'nin bir mikroorganizma ile enfektif olabileceği ve bu durumun insanlar için de benzerlik gösterebileceği ifade edilmiştir (210). Evcil ruminatlar insanlar için önemli enfeksiyon kaynağı oluşturmaktadır. Kontamine havanın inhalasyonu bulaşmanın en önemli yoludur (142, 211). Bunun yanı sıra kangurular, yabani ve evcil domuzlar ve develer bulaşmada rol oynamaktadır (3, 178, 207). Doğum sıvıları ve plasental dokulardan çok sık izole edilmekte ve plasental dokuların her gramında yaklaşık  $10^9$  *Coxiella burnetii* olduğu belirtilmektedir (1, 33, 228). Doğum ürünleri taze iken insanlar için önemli bir enfeksiyon kaynağı olabilir ve kuruduğu zamanda aynı risk söz konusu olabilir. *Coxiella* rüzgârla yayılabildiği için kapalı alanlarda altı metreden daha az bir mesafenin bulaşma için önemli olduğu görülmüştür. Doğum ürünlerindeki bakterinin yüksek konsantrasyonundan dolayı bir enfekte hayvan bile pek çok insan için enfeksiyon kaynağı olabilir (24, 142, 179, 233).

*Coxiella burnetii*'nin enfekte hayvanların süt, vaginal sekresyon ve dışkılarıyla yayıldığı bilinmektedir (16, 17, 37). Sığırlar ve keçiler sütleriyle etkeni yayabilirken koyunlar daha çok dışkı ve vaginal mukuslarıyla yayarlar (191). Keçilerde uygulanan deneysel enfeksiyon sonucunda *Coxiella* meme bezleri ve akciğerde PZR ile belirlenmiş fakat abortlardan sonra sekiz güne kadar karaciğer ve dalakta görülmemiştir (196). *Coxiella burnetii* abort sonrası vaginal sekresyon ve sütle 26. ve 30. güne kadar atılabilir (196).

Çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketimi sonucunda Q humması meydana gelir. Berri ve ark. (37) yapmış oldukları çalışma sonucunda, enfekte koyunların %25 kadarının sütlerinde *C. burnetii* saçtıklarını ve çiğ süt ürünlerinin insanlardaki enfeksiyon için

önemli bir risk faktörü oluşturduğunu saptamışlardır. Gebe keçilerin abort sonrası 52. güne kadar sütleriyle etkeni saçtıkları belirlenmiştir (16). *C. burnetii*'nin bulaşma yolları Resim 3'te gösterilmiştir.



**Resim 3.** *C. burnetii*'nin epidemiyolojisi ve ana klinik tabloları (130).

*Coxiella burnetii*'yi *Rickettsia* cinsinin diğer türlerinden ayıran en önemli özelliği, taşınmasında artropod bir vektöre ihtiyaç duymamasıdır (233). Artropodlar çok yüksek konsantrasyonda *C. burnetii* için liman olarak gösterilmiş ve ektoparazitlerin patojeni taşıma yeteneğine sahip oldukları görülmüştür. Ancak artropodların insanlara *Coxiella*'nın taşınmasında önemli bir vektör olduğu düşünülmemektedir (17). *Coxiella*'nın vertikal bulaşması kenelerde bildirilmiştir (5). *C. burnetii*'nin veneral bulaşması hayvan modellerinde ortaya konulmuştur (123).

Q humması insanlarda, muhtemelen sığır ve farelerde de seksüel yolla bulaşabilen bir hastalık olarak ifade edilmiştir. İnsandan insana bulaşmanın plasental, kan transfüzyonu ve otopiler yoluyla gerçekleştiği rapor edilmiştir (47, 153, 208). Mesleki olarak bu hastalığa maruz kalan bir kişi 2001 yılında rapor edilmiş daha sonra eşinde de bu hastalık belirlenmiştir (153).

### 1.3.2. Enfeksiyon Rezervuarları

*Coxiella burnetii* geniş oranda vertebralıları enfekte edebilme yeteneğine sahip olup, konak spesifitesi olmayan bir patojendir. İnsanlar *Coxiella*'nın yaşam siklusu içinde en son konaklardır. Keneler, dış ortam ile evcil hayvanlar arasında *C. burnetii* yayılmasında önemli rol oynamakta ve ayrıca *C. burnetii*'nin ana rezervuarı ve vektörü olarak kabul edilmektedir. Etkenin bu güne kadar 40'dan fazla kene türünde izole edildiği bildirilmiştir. *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Haemaphysalis*, *Boophilus* ve *Rhipicephalus* gibi *Ixodidae* ailesine ait cinsler ile *Ornithodoros* ve *Argas* cinsindeki keneler *C. burnetii*'yi taşıyabilmektedir (17, 112, 113, 125, 167, 233). Keneler yaşam boyunca enfekte olup transovariyal olarak etkeni kuşaktan kuşağa aktarırlar. *C. burnetii* enfekte kenelerin orta bağırsağında ve midesindeki hücrelerde çoğalırlar. Enfekte keneler ısırıklarıyla ve yüksek oranda bakteri içeren dışkılarıyla etkeni yabani ve evcil hayvanlar arasında bulaştırırlar. Bu özelliklerinden dolayı keneler hastalığın enzootik döngüsünde rol oynadığı belirtilmektedir (6, 17, 54, 125, 154, 227, 233). Memelilerde olduğu gibi kenelerde de *C. burnetii* Faz I formunda bulunmaktadır ve oldukça infeksiyözür. Yabani omurgalı hayvanlar, özellikle rodentler, lagomorflar ve yabani kuşlar bulaşmada önemli rol oynamaktadırlar. *C. burnetii*; pireler, bitler ve sinekleri içeren diğer birçok artropod dan da izole edilmiştir (24, 125, 167).

Altay ve ark. (8) Türkiye'nin 38 ilinden topladıkları 2472 adet keneyi PZR ile *C. burnetii* yönünden incelemiştir. Denizli'den toplanan 56 kene, tür ve cinsiyete göre 13 gruba ayrılmış ve 6 grupta PZR pozitif bulunmuştur. Aynı çalışmada Ankara'da toplanan 160 kene 53 gruba ayrılmış ve bu grupların yalnızca birinin PZR pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Evcil ruminantlar *C. burnetii*'nin ilk rezervuarı olarak düşünülmektedir. Ancak yapılan birkaç çalışma çiftlik hayvanlarında enfeksiyon varlığını kanıtlamakta başarısızlıkla sonuçlanmıştır (3, 74). Sığır, koyun ve keçiler etkenin insana bulaştırılmasında primer rezervuar olarak rol oynamaktadır. Enfekte hayvanların idrar, dışkı, süt ve doğum atıklarıyla etken etrafa saçılır ve insanlara bulaşabilir (167). Kedi ve köpekler *C. burnetii*'nin rezervuarlarıdır. Köpekler kene ısırması, enfekte ruminantların plasentalarının ve sütlerinin tüketilmesiyle ve aerosol yolla enfekte olabilirler. Enfeksiyon gebe köpeklerde erken yavru ölümü ile sonuçlanabilir. Doğum esnasında kedi ve köpekle ilgilenen insanlarda Q humması bildirilmiştir (135, 142, 167).

### 1.3.3. Coğrafik Dağılım

Q humması, Yeni Zelanda ve Antartika dışında bütün ülkelerde yaygın olarak görülmektedir (80, 107, 164, 167). Avustralya, Kanada, Fransa, Almanya, Japonya, İspanya, İsviçre ve İngiltere'de yeni vakalar tanımlanmıştır (17). İnsan ve hayvanlarda yapılan serolojik çalışmalar sonucunda enfeksiyonun tropikal bölgelerde daha çok görüldüğü kanısına varılmıştır (233). Son on yılda Amerika'da sığırlardaki seroprevalans değerleri, *C. burnetii* enfeksiyonunda bir artış olduğunu ortaya koymuştur (167). McQuiston ve ark. (148) yapmış oldukları çalışmaya göre Q humması 1978-1999 yılları arasında vaka sayısı 21 iken 2000-2004 yılları arasında vaka sayısı 51'e yükselmiştir. Q hummasında meydana gelen bu artış ile beraber hastalığın Amerikada bir meslek hastalığı olarak düşünülmesi gerektiğini ortaya koymuştur (127). İngiltere'de 1980-1996 yılları arasında 8 salgın bildirilmiştir. Yaşanan en büyük salgının kaynağı olarak yavrulama döneminde çiftliklerden kaynaklanan aerosollerin rüzgâr aracılığıyla taşınması olarak görülmektedir. Güney Galler Bölgesindeki salgının ise, kontamine saman ve gübre taşıyan traktörlerin şehir merkezinden geçişine bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (54, 112, 206).

Kersh ve ark. (107) Amerika Birleşik Devletlerinde 2006-2008 yılları arasında çevre örneklerinden *C. burnetii* varlığını araştırmak amacıyla çalışma yapmışlardır. Yapılan çalışmada *C. burnetii* çiftlik ve çiftlik hayvanlarının olmadığı ya da hayvancılıkla uğraşılmayan bölgelerde geniş bir yelpazede saptanmıştır.

İngiltere’de *C. burnetii* varlığını ortaya çıkarmak için yapılan seroprevalans çalışmalarında şehir ve kırsal alanlarda yaşayan insanlarda %12,8 ve çiftçilerde ise %20 oranında bulunmuştur. Diğer Avrupa ülkelerinde seropozitiflik %4-45 arasında değişmektedir. Kıbrıs’ta *C. burnetii*’ye karşı insanlarda %52,7, koyunlarda %18,9 ve sığırlarda % 24 oranında seropozitiflik saptanmıştır. İsviçre’de şehirde yaşayanlarda %10,9, kırsal kesimlerde %17 oranında saptanmıştır (65, 143, özgür 1997). Farklı ülkelerde Q humması seroprevalansı Tablo 1’de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Farklı ülkelerde çeşitli hayvanlarda Q hummasının seroprevalansına ilişkin araştırmalar ve sonuçları (17).

Ülke (Ref.)	Yıl	Test Edilen Hayvan Sayısı	Sürü Sayısı	Kullanılan Test	Hayvanların Seroprevalansı (%)
Sığır					
Çad (197)	1999-2000	195 sığır	19	ELISA	4
Türkiye (57)	1998	416 sığır	48	IFA	6
Almanya (92)	1998	21192 Sığır	Belirlenmemiştir	ELISA	8
İtalya (46)	1998	544 Sığır 486 Sığır 155 Sığır	21 <sup>c</sup> 26 <sup>d</sup> 6 <sup>e</sup>	IFA	13 20 2
Koyun					
İtalya (139)	1999-2002	7194 Koyun	675	ELISA	9
Çad (197)	1999-2000	142 Koyun	28	ELISA	11
Almanya (92)	1998 1999	1346 Koyun 100 koyun	Belirlenmemiştir 1	ELISA	1.3 57
Türkiye (57)	1998	411 Koyun	47	IFA	10.5
Keçi					
İtalya (46)	1999-2002	2155 Keçi	104	ELISA	13
Çad (197)	1999-2000	134 Keçi	28	ELISA	13
Almanya (92)	1998	278 keçi	Belirlenmemiştir	ELISA	2.5
Diğerleri					
Japonya (119)	2003	310 ev kedisi 36 sokak kedisi	Belirlenmemiştir	IFA	14 42
Çad (197)	1999-2000	142 Deve	24	ELISA	80
Endonezya (99)	1999	327 Rat	2	IFA	0

<sup>a</sup>ELISA: Enzyme- Linked Immunosorbent Assay

<sup>b</sup>IFA: Immunofloresan

<sup>c</sup> Yıl boyunca ahırda olan sürüler

<sup>d</sup> Kışın ahırda tutulan ve ilkbaharda otlamak için dışarı çıkarılan sürüler

<sup>e</sup> Yıl boyunca dışarıda tutulan sürüler

Ülkemizde *C. burnetii*'nin varlığı 1946-1947 yılları arasında Payzın tarafından ortaya konulmuştur (173). Daha sonra pek çok serolojik çalışma ile hastalığın yaygınlığı araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmalar ile hastalığın hayvanlar ve insanlar için önemi ortaya konulmuştur (167). Türkiye'de *C. burnetii*'nin ilk olarak insanlarda tanımlanmasının ardından ana enfeksiyon kaynağı olan çiftlik hayvanları ve keneler üzerinde yapılan çalışmalar ağırlık kazanmıştır. Etkenin coğrafik dağılımı ve prevalansını saptamak amacıyla hem beşeri hem de veteriner hekimlik alanında çalışmalar yoğun olarak devam etmiştir. Çiftlik hayvanları üzerinde gerçekleştirilen yoğun çalışmalar sonucunda prevalansın yaşla birlikte arttığı, sürü prevalansının birey prevalansından daha yüksek olduğu, genital problemi olan veya yavru atan hayvanlarda prevalansın sağlıklı hayvanlara göre daha yüksek seyrettiği belirlenmiştir (113).

Ülkemizde ruminantlarda *C. burnetii* enfeksiyonu enzootik olarak kabul edilmesine rağmen epidemiyolojisi yeterince anlaşılamamıştır. Halk arasında hayvanlarda ortaya çıkan enfeksiyon "eski hastalık" olarak bilinmektedir (113). Ülkemizde hayvanlarda bugüne kadar tek bir salgın bildirilmiştir. Ankara İli Haymana İlçesi Höyük Köyünde 1952 yılında koyun ve keçilerde görülen abort vakaları üzerine yapılan araştırmalar sonucunda %90 oranında seropozitiflik saptanmıştır (21, 113). Bazı Q humması salgınlarından kedi ve köpeklerin sorumlu olduğu düşünülerek İç Anadolu Bölgesi'nde yapılan bir çalışmada kedilerde seroprevalans %4,9 olarak tespit edilmiştir (113). Öngör ve ark. (161) tarafından Elazığ bölgesinde abort geçmişi olan ve olmayan toplam 22 koyun sürüsünden alınan 400 süt örneği immüno-manyetik ayırım PZR (İMA-PZR, İMS-PZR) yöntemiyle incelenmiş, abort öyküsü olan sürüden alınan süt örneklerinin %6,5'inde *C. burnetii* DNA'sı saptanmasına rağmen, abort öyküsü olmayan gruptan alınan süt örneklerinden etkenin genetik materyali bulunamamıştır. Ülkemizde 1947-1953 yılları arasında Q hummasının tespit edildiği bölgeler Resim 4'te gösterilmiştir.

İnsanlarda Q hummasının coğrafik dağılımı oldukça yaygındır ve Antartika dışında 50'den fazla ülkede bildirilmiştir. İnsan ve hayvanlardaki serolojik çalışmalar tropikal bölgelerde ılıman iklimlere oranla daha çok görüldüğünü ortaya koymaktadır. Avrupa ülkelerinde 2000'li yıllarda gerçekleştirilen epidemiyolojik

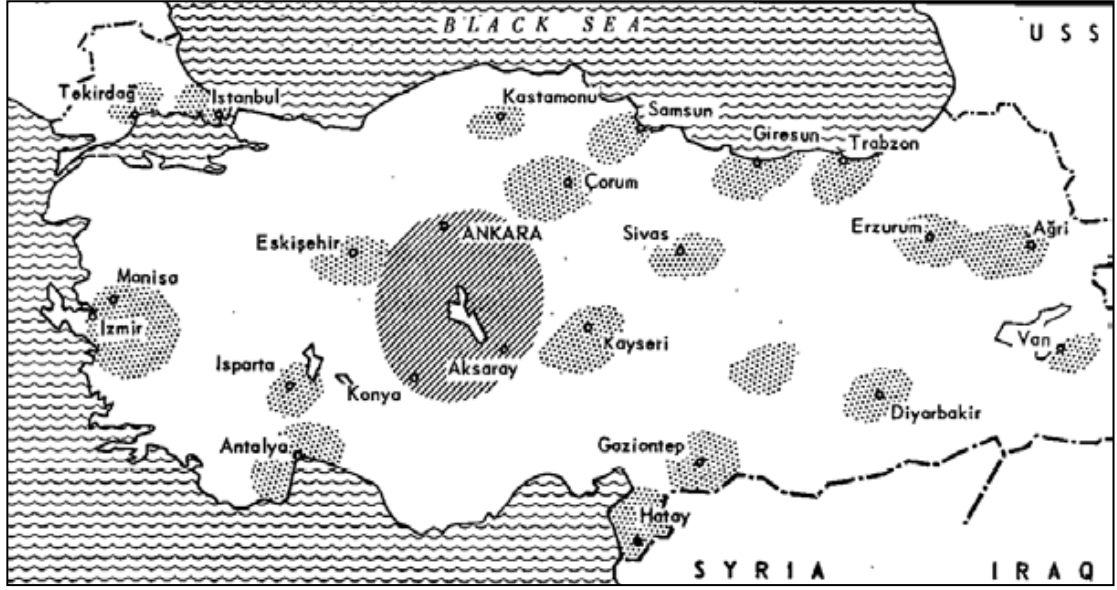


araştırmalar, Q hummasının bir halk sağlığı problemi olduğunu ancak bir çok ülkede bildirim zorunlu bir hastalık olmaması ve asemptomatik seyretmesinden dolayı gerçek prevalansının belirlenemediğini göstermiştir (142, 186). Bununla birlikte Q humması, Fransa, Almanya, İşpanya, Yunanistan, Kuzey İrlanda, Avustralya ve ABD gibi bazı ülkelerde bildirim zorunlu hastalıklar listesinde yer almaktadır. Avrupa’da akut Q humması salgınları koyunların yavrulama ve yn kırkım zamanları olan ilkbahar ve erken yaz aylarında bildirilmektedir (142, 233).

Sağlıklı insanlar arasında yapılan çalışmalarda enfeksiyonun seroprevalansı %9,2-80,0 oranında bildirilmektedir (41, 167, 168). Bke ve ark. (41) İzmir’in Ovacık Beldesinde hayvancılıkla uğraşan kişilerde *C. burnetii* seroprevalansını araştırdıkları bir çalışmada *C. burnetii* Faz II antijenlerine karşı oluşan IgG antikorlarını % 25 oranında tespit etmişlerdir. Kılıç ve ark. (111) Hatay ilinde risk gruplarında gerçekleştirdikleri çalışmada veteriner hekimlerde %28,6, veteriner fakültesi ğrencilerinde %14 ve mezbaha işçilerinde %23,3 oranında pozitiflik bildirmişlerdir. Sertpolat ve ark. (201) İzmir ve çevresinde gerçekleştirdikleri çalışmada meslek grupları içinde en yüksek pozitiflik %53,3 oranı ile ifti ve kasaplarda belirlenmiştir. Aslan (19) Erzurum, Kars ve Ardahan illerinde süt ve süt üretimi ile uğraşan kişilerde Q hummasının seroprevalansını belirlemek amacıyla IFA ile yaptığı bir çalışmada toplam 153 kişiden topladığı kan serum rneklelerinde IgG ve IgM antikorlarını araştırmıştır. İncelenen 153 adet serumun 110’unda (%71,9) IgG, 24’nde (%15,7) IgM antikorları saptanmış olup geriye kalan 19 örnekte de (%12,4) negatif sonuç elde edilmiştir. Total seropozitiflik oranı Erzurum’dan toplanan rneklelerde %87,8, Kars’tan toplanan rneklelerde %92 ve Ardahan’dan toplanan rneklelerde de %76,2 olarak bulunmuştur.

*Coxiella burnetii*, yavru atan koyun ve keçi plasentalarında çok fazla üreyebilmesi, evre şartlarına direnç göstermesi ve solunum ile bulaşmasından dolayı biyolojik silah olarak OIE tarafından B grubunda sınıflandırılmıştır. II. Dünya savaşı sırasında biyolojik silah olarak kullanıldığı bilinmektedir (130).

**Resim 4.** 1947-1953 yılları arasında Q humması olgularının saptandığı bölgeler (173)



▨ İnsan ve hayvanlarda enfeksiyon prevalansının yüksek olduğu bölgeler

▨ Olguların bildirildiği bölgeler

**Tablo 2.** Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinde hayvanlarda Q hummasının seroprevalansı ile ilgili araştırmalar ve sonuçları (113)

Bölge	Araştırmacı (Ref.)	Yıl	Hayvan türü	Pozitif örnek sayısı/ toplam örnek sayısı	Seroprevalans (%)	Yöntem
Doğu Anadolu	Leloğlu (126)	1970 1977	Koyun Sığır Koyun Sığır	65/227 32/234 101/456 41/262	28.6 13.7 22.1 15.6	MAT (≥ 1:16) KB (≥ 1:16)
	Çetinkaya (57)	1998	Sığır Koyun	24/416 43/411	5.8 10.5	IFA (≥ 1:80)
	Kalender (101)	2001	Koyun (Yavru atan) Koyun (Yav.atmayan)	71/184 25/227	38.6 11.0	IFA (≥ 1:80)
	Seyitoğlu (204)	2005	Sığır (Yavru atan) Sığır (Yavru atmayan)	12/53 10/177	22 5.6	ELISA
Marmara	Turtin (216)	1955	Tiftik Keçisi Koyun Sığır	9/90 15/164 6/109	10 9.1 5.5	KB (>1:8)
	Atun (22)	1953	Koyun Sığır	27/974 3/275	2.8 1.1	KB (>1:16)
	Özgür (166)	1997	Sığır (Fertilite problemlili) Sığır -sağlıklı	35/96 4/52	36.5 7.6	ELISA
	Yurtalan (235)	1998 - 1999	Sığır	128/1,593	8.04	ELISA
	Kennarman (105)	2008	Koyun	151/743	20	ELISA
Ege	Alpar (7)	1960	Koyun Sığır Keçi	115/1128	10	KA
	Gökçen (79)	1989	Sığır	85/391	21.7	MAT (> 1:32)
	Kılıç (115)	2004	Koyun	3/100	3	IFA (> 1:64)
	Kırkan (116)	2008	Sığır	6/138	4.3	PCR
İç Anadolu	Attila (21)	1953	Sığır Koyun Keçi Köpek Kobay	53/208 38/148 8/121 3/4 15/21	25.5 25.7 6.6 75 71.4	KB (≥ 1:16)
	Kılıç (114)	2008	Kedi	7/143	Genel: 4.9 Ankara: 1.6 Niğde: 7.4 Kayseri: 8.3	IFA (≥ 1:64)
Akdeniz	Özyer	1990	Sığır (Yavru atan) Koyun ve keçi (Yavru atan) Sığır (Yav.atmayn) Koyun ve keçi (Yav.atmayn)	41/92 59/75 37/318 29/222	44.5 78.6 11.6 13	KB (≥ 1:20)

**KB:** Kompleman Birleşme Testi; **KA:** Kapiller aglütinasyon; **MAT:** Mikro-aglütinasyon testi; **IFA:** İmmünfloresan antikor testi; **ELISA:** Enzyme Linked Immunosorbent Assay

### 1.3.4. İnsidans ve Mevsimsel Değişim

Q hummasının insidansı coğrafik yerleşim yerine bağlı olarak değişiklikler göstermektedir. Japonya'da sığırlarda Q hummasının kış aylarında arttığı rapor edilmiştir (234). Almanya'da Q hummasının mevsim değişikliği kış salgınlarından yaz salgınlarına geçiş şeklinde olduğu bildirilmiştir (92). Kaliforniya'da koyunlarda, Fransa'da ve Avrupa'nın diğer bölümlerinde insanlarda ilkbahar ve yaz aylarında insidansın en yüksek düzeye ulaştığı gözlemlenmiştir (67, 72, raoult 2000).

### 1.3.5. Risk Faktörleri

Enfeksiyon kaynakları ve geçiş yolu nedeniyle Q humması evcil ruminantlar ile uğraşan insanlarda meslek hastalığı olarak görülmektedir. Çiftlik hayvanları ile temasta olan kişiler, mezbaha çalışanları ve özellikle yün, post işleme tesislerinde çalışanlar, enfekte hayvan materyali ile çalışan laboratuvar personeli, veteriner hekimler ve veteriner teknisyenleri yüksek risk grubunu oluşturmaktadır (75, 113, 136). Ancak son yıllarda kentsel yerleşim alanlarında yerel salgınlar ve sporadik olgular halinde Q hummasının tanımlanması hastalığın epidemiyolojisinde bir değişiklik olarak göze çarpmıştır (112).

Veteriner hekimlerde *C. burnetii*'ye karşı gelişen antikor varlığını araştırmak amacıyla yapılan çalışmalarda Kanada'da %49, İngiltere'de %20, İsviçre'de %25,7 ve Japonya'da %22,7 olarak bildirilmiştir. Mezbaha çalışanlarında ise Kanada'da %35 oranında bulunmuştur. Et işletme tesislerinde çalışan işçilerde ABD'de %40, İngiltere'de %30, Japonya'da %7,5 oranlarında pozitiflik bildirilmiştir (30, 119, 138). Rooij ve ark. (193) Veteriner Fakültesi öğrencilerinde *C. burnetii* IgG ve IgM antikorlarını belirlemek için yaptıkları çalışmanın sonucunda 126 öğrencide *C. burnetii*'ye karşı şekillenen IgG antikorlarını tespit etmişlerdir.

Q humması gelişiminde yaş ve cinsiyet bir risk faktörü gibi görünmektedir. Genel olarak cinsel bir yatkınlık olmadığı kabul edilmesine karşın, çiftlik ve endüstriyel aktivitelerde erkeklerin daha fazla yer almasından dolayı erkeklerde enfeksiyon daha

yüksek oranda görülmektedir. Erkek ve kadınlarda *C. burnetii* enfeksiyonunun görülme oranı (E/K) Avustralya'da 5,3/1,7 ve Fransa'da 2,5/1 olarak bildirilmiştir (142, 185, 186). Erkeklerde görülen bu yüksek prevalans, etkene maruz kalmanın dışında artan duyarlılık ve cinsiyet hormonlarındaki farklılığa, kadınlarda ise enfeksiyonun daha az görülmesi ve klinik tablonun daha hafif seyretmesi 17 $\beta$ -östradiolün koruyucu etkisine bağlanmıştır (185, 186).

Q humması çocuklara oranla erişkinlerde daha fazla görülmektedir ve prevalansı genellikle 30-60 yaş arası popülasyonda daha yüksek olarak bildirilmektedir (5, 40, 62, 112, 147). *C. burnetii* tanımlandığı ilk dönemden itibaren laboratuvar kaynaklı enfeksiyon etkenleri içinde önemli yer tutmaktadır. 1930'lu yılların sonunda ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü'nde etken üzerinde çalışanlar ve aynı binada çalışan ve laboratuvar çalışmalarına katılmamış kişilerde Q humması görülmüştür (28).

#### **1.4. Patogenezis ve Patoloji**

##### **1.4.1. Konak İmmun Cevabı**

*Coxiella burnetii*'nin neden olduğu enfeksiyonun kontrolü T hücre bağımlıdır ama *C. burnetii*'yi elimine edememektedir. *C. burnetii* DNA'sı dolaşımdaki monositlerde, aylar hatta yıllar önce enfekte olan insanların kemik iliğinde bulunabilir. Vertebralı konaklarda, *C. burnetii* enfeksiyonu granülom oluşumuyla sonuçlanır. Bu granülomlar vasküler endotel boyunca monositlerin göçüyle meydana gelebilmektedir. Tipik bir Q humması granülomu, merkezinde şekillenen lipid vakoul ve bunu çevreleyen fibrinoid bir halka ile karakterizedir. Akut faz süresince granülomlarda bakteri izolasyonuna rastlamak mümkündür. Toll-like reseptör-4 (TLR-4) granülom oluşumunda önemli bir role sahiptir. Spesifik immunoglobulinler enfeksiyonu takiben salgılanır. IgG, Faz II antijenlerine karşı etkili olurken IgM, hem Faz I hem de Faz II antijenlerine karşı etkilidir. TLR-4 akut enfeksiyonları takiben oluşan sitokin cevabını modüle eder. Kronik dönemde immün cevap etkisizdir ancak glomerulonefrit oluşturarak zararlı olabilir. *C. burnetii* Faz I ve Faz II bakterileri her üç antikor sınıfının (IgG, IgM ve IgA) yüksek konsantrasyonda cevabına rağmen

çoğalmaya devam eder. Organ biyopsilerinde granülomlara rastlanmaz fakat *C. burnetii* kalp kapakçıkları, karaciğer gibi enfekte dokularda belirlenebilir. Kronik Q fever'lı hastalar yüksek oranda interleokin 10 (IL-10) salgılar. Monositlerde IL-10 bakterinin replikasyonunu sağlamaktadır. Bu durum antikorlar tarafından inhibe edildiği zaman kronik Q hummalı hastaların makrofajlarının endotel boyunca göç yetenekleri gibi mikrobisidal özellikleri yeniden kazandıklarını göstermişlerdir (45, 94, 112, 142, 185).

Polimorf nükleer lökositler, monositler ve makrofajlar tarafından mikroorganizmaların fagositozu, reaktif oksijen bileşiklerinin üretimi ile sonuçlanır. Bu durum, *C. burnetii* hücreleri nötrofil fagositozuna uğradığı zaman şekillenmediği gibi süperoksit anyon yokluğunda kalıcı bir enfeksiyon oluşturmada patojenlere uygun ortam sağlar. Brennan ve ark. (38) *C. burnetii* enfeksiyonunun konak kontrolünde reaktif oksijen ara ürünleri (ROI) ve reaktif nitrojen ara ürünleri (RNI) olmak üzere iki önemli faktör belilemişlerdir. Bir ROI olan NADPH oksidaz aktivasyonunda; İnterferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) uyarımı sonucunda bir süperoksit anyon için oksijen azaltılır, fagozomlara girer ve daha sonra bir dizmutaz tarafından hidrojen peroksite dönüştürülür. Hidrojen peroksit, dış membranda bozulan protein kanalları ile *Coxiella* hücre membranını yıkmalar. Her iki faktörün farelerde çoğalmayı engellediği saptanmıştır. ROI ve RNI üretimi makrofajlarda artan biyosidal mekanizmaların aktive ettiği konak T hücreleri ile ilgilidir. *C. burnetii* tarafından başlatılan sitokin cevabın mevcut *Coxiella* suşlarına bağlı olduğu görülmektedir. Nine Mile suşu, Priscilla suşu ile karşılaştırıldığı zaman Tümör nekroz Faktör (TNF)- $\alpha$ , IL-6 ve IL-8 üretimini daha az uyarmaktadır. Priscilla suşu Nine Mile suşundan daha az IL-1 $\beta$  ve IFN- $\gamma$  oluşumunu uyarmaktadır (52). Diğer taraftan *Coxiella*'nın kloroform-metanol kısmının (CMR) antijen işleyen hücrelerin aktivasyonu ile humoral ve hücresele antiviral immunitiyi uyardığı görülür. Yine *Coxiella*'nın ölümcül viral enfeksiyonlar, protozoal ajanlar ve bakterilere karşı uyarıcı ve güçlü bir antikor yanıtı şekillendirdiği görülmüştür (227, 241).

### 1.4.1.1 Doğal ve Edinsel Bağışıklık

T-helper 1(Th1) ve Th2 içindeki farklılık gibi doğal ve kazanılmış immun cevap arasında yakın bir etkileşim vardır. Makrofajlar koruyucu bağışıklığın gelişmesinde önemli immun fonksiyonlara sahiptir. Enfekte makrofajların salgıladıkları IL-1, TNF ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinler hücrel immun cevabı modüle etme yeteneğine sahiptirler. Sitokinler ve reseptörleri ile ilgili yapılan çalışmalarda intraselüler patojenlere karşı savunmada IFN- $\gamma$  ve TNF'nin rolü belirlenmiştir. Q hummasında antikorların rolü tartışmalıdır. Çoğu araştırmacı antikorların *C. burnetii* enfeksiyonunun kontrolü için yeterli olmadığı görüşündedir. Ancak, antikorlar, fagositler tarafından aktive edilen immun yanıtta *C. burnetii*'nin elimine edilmesine katkıda bulunabilir. *C. burnetii* Faz II bakterileri antikor reaksiyonlarına Faz I bakterilerinden daha fazla maruz kalırlar ve avirulent Faz II bakterilerin daha fazla öldürülmesi komplement C3b 'nin bağlanmasıyla ileri gelmektedir (85, 104, 158).

İn vitro ve in vivo çalışmalarda *C. burnetii* eliminasyonunda IFN- $\gamma$  ve TNF'nin önemli rol oynadığı kanıtlanmıştır. *C. burnetii* gelişimi bir monositik hücre sınırında IFN- $\gamma$  tarafından inhibe edilebilir ve bu sitokin enfekte monositlerin apoptozisini de uyarır. *C. burnetii*'nin IFN- $\gamma$  aracılığıyla ve enfekte monositlerin ölümü TNF'ye bağlıdır. Virulent *C. burnetii* ile in vitro enfekte olan makrofajlar TNF- $\alpha$ 'nın ilk ve güçlü indüksiyonuna neden olur (44, 158, 214, 215). TNF- $\alpha$  üretiminin azalmasıyla makrofajlarda bulunan *C. burnetii*'nin yaşama şansı artar, aksi takdirde konak hücre aktive olur. Faz I LPS şeker zincirlerinin modifikasyonu ile şekillenen yapay bir Faz II LPS yapısı, protein bileşimi aynı kalmasına rağmen bu sisteme maruz kaldığında IFN- $\gamma$  oranını artırır. Bu bulgular, *C. burnetii* Faz I ve Faz II tarafından deneysel enfeksiyon oluşumunun gözlenmesi ile anlaşılmıştır. Faz II bakterileri daha hızlı elimine edilebilir. Faz I ile enfekte olan makrofajlardan IL-1 $\alpha$  salgılanır. *C. burnetii* faz I tarafından enfekte olan makrofajlarda ilk IL-1 $\alpha$  uyarımı (Faz II değil) enfeksiyon sürecinde sitokinlerin spesifik rolünü göstermektedir (44, 158, 214).

### 1.4.1.2 Hücresel Bağışıklık

*Coxiella burnetii* enfeksiyonlarında immun yanıt, primer enfeksiyonda immun yanıt ve aşılardan sonra korunma olmak üzere iki bölüme ayrılmıştır. *Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella pneumophila* ve *Listeria monocytogenes* gibi bakterileri de içeren birçok intraselüler patojene karşı hücresel immun yanıt (CMI) önemli rol oynamaktadır. İntraselüler patojenlerin alımı sonrası antijen sunan hücreler tarafından (APC) konak hücre yüzeyinde antijen sunumu şekillenir. Bu antijen sunumu, APC yüzeyinde T hücreler ile birlikte stimüle edici moleküllerin ekspresyonuyla birlikte gerçekleşir. Kümülatif olarak, bu olaylar antijen-spesifik T hücrelerinin harekete geçmesine yol açar. Çok sayıda aktive edilmiş T hücreleri IFN- $\gamma$  ve TNF gibi yangısal sitokinlerin üretildiği enfeksiyon yerlerinde görev alır. Böyle sitokinler çeşitli hücre tiplerinde antimikrobiyal bir yanıtı uyarır ve böylece enfeksiyonu kontrol altına alırlar. T hücreleri ve mononükleer hücreler, enfeksiyon alanlarında lenfosit, fibroblast uyarımı ve granülom oluşumunda görev alırlar. *C. burnetii* enfeksiyonu konakta güçlü bir immun cevabı uyarır. Aşılanan ve iyileşen insanlarda *C. burnetii* antijenine cevap olarak lenfositler tarafından IFN- $\gamma$  üretilir. Enfeksiyonun kontrolünde IFN- $\gamma$  uyarımını monosit/makrofaj ve fibroblast aktivasyonu takip eder. IFN- $\gamma$  uyarımı sonrası hücreler tarafından üretilen reaktif oksijen ve nitrojen bileşenleri hücre içi bakteri çoğalımının kontrolünde önemli rol oynar. *C. burnetii* enfeksiyonu dalak, karaciğer ve akciğer gibi farklı dokular içinde granümatöz lezyonlar meydana getirir. Kronik Q hummasında granülom oluşumu zayıftır. Hücresel immünite, akut enfeksiyonun kontrolü ve hastalığın reaktivasyonunu önlemek için önemlidir (38, 77, 97, 100, 185, 205).



### 1.4.1.3 Humoral Bağışılık

Tarihsel süreçte, ekstraselüler patojenlere karşı korunmada antikor aracılı immunitenin önemli olduğu kabul edilirken, intraselüler patojenlere karşı ise özellikle hücresel bağışılığın önemli olduğu düşünülüyordu. Son zamanlarda bunun doğru olmadığı açıklanmıştır. Antikorların birçok intraselüler patojene karşı koruyucu immunitede önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (48, 205). Antikorlar farklı mekanizmalarla enfeksiyondan korunmaya aracılık ederler. Bunlar; doğrudan bakterisidal aktivite, komplement aktivasyonu, toksin nötralizasyonu, opsonizasyon/fagositoz, antikor aracılı hücresel sitotoksisite (ADCC), patojenlerin intraselüler hareketini değiştirme, Fc ve kompleman reseptörleri ile ilişkili olduğu düşünülen birçok mekanizma ile etkinlik göstermektedir. Etkili aşuların çoğu antikor-bağımlı mekanizmalar yoluyla immunité sağlamaktadır. Shannon ve Heinzen (204) insan monosit, makrofaj ve dentritik hücrelerinde antikorlarla opsonize edilen *C. burnetii* alımında artış gözlemlemişlerdir. Antikor opsonizasyonu bu hücrelerde bakterilerin artış oranında etkili olamamıştır. Böylece artan fagositoz ve değişen yoğunluk *C. burnetii*'de antikor aracılı bağışılığın (AMI) mekanizmasında etkili olmadığı belirlenmiştir.

Zamboni ve ark. (236) tarafından yapılan çalışma konfokal lazer floresan ile 4,6-diamino-2-fenilindol (DAPI) ile boyanmış hücrelerde *C. burnetii* Faz II'nin intraselüler yükü, dağılımı ve bölünme zamanları tahmini olarak saptanmıştır. Bu amaçla üç farklı fare hücresi (peritoneal makrofajlar, J774 makrofaj-benzeri hücreler ve L929 fibroblastlar) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda farelerdeki peritoneal makrofajların hem geniş vakoul oluşumunu hem de *C. burnetii*'nin Faz II yapıda intraselüler çoğalmasını kontrol ettiği görülmüştür.

Camacho ve ark. (42) yapmış oldukları çalışmada, *C. burnetii* enfeksiyonunu takiben Q hummalı hastalarda yüksek seviyede IgG1, IgG2 ve IgA2 antikorlarını tespit etmişlerdir.

### 1.4.2. Patogenez

*Coxiella burnetii*, dünyada önemli bir patojen olarak bilinmesine rağmen virülens genleri ile ilgili bilgiler sınırlıdır. *C. burnetii*'nin hücre yüzeyinde bulunan proteinlerinin fonksiyonları, aktiviteleri ve dış ortamlarda oluşturdukları intraselüler yaşamları gelişimlerinin anlaşılması açısından önemli ipuçları verir. *C. burnetii*'nin protein sentezi, hücre boyutunda meydana gelen azalma ile de incelenebilir. Ancak in vitro sistemde hücrenin büyüme aşaması gerçekleşmez. İn vitro sistemde *C. burnetii*'nin inkübasyon süresince bir dizi protein sentezi gerçekleşir. Bu proteinler arasında ısı şok protein (Hsp)60 ve Hsp70 homologları, Hsp62 ve Hsp71 yer almaktadır. Hsp62 geni htpB, htpA da lokalizedir (158).

İnsan ve hayvanlarda enfeksiyon genellikle inhalasyon yoluyla oluşur ve etken ilk olarak bölgesel lenf nodüllerinde çoğalır ve 5 ile 7 gün arasında geçici bir bakteriyemi görülür (210). *C. burnetii* patogenezi, plazmid grupları, identifiye edilen genetik özellikler ile ilişkili bulunmuştur (93, 195).

*Coxiella burnetii*, in vivo ve in vitro olarak çok sayıda hücre tipini enfekte edebilme yeteneğine sahiptir. Bu durum etkenin hücre içinde yaşamını ve konağın farklı yerlerine yayılımını sağlayan önemli bir virülens faktör olarak kabul edilmektedir. Konak hücrelerinde *C. burnetii*'nin bifazik gelişim siklusu ve intraselüler lokalizasyonu için gerekli faktörler çeşitli kaynaklarda belgelenmiştir (17). Başta monosit ve makrofajlar olmak üzere farklı hücre tiplerini enfekte edebilen *C. burnetii*'nin konak hücrelerine girişi fagositoz ile gerçekleşir. Fagositoz olayı, Faz II *C. burnetii*'de daha yüksek oranda görülmektedir. Fagositoz olayında görülen bu farkın nedeni, Faz I bakterileri  $\alpha\beta3$  integrinleri ile bağlanırken, Faz II bakterilerinin hem  $\alpha\beta3$  integrinleri hem de CD3 komplement reseptörlerini kullanarak bağlanmasından ileri gelmektedir. Her iki tip fagozomlarda bulunabilir fakat yalnızca Faz I makrofajlarda yaşayabilir. Faz II kısa süre içinde elimine edilir. *C. burnetii*'nin ökaryotik hücreler içinde gelişme yeteneği intraselüler ortamda asidik pH'ya adaptasyonuna bağlıdır. Bu asidik değer (pH 4,5), bakterinin metabolik fonksiyonları için gerekli olan besin maddelerinin girişine izin verir ve aynı zamanda çeşitli antibiyotiklerden korunmasını sağlar. Makrofajlarda bu mikroorganizmaların varlığı,

yaşamı ve çoğalması, vakoullerde fagositozun kontrolü ve fago-lizozom füzyonunun engellenmesiyle gerçekleştirilir (12, 185). Fagozomların tam olgunlaşmama nedeni sellüler marker katepsin D'nin kaybı ve makrofajlarda IL-10'un ekzojen üretiminin azalması olarak gösterilmektedir. IFN- $\gamma$ , fagozom ve lizozom arasındaki füzyonu yenileyerek ve böylece *C. burnetii* nin eliminasyonunu sağlar. Ayrıca vakoul alkalizasyonunu uyarır ve makrofajlarda iyon metabolizmasını kontrol ederek intraselüler bakteriyel çoğalmayı engeller. IFN- $\gamma$  hücresel membran üzerinde bulunan TNF ekspresyonunu uyararak apoptozis ile enfekte makrofajların eliminasyonuna da katkıda bulunur. Enfeksiyonu takiben spesifik immunoglobülinler oluşur. Faz I yapılar sadece IgM üretimini uyarırken, Faz II ler hem IgM hem de IgG üretimini uyarır (94).

Gram negatif bakterilerde LPS önemli bir virülens faktördür ve bu durumun *C. burnetii* için de geçerli olduğu kabul edilmektedir (25, 198). *C. burnetii*'nin sahip olduğu LPS varyasyonu (Faz I ve Faz II) ve endospor benzeri yapısı patogenez ve virulente önemli rol oynamaktadır. Faz I *C. burnetii* izolatlarının tam teşekküllü LPS'si konak immün sisteminden korunmayı sağlar ve enfeksiyonun bakteriyemi safhasında temizlenmesini önler. *C. burnetii* hücreleri, hücre yüzeyinde integrin ve integrin ilişkili protein kompleksine bağlanarak insan makrofaj ve monositlerine erişir ve daha sonra hücreye girer (112, 151, 202). *C. burnetii* asidofiliktir ve bu sayede fagolizozomların asidik koşullarına karşı metabolizmasını sürdürür. Bu sert çevrede *C. burnetii*'nin yaşamının, stres ile ilişkili genler ve fagolizozomların asidik ortamına karşı tampon olarak hizmet eden temel proteinlerin büyük çoğunluğu tarafından desteklendiği düşünülmektedir (25, 87, 88, 203). Ancak, *C. burnetii* konak hücre fagolizozomlarında bulunan ve diğer bakterisidal durumlara karşı dirençli değildir. (26). Diğer vakouller ile enfekte PV füzyonu, büyüme ve bölünme için *C. burnetii* ye ihtiyaç duyduğu maddeleri sağlayabilir (98). İşgalci *C. burnetii* hücrelerinin nüfus dinamiği yaklaşık 6 günü aşkın bir süreçte değişir (53). SCV, hücre patlaması sonucunda konak hücrenin periyodik olarak kontraksiyonuyla vakoulde aktif sıvı akışıyla konak hücrelerinden salgılanır (110).

Bakteriyel patojen *Legionella pneumophila* toprak ve tatlı su ekosisteminde protozoan konaklarda çoğalır. Defect in organelle (*dot*) ve intraselüler multiplication

(*icm*) genleri tarafından kodlanan Tip IV sekresyon sistemleri *L. pneumophila* tarafından kullanılan önemli bir temel virülens belirleyicisidir. *C. burnetii*'nin de konak hücre içinde yer değiştirmek için gerekli olan Tip IV sekresyon sistemine sahip olduğu düşünülmektedir. Bu sistemin *C. burnetii* ile enfekte hücrelerden eksprese edildiği öne sürülmüştür (112, 154). Daha öncede belirtildiği gibi *C. burnetii* protein sentezi, ilk otofagozom etkileşimi için gereklidir. Bu sürecin protein efektörleri tarafından veziküler trafiği düzenlemesi hedeflenir ve *Legionella*'nın *dot/icm* T4SS'e benzer homolojide olan Tip 4 sekresyon sistemi yoluyla sitoplazmaya iletilir. *Dot/Icm* T4SS fonksiyonu *Legionella*'nın vakuolünün oluşumu için gereklidir. *Coxiella* ve *Legionella* arasındaki *Dot/icm*'nin korunması iki organizmanın son zamanlarda sıkı filogenetik ilişkileri ile bağlantılıdır. *Coxiella* genomu *icmR*, *dotJ* ve *dotV* dışında 26 *Legionella dot/Icm* geninin 23'ünü içermektedir. Bugüne kadar, *Coxiella dot/icm* hiçbir sekresyon substratı T4SS için belirlenememiştir. Salgılanan efektör moleküller arasında süreklilik, konak hücre proteinlerinin aktivitesinde fonksiyonel rol oynayan ökaryot benzeri motifler vardır. Son zamanlarda, muhtemelen horizontal gen transferi ile yeni *Legionella* T4SS substratları belirlenmiştir (51, 194, 223).

Memeli hücreleri tarafından hücre içine alınan *C. burnetii* membran ile çevrili bir vakoulde kalır. Bu vakoulün başlangıçta endozom ve lizozomlar ile füzyona uğrayan avirulent bakteri içeren fagozomlar gibi olgunlaştığı görülür (129). *C. burnetii* içeren vakoul endositik yol aracılığıyla otofajik veziküller ile etkileşim sonucu otofagozom içindeki materyalin parçalanması için lizozomlara iletilir. *C. burnetii* endositik yol boyunca lizozomlarda mikroorganizmaların yıkılmasına rağmen, bakteriyel çoğalmaya imkan sağlayan geniş bir vakoul içinde bu organeli değiştime yeteneğine de sahiptir. *C. burnetii*'nin lizozomu nasıl değiştirdiği bilinmemektedir, fakat *C. burnetii*'nin bulunduğu vakoulün ilginç özelliklerinden biri diğer sekonder lizozomlar ile füzyona uğrama kapasitesidir. Bu geniş lizozom kuşağı *C. burnetii* proteinlerinin sürekli sentezini gerektiren bir süreçtir. Bakteriyel proteinler *C. burnetii*'nin bulunduğu vakoulün olgunlaşmasında doğrudan etkilidir (129).

Apoptozis, immun sistemin onarılması ve hasarlı ya da enfekte hücrelerin atılması için çok önemli programlanmış hücre ölüm yoludur. Lürhmann ve ark. (129)

yaptıkları çalışma ile intraselüler patojen olan *C. burnetii*'nin konak apoptotik yolunu uyarma yeteneğinin olup olmadığını incelemişlerdir. Bunun için Çin Hamster Over (CHO) ve HeLa hücreleri kullanılmıştır. Mekanik olarak *C. burnetii*'nin apoptozis inhibisyonu, çoğu proapoptotik sinyal yolu için çok önemli bir olay olan mitokondri tarafından salınan sitokrom c'nin önlenmesi ile gerçekleşmektedir.

Genel olarak konağa giriş yolu, inokulum miktarı, konak ve etkene ait faktörler enfeksiyonda hangi klinik tablonun gelişeceğini belirlemede önemli rol oynamaktadır (227, 237).

#### **1.4.2.1. İnokulum Oranı**

İnokulasyon miktarı hastalığın şiddetinde ve klinik bulguların gelişiminde önemli rol oynar. Tek bir organizma enfeksiyon oluşturmaya yeterli olduğu için bakteri yüksek düzeyde enfeksiyözdür. Rhesus maymunlarının solunum yolu enfeksiyonunda enfekte hayvanların %50'sini öldürmek için gereken doz 1-7 mikroorganizmadır. İnsanlarda inkübasyon periyodu inokulum miktarına bağlı olarak 10 ile 17 gün arasında değişmektedir. İnokulum dozu ile hastalığın şiddeti arasında bir ilişki söz konusudur. Yüksek oranda inokulum ( $10^5$ ) kobaylarda myokarditis ile ilişkilendirilirken, daha fazla inokulum ( $10^7$ ) enfekte hayvanların ölümü ile sonuçlanabilmektedir (185).

#### **1.4.2.2. Enfeksiyon Yolu**

Enfeksiyon yolu ve kısmen inokulum miktarı, hastalığın şiddetini ve klinik bulgularını belirler. İnsanlarda subkutan ve intramuskular inokulasyon yolları aerosoller ile karşılaştırıldığında hastalık oluşumu için daha düşük inokulum gereklidir. İntramuskuler enjeksiyon sonrası inkübasyon periyodu 1-2 gün gecikir. Fare ve kobaylarda enfeksiyon yolu ile histolojik lezyonlar arasında bir bağ olduğu açıkça görülmüştür (185).

### 1.4.2.3.Bakteriyel Faktörler

Sınırlı fenotipik özelliğinden dolayı *C. burnetii* izolatlarının sınıflandırılması oldukça zor olmuştur. İzolatlar arasında LPS kompozisyonu en belirgin fenotipik özelliktir. LPS, Faz I *C. burnetii* fagositozisinde virulens faktörü olarak çok önemli role sahiptir. Buna ilaveten *C. burnetii*'de birkaç plazmid bulunmuştur. Bunlardan QpH1, QpVd, QpRs ve QpDG dört tanesidir. Ayrıca QpRs'nin gen sekansı plazmidsiz izolatlarda bulunmuştur (185).

### 1.4.2.4.Cinsiyet

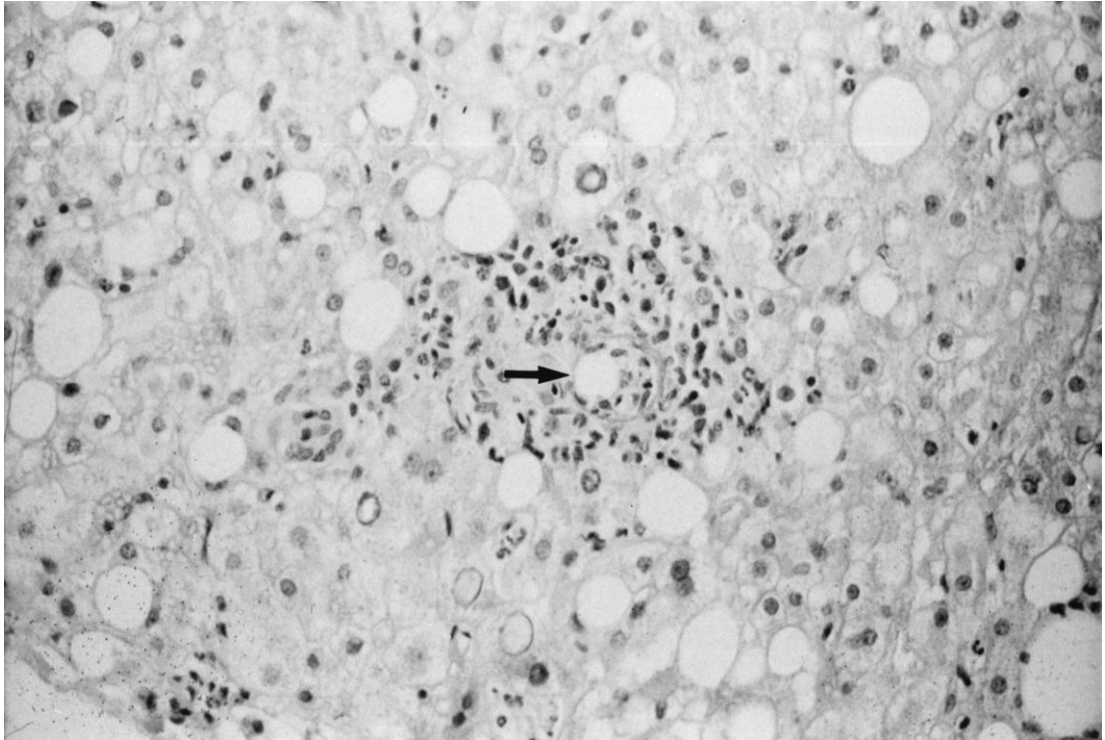
Farelerde 17 $\beta$ 'nin koruyucu rolü belirlenmiştir. Dişi fareler erkeklere oranla daha az granülom ve daha düşük bakteriyel yüke sahiptir. Gebe hayvanlarda Q humması genellikle kronik seyrederek ve *C. burnetii* uterus ve meme bezlerinde kalarak sonraki gebeliklerde reenfeksiyonlara neden olur (185).

### 1.4.2.5.İmmun Yetmezlik

Sistemik immün yetmezliği (SCID) olan farelerde akut enfeksiyona duyarlılık BALB/c farelerden daha fazla ve ölüm oranı daha yüksektir. Raould ve ark. (185) yapmış oldukları çalışma sonucunda immün yetmezlik ile akut Q humması şiddeti arasında ilişki olduğunu bulmuşlardır. Yine immün yetmezliğin Q hummasının kronik seyrinin gelişiminde önemli role sahip olduğu görülmüştür.

Q hummasında akciğer, karaciğer ve kemik iliğinde yaygın granülomatöz lezyonların oluşumuyla karakterize yangısal reaksiyonlara rastlanır. Akciğer enfeksiyonlarında makroskobik olarak kırmızı ya da gri hepatizasyon alanları şekillenir. Mikroskobik olarak ise intersitisiyal ödem, lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu oluşur. Alveoler alanlar histiyositler ile doludur ve alveol içinde fokal nekroz ve hemorajiler mevcuttur. Nekrotizan bronşit ve bronşiyolit gözlenebilir (72).

*Coxiella burnetii* tarafından karaciğerde meydana getirilen granümatöz lezyonlar tüberküloz lezyonları ile karışmaktadır. Akut ve kronik Q hummasında hepatik lezyonlar farklılık gösterir. Histopatolojik inceleme sonucunda makrofaj, lenfosit ve polimorf nükleer lökositlerin (PNL) oluşturduğu hücresel infiltrasyon ve tipik halka granülomlar saptanmaktadır (112, 142, 186, 233). Farklı hastalıklarda da görülebilen fakat Q humması için karakteristik olarak kabul edilen granülom, merkezinde lipit bir vakoul ve bunu çevreleyen multi nükleer dev hücreler, epiteloid makrofajlar ve fibrinden zengin bir halka yapısına sahiptir (121, 130, 142, 185). Kemik iliğinde de granüloomlara benzer lezyonlar meydana gelmektedir. Kronik Q hummalı örneklerde granüloomlara rastlanmaz fakat kalp kapağı, anevrizma ve karaciğer gibi enfekte dokularda etken içeren büyük vakuollere rastlanır. Kronik olgularda yüksek düzeyde antikora bağlı olarak glomerulonefrit gibi lezyonlar gelişir ve bu lezyonların çoğunlukla komplikasyonlar sonucu ortaya çıktığı kabul edilmektedir (72, 130, 186). Q hummalı hastalarda meydana gelen granülom Resim 5'te gösterilmiştir.



**Resim 5.** Akut Q hummalı bir hastada karaciğerin bir bölümünde halka granülom oluşumu (142).

## 1.5. Klinik Bulgular

### 1.5.1. İnsanlarda Klinik Bulgular

İnsanlar öncelikle etken içeren aerosollerin inhalasyonu ile enfekte olurlar. Enfeksiyon etkeni kontaminasyon sonrası 2 haftaya kadar havada ve 5-6 ay kadar da toprakta canlılığını devam ettirebilir. Böylece meydana gelen kontamine aerosoller insan enfeksiyonuna yol açabilmektedir. *C. burnetii* yüksek virulansa sahip bir bakteridir. Bu özelliğinden dolayı tek bir mikroorganizma bile enfeksiyona yol açabilir (11, 140, 163, 189). İnsanlarda kontamine süt ürünleriyle oluşan enfeksiyon riskini belirlemeye yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak yapılan çalışmaların sonuçları çelişkili olup bu yol ile enfeksiyon riskinin yetersiz olduğu görülmektedir (12, 71, 142, 145).

Keneler, etkenin doğal taşınma döngüsünde önemli yer tutarken direkt olarak *C. burnetii*'yi insanlara bulaştırmazlar. İnsandan insana bulaşma nadirdir fakat cinsel bulaşma ve perinatal enfeksiyon vakaları görülmüştür (122, 153). İnsanlardaki enfeksiyonlar akut ve kronik olarak sınıflandırılabilir. Enfekte insanların yaklaşık %60'ında asemptomatik enfeksiyon meydana gelmektedir (12).

Q hummasının akut ve kronik formu, spesifik semptom göstermediği için yanlış teşhis edilebilir veya belirlenemeyebilir. Akut Q hummasının ortaya çıkması için genellikle 7-40 gün gereklidir. Fakat bu süre doza, bireyin yaşına ve enfeksiyon oranına göre değişebilmektedir (231). Vakaların çoğu *C. burnetii* ile gizli enfeksiyondan dolayı asemptomatik serokonversiyon ile sonuçlanır (17). Akut Q hummasında görülen en yaygın semptomlar ateş, baş ağrısı, kas ağrıları, eklem ağrıları ve döküntüler şeklindedir. *C. burnetii* enfeksiyonu endokardit, hepatit, pnömoni ve daha az oranda perikardit ve myokardit ile sonuçlanır (231). Genç bağışık bireylerde hepatit eğilimi fazla iken yaşlı hastalarda pulmoner lezyonlar fazladır (72).

Stein ve ark. (208) yapmış oldukları bir çalışmada, Fransa'da gebe kadınlarda morbidite ve mortalitenin önemli bir nedeninin Q humması olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırma sonucunda 540 kadının birinde Q hummasının olduğunu kanıtlamışlar ve Q hummasının intrauterin önemli bir halk sağlığı problemi olduğunu



göstermişlerdir. Akut Q hummasından ölüm nadir olup kronik forma dönüşüm yaygındır (183). Kronik Q hummasının, 6 aydan uzun bir süre sonunda ortaya çıktığı ve olguların yaklaşık %5'i civarında tipik olarak oluştuğu belirlenmiştir. Bu formda başlangıçtan itibaren yıllarca gelişim gözlenmez ve en çok etkilenen yer bireyin kalbidir. Q humması endokarditisin klinik bulguları arasında aortik ya da mitral kapak bulguları, ateş, kardiyak yetersizlik, hepatomegali, splenomegali, döküntü ve arterial emboli yer almaktadır (231). Kronik Q hummasının diğer önemli klinik bulguları arasında vasküler ve osteoartiküler enfeksiyonlar, kronik hepatit, kronik pulmoner enfeksiyon ve kronik yorgunluk sendromu yer almaktadır. Nadir olmakla birlikte *C. burnetii* vasküler enfeksiyonlar hayati risk taşıyabilir (142). *C. burnetii* ile enfekte tedavi edilmeyen gebe kadınlarda spontan abortlar, intrauterin gelişim geriliği, ölü doğum ya da erken doğumlar görülebilir (142, 184). *C. burnetii*'nin enfekte gebe kadınların uterus, plasenta ve meme bezlerinde kolonize olduğu görülmüştür (131).

### 1.5.2. Hayvanlarda Klinik Bulgular

*Coxiella burnetii*, hem insan hem de hayvanlarda kalıcı enfeksiyon meydana getirebilme yeteneğine sahiptir. Oldukça geniş bir konakçı aralığında enfeksiyon şekillenmektedir. Sığır, koyun, keçi, at, domuz, tavşan, geyik, deve, bufalo, güvercin, karga, papağan, kırlangıç ve yılan gibi birçok evcil ve yabani hayvanda enfeksiyon görülmektedir. Bazı bölgelerde kemiriciler *C. burnetii*'nin önemli rezervuarları arasında yer almaktadır (142, 233). Birçok tür enfeksiyona duyarlı olmasına rağmen enfekte hayvanların çoğu asemptomatiktir. Hayvanlarda nadiren ateş, konjuktivit, artrit, mastit, abort ve genital bozukluklar görülebilir (6, 37).

İnsanlarda *Coxiella* enfeksiyonunun temel kaynağı sığır, koyun, keçi gibi çift tırnaklı hayvanlardır. Etken, enfeksiyonun akut döneminde hayvanların kan, akciğer, dalak ve karaciğerinden izole edilmesine karşın üreme organlarının dışında asemptomatik olarak seyretmektedir. Etkenin ürogenital sisteme tropizm göstermesi nedeniyle sığır, koyun ve keçilerde abort, infertilite, endometrit, plasenta retensiyonu, erken doğum görülür (6, 13, 154). Hem semptomatik hem de asemptomatik hayvanlar doğum

esnasında etkeni dışarı atarlar. Plasenta, f3tal membran ve atık f3tusun dışında s3t, idrar ve dışkıda da bol miktarda bakteri bulunur (13, 17, 154, 227, 233).

Enfekte hayvanların uterus ve s3t bezlerine yerleşen ve asemptomatik seyreden enfeksiyon gebelik esnasında yeniden aktifleşir ve etken plasentada çoğalarak y3ksek oranlara ulaşır ve gebeliğin son aylarına doğru abortusa yol açar (233). Bruselloz ve Klamidyal enfeksiyonlarda olduğu gibi abort şekilleninceye kadar enfeksiyon belirgin değildir. Gebe hayvanlarda şekillenen abortus oranı % 3- 80 arasında değişmektedir. Abort sonrasında hayvanlar kısa s3rede iyileşir ve genellikle sonraki gebelikte abort g3r3lmez (17, 37, 112).

Koyun ve keçilerde abort, sığırlara g3re daha y3ksek oranda g3r3lmektedir. Atık f3tus plasentasında kotiledonlar arasında *Coxiella* için 3zg3l olmayan fibr3z kalınlaşma ve eksudata rastlanır bunun dışında normal bir g3r3n3ře sahiptir (6, 17, 37). Enfekte hayvanlarda endometrit sorunu birkaç ay devam edebilir. Abort yapan ve yapmayan hayvanlar, metrit sorunu yaşayan hayvanlar etkeni birkaç ay hatta birkaç sağim sezonu boyunca s3tleriyle sağarlar. Sığır ve keçiler koyunlara oranla daha y3ksek oranda s3tleriyle etkeni sağarlar ancak koyunlar vaginal akıntılar ile etkeni hem daha uzun hem de daha yoğun olarak sağarlar. Koyunlarda *C. burnetii* s3t ile 8 g3ne kadar yayılabilirken sığırlarda bu s3re 13 aya kadar uzayabilir (147, 192).

Sığırlarda *C. burnetii* kaynaklı enfeksiyon oranı yaklaşık %50 civarındadır. S3t 3retiminde kullanılan sığırlardaki enfeksiyon oranı, et 3retimindekilere g3re daha y3ksek olarak saptanmıştır. Enfekte sığır çiftliklerindeki en belirgin semptomlar; yavru atma (%94,7) (enfekte olmayanlarda %5,3); plasentanın atılamaması %84,6 (enfekte olmayanlarda %15,4) ve metritis % 84,8 (enfekte olmayanlarda %15,2) olarak bildirilmiştir. Enfeksiyonu geçirip iyileşen sığır ve k33k ruminantlarda bağışıklık birkaç yıl devam edebilir, ancak bağışıklık gelişimine rağmen bu dönemde yavru atma ve sterilite g3r3lebilir (17, 147). Kronik enfeksiyon, sığır ve keçilerde koyunlara g3re daha sık olarak gelişmektedir. Sığırlarda koyun ve keğilerden farklı olarak, kronik enfeksiyon infertilite gelişimiyle sonuçlanabilir (16).

Hayvanlarda genellikle *C. burnetii* aşırı doz verilmediği müddetçe dişi üreme sistemi dışında diğer dokularda asemptomatiktir. Etken infertilite, metritis ve mastitis gibi reproduktif sistem bozukluklarının önemli bir nedenidir. Abort olaylarında içeren reproduktif bozukluklar genç hayvanlarda oluşabilir (16, 196). Yüksek seroprevalansa sahip bölgelerde abort daha az oranda görülmektedir (139). To (212) Japonya'da yapmış olduğu bir çalışmada reproduktif bozukluğu olan 207 sığırın %58 ve %60'ında sırası ile Faz I ve Faz II *C. burnetii* antikorlarını belirlemiştir

### **1.6. Laboratuvar Tanı Yöntemleri**

Sığır, koyun ve keçilerde enfeksiyonun teşhisi, enfeksiyonların hayvan ve insanlara bulaşmasını önlemek açısından önemlidir. Q humması klinik bulgularının değişkenlik göstermesi ve spesifik olmaması hastalığın klinik tanısını zorlaştırmaktadır. *C. burnetii* standart besiyerlerinde üremez. İzolasyonu uzun süreli, zor ve tehlikelidir. *C. burnetii* oldukça enfeksiyöz ve biyogüvenlik düzey 3 koşulları gerektirdiğinden veteriner hekimlikte rutin teşhis nadiren yapılır (72). Enfeksiyon asemptomatik seyretmesine rağmen etkenin varlığı abort yapmış hayvanların plasental dokularından hazırlanan preparatların Gimenez ve Machiavello boyama yöntemleri kullanılarak gösterilebilir (12, 120). *C. burnetii*'nin laboratuvar tanısında klinik örneklerden etken izolasyonu, moleküler yöntemler ve immunohistokimyasal teknikler gibi etkenin direkt tanımlanması veya antikor varlığının gösterilmesine dayanan serolojik yöntemler kullanılmaktadır (72, 112, 121, 210).

### 1.6.1. Kùltür

Zorunlu hücre içi bir bakteri olan *C. burnetii* kùltür ortamında üretilemez. *C. burnetii* konvansiyonel hücre kùltürleri (maymun böbrek hücreleri, vero hücreleri), embriyolu tavuk yumurtasında sarı kesesi içine veya fare ve kobay gibi laboratuvar hayvanlarında üretilebilir (162, 229). Embriyolu tavuk yumurtası 5-7 günlük olduğunda sarı kesesine marazi maddeler inoküle edilir ve 35<sup>0</sup>C'de 10-12 gün inokulasyondan sonra sarı kese membranı, embriyo bağırsağı, koriyoallantoik membran ve amniotik sıvıdan bakteri izole edilebilmektedir. *C. burnetii* embriyonun kas, karaciğer ve kalp dokusunda daha düşük düzeyde tespit edilmiştir. İnokulasyon yapılan deney hayvanlarında izolasyon için en uygun organ dalak olup yüksek düzeyde etken izolasyonu yapılmaktadır (25, 40, 72, 154, 160, 210). Dalak ekstraktları daha sonra embriyolu yumurtalara inokule edilmektedir. Daha az kullanılmakla birlikte bu yöntemler, çok sayıda bakteri çeşidi ile kontamine dokulardan izolasyon durumlarında ya da Faz II hücrelerinde *C. burnetii* Faz I antijenleri elde etmede faydalı olabilir. Kobaylarda intraperitoneal inokulasyon sonrası 5-8 güne kadar ateş meydana gelmektedir (72).

Omsland ve ark. (159) *C. burnetii*'nin üremesi için gerekli ihtiyaçlarını karşılayan hücresiz bir ortam geliştirmişlerdir. Bu yöntem yeni ve ilginç olmasına rağmen tanımlama alanında henüz yer bulmamıştır (131). Virus kùltürleri için ticari olarak kullanılan hücre mikrokùltür sisteminde son gelişme olarak Shell Vial hücre kùltür sistemi, özellikle hücre içi bir bakteri olan *C. burnetii* izolasyonunda önemli gelişme sağlamıştır. *C. burnetii* izolasyonu Shell Vial santrifüj tekniğı kullanılarak HEL hücrelerinde gerçekleştirilir (181). Shell Vial'de monolayer hücre tabakasına klinik örneklerden 1 ml inokule edilir ve hücreler *C. burnetii*'nin penetrasyonu ve tutunması için 1 saat santrifüj edilir. İnokulasyon yapılan bu hücre tabakası %5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda 37 °C'de 5-7 gün inkübasyona bırakılır. *C. burnetii*'nin varlığı Gimenez ve immunfloresan boyama yöntemleriyle mikroskopik olarak belirlenir (12).

### 1.6.2. İmmünolojik Testler

*Coxiella burnetii*'nin yüksek enfeksiyözitesi ve izolasyon tekniklerinin pahalı, zaman alıcı ve duyarlılığının düşük olması nedeniyle klinik tanıyı doğrulamak amacıyla serolojik testler daha çok tercih edilmektedir (112, 120, 186). Çiftlik hayvanlarında *C. burnetii* enfeksiyonu; serolojik testlerin, klinik bulguların ve plasental preparatların mikroskopik incelenmesinden ibaret kombinasyon ile sürü seviyesinde belirlenebilir (13). Q hummasının immunolojik teşhisi, anti-Faz I ve anti-Faz II antikorlarını belirleyebilen çok sayıda serum örneğinin test edilmesiyle gerçekleştirilir. Faz II IgM antikorları hastalığın başlangıcından itibaren 7- 10 gün sonra açığa çıkar. Antikor seviyesi 4-8 haftada en üst düzeye ulaşır ve sonra düşmeye başlar. Faz I IgG antikorları ise daha geç ortaya çıkar ve yıllarca kalabilir. Antikorlar semptomların ortaya çıkmasını takiben 3. haftada %90 oranında saptanabilmektedir. *C. burnetii* faz varyasyonları hastalık evresinin ayırt edilmesinde oldukça önemlidir. Akut Q hummasında Faz II antijenlerine karşı oluşan antikor fazla iken, kronik olgularda Faz I'e karşı gelişen antikor miktarı daha baskın karakterdedir (60, 72, 130, 186). Pek çok laboratuvar tarafından tercih edilen mikroaglutünasyon (MA), Komplement Fiksasyon Testi (KFT), İndirekt İmmüofloresan Assay (IFA), ELISA, radioimmünoassay (RIA), dot immüoblot, western immunoblot ve indirekt hemoliz testi gibi serolojik yöntemler ile *C. burnetii*'ye karşı oluşan özgül antikorlar saptanabilmektedir (17, 72, 142, 164, 186).

### 1.6.2.1. İndirekt İmmünofloresan Test (IFA)

Son zamanlarda IFA, *C. burnetii*'nin teşhisinde referans test olarak kullanılmaktadır. Kullanılan serolojik teknikler arasında en doğru ve en kolay sonuç veren testlerden biridir. Bu test için antijen hazırlamada Faz I antijenleri, fare dalaklarına inokule edilen Faz II organizmalarından elde edilirken, Faz II *C. burnetii* referans suşu L929 fare fibroblast hücrelerinde gelişir (72). IFA her iki faza karşı gelişen IgM, IgG, IgA sınıfı antikorları saptayarak hastalığın evresini belirleyen bir yöntemdir (112). Bu test ile 10- 20 gün arayla alınan çift serum örneğinde serokonversiyon veya Faz II antikor titresindeki artış ile akut Q humması tanısı konulmaktadır (112). Bu test çoğu zaman hayvanlarda tür spesifik teşhis için uygun değildir ve büyük çapta taramalar için uygun ve pratik bir uygulama değildir (69, 120, 167).

### 1.6.2.2. Komplement Fiksasyon Testi ( KFT)

Komplement fiksasyon testi, OIE tarafından önerilen referans testtir. KF testi oldukça spesifik fakat sensitivitesi düşüktür. Bu testte kullanılan antijen sıklıkla bazı hayvanlardaki antikorları saptayamaz ve bazı koyun ve keçilerin klinik belirti göstermeden seropozitif oldukları görülmüştür. Klamidiyozis'in teşhisinde kullanılan eşik değeri *C. burnetii* içinde kullanılabilir. Eşik değeri *Chlamydia pecorum* ile kros reaksiyona bağlı olarak düşük antikor titrelerini hesaba kattığı için çok az hataya izin verir (17). İnsanlarda sonuçların doğru değerlendirilmesi için hem iyileşmekte olan hem de akut faz döneminde olan örnekler gereklidir. KFT ile hem Faz I hem de Faz II antijenlerine karşı şekillenen antikorlar belirlenebilir (174). Bu testin zaman alıcı olması ve serokonversiyonunun IFA'dan bir hafta daha geç belirlenmesi ve kronik olgularda bazen prezon fenomeni ile negatif sonuçlar vermesi KFT'nin dezavantajları olarak karşımıza çıkmaktadır (174). KFT akut Q hummalı insan ve hayvanlarda antikor varlığını kanıtlamak için ELISA ve IFA testlerinden daha az duyarlılığa sahiptir. KFT atık yapan inek ve kronik Q hummalı insanlarda antikor yanıtı belirlemede daha duyarlıdır (69, 120) .

### 1.6.2.3. Enzyme Linked Immunosorbent Assay ( ELISA)

ELISA testi, IFA ve KF testleri ile karşılaştırıldığı zaman özgülüğünün düşük olmasına rağmen duyarlılığının daha yüksek olduğu görülmüştür. Az sayıda örnekle çalışmak zaman alacağından çok fazla tercih edilmemektedir. ELISA'nın yüksek duyarlılığı, otomatize edilebilme potansiyeli ve çok sayıda örneğin incelenebilme kolaylığı yönünden avantajlı bir testtir (69, 72, 130, 142, 186). Son yıllarda ELISA'nın ticari olarak üretilmesi Q humması tanısında standardizasyonu sağlamıştır (69, 130). Diğer serolojik testler ile karşılaştırıldığında ELISA ve IFA arasında yüksek uyumluluk gözlenmiştir. ELISA yüksek duyarlılığa sahip olmasına rağmen özellikle IgM için özgülüğünün düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle ELISA, IgM ile pozitif bulunan örneklerin IFA ile doğrulanmasının kesin teşhise yardımcı olacağı kanısına varılmıştır (69, 72, 120). Eyigör ve ark. (68) 92 kişilik risk gruplarında (veteriner hekim, celep ve kasaplar) ELISA ile yaptıkları çalışmada; Faz II IgG, Faz I IgM ve IgG antikorlarını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda 12 adet serum (%13) IgM antikorları yönünden pozitif olarak saptanırken 8 serum (%8,7) şüpheli belirlenmiştir. Toplam 20 kişide gerçekleştirilen IFA Faz II IgM testi ile 7 (%7,6) kişide seropozitiflik tespit edilmiştir. ELISA testi ile *C. burnetii* IgG antikorları örneklerin 32 sinde (% 34,8) pozitif, 9'unda şüpheli olarak bulunmuştur. Toplam 41 kişide uygulanan IFA testi ile *C. burnetii* Faz II IgG antikorları 39 kişide (%42,3) pozitif bulunmuştur. IFA testi ile 1 kişide (%2,4) *C. burnetii* Faz I ve Faz II IgG antikorları birlikte pozitif olarak saptanmıştır.

Teşhiste kullanılan diğer bir test olan mikroiimmunofloresans (MIF), ELISA ile benzer sonuçlar vermektedir. MIF, sığır serumlarında ELISA ile benzer sonuçlar verirken, koyun ve keçi serumlarında ELISA'dan daha az duyarlı olduğu görülmüştür (17). *C. burnetii* saçan hayvanlarda serolojik çalışmalarda bazı dezavantajlarının olduğu görülmüştür. Ortaya çıkan bu dezavantaj vajinal mukus, dışkı veya sütle *C. burnetii* saçan birçok hayvan seropozitif bulunurken, bir kısmı da etkeni saçmadan seropozitif olabilmektedir. Seronegatif bazı hayvanlar ise etkeni saçabilmektedir (17, 36).

İndirekt ELISA belirli uygulamalar için gereken spesifik antikorlarla sınırlıdır ancak alternatif yöntemler mevcuttur. Soliman ve ark. (207) develerde *C. burnetii*'yi belirlemek için kompetitiv ELISA geliştirmişlerdir. Kompetitiv ELISA'nın bütün hayvan serumlarında IFA'dan daha duyarlı olduğu görülmüştür. İndirekt ELISA'nın en önemli komponenti antijendir. *C. burnetii*'nin total hücrelerinden hazırlanan antijen testin sensitivite ve spesifitesini önemli ölçüde değiştirebilmektedir. Canlı organizmadan antijen hazırlama oldukça güç ve pahalıdır. *C. burnetii* ile çalışmak yüksek biyogüvenlik seviyesi gerektirmektedir (191, 217, 237).

Yapılan çalışmalar ile insanlarda Q humması teşhisinde ELISA'nın faydalı bir test olduğu ortaya konulmuştur (218). Berktaş ve ark. (31) Türkiye'nin doğusunda bulunan yüksek risk grupları arasında *C. burnetii*'nin seroprevalansını belirlemek için 4 il ve 14 ilçeyi kapsayan bir çalışma yapmışlardır. *C. burnetii* Faz II antikorlarını tespit eden ELISA test kiti ile gerçekleştirilen çalışmalarının sonucunda mezbaha işçilerinde %65,9, kasaplarda %42,9 ve çiftçilerde %32,8 oranında pozitiflik tespit etmişlerdir. Kasaplardaki oranlar Bitlis'te %63,2, Van'da %39,1 ve Muş'ta %25 olarak belirlenmiştir. Çiftçiler arasında yaygınlık oranlarını Bitlis'te %36,6, Van'da %34 ve Muş'ta %18,2 olarak bildirmişlerdir.

### 1.6.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Son yıllarda, klinik örneklerden ve hücre kültürlerinden *C. burnetii* DNA'sını saptamak amacıyla çeşitli PZR yöntemleri geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemler arasında nested ve konvansiyonel PZR yer almaktadır. Ayrıca *C. burnetii*'nin transpozon elementini baz alan primerler ile yapılan Trans-PZR *C. burnetii*'nin teşhisinde son derece spesifik ve duyarlı bir tekniktir (39, 72, 167). Hedeflenen sekanslar dış membran protein geni *comI*, süperoksit dismutaz geni veya *hptB* gibi kromozomal genler, plazmidler (QpHI, QpRS) ya da *C. burnetii* Nine Mile RSA 493 suşunun genomunda yer alan ve 20 kopyadan oluşan *IS1111*'in transpozon geninden orjin almışlardır. *IS1111* elementinin çok sayıda kopyasının olması ve diğer organizmaların belirlenen sekanslarına benzerliğinin az olmasından dolayı bununla yapılan PZR oldukça duyarlıdır (34, 96, 118, 139). *IS1111A* geninin bu bakterinin



tüm suşlarında olmayabileceği yönünde spekülasyonlar vardır. Bunu kanıtlamak amacıyla 22 akut Q hummalı ve 8 QFS (Post Q Fever Fatigue Syndrome)'li hastada yapılan çalışmalarda izolatların tümü *Com1* pozitif tespit edilir iken *IS1111A* negatif bulunmuştur (134).

Bir dış membran proteini olan *Com 1* gen kodları (27 kDa) oldukça korunumludur. Bu gen, pek çok teşhis laboratuvarlarında *C. burnetii*'nin belirlenmesi için PZR hedef geni olarak kullanılmaktadır. Bu genin sekans farklılıkları *C. burnetii* izolatlarının ayırımında kullanılabilir (238).

#### 1.6.4. Hayvan İnokülasyonu

*Coxiella burnetii*'ye karşı antibiyotiklerin etkinliğini belirlemek ve bu patojenin canlılığını ve infektivitesini tahmin için hayvan modelleri de altın standart kabul edilmiştir (17, 182).

*Coxiella burnetii* çalışmalarının önemli bir kısmında fare ve kobaylar deneysel amaçlarla kullanılmıştır. Bunun yanı sıra koyun ve primatlar da (insan hariç) deneysel amaçlı kullanılmaktadır (78, 158). Fareler, genetik ve immunolojik açıdan uygun oldukları için en çok tercih edilen deneme hayvanlarıdır. Genel akciğer kompozisyonu, solunum sistemi hücrelerinin dağılımı ve özellikleri açısından memeli türleriyle benzer özelliklere sahip oldukları için daha çok tercih edilirler. Fare, mikroorganizmanın alımından sonra enfeksiyon kontrolü için güvenilir bir modeldir. Farelerde hastalığın klinik semptomları letarji, tüylerin kabarması ve bazı duyarlı farelerde ölümdür. Bunların yanı sıra pnömoni ve hepatit tabloları gözlenebilir. Kobaylar, klinik enfeksiyonlara karşı korunmada önemli bir modeldir ve insanlarda kullanılan aşuların test edilmesi için daha uygundur. *C. burnetii* ile enfekte kobaylarda ateş, hepatomegali gelişimi ve yağlanma karaciğerde karakteristik bulgulardır (155, 158).

## 1.6. Tedavi

Hayvanlarda *C. burnetii*'nin tedavisine yönelik çok fazla bilgi mevcut olmamakla birlikte abort sayısının düşürülmesi ve doğum esnasında *C. burnetii*'nin eliminasyonu için antibiyotik tedavisi önerilmektedir. Antimikrobiyal tedavi etkeni ortadan kaldırmak için değil plasenta ve doğum sıvılarıyla etkenin yayılımını minimize etmek için kullanılmaktadır. Bu tedavi ne abort olaylarını ne de doğum esnasında *Coxiella* eliminasyonunu sağlar (17, 33). Antibiyotik tedavisine dayalı profilaksi abort riskini azaltmak için bir avantaj sağlar fakat hastalığın ortadan kaldırılmasında belirleyici değildir. Aslında antibiyotik tedavisi sonrasında hayvanlar klinik olarak iyileşme gösterebilirler bile hastalık etkenini yaymaya devam ederler (112).

Akut Q humması tedavi edilmeden de iyileşebilir ancak komplikasyon ve kronik enfeksiyonları önlemek için tedavi edilmelidir. Hastalığın ilk üç gününde tetrasiklinler ya da diğer etkili antibiyotiklerle müdahale tedavi sürecini hızlandırılabilir. Tedavi sürecinde ilk üç gün önemli olduğu için akut enfeksiyonlarda serolojik tanı beklenilmeden tedavi başlatılmalıdır (112, 182, 233). Tedavi, hastalığın şiddetini ve süresini yarı yarıya azaltmaktadır. Özellikle meningoensefalit olgularında kan-beyin bariyerini aşan kinolon grupları, kloramfenikol, rifampin ve makrolidler Q humması tedavisinde etkili olan antibiyotikler arasında yer almaktadır (64, 112, 121, 130, 142, 182).

Hastalığın kronik formunda tedavi daha güç olmaktadır. Antibiyotiklere direnç gelişebilmekte ve vakaların yaklaşık %2'si ölüm ile sonuçlanabilmektedir (233). Son zamanlarda kronik Q humması için doksisiklin-hidroksikloroquin ile en az 18 ay tedavi önerilmektedir (184).

## 1.7. Korunma ve Kontrol

Zoonotik özellik gösteren Q humması hastalığının temel kaynağı hayvan ve hayvansal ürünler olduğu için kontrol önlemleri hastalığın kaynağına yönelik alınmalıdır. Alınacak tedbirlerin bazıları hayvan ve çevre kontaminasyonunu önlemeye yönelik olmalıdır. Enfekte sürülerde doğumun ayrı bölmelerde yaptırılması ve doğuma müdahale edecek kişilerin bireysel önlemleri alması, doğum yaptırılan alanın dezenfektanlar ile temizlenmesi, kullanılacak malzemenin dezenfekte edilmesi alınması gereken tedbirler arasında yer almaktadır (130, 142, 233).

Evcil ve yabani karnivorlar tarafından hastalığın bulaşmasını önlemek için fötüs ve plasenta imha edilmelidir. Gübreler açık alanlara yayılmadan önce kireç ve %4'lük kalsiyum klorür ile muamele edilmeli ve mikroorganizmanın uzaklara yayılmasını önlemek için bu işlemler rüzgârsız havada yapılmalıdır (190). Antibiyotik tedavileri abort sayısını ve doğumda yayılan *C. burnetii* miktarını azaltabilir. Antibiyotik uygulamaları genellikle gebeliğin son ayında oksitetsiklin ile gerçekleştirilir ancak bu tedavinin abort olaylarını, *C. burnetii* yayılımını tamamen engellemediği bildirilmektedir (37, 190). Ruminantlarda enfeksiyondan korunmanın tek yolu abort ve bakteri yayılımını önleyebilecek etkili bir aşı ile sürülerin aşılmasıdır (190).

*Coxiella burnetii* fiziksel ve kimyasal stres etkenlerine oldukça dirençlidir ve bu durum hem laboratuvar hem de endüstriyel dezenfeksiyon stratejileri için oldukça önemli bir problemdir. Ultraviyole ışınlarının daha az sayıda *C. burnetii*'yi inaktive etmede etkili olduğu görülmüştür (128, 180). *C. burnetii* ile ilgili yapılan bir çalışmada oksidatif hasar onarımı ile ilgili genetik elementlerin bazılarının eksik olmasına rağmen tamamen işlevsel bir DNA onarım sistemine sahip olduğu görülmüştür (152).

### 1.8.1. Aşılama

Enfeksiyonu önlemek amacıyla sağlıklı sürülere aşı uygulaması en etkili yöntemdir. Evcil hayvanları koruma amaçlı olarak Slovakya’da korpüsküler Faz I ve Fransa’da Faz II aşısı kullanılmıştır (17, 112, 121). 1970’li yıllarda Slovakya’da yürütülen aşılama çalışmalarına ek olarak sürü taramasında seropozitif çıkan hayvanlar sürüden ayıklanmış ve bunun sonucunda 1980’li yıllarda insan ve hayvanlarda *C. burnetii* prevalansında azalma görülmüştür (112, 121, 227).

Q humması aşıları, *C. burnetii* Faz I hücre yapılarını içeren saflaştırılmış LPS-protein kompleks antijenlerinden ibaret inaktif aşılardır. İnsanlarda bugüne kadar uygulanan farklı tip *Coxiella* aşıları geliştirilmiştir. Bu aşılar arasında canlı attenüe M-44 ve 1/M-44 aşısı, formalin ile inaktive edilmiş *C. burnetii* tam hücre Faz I aşısı (Q-Vax, Commonwealth Serum Laboratories), kloroform-etanolde işlem görmüş Faz I subüniti içeren aşı (CMR) ve Faz I hücrelerinin triklor asetik ile muamelesiyle elde edilen çözünebilir subünit aşı (Kemovaccine) yer almaktadır. Bu aşuların uzun süre koruma sağladığı görülmüştür (2, 121, 130, 227).

Amerika Birleşik Devletleri’nde Henzerling suşunun Faz I hücrelerinden formalinle inaktivasyon sonucu elde edilen tam hücre aşısı (IND 610) bir araştırmanın temelinde kullanılmıştır. Aşı pratik uygulama alanı bulamaması, biyoterörizm amaçlı kullanımı göz önüne alınarak dikkatli uygulamanın gerekliliğini ortaya koymuştur. Ancak aşı günümüzde mevcut değildir (130, 137).

Sovyetler Birliğinde, canlı organizmalar ile aşılama denenmiştir. M-44 olarak adlandırılan Grita suşunun avirulent varyantı, virulensini kaybedinceye kadar kobay ve farelerde 44 kez pasajlanmıştır. Bu aşının gönüllü insanlara uygulanması ile minimum yan etkiyle antikor uyarımı gerçekleşmiştir. Ancak canlı aşı kullanımı ölü formlardan farklı olarak bir avantaj sağlamamıştır. Kalp kapakçığı hastalığı olan kişilerde endokardit oluşturma yönünden küçükte olsa bir risk bulunmaktadır (130, 132).

Faz I LPS ve bazı yüzey proteinleri, subünit aşuların geliştirilmesi için önerilmektedir (229).

Gelişen allerjik reaksiyonlardan dolayı attenüe ve ölü aşıların kullanım alanı sınırlıdır. Hastalığın endemik olarak görüldüğü yerlerde mesleki olarak yüksek risk taşıyanlara ve biyoterörizim tehdidi altında olan toplum ya da askeri gruplara uygulanması önerilmektedir (130, 227). Son yıllarda kentlerde yaşayan ve yalnızca kedi ve köpeklerle teması olan kişilerde de Q hummasının tanımlanması mesleki riski olmayan kişilere de aşı uygulanabilirliğini gündeme getirmiştir. Kalp kapağı hastalığı, vasküler anevrizma ve immun yetmezliği olan hastalara da aşı uygulanabileceği bildirilmiştir (112).

Q humması aşısı, 1989 yılından itibaren Avusturalya'da risk gruplarında uygulanmaya başlanmıştır. Avusturalya hükümeti Q hummasını azaltmak için 2000 yılında ulusal Q humması yönetim programı başlatılmıştır. Bu program Q humması ile ilgili hastalık prevalansını azaltmayı hedeflemiş ve risk altında çalışanların aşılmasını içermiştir. Aşının 1981 ile 1989 yılları arasında 4000 bireye uygulanmasıyla ilgili bir açıklamada Q hummasının ciddi vakalarda tam ve kalıcı bir koruma sağladığı açıklanmıştır. Mezbaça çalışanlarında tek doz kullanımının 3. ayda %80 ve 20. ayda %60 oranında koruma sağladığı, doğal yolla meydana gelen Q hummasına beş yıl süreyle koruyuculuk sağladığı gösterilmiştir (106, 112, 133, 226).

Dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalar sonucunda insan ve hayvanlardaki Q humması varlığı ortaya konulmuştur. Kars yöresi hayvan yetiştiriciliği ve hayvansal ürünlerin üretimi açısından son derece önemli bir yere sahiptir. Yörede yetiştirilen hayvanlar ve hayvansal ürünler hem bölgeye hem de ülkemize sunulmaktadır. Yöremizin önemli geçim kaynaklarından biri olan hayvancılık sektöründe ekonomik kayıplar meydana getiren ve zoonotik karakteri ile halk sağlığı problemi oluşturan Q humması'nın serolojik ve moleküler yöntemlerle tespit edilmesi sonucunda hastalığın öneminin belirleneceği düşünülmektedir. Yöremizde Q humması ile ilgili az sayıda çalışmanın yapılmış olması ve halkın bu hastalık hakkında yeterince bilgiye sahip olmamasından dolayı hastalık arka planda kalmaktadır. Bu çalışma ile sığır ve koyun sürülerinde Q humması varlığını belirlemek ve enfeksiyonun önemini ortaya çıkarmak hedeflenmiştir. Bu çalışma ile Kars'ın farklı bölgelerinde sığır ve koyun sürülerinden serolojik ve moleküler yöntemlerle Q hummasının araştırılması amaçlanmıştır.

## **2. MATERYAL ve METOT**

### **2.1. Materyal**

#### **2.1.1. Çalışma Alanı**

Bu çalışma coğrafik olarak Kuzey-Doğu Anadolu Bölgesinde bulunan Kars İli'nde gerçekleştirildi. İl toprakları yüksek dağlarla kuşatılmış ve genelde doğu-batı doğrultusunda uzanan akarsularla derin biçimde yarılmış geniş bir plato niteliğindedir. Rakımı ortalama 2000 m'yi bulan Kars İli topraklarının büyük bölümü yaylalardan oluşur. Yörede karasal iklim hakimdir. Kışları kurak, yazları ise yağışlı geçmektedir. Kars ili ekonomisi büyük bir oranda tarım ve hayvancılığa dayalıdır. Çayır ve mera arazileri % 39,2 ile tarımsal araziden daha geniştir. Bu oranın büyük oluşu ilde özellikle küçük ve büyükbaş hayvancılığının gelişimine büyük katkı sağlamaktadır. İl merkezinde 2012 yılı verilerine göre 93.261 sığır ve 72.480 koyun bulunmaktadır. (14, 15).

#### **2.1.2. Hayvan Kaynağı**

Çalışmada kullanılan materyalin hayvan kaynağını; Mart 2011 ile Eylül 2011 tarihleri arasında Kars İli sınırları içerisinde bulunan aile tipi işletmelerde yetiştirilen sığır ve koyun sürüleri oluşturdu.

#### **2.1.3. Örnekleme Stratejisi**

Bu çalışmada Kars merkeze bağlı köylerde hedeflenen sayıya ulaşmak için sürülerde yer alan hayvanlardan küme örnekleme yöntemi ile örnekler toplanmıştır.

### **2.1.3.1. Örnek Hacminin Belirlenmesi**

Çalışma popülasyonundan örnekleme yapmadan önce hangi oranda örnek alınacağını belirlemek gerekir. Bu oran amaca ve hastalığın prevalansına göre değişir. Hastalığın varlığını göstermek amaç edinilmişse alınan örneklerden tek bir hastalık vakası tespit etmek yeterli olurken, hastalığın prevalansının belirlenmesinin amaçlandığı durumlarda ise örneklemede belli güvenilirlik kurallarına uymak gerekir. Hastalığın prevalansının saptanmasına yönelik bir araştırmada, hastalığın tahmin edilen prevalansı, örneklemin güven düzeyi ve örneklemin kesinlik derecesi (absolut hata) dikkate alınarak örnekleme yapılmalıdır (61). Bu bilgiler doğrultusunda bu çalışmada incelenecek örnek sayısı 350 adet sığır ve 250 adet koyun olmak üzere toplam 600 olarak belirlendi.

### **2.1.3.1. Kan ve Süt Örnekleri**

Bu çalışmada, Mart 2011-Eylül 2011 tarihleri arasında Kars merkeze ait köylerde sığır ve koyun sürülerinden 350 adet inek ve 250 adet koyuna ait toplam 600 süt ve 600 kan örneği alındı. Süt örnekleri alınmadan önce meme başları sabunlu bez ve alkol ile temizlenip, ilk sağım dışarı atıldıktan sonra 50 ml'lik steril vida kapaklı falkon tüplerine yaklaşık 40 ml kadar süt alındı. Süt alınan ineklerden 10 ml'lik steril kan tüplerine (A.D.R vacuum tube, Lot: 20101208) 7-8 ml kadar kan alındı. Alınan süt ve kan örnekleri Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına soğuk zincir altında kısa sürede getirildi. Örneklerin alındığı yerler ve sayıları Tablo 3 ve Tablo 4'te gösterilmiştir.

**Tablo 3:** Sığır süt ve kan örneklerinin alındıkları yerleşim yerleri ve örnek sayıları

<b>Köy</b>	<b>Süt örneği sayısı</b>	<b>Kan örneği sayısı</b>
Alaca Köyü	15	15
Subatan Köyü	15	15
Hacıveli Köyü	20	20
Külveren Köyü	10	10
Akbaba Köyü	20	20
Karacaören Köyü	10	10
Borluk Köyü	20	20
Aslanizi Köyü	10	10
Küçük Yusuf Köyü	10	10
Çerme Köyü	20	20
Ağadeve Köyü	10	10
Esenyazı Köyü	10	10
Ataköy	20	20
Derecik Köyü	10	10
Kümbetli Köyü	10	10
Çakmak Köyü	20	20
Çığırgan Köyü	10	10
Söğütlü Köyü	20	20
Alçılı Köyü	20	20
Çamurlu Köyü	10	10
Başkaya Köyü	10	10
Dikme Köyü	10	10
Yolaçan Köyü	20	20
Boğatepe Köyü	20	20
<b>Toplam</b>	<b>350</b>	<b>350</b>

**Tablo 4:** Koyun süt ve kan örneklerinin alındıkları yerleşim yerleri ve örnek sayıları

<b>Köy</b>	<b>Süt örneği sayısı</b>	<b>Kan örneği sayısı</b>
Tazekent Köyü	20	20
Yücelen Köyü	30	30
Hamzagerek Köyü	30	30
Karakaş Köyü	20	20
Tekneli Köyü	30	30
Kümbetli Köyü	20	20
Aydıncalan Köyü	20	20
Haşiflik Köyü	20	20
Merkez	60	60
<b>Toplam</b>	<b>250</b>	<b>250</b>



## 2.1.4. Serolojik Teşhis

Serolojik muayene amacıyla elde edilen tüm kan ve süt serumlarına ELISA testi uygulandı.

### 2.1.4.1.ELISA

#### 2.1.4.1.1. ELISA Test Kiti

Bu amaçla, 4 adet Q-Fever (*C. burnetii*) Antikor Test Kiti (Chekit Q Fever, Idexx Lab., Zul.-Nr.: BGAF-B-101) kullanıldı. 1 adet kit içeriği şu şekildedir:

- |  |             |
|--|-------------|
| ● CHEKIT- Q-Fever inaktive edilmiş antijen ile kaplanmış<br>pleyt  | 2 mikroplyt |
| ●Horseradish peroksidaz ile işaretlenmiş CHEKIT- Q-Fever-<br>Anti-ruminant-IgG-PO konjugat, monoklonal antikor | 24 ml       |
| ●CHEKIT Q- Fever- serum, pozitif kontrol   | 0.4 ml      |
| ● CHEKIT Q-Fever- serum, negatif kontrol   | 0.4 ml      |
| ●CHEKIT Q-Fever 10 x yıkama solüsyonu  | 2 x 100 ml  |
| ●CHEKIT- TMB substrat solüsyonu  | 20 ml       |
| ●CHEKIT- stop solüsyonu TMB  | 20 ml       |



**Resim 6.** Çalışmada kullanılan ELISA test kiti

#### 2.1.4.1.2. ELISA İçin Kullanılan Araç ve Gereçler

- Otomatik pipet ve multikanal pipet (10-300 µl) (Gilson, France)
- Tek kullanımlık pipet uçları (mavi, sarı, beyaz) (Eppendorf/Universal type)
- Mikrosantrifüj tüpü (1,5 ml) (Isolab)
- Dereceli silindir, 500 ml
- Pleyt okuyucu
- Distile su
- Etüv (Nüve, EN 400)
- Vorteks (Heidolph Reax top, 01799-513320)
- Pleyt çalkalayıcısı (Heidolph Unimax 1010)

#### 2.1.5. Moleküler Teşhis

Moleküler teşhiste DNA ekstraksiyon kiti ile örneklerden DNA ekstrakte edildi ve bu DNA'lar Trans-PZR yöntemiyle incelendi.

### 2.1.5.1.Moleküler Teşhis İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Taq DNA Polimeraz (Sigma, D6677)
- 10X PCR Buffer (Sigma, P 2317)
- 25 mM MgCl<sub>2</sub> (Sigma, M8787)
- 10 mM dNTP Mix (Fermentas, R0192)
- Trans-I (5'-TAT GTA TCC ACC GTA GCC AGT C-3')
- Trans-II (5'-CCC AAC AAC ACC TCC TTA TTC-3')
- Agaroz (Sigma, E5134)
- Gene Ruler 50 bp DNA Step Ladder Plus Marker (Fermentas, SM03719)
- Ethidium Bromide (Sigma, E7637)
- Loading Dye (6x) (Fermentas, R0611)
- Etanol Absolut (Merck, 1.00983-2500)
- DNase, RNase Free Su (ddH<sub>2</sub>O) (Fermentas, R0582 Lot: 00089073)
- DNA ekstraksiyon kiti

### 2.1.5.2.DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu amacıyla QIAmp DNA doku ve kan kiti (Qiagen S.A, France, Lot. No: 142328642) kullanıldı.

#### 2.1.5.2.1. DNA Ekstraksiyon Kit İçeriği

- QIAmp spin columns 250 adet
- Toplama tüpleri (2ml) 500 adet
- Buffer AL 54 ml
- Buffer ATL 50 ml
- Buffer AW1 (Konsantre) 95 ml
- Buffer AW2 (Konsantre) 66 ml
- Buffer AE (X2) 60 ml
- Proteinase K (20 mg/ml) 6.0 ml

### 2.1.5.3.Moleküler Tanı İçin Kullanılan Araç ve Gereçler

- Otomatik Pipet Seti (Gilson)
- Mikrosantrifüj tüpü (0,2 ml ve 1,5 ml'lik) (Axygen, Isolab)
- Termal cycler (Bio-Rad, MJ Mini Gradient Thermal Cycler, PTC-1148)
- UV transilluminatör (UVP, 3UVT-Benchtop, LMS-20E)
- Elektroforez ünitesi (Bio-Rad, Mini-sub cell gt)
- Pikofüj (Labnet, C1301)
- Soğutmalı eppendorf santrifüjü (Eppendorf, Centrifuge-5417R)
- Vortex (Heidolph Reax top, 01799-513320)
- Laminar flow kabin (Nüve LN120)
- Blok ısıtıcı (Pro-Lab, VWR Digital Heatblock)
- Derin dondurucu

### 2.1.5.4.Elektroforez İçin Kullanılan Solüsyonlar

#### 2.1.5.4.1. 5xTBE (Tris-Borik asit-EDTA) Stok Solüsyonu (pH 8,3)

- Tris Base                      54 g
- Borik Asit                      27,5 g
- EDTA (0,5 M)                20 ml

Distile su ile eritildi ve pH'sı 8,3'e ayarlandı. Distile su ile 1 litre'ye tamamlanarak çözüldü. Oda ısısında muhafaza edildi.

**Elektroforez Yürütme Tamponu (1xTBE)**

5xTBE Buffer stok solüsyonundan distile su ile seyreltilerek hazırlanmış olan 1xTBE tamponu elektroforez yürütme tamponu olarak elektroforez tankına konularak kullanıldı.

**2.1.5.4.2. %1,5'lik Agaroz Jel Solüsyonu**

0,9 g agaroz tartıldı ve 60 ml 1xTBE buffer içerisinde çözdürüldü. Mikrodalga fırında eritildi.

## 2.2. Metot

### 2.2.1. ELISA Yöntemi

#### 2.2.1.1. Protokol

Üretici firmanın önerdiği şekilde aşağıda belirtildiği gibi yapıldı.

##### 1- Kontrol ve serum örnekleri

CHEKIT-yıkama solüsyonu kullanılarak bir tüp içerisinde kontrol ve serum örnekleri 1:400 oranında sulandırıldı.

##### Süt örnekleri

Süt örnekleri CHEKIT-yıkama solüsyonu kullanılarak 1:5 oranında sulandırıldı.

- 2- İnaktive edilmiş antijenle kaplı ELISA pleytinin uygun kuyucuklarına sulandırılan kontrol ve serum örneklerinden 100 µl aktarıldı. Serum ve kontrollerin final konsantrasyonu 1:400 ve süt örneklerinin final konsantrasyonu 1:5 oranında kullanıldı.
- 3- Her bir kuyucuğun içerisinde bulunan karışım pleyt karıştırıcı kullanılarak karıştırıldı.
- 4- Pleyt 37 °C de ( $\pm 2$  °C) 60 dakika ( $\pm 5$  dakika) inkübasyona bırakıldı.
- 5- İnkübasyon sonunda yaklaşık 300 µl CHEKIT yıkama solüsyonu ile pleyt üç kez yıkandı. Her yıkama sonunda kuyucuklardaki yıkama solüsyonu aspire edilerek kurutuldu. Üçüncü yıkama sonundaki aspirasyonu takiben pleyt, her bir kuyucuğundaki kalan yıkama solüsyonunu temizlemek için emici bir materyal üzerine sertçe vurularak kurutuldu.
- 6- Bir sonraki aşamada her bir kuyucuğa 100 µl CHEKIT-Q-Fever- Anti Ruminant Ig PO konjugatı eklendi.
- 7- Pleyt, nemli bir ortamda 37 °C de 60 dakika ( $\pm 5$  dakika) inkübasyona bırakıldı.

- 8-** İnkübasyon süresinin sonunda yaklaşık 300 µl CHEKIT yıkama solüsyonu ile pleyt 3 kez yıkandı. Her yıkama sonunda kuyucuklardaki yıkama solüsyonu aspire edilerek kurutuldu.
- 9-** Yıkama işleminin ardından pleytin her bir kuyucuğuna 100 µl CHEKIT-TMB-substrat eklendi.
- 10-** Oda ısısında 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 11-** Pleytin her bir kuyucuğuna 100 µl CHEKIT stop solüsyonu eklenerek TMB'nin meydana getirdiği renk reaksiyonu durduruldu. Stop solüsyonu substrat ile aynı hızda ve aynı sırada eklendi.
- 12-** Sonuçlar fotometre kullanılarak 450 nm dalga boyunda okundu.

### 2.2.1.2.Değerlendirme

Testin değerlendirilmesinde pozitif kontrol serumun optik dansitesinin (OD) 2,0 ve negatif kontrolün 0,5 değerini geçmemesine özen gösterildi. Pozitif ve negatif kontrol arasındaki farkın  $\geq 0,3$  olması ve stop solüsyon eklendikten sonra sonuçların iki saat içinde okunması temel alındı.

Değerlendirmeler aşağıda tabloda belirtilen firmanın önerdiği kriterlere göre yapıldı.

Pozitif Kontrol	Örnek	Pozitif ve negatif kontroller ile bağlantılı olarak örnek analizi	
$OD_{pos} - OD_{neg}$	$OD_{sample} - OD_{neg}$	$\text{Value (\%)} = \frac{OD_{sample} - OD_{neg}}{OD_{pos} - OD_{neg}} \times 100 \%$	
<b>Değer</b>	< 30 %	$\geq 30 \% < 40 \%$	$\geq 40 \%$
<b>Yorumlama</b>	Negatif	Şüpheli	Pozitif

## 2.2.2. Süt Örneklerinden DNA Ekstraksiyonu

### 2.2.2.1. DNeasy kan ve doku kiti

#### 2.2.2.1.1. Protokol

- 1- 1'er ml miktarında süt örneği 1,5 ml'lik ependorflara aktarıldı ve 12.100 rpm'de 60 dakika santrifüj edildi.
- 2- Sütün serum ve kaymak tabakası ayrıldı ve dipte kalan tortu kullanıldı.
- 3- Tortuya 20 µl Proteinaz-K eklenip 15 saniye vortekslendi.
- 4- Ependorfa 180 µl ATL Buffer eklenip 15 sn. vorteksledikten sonra 56 °C'de 10 dk. blok ısıtıcıda bekletildi.
- 5- Ependorfa 200 µl AL Buffer eklenip 15 sn vorteksledikten sonra 56 °C'de 10 dk. blok ısıtıcıda bekletildi.
- 6- Ependorfa 200 µl %96-100'lük etanol eklenerek 15 sn. vortekslendi. Vortekslemenin ardından pikofüj ile santrifüj edilerek kapak ve kenarlardaki sıvının tüpün dibine inmesi sağlandı.
- 7- Dikkatli bir şekilde ependorftaki karışım alınarak 2 ml'lik QIAamp mini spin column toplama tüpüne aktarıldı. Aktarma işlemi yapılırken toplama tüplerinin kenarları ıslatılmadan aktarım gerçekleştirildi. Toplama tüpleri 6.000 x g de 1 dakika santrifüj edildi ve santrifüj sonunda 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne aktarıldı ve filtratı içeren toplama tüpü atıldı.
- 8- Dikkatli bir şekilde QIAamp mini spin column açılarak 500 µl AW1 eklendi. QIAamp mini spin column 6.000 x g de 1 dk santrifüj edildi ve santrifüj sonunda 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne aktarıldı ve filtratı içeren toplama tüpü atıldı.
- 9- QIAamp mini spin column açılarak kenarlara bulaştırmamaya dikkat ederek 500 µl AW2 eklendi. QIAamp mini spin kolon 20.000 x g (14.000 rpm)' de 3 dk santrifüj edildi ve santrifüj sonunda yeni bir 1,5 ml'lik ependofa yerleştirildi ve filtratı içeren toplama tüpü atıldı.
- 10- 1,5 ml'lik ependorfa yerleştirilen QIAamp mini spin kolon kapağı dikkatli bir şekilde açılarak 200 µl AE Buffer ilave edilerek oda ısısında 1 dk. bekletildikten sonra 6.000 x g de 1 dk. santrifüj edildi.



- 11- Daha konsantre DNA elde edebilmek için 10. basamakta anlatılan işlemler tekrarlandı.
- 12- Santrifüj sonunda 1,5 ml'lik ependorf tüplerinde ekstraksiyon sonucu elde edilen DNA kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

### 2.2.3. Genomik DNA Konsantrasyonunun Tespiti ve Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması

DNA ekstraksiyon işlemi sonrasında DNA bütünlüğünün kontrolü için örnekler agaroz jel elektroforezinde yürütülerek tespit edildi. Genomik DNA miktarının hesaplanmasında amaç DNA içeren distile suyun emdiği ultraviyole radyasyon miktarının spektrofotometre ile ölçülmesidir. DNA miktarı 260 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans ölçümü yapılarak belirlenirken, elde edilen genetik ürünün protein kirliliği taşıyıp taşımadığı ise 280 nm'de ölçüm yapılarak tespit edildi. Kuvartz küvet içerisine standart olarak DNA'yı sulandırmada kullanılan distile su konuldu. 260 nm'ye ayarlı spektrofotometrede absorbans ölçülerek elde edilen değer kör olarak kaydedildi. Ardından küvete genomik DNA ilave edilerek karışımın homojen olması sağlandıktan sonra 260 nm'de absorbans ölçüldü ve okunan bu değerden köre ait değer çıkarılarak DNA'nın absorbans değeri bulundu. Absorbans ölçümü 280 nm için de aynı işlemlerle yapıldı. Örnekte, bir optik dansite (OD) yaklaşık olarak 50 µg/ml çift sarmallı DNA'nın bulunduğu kabul edilerek 260 nm ve 280 nm'de okunan değerlerin oranı ( $OD_{260}/OD_{280}$ ) nükleik asidin saflığının ölçüsünü verdi. Çalışmada  $OD_{260}/OD_{280} = 1,8-2,0$  olan örnekler çalışma solüsyonu hazırlamak için kullanıldı (sambrook 2001).

DNA konsantrasyonu ( $\mu\text{l}/\text{ml}$ ) =  $OD_{260} \times 250$  (seyrelme faktörü)  $\times 50$  (DNA için sabit değer) formülü kullanılarak stok solüsyonun DNA konsantrasyonu belirlendi. İstenen konsantrasyon  $\times$  İstenen hacim / Stok DNA konsantrasyonu ( $\mu\text{l}/\text{ml}$ ) formülü ile DNA çalışma solüsyonu hazırlandı. Bulunan değer stok DNA çözeltisinden alınması gereken miktarı verdi. Elde edilen değer 100 µl'den çıkartılarak hazırlanacak çalışma solüsyonu için alınması gereken distile su miktarı bulundu. Hazırlanan DNA çalışma solüsyonları kullanılıncaya kadar -20 °C'de bekletildi.

#### 2.2.4. PZR İşlemi

Reaksiyon karışımlarının DNA ile kontaminasyonunu önlemek amacıyla kullanılan steril malzemeler kullanıldı. Reaksiyon bileşenleri biyogüvenlik kabininde hazırlandı. PZR reaksiyonunda ısı iletiminden kaynaklanabilecek sorunların en az düzeye indirilebilmesi için, ince duvarlı DNase ve RNase enzimlerinden arındırılmış steril 0,2 ml'lik PZR tüpleri (Axygen) kullanıldı. Ekstrakte DNA hariç diğer tüm reaksiyon bileşenleri, çalışılacak örnek sayısı ile orantılı olarak 1,5 ml'lik bir PZR tüpünde karıştırıldı ve 0,2 ml'lik tüplere eşit olarak dağıtıldı. Daha sonra her bir örneğe ait genomik DNA 0,2 ml'lik tüplere eklendi ve pipetaj ile tüpteki içerik iyice karıştırıldı. PZR karışımının içeriği ve oranları Tablo 5'te gösterilmiştir.

##### 2.2.4.1. Amplifikasyon işlemi

Her bir örnek için 0,2 ml'lik tüpler içerisinde hazırlanan 22 µl'lik reaksiyon karışımına 3 µl DNA ekstraktı eklendi ve amplifikasyon işlemi Berri ve ark., (34) tarafından standardize edilen touchdown PZR yöntemine göre gerçekleştirildi (Tablo 6). Çalışma kapsamında *C. burnetii* Nine-Mile I suşu pozitif kontrol olarak kullanıldı. Negatif kontrol olarak ddH<sub>2</sub>O kullanıldı.

##### 2.2.4.1.1. Primerler ve Reaksiyon Bileşenleri

Bu çalışmada, *C. burnetii* DNA'sına özgü 687 bp uzunluğundaki *IS1111 A* transposase geni için sırasıyla 22 ve 21 baz çiftine sahip Trans-I ve Trans-II primerleri kullanıldı. Kullanılan primerlerin baz dizilimi şöyledir:

Trans-I (5'-TAT GTA TCC ACC GTA GCC AGT C-3')

Trans-II (5'-CCC AAC AAC ACC TCC TTA TTC-3')

Her bir örnek için 0,2 ml'lik ependorflar içerisinde 25 µl'lik reaksiyon karışımı hazırlandı.

**Tablo 5:** PZR karışımının bileşenleri ve konsantrasyonları

Reaksiyon bileşenleri	Bir örnek için kullanılacak miktar ( $\mu$ l)
10X PZR Buffer	2,5
25 mM MgCl <sub>2</sub>	3
10 mM dNTP mix	0,5
Trans-1 (10 pmol/ $\mu$ l)	0,5
Trans-2 (10 pmol/ $\mu$ l)	0,5
Taq Polimeraz Enzimi (5 U/ $\mu$ l)	0,5
ddH <sub>2</sub> O	14,5
DNA ekstraktı	3
<b>TOPLAM</b>	<b>25</b>

#### 2.2.4.1.2. Reaksiyon Isıları ve Döngü Sayıları

**Tablo 6:** PZR termal şartlar ve siklus sayıları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	95	2 dk	1
Denatürasyon	94	30 sn	5
Primer bağlanması	66 $\pm$ 1 (birbirini izleyen her basamakta sıcaklık 1°C düşürüldü)	1 dk	
Zincir uzaması	72	1 dk	
Denatürasyon	94	30 sn	40
Primer bağlanması	61	1 dk	
Zincir uzaması	72	1 dk	
Bekletme	4	$\infty$ dk	1

### 2.2.5. PZR Ürünlerinin Elektroforezi

Agaroz jel tekniği, PZR'de amplifiye edilen gen bölgelerinin uzunluğunu saptamak için kullanıldı. Jelin hazırlanmasında ve tank tamponu olarak 1xTBE kullanıldı. %1,5'lik agaroz jel için, 60 ml 1xTBE içeren bir balon joje içerisine 0,9 g agaroz (Sigma, E5134) ilave edildi. Mikrodalga fırında homojen hale gelinceye dek ısıtıldı ve buhar çıkması durduktan sonra 3 µl etidyum bromid eklendi. Hava kabarcığı oluşmayacak şekilde yavaşça karıştırıldıktan sonra içerisine tarak yerleştirilmiş olan elektroforez jel küvetine döküldü. 20-25 dk beklenerek jelin donması sağlandı. Bu sırada etidyum bromidin aktivitesini yitirmemesi için hazırlanan jel gün ışığından korundu. Donan jelden taraklar dikkatlice çıkarılarak içerisinde 1xTBE tamponu bulunan elektroforez tankının içine yerleştirildi.

Jeldeki ilk çukura DNA marker'ı (Gene Ruler "50 kb plus" MNI Fermentas, SM03719) 3 µl yüklendi. Diğer çukurlara ise her bir örnek için 1,5 µl 6x yükleme tamponu (Fermentas R0611) ile 7,5 µl PCR ürünü karıştırılarak yüklendi. Elektroforez jel düzeneği 100 volt ve 270 miliampere ayarlanarak 60 dk yürütüldü. DNA fragman büyüklükleri UV transilluminatörde (UVP/LMS-20E) incelendi ve jel görüntüleme sisteminde (Vilber Lourmat Marne La Vallée, France) kayıtları yapıldı.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. ELISA Sonuçları

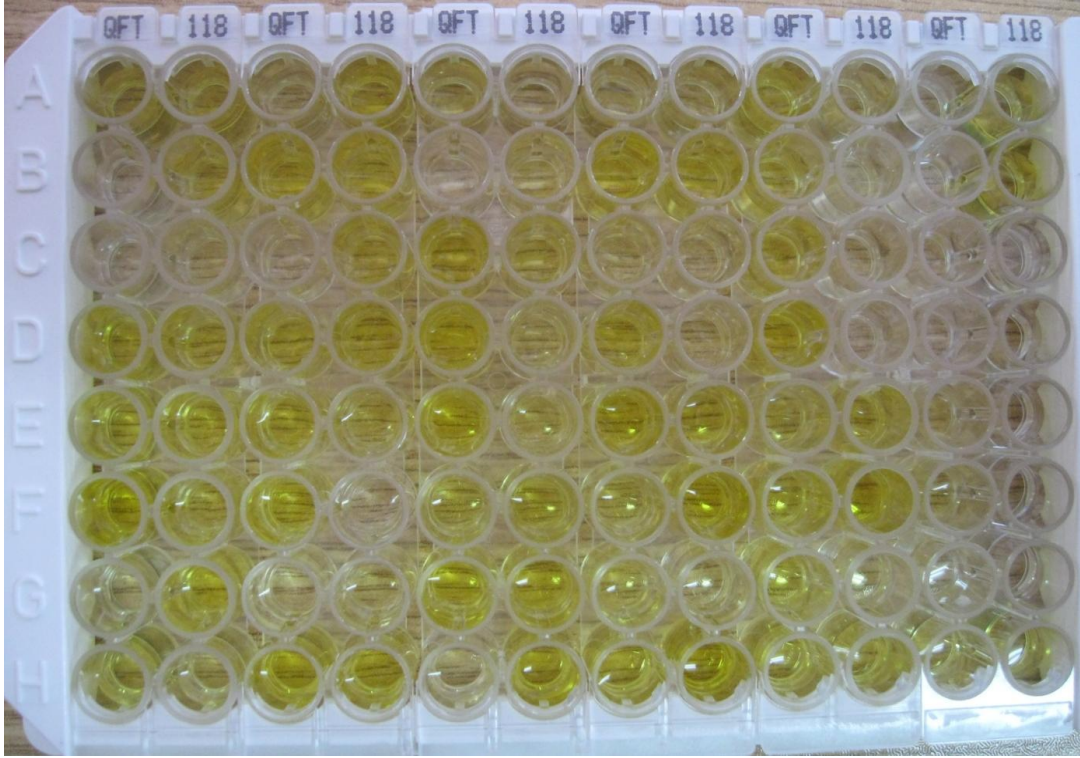
Bu çalışmada, Mart 2011- Eylül 2011 tarihleri arasında Kars merkez ve merkeze bağlı köylerdeki sığır ve koyun sürülerinden 350 adet sığır ve 250 adet koyun olmak üzere toplam 600 adet kan ve 600 adet süt örneği toplandı. Toplanan kan ve süt örnekleri *C. burnetii* antikorları yönünden serolojik olarak incelendi. Örnekleme yapıldığı yerleşim alanları ve seropozitif bulunan köyler Resim 7’de gösterilmiştir. Bu amaçla CHEKIT Q-Fever ELISA test (IDEXX) kiti kullanıldı ve üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi.



**Resim 7.** Örnekleme yapıldığı ve çalışma sonucunda seropozitif bulunan köyler.

### 3.1.1. Sığır Kan Serum Örneklerinin ELISA Sonuçları

Bu çalışmada, Kars merkeze bağlı köylerden toplanan 350 adet sığır kan serum örneği *C. burnetii*'ye karşı oluşan immunoglobülin G (IgG) antikorları yönünden incelendi. İncelenen 350 sığır kan serumundan 52'si (%14,85) pozitif, 4'ü (%1,14) şüpheli ve 294'ü (%84) negatif olarak bulundu (Tablo 7). Pozitif kontrol, negatif kontrol, reaksiyon gösteren pozitif ve negatif örneklerin ELISA sonrası pleyttteki görünümü Resim 8'de gösterilmiştir. Pozitif sığır serum örneklerinin köylere göre dağılımı Tablo 8'de gösterilmiştir.



**Resim 8.** ELISA sonrası mikroyukteki görünüm. A-1: Pozitif kontrol, B-1: Negatif kontrol, diğer kuyucuklarda pozitif ve negatif reaksiyon veren örnekler görülmektedir.

**Tablo 7:** Sığır serum örneklerinin ELISA sonuçları

Değerlendirme	Örnek sayısı	Yüzde Oran (%)
< 30 % (Negatif)	294	84
≥ 30 % < 40 % (Şüpheli)	4	1.14
≥ 40 % (Pozitif)	52	14,85
Toplam	350	

**Tablo 8:** Sığır serum örneklerinde *C. burnetii* antikorlarının belirlendiği köyler ve dağılımları

Örneklerin alındığı köyler	Pozitif örnek sayısı / toplam örnek sayısı	Örneklerin alındığı köyler	Pozitif örnek sayısı / Toplam örnek sayısı
Alaca Köyü	3/15	Ataköy	13/20
Subatan Köyü	1/15	Derecik Köyü	0/10
Hacıveli Köyü	1/20	Kümbetli Köyü	3/10
Külveren Köyü	2/10	Çakmak Köyü	0/20
Akbaba Köyü	1/20	Çığırgan Köyü	0/10
Karacaören Köyü	3/10	Söğütlü Köyü	0/20
Borluk Köyü	8/20	Alçılı Köyü	4/20
Aslan izi Köyü	0/10	Çamurlu Köyü	0/10
Küçük Yusuf Köyü	0/10	Başkaya Köyü	0/10
Çerme Köyü	1/20	Dikme Köyü	3/10
Ağadeve Köyü	4/10	Yolaçan Köyü	0/20
Esenyazı Köyü	2/10	Boğatepe Köyü	3/20
<b>Toplam</b>		52/350	

### 3.1.2. Koyun Kan Serum Örneklerinin ELISA Sonuçları

Bu çalışmada, Kars merkeze bağlı köylerden toplanan 250 adet koyun kan serum örneği *C. burnetii*'ye karşı oluşan immunoglobülin G (IgG) antikorları yönünden incelendi. Toplam 250 adet koyun kan serumundan 108'i (%43,2) pozitif, 16'sı (%6,4) şüpheli ve 126'sı ise (%50,4) negatif olarak bulunmuştur (Tablo 9). Pozitif örneklerin köylere göre dağılımı Tablo 10'da gösterilmiştir.

**Tablo 9:** Koyun serum örneklerinin ELISA sonuçları

Değerlendirme	Örnek sayısı	Yüzde Oran (%)
< 30 % (Negatif)	126	% 50,4
≥ 30 % < 40 % (Şüpheli)	16	% 6,4
≥ 40 % ( Pozitif)	108	% 43,2
Toplam	250	

**Tablo 10:** Koyun serum örneklerinde *C. burnetii* antikorlarının belirlendiği köyler ve dağılımları

Örneklerin alındığı köyler	ELISA pozitif örnek sayısı / Toplam örnek sayısı
Tazekent Köyü	14/20
Yücelen Köyü	0/30
Hamzagerek Köyü	20/30
Karakaş Köyü	12/20
Tekneli Köyü	5/30
Kümbetli Köyü	8/20
Aydıncalan Köyü	3/20
Hasçiftlik Köyü	5/20
Merkez	41/60
Toplam	108/250



### 3.1.3. Sığır Süt Serum Örneklerinin ELISA Sonuçları

Bu çalışmada, Kars merkeze bağlı köylerden toplanan 350 adet sığır süt serum örneği *C. burnetii*'ye karşı oluşan immunoglobülin G (IgG) antikorları yönünden incelendi. Toplam 350 adet sığır süt serumundan 36'sı (%10,28) pozitif, 6'sı (%1,71) şüpheli ve 308'i ise (%88) negatif olarak bulunmuştur (Tablo 11). Pozitif örneklerin köylere göre dağılımı Tablo 12'de gösterilmiştir.

**Tablo 11:** Sığır süt örneklerinin ELISA sonuçları

Değerlendirme	Örnek sayısı	Yüzde Oran (%)
< 30 % (Negatif)	308	88
$\geq 30 \% < 40 \%$ (Şüpheli)	6	1,71
$\geq 40 \%$ ( Pozitif)	36	10,28
Toplam	350	

**Tablo 12:** Sığır süt örneklerinde *C. burnetii* antikorlarının belirlendiği köyler ve dağılımları

Örneklerin alındığı köyler	Pozitif örnek sayısı / Toplam örnek sayısı	Örneklerin alındığı köyler	Pozitif örnek sayısı / Toplam örnek sayısı
Alaca Köyü	2/15	Ataköy	10/20
Subatan Köyü	0/15	Derecik Köyü	0/10
Hacıveli Köyü	1/20	Kümbetli Köyü	3/10
Külveren Köyü	2/10	Çakmak Köyü	0/20
Akbaba Köyü	1/20	Çığırgan Köyü	0/10
Karacaören Köyü	1/10	Söğütlü Köyü	0/20
Borluk Köyü	7/20	Alçılı Köyü	2/20
Aslan izi Köyü	0/10	Çamurlu Köyü	0/10
KüçükYusuf Köyü	0/10	Başkaya Köyü	0/10
Çerme Köyü	1/10	Dikme Köyü	0/10
Ağadeve Köyü	4/10	Yolaçan Köyü	0/20
Esenyazi Köyü	0/10	Boğatepe Köyü	2/20
<b>Toplam</b>		36/350	

### 3.1.4. Koyun Süt Serum Örneklerinin ELISA Sonuçları

Bu çalışmada, Kars merkeze bağlı köylerden toplanan 250 adet koyun süt serum örneği *C. burnetii*'ye karşı oluşan immunoglobülin G (IgG) antikorları yönünden incelendi. Toplam 250 koyun süt serumundan 42'si (%16,8) pozitif, 8'i (%3,2) şüpheli ve 200'ü ise (%80) negatif olarak bulunmuştur (Tablo 13). Pozitif örneklerin köylere göre dağılımı Tablo 14'de gösterilmiştir.

**Tablo 13.** Koyun süt örneklerinin ELISA sonuçları

Değerlendirme	Örnek sayısı	Yüzde Oran (%)
< 30 % (Negatif)	200	80
$\geq 30 \% < 40 \%$ (Şüpheli)	8	3,2
$\geq 40 \%$ ( Pozitif)	42	16,8
Toplam	250	

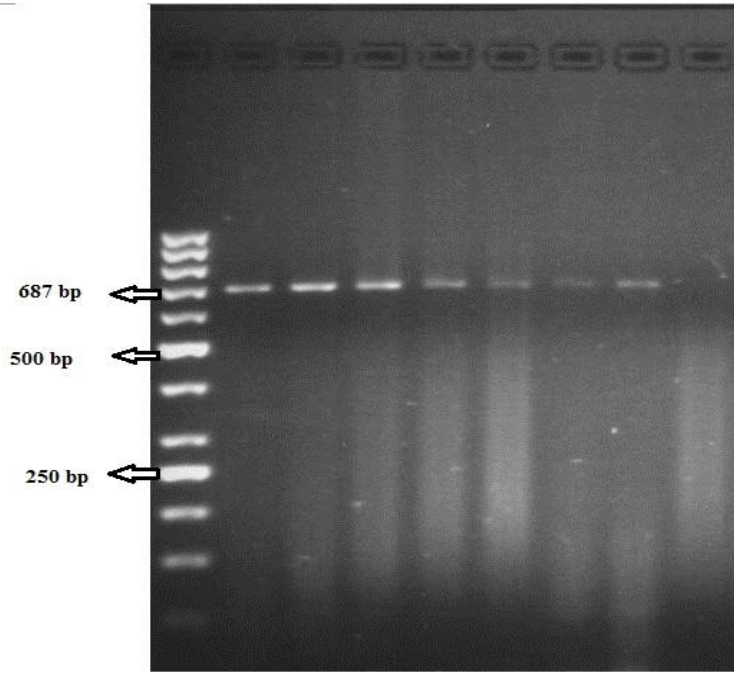
**Tablo 14:** Koyun süt örneklerinde *C. burnetii* antikorlarının belirlendiği köyler ve dağılımları

Örneklerin Alındığı Köyler	Pozitif Örnek Sayısı / Toplam Örnek Sayısı
Tazekent Köyü	5/20
Yücelen Köyü	0/30
Hamzagerek Köyü	15/30
Karakaş Köyü	8/20
Tekneli Köyü	3/30
Kümbetli Köyü	6/20
Aydıncalan Köyü	2/20
Hasçiftlik Köyü	3/20
Merkez	0/60
Toplam	42/250

### 3.2. Süt Örneklerinin PZR Sonuçları

#### 3.2.1. Sığır Süt Örneklerinin PZR sonuçları

Bu çalışmada, Kars merkeze bağlı köylerdeki sığır sürülerinden toplanan 350 adet süt örneğinden Trans-PZR ile 5 (%1,42) örnekten 687 bç büyüklüğünde *IS1111A transposase* geni tespit edildi (Tablo 15, Resim 9).



**Resim 9:** Trans-PZR ile amplifiye edilen *IS1111A transposase* geninin jel-elektroforez görüntüsü. 1. Pozitif kontrol, 2-6. Sığır örnekleri 7. Koyun örneği 8. Negatif örnek.

**Tablo 15:** PZR ile *C. burnetii* saptanan sığır süt örneklerinin köylere göre dağılımı.

	Pozitif Örnek Sayısı / Toplam Örnek Sayısı	Örneklerin alındığı köyler	Pozitif Örnek Sayısı / Toplam Örnek Sayısı
Alaca Köyü	3/15	Ataköy	0/20
Subatan Köyü	0/15	Derecik Köyü	0/10
Hacıveli Köyü	0/20	Kümbetli Köyü	0/10
Külveren Köyü	0/10	Çakmak Köyü	0/20
Akbaba Köyü	0/20	Çığırgan Köyü	0/10
Karacaören Köyü	2/10	Söğütlü Köyü	0/20
Borluk Köyü	0/20	Alçılı Köyü	0/20
Aslanizi Köyü	0/10	Çamurlu Köyü	0/10
KüçükYusuf Köyü	0/10	Başkaya Köyü	0/10
Çerme Köyü	0/20	Dikme Köyü	0/10
Ağadeve Köyü	0/10	Yolaçan Köyü	0/20
Esenyazı Köyü	0/10	Boğatepe Köyü	0/20
<b>Toplam</b>		5/350	

### 3.2.2. Koyun Süt Örneklerinin PZR Sonuçları

Bu çalışmada, Kars merkeze bağlı köylerdeki koyun sürülerinden alınan 250 adet süt örneğinin Trans-PZR ile değerlendirilmesi sonucunda 1'i (%0,4) pozitif olarak saptanmıştır (Tablo 16, Resim 9).

**Tablo 16:** PZR ile *C. burnetii* saptanan koyun süt örneklerinin köylere göre dağılımı.

Örneklerin Alındığı Köyler	Pozitif Örnek Sayısı / Toplam Örnek Sayısı
Tazekent Köyü	0/20
Yücelen Köyü	0/30
Hamzagerek Köyü	1/30
Karakaş Köyü	0/20
Tekneli Köyü	0/30
Kümbetli Köyü	0/20
Aydıncalan Köyü	0/20
Haşçıftlık Köyü	0/20
Merkez	0/60
<b>Toplam</b>	1/250

#### 4. TARTIŞMA

Q humması, *C. burnetii* tarafından oluşturulan zoonotik karakterde bir hastalıktır. (142). *C. burnetii* insanlarda pnömoni, hepatit ve kronik endokardit gibi hastalık tabloları meydana getirirken, hayvanlarda ise hem uterus hem de meme bezlerine lokalize olarak reproduktif bulgular, abort ya da infertiliteye yol açabilmektedir (116). Q hummasının teşhisi enfeksiyonun kontrolü için önemlidir. Ancak hastalığın klinik bulgularının değişkenlik göstermesi ve spesifik olmamasından dolayı klinik tanı zordur. *Coxiella burnetii*'nin izolasyon tekniklerinin pahalı, zaman alıcı ve duyarlılığının düşük olması nedeniyle klinik tanıyı doğrulamak amacıyla serolojik testler daha çok tercih edilmektedir (18, 120). *C. burnetii*'ye karşı oluşan özgül antikorların araştırılmasında sıklıkla ELISA, IFA, KFT, MAT kullanılmaktadır. Geçmişte Q humması tanısında oldukça yaygın kullanılan KFT yüksek spesifiteye sahip olmasına rağmen gösterdiği düşük sensitivite nedeniyle günümüzde pek tercih edilmemektedir (17). ELISA ve IFA testlerinin duyarlılıkları oldukça yüksektir. Peter ve ark. (175) serolojik testler arasındaki duyarlılığı saptamak için yaptıkları bir çalışmada, ELISA da %94, IFA da %91 ve KFT de %78 oranında duyarlılık saptamışlardır. Parın (170) sığır, koyun ve keçilere ait 600 kan örneğinin ELISA testi ile 140'ında (%23,33), IFA testi ile 148'inde (%26,66) seropozitiflik belirlemiştir.

Banazis ve ark. (27) Batı Avustralya'da gerçekleştirilen bir çalışmada 329 sığır, 50 koyun ve 343 kanguru kan serumunu anti-*C. burnetii* yönünden indirekt-ELISA testi ile incelemişler, 379 ruminant kan örneğinin 2 sinden, 343 kanguru kan örneklerinin 115'inden *C. burnetii*'ye karşı pozitiflik tespit etmişlerdir. Khalili ve ark. (108) İran'da sığır ve keçi sürülerinde *C. burnetii* antikorlarını araştırmak amacıyla ELISA ile gerçekleştirdikleri çalışmalarda inceledikleri 76 keçi serumunun 50'sinin (%65,7), 93 sığır serumunun ise 10'unun (%10,7) pozitif olduğunu rapor etmişlerdir.

McCaughey ve ark. (144) Kuzey İrlanda'da Q humması seroepidemiolojisini belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, sığır, koyun, keçi, domuz, rat ve fareye ait toplam 5182 kan serum örneklerini ticari *C. burnetii* Faz II IgG ELISA test kiti ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda incelenen örneklerin %6,2'sinde, sürü bazında ise %48,4'ünde pozitiflik belirlemiştir. Vaidya ve ark. (219) yapmış oldukları

çalışmada Q humması seroprevalansını reproduktif bozuklukları olan sığırlarda %11,36, koyunlarda %9,3 ve keçilerde %5,6 olarak bildirmişlerdir. Çekani ve ark. (56) Arnavutluk'ta hayvan türlerine göre *C. burnetii* seropozitifliğini sığırlarda %10,9, koyun ve keçilerde %8,8 olarak bildirmişlerdir. Pape ve ark. (169) Yunanistan'ın kuzeyinde 554 koyun ve 61 keçiden elde ettikleri kan serum örneklerini IFA testi ile incelemesinde, 554 adet koyunun 58'inde (%10,4) ve 61 adet keçinin ise 4'ünde (%6,5) pozitiflik tespit etmişlerdir.

Masala ve ark. (139) 1999 ve 2002 yılları arasında Sardinya Adası boyunca 675 koyun ve 82 keçi çiftliğinden 9349 kan serumunu ELISA ile incelemiş, koyun çiftliklerinin 255'inde (%38) ve keçi çiftliklerinin ise 39'unda (%47) seropozitiflik belirlemişlerdir. Araştırmada ayrıca aynı çiftliklerden elde edilen 422 adet fötüs ve 95 adet plasenta toplam 517 adet abort yapmış hayvana ait örnek PZR ile incelenmiş, 40 (%10) koyun ve 3 (%6) keçi fötüsü pozitif olarak tespit edilmiştir. Hatchette ve ark. (90) Newfoundland'da sığır, koyun ve keçi popülasyonlarında *C. burnetii* seroprevalansını araştırmak için yaptıkları çalışmada koyunlarda seropozitiflik oranını 1997'de %3,1 iken, 1999-2000 yılları arasında % 23,5'e kadar artmış olduğunu bildirmişlerdir. Sığır ve keçilerde ise seropozitiflik oranı sırasıyla %24 ve %15,6 olarak tespit edilmiştir.

Türkiye'de Q hummasının yaygınlığı serolojik çalışmalar ile belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırmalar sonucu ülkemizde Q hummasının insan ve hayvanlar için oluşturduğu risk ortaya konulmuştur. Ceylan ve ark. (50) Türkiye'nin doğusunda sığır ve koyunlarda *C. burnetii*'ye karşı antikör seroprevalansını belirlemek için rastgele örnekleme yöntemiyle 92 sığır ve 92 koyuna ait kan serum örneklerini *C. burnetii* Faz II antijenlerine karşı ELISA metodu ile incelemişlerdir. Sığırların %16,3'ünde ve koyunların ise %5,4'ünde *C. burnetii* Faz II antijenlerine karşı IgG antikörleri belirlendiği bildirilmiştir. Gazzyağcı ve ark. (76) Konya bölgesindeki süt inekleri arasında Q humması seroprevalansını belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada 322 süt sığırından elde ettikleri kan serum örneklerini IFA yöntemiyle araştırdıkları bir çalışmada 40 sığırın (%12,4) seropozitif olarak belirlendiğini bildirmişlerdir. Kılıç ve ark. (114) sokak kedilerinde Q humması seroprevalansını saptamak amacıyla İç Anadolu Bölgesi'nde (Ankara, Niğde ve Kayseri illeri)

yürüttükleri çalışmada toplam 143 kan serumunda IFAT ile Ankara, Niğde ve Kayseri illerinde seropozitiflik oranlarını sırasıyla %1,6, %7,4 ve %8,3 olarak saptamışlardır. Yapılan bu çalışma ile ülkemizde kedilerde *C. burnetii* seroreaktivitesi ilk kez ortaya konulmuştur. Kılıç ve ark. (115) Aydın bölgesinde 100 koyun serum örneğinin 3'ünde (%3) *C. burnetii*'ye karşı IFAT ile seropozitiflik belirlemişlerdir.

Seyitoğlu ve ark. (204) Q humması seroprevalansını belirlemek için Erzurum ve çevresinde 230 adet sığır ve 92 adet sağlıklı çiftçiden elde ettikleri serum örneklerini ELISA yöntemini kullanarak incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda sığırların 22'sinde (%9,5) ve çiftçilerin 18'inde (%19,5) seropozitiflik saptamışlardır. Aynı çalışmada abortus öyküsü olan 53 sığırın 12'sinde (%22,6) ve abortus öyküsü olmayan 177 sığırın 10'unda (%5,6) pozitiflik bildirilmiştir. Öztürk ve ark. (165) Türkiye'nin güney batı bölgesinde yer alan Burdur İli'nde yavru atma problemi gösteren süt sığırlarında Q humması seropozitifliğini ELISA yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Bu çalışmada toplam 186 sığırdan elde edilen kan serum örneği incelenmiş olup 19'unda (%10,2) seropozitiflik bildirilmiştir. Benzer şekilde Karaca ve ark. (102) Van bölgesinde koyunlarda Q humması seroprevalansını belirlemek amacıyla yapmış oldukları çalışmada 465 adet koyun kan serum örneğinin ELISA ile incelenmesi sonucunda 98'inde (%21,07) seropozitiflik belirlemişlerdir. Kalender (101) Elazığ ve komşu illerde yetiştirilen koyunlarda *C. burnetii* seroprevalansını ortaya koymak için ELISA ile yaptığı çalışmada yavru atmış koyunlarda %38,59 ve yavru atmamış koyunlarda ise %11,01 oranında pozitiflik bildirmiştir. Aynı çalışmada illere göre koyunlarda seropozitiflik oranlarını Elazığ'da %20, Malatya'da %20, Bingöl'de %28 ve Muş'ta %27 olarak belirlemiştir.

Kennerman ve ark. (105) Güney Marmara Bölgesinde yer alan Bursa, Çanakkale ve Balıkesir İllerindeki koyun sürülerinde Q humması seroprevalansını araştırmak amacıyla, rastgele örnekleme yöntemiyle elde ettikleri serum örneklerini ticari ELISA test kiti kullanarak incelemiş, çalışmanın sonucunda koyunların %20'sinde seropozitiflik tespit etmişlerdir. Arserim ve ark. (18) Diyarbakır bölgesinde sığır, koyun, keçi ve hayvancılıkla uğraşan insanlarda *C. burnetii* seroprevalansını araştırmak amacıyla 584 adet sığır, 612 adet koyun, 700 adet keçi ve 90 adet



insandan elde ettikleri kan serum örneklerini ELISA tekniği ile incelemiş, sığırların %20'sinde, koyunların %25,4'ünde, keçilerin %38,6'sında ve insanların %6,6'sında seropozitiflik bulmuşlardır. Leloğlu (126) tarafından Erzurum, Kars ve Ağrı illerini kapsayan bölgede insan, sığır ve koyunlarda Q humması varlığı MA testi ile araştırılmıştır. Üç ilde toplam 456 koyun ve 262 sığır serumu incelenmiştir. Koyun serumlarının %22,1'inde, sığır serumlarının ise %15,6'sında Q humması varlığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada incelenen 178 insanın %11,2'sinde Q humması pozitif bulunmuştur. Çalışma sonuçlarının illere göre dağılımı incelendiği zaman Erzurum orjinli 209 koyun serumunun 50'sinde (%23,4), Kars İlinden incelenen 145 koyunun 30'unda (%20,7), Ağrı ilinden elde edilen 102 serumun ise 21'inde (%20,6) pozitiflik belirlenmiştir. Sığır örneklerinin illere göre dağılımına bakıldığı zaman sırasıyla Erzurum İli'ne ait 108 örnekten 13'ü (%12), Kars'a ait 105 örnekten 18'i (%17,1) ve Ağrı İline ait 49 serumun örneğinin ise 10'u (%20,4) Q humması yönünden pozitif olarak tespit edilmiştir.

Kars yöresinde yürütülen bu çalışmada, ticari ELISA test kiti kullanılarak 350 sığıra ait serum örneklerinin incelenmesi sonucunda %14,85 oranında seropozitiflik bulunmuştur. Çalışmada sığır serum örneklerinin seroprevansı Türkiye genelindeki ve bölgemizdeki sığırlarda daha önce gerçekleştirilen çalışmalar ile paralellik göstermiştir. Yapılan diğer çalışmalar ile bizim sonuçlarımız arasında çok önemli fark olmadığı ortaya konulmuştur. Koyunlardan toplanan 250 adet serum örneğinin ise %43,2'si pozitif olarak tespit edilmiştir. Diğer çalışmalarla karşılaştırıldığı zaman koyunlarda seropozitiflik oranı yüksek çıkmıştır. Coğrafik çeşitlilik, yetiştirme koşulları, bakım ve beslenme şartları, kene ve artropodlar ile olan mücadelenin yetersiz oluşu yüksek seropozitifliğin nedeni olarak düşünülebilir.

Sığır, koyun ve keçiler Q humması etkeninin insanlara bulaşmasında rol oynayan primer rezervuarlardır (142). Mikroorganizma enfekte hayvanların süt, idrar, dışkı ve doğum atıklarıyla çevreye saçılır ve insanlara bulaşmada rol oynarlar (213). Epidemiyolojik veriler süt sığırlarının kronik enfeksiyonlara koyunlardan daha fazla oranda yakalandığını ortaya koymuştur (142). Sığırlar koyunlarla karşılaştırıldığı zaman serumlarında spesifik antikorlar daha uzun süre saptanabilmekte ve sığırlarda *C. burnetii*'nin sütle atılımının daha uzun sürdüğü bildirilmektedir (213). Kahalili ve

ark. (109) İnan'ın güneyinde rastgele seçmiş oldukları süt sığırlarında *C. burnetii* prevalansını araştırmak için yapmış oldukları bir çalışmada 44 süt sğırı sürüsünden elde ettikleri tank sütlerini ELISA test kiti kullanarak incelemiş, %45,4 oranında pozitiflik belirlemişlerdir. Agger ve ark. (4) tarafından Danimarka'da *C. burnetii*'ye karşı spesifik antikorları belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada ELISA yöntemi kullanarak rastgele seçilen 100 sığır sürüsünden toplanan tank süt örnekleri incelenmiştir. Sürülerin %59'unda pozitiflik tespit edilmiştir. Guatteo ve ark. (82) tarafından Fransa'da yapılan bir çalışmada, 6 farklı sürüden 448 aynı sğırdan alınan süt ve kan serum rneklelerini ELISA ile incelemişler, kan serumularının 264'nde, süt serum rneklерinin ise 257'sinde *C. burnetii* antikorlarını tesbit etmişlerdir. Pozitif olarak belirlenen 264 adet kan serumunun 249'u süt ELISA testi ile pozitif sonuç verirken, 15'inin negatif sonuç verdiği bildirilmiştir. ELISA ile yapılan incelemede 184 negatif serum örneğin 8 tanesi süt sonuçlarında pozitif olarak bulunmuştur.

Astobiza ve ark. (20) *C. burnetii*'ye maruz kalma derecesini belirlemek ve tahmini prevalansı ortaya koymak için Kuzey İşpanya'da hastalığın endemik olduğu bölgede süt sğırı sürülerinde geniş çaplı bir çalışma yapmışlardır. Araştırmada 178 sürüye ait tank sütü ELISA ve PZR ile değerlendirilmiş, ELISA ile 119'u (%66,9), PZR ile %51,7'si pozitif olarak tespit edilmiştir. Muskens ve ark. (156) Hollanda'da yapmış oldukları çalışmada 12 sığır sürüsüne ait tank sütlerini ELISA testi ile incelemiş, 10 (%83) sürüye ait tank sütlerinden seropozitiflik saptamışlardır. Paul ve ark. (172) Danimarka'da 17 süt sğırı sürüsünden laktasyon dönemindeki 568 inekten elde ettikleri kan ve süt rneklelerini ELISA ile incelemişler, toplamda 362 (%63,73) pozitif, 141 (%24,82) negatif ve 65 (%11,44) rneği de şüpheli olarak bulmuşlardır.

Bu alışmada Kars Merkeze bağlı köylerden toplanan 350 sığır süt serum örneğinin %10,28'i pozitif olarak saptanırken, 250 adet koyun süt serum örneğinin ise %16,8'inin pozitif olduğu tespit edilmiştir. Süt serumlarıyla gerçekleştirilen serolojik çalışmaların amacı kan serumu ile uygulanan testlere alternatif bir yöntem olarak süt serumunun kullanılıp kullanılamayacağını belirlemektir. Bazı çalışmaların sonucunda süt serum sonuçları ile kan serum sonuçlarının benzer olduğu ve Q hummasının serolojik teşhisinde süt serumunun kan serumuna alternatif bir örnek

olarak kullanılabilceği bildirilmiştir. Ayrıca süt örneklerinin elde edilmesinin daha kolay ve pratik olacağı için tercih edilebileceği düşünülmektedir. Ülkemizde Q hummasının serolojik teşhisi için süt serumuyla yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada bireysel örneklemenin sonuçlarına bakarak süt serumunun kan serumuna göre daha düşük düzeyde pozitiflik verdiğini ve bunun sonucunda seruma alternatif bir yöntem olarak kullanılamayacağı düşünülmektedir.

Hayvanlarda Q hummasının teşhisinde serolojik yöntemlerin kullanılması avantajlı olarak görünmesine rağmen vajinal mukus, dışkı ve sütleriyle *C. burnetii*'yi saçan hayvanların tespit edilmesinde bazı dezavantajlara sahiptir. Dışkı, süt ve vajinal mukuslarıyla etkeni saçan hayvanlar çoğunlukla seropozitif olarak tespit edilmelerine rağmen seropozitif olarak bulunan hayvanların bir kısmı etkeni samayabilir veya seronegatif olarak tespit edilen hayvanların bir kısmı ise etkeni saabilmektedirler. (17, 36, 72). Son yıllarda, klinik örneklerden ve hücre kültürlerinden *C. burnetii* DNA'sını saptamak amacıyla çeşitli PZR yöntemleri geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntemler, özellikle veteriner hekimlik alanında Q humması teşhisinde önemli yer bulmuştur. Teşhiste kullanılan PZR yöntemleri farklı klinik örneklerden *C. burnetii* DNA'sını saptamak için oldukça duyarlı, spesifik, uygulanması kolay ve hızlı yöntemlerdir (17, 72). Geliştirilen PZR yöntemleri arasında konvansiyonel PZR, nested PZR, real time PCR ve trans-PZR yer almaktadır. Tekrarlı ve transpozon benzeri elementi baz alan primerler ile yapılan trans-PZR Q humması teşhisinde oldukça duyarlı bir yöntemdir (66, 231). Kim ve ark. (117) tarafından ABD'de yapılan bir çalışmada tank sütlerinden *C. burnetii*'nin dış membran proteini olan htpA ve htpB proteinlerini tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar IS1111 genini hedefleyen PZR yöntemiyle sütlerde *C. burnetii* miktarını ölçmek için bir çalışma yapmışlardır. Yaptıkları alışmayla *C. burnetii* yaygınlığını değerlendirmiş, 3 yıllık çalışma süresi boyunca Q humması hastalığında bir artış olduğunu belirlemişlerdir. Guatteo ve ark. (81) 242 hayvanın bulunduğu bir sığır sürüsünden topladığı süt, vaginal mukus ve dışkı örneklerini real-time PZR ile incelemeleri sonucunda %65'inin pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Kırkan ve ark. (116) sığırlarda *C. burnetii* varlığını göstermek amacıyla sığır çiftliklerinden topladıkları 138 kan örneğini PZR metodunu kullanarak incelemişler, 6 örneği (%4.3) pozitif olarak belirlemişlerdir. Berri ve ark. (35) spesifik primerler kullanarak ruminant sürülerinden aldıkları 253 klinik örneği m-PZR yöntemiyle incelemiş ve 49 örnekte (33 vajinal sıvı, 11 süt, 4 dışkı, 1 plasenta) *C. burnetii* tespit etmişlerdir. Cantaş ve ark. (43) Kuzey Kıbrıs'ta yapmış oldukları bir çalışmada sığırlara ait 59 fetal abomazum içeriği ve uterus kotiledon örneklerini Trans-PZR ve CB-PZR yöntemleriyle incelemişler, abomazum içeriklerinin 22'sinde hem Trans-PZR hem de CB-PZR yöntemiyle *C. burnetii* yönünden pozitiflik bulmuşlardır. Uterus kotiledon örneklerinin 19'unda her iki PZR yöntemiyle *C. burnetii* belirlendiği bildirilmiştir.

Willems ve ark. (231) Almanya'da sığırlara ait klinik süt örnekleri ile gerçekleştirdikleri deneysel çalışmada trans-PZR'in spesifitesi ve sensitivitesini araştırmışlardır. Çalışmada yöntemin tek bir *C. burnetii* varlığını bile belirleyebileceğini göstermişlerdir. Guatteo ve ark. (83) *C. burnetii* ile ilişkili olarak abort meydana gelen hayvanlarda etkenin yayılımını ve serolojik gelişimini izlemek amacıyla bir aylık zaman süresince 24 ineği takip etmişler, abort sonrası haftalık olarak toplanan süt ve vajinal mukus örneklerini PZR ve ELISA ile değerlendirmişler, abort sonrası vajinal mukus ile yayılımın çok kısa süre devam ettiğini, süt ile daha uzun süre devam eden bir yayılım olduğunu ortaya koymuşlardır.

Muskens ve ark. (156) yapmış oldukları bir çalışmada 12 sürüye ait metritisli 45 süt sığırından aldıkları uterus içeriği ve bu 12 sürüye ait tank sütü ve kan örneklerini incelemişlerdir. Yalnızca 1 uterus içeriği PZR ile pozitif bulunurken diğer örnekler negatif olarak tespit edilmiştir. PZR pozitif olarak tespit edilen örnek ELISA testi ile antikor varlığı yönünden incelenmiş olup pozitif olarak belirlendiği bildirilmiştir. Diğer sürülerin de ELISA testi ile taranması sonucunda 3 örnek ELISA ile pozitif olarak belirlenmiştir. Çalışmada 12 sürüye ait tank süt örneklerinin PZR yöntemiyle incelenmesi sonucunda süt örneklerinin 6'sı (%50) pozitif olarak saptanmıştır. Fretz ve ark. (73) İsviçre'de sığır, koyun ve keçi tank süt örneklerinde *C. burnetii* varlığını belirlemek için bir tarama programı gerçekleştirmişlerdir. Toplam 359 sığır tank süt

örneğinin PZR ile incelenmesi sonucunda 17 (%4,7) örnek pozitif olarak belirlenmiştir. Pozitifliğin sürü bazında değerlendirildiğinde dağılımın 27 süt sığıri çiftliğinin 8'inde olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, sığır örneklerinin aksine koyun ve keçi tank süt örneklerinin PZR yöntemiyle incelenmesi sonucunda pozitif örneğe rastlanılmadığını bildirmişlerdir.

Vaidya ve ark. (220) tarafından yapılan bir çalışmada reproduktif bozukluğu olan 88 sığır, 33 bufalo, 43 koyun ve 53 keçiden elde ettikleri 920 örneği (genital ve fekal sıvap, süt, idrar ve kan serumu) Trans-PZR, real-time PZR, IFA ve ELISA yöntemleriyle incelemişlerdir. Trans-PZR ile incelenen 703 örneğin 30'unda (%4,6) pozitif sonuç alınmıştır. Pozitif bulunan örneklerin dağılımı incelendiğinde sığırlarda 13'ü (3 genital sıvap, 2 fekal sıvap, 7 süt, 1 idrar), bufalolarda 7'si (2 genital sıvap, 1 fekal sıvap, 2 süt, 2 idrar), koyunlarda 6'sı (1 genital sıvap, 2 fekal sıvap, 2 süt ve 1 idrar), keçilerde ise 4'ü ( 1 genital sıvap, 1 süt, 2 idrar) pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada incelenen 217 hayvanın 24'ü (11 sığır, 5 bufalo, 5 koyun, 3 keçi) Trans-PZR ile pozitif olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada 703 örneğin real-time PZR yöntemi ile incelenmesi sonucu 35'i (16 sığır, 7 bufalo, 7 koyun ve 5 keçi) pozitif sonuç vermiştir. Toplam 217 hayvan serum örneğinin IFA tekniği ile incelenmesi sonucunda 27 serum (13 sığır, 5 bufalo, 5 koyun, 4 keçi) örneğinde seropozitiflik bildirilmiştir. Aynı serum örnekleri ELISA testi ile incelendiği zaman 217 örneğin 23'ü (10 sığır, 6 bufalo, 4 koyun ve 3 keçi) seropozitif olarak belirlenmiştir.

Parisi ve ark. (171) İtalya'da nested-PZR yöntemiyle sığır, koyun ve keçi abortlarında %18,9 oranında *C. burnetii*'yi pozitif olarak rapor etmişlerdir. Öngör ve ark. (161) Elazığ bölgesindeki koyunlardan toplanan süt örneklerini immunomagnetik separasyon-PZR yöntemiyle incelemeleri sonucunda *C. burnetii* yönünden %3,5 oranında pozitiflik tespit etmişlerdir. Kargar ve ark. (103) 100 adet sığır tank süt örneğini PZR ile incelemiş olup 11 örneği pozitif olarak belirlemişlerdir.

Gerçekleştirilen bu çalışmada, Kars merkeze bağlı köylerden elde edilen 350 adet sığır süt örneğinin %1,42'si, 250 koyun süt örneğinin ise % 0,4'ü Trans-PZR ile pozitif olarak tespit edilmiştir. Araştırmada sığır ve koyun süt örneklerinde Trans-

PZR yöntemi ile pozitiflik oranının diğer çalışmalara göre nisbeten daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun örneklem dönemi ve kullanılan yöntem ile ilgili olabileceği düşünülebilir. Ayrıca sığırlarda belirlenen pozitifliğin koyunlara göre daha yüksek bulunmasının ise sığırların sütleriyle etkeni daha uzun süre saçarken, koyunların etkeni daha ziyade vajinal salgılarıyla uzun süre ve yoğun olarak yaydıkları bilgileriyle örtüşmektedir.

## 5. SONUÇ

Bu araştırmada Kars ili ve çevresinde bulunan sığır ve koyun sürülerinden elde edilen kan ve süt örnekleri *C. burnetii* varlığı açısından serolojik ve moleküler identifikasyon teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Gerçekleştirilen serolojik çalışmaların sonucuna bakıldığında ELISA metoduyla incelenen sığır ve koyunlara ait toplam 600 kan örneğinin 160'ında (%26,6) *C. burnetii*'ye karşı antikor tespit edilmiştir. Yine aynı hayvanlara ait 600 süt örneğinin ELISA ile incelenmesi sonucu 78'i (%13) seropozitif olarak belirlenmiştir. Sığır ve koyunlardan elde edilen toplam 600 süt örneğinin PZR ile değerlendirilmesi sonucu ise 6'sında (%1) pozitiflik tespit edilmiştir.

Genellikle subklinik hastalık tablolarıyla ortaya çıkan Q humması abortlara neden olmakta ve verim kayıplarıyla sonuçlanmaktadır. Zoonotik özelliğinden dolayı insanlar için de tehlike arz etmektedir. Bölgemizde insanlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar incelendiği zaman yüksek düzeyde Q humması olgularına rastlandığı bildirilmektedir. İnsanlarda belirlenen Q humması hastalığının temel kaynağı olarak evcil hayvanlar düşünülmektedir. Hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı yerlerde enfeksiyon riski oldukça yüksek seyredebilmektedir. Bölgemizde de hayvancılık başlıca geçim kaynağını oluşturmaktadır. Uzun kış aylarında hayvan barınaklarının kalabalık olması ve hijyen koşullarının yeterince sağlanamaması hastalık riskini artırmaktadır. Yine hasta hayvanlara ait ürünlerin tüketimi risk yaratmaktadır. Hasta hayvan sütleri önemli enfeksiyon kaynağı olarak kabul edilmektedir. Yeterli pastörizasyon işlemine tabi tutulmamış süt ve süt ürünlerinin tüketimi enfeksiyon riskini artırmaktadır.

Kars iline ait örneklemenin yapıldığı yerleşim alanlarının çoğunda *C. burnetii*'nin varlığı ortaya konulmuştur. Q hummasının zoonotik karakteri göz önüne alındığı zaman hayvancılıkla uğraşan halkın bu hastalık hakkında bilinçlendirilmesi gerektiği ortaya çıkmaktadır. Yetiştiriciliği yapılan hayvanların barınak, çevre koşulları düzenlenmeli ve dış parazitler ile mücadeleleri konusunda gerekli tedbirler alınmalıdır.

Hasta ve sağlıklı görünen hayvanlarda *C. burnetii*'nin varlığının belirlenmesi bölge halkının karşı karşıya olduğu durumu ortaya koymaktadır. Hem insan hem de hayvan sağlığını tehdit eden Q humması hastalığına daha fazla önem verilmeli ve hastalık yayılımını engellemek için gerekli tedbirler alınmalıdır. Bölgede Q humması ile ilgili olarak seroepidemiolojik araştırmaların yanı sıra özellikle kültürel ve patolojik çalışmaların da yapılarak hastalığın gerçek boyutlarının ortaya konulması, hayvanlarda Q hummasının kontrol ve eradikasyonu üzerine yürütülecek çalışmalara ışık tutacaktır.

## 6. ÖZET

Q humması, *Coxiella burnetii* tarafından oluşturulan ve evcil hayvanlarda subklinik hastalık tablolarıyla seyreden, ekonomik ve verim kayıplarına yol açan zoonotik bir hastalıktır. *C. burnetii*'nin laboratuvar ortamında izolasyon ve identifikasyonu zor olduğundan teşhiste serolojik ve moleküler yöntemler tercih edilmektedir.

Bu çalışmada, Kars ve çevresindeki yerleşim alanlarında sığır ve koyun sürülerinden alınan 600 adet kan ve 600 adet süt örneği *C. burnetii* varlığını araştırmak amacıyla serolojik ve moleküler yöntemlerle incelendi.

Serolojik amaçla kan ve süt serum örneklerinde *C. burnetii* IgG varlığı ELISA testi ile araştırıldı. Serolojik incelemenin sonucunda 350 adet sığır kan serum örneğinin 52'sinde (%14,85) ve 250 adet koyun serum örneğinin 108'inde (%43,2) *C. burnetii*'ye karşı şekillenen antikorların varlığı belirlendi. Sığır ve koyunlara ait süt serum örneklerinin ELISA yöntemiyle incelenmesi sonucunda, 350 adet sığır süt serumunun 36'sında (%10,28) ve 250 adet koyun süt serumunun 42'sinde (%16,8) seropozitiflik belirlendi.

Moleküler amaçlı *C. burnetii* DNA'sına özgü *IS1111 A* transposan genini amplifiye eden Trans-PZR yöntemi uygulandı. Gerçekleştirilen Trans-PZR çalışmalarının sonucunda 350 adet sığır süt örneğinin 5 (%1,42) inde ve 250 adet koyun süt örneğinin ise 1 (% 0,4) inde *C. burnetii* DNA'sı saptandı.

Araştırmada elde edilen sonuçlar, Kars bölgesinde bulunan sığır ve koyunlarda Q humması varlığını göstermekte ve hastalık etkeninin süt ile atılımını ortaya koymaktadır. Bu durum hayvan ve insan sağlığı açısından risk potansiyelini göstermektedir. Bu çalışma, sığır ve koyunlarda hastalığa neden olan *C. burnetii* varlığının belirlenmesine yönelik gelecekte yapılacak çalışmalara ışık tutacak, hastalığın korunma ve kontrolüne katkı sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Coxiella burnetii*, sığır, koyun, serum, ELISA, PZR



## 7. SUMMARY

Q fever caused by *Coxiella burnetii* is a zoonotic disease characterized by economic and productivity losses and is a subclinical disease in domestic animals. Serological and molecular methods are preferred for diagnosis of *C. burnetii* due to the difficulties in isolation and identification techniques.

In this study, 600 blood and 600 milk samples obtained from cattle and sheep herds in the Kars region, were examined using serological and molecular methods to determine the presence of *C. burnetii*.

In serological technique, *C. burnetii* IgG in blood and milk sera samples were investigated with ELISA. As the result of this examinations, 108 (43,2 %) out of 250 sheep blood serum samples and 52 (14,85 %) out of 350 cattle blood serum samples were found seropositive in terms of *C. burnetii* antibodies by ELISA. Again, out of 350 cattle and 250 sheep milk serum samples examined with ELISA, 36 (10,28 %) and 42 (16,8 %) were found seropositive, respectively.

For molecular technique, the Trans-PCR amplifies the *IS1111A* transposone gene of *C. burnetii* was conducted. As the result of Trans-PCR, 5 (1,42 %) out of 350 cattle milk samples, and 1 (0,4 %) out of 250 sheep milk samples were found to be positive for *C. burnetii* DNA.

The results obtained from this study have demonstrated the presence of Q fever in cattle and sheep in Kars region, and the scattering of the infectious agent with milk. This situation introduced that the disease poses a potential risk for animal and human health. Ultimately, this study shed lights on future researches determining the presence of *C. burnetii* that cause of Q fever in cattle and sheep and will contribute to protection and control of the disease.

**Keywords:** *Coxiella burnetii*, cattle, sheep, sera, ELISA, PCR

## 8. KAYNAKLAR

1. Abinanti, FR., Lennette, EH., Winn, JF., Welsh, HH.: Q Fever Studies XVII. Presence of *Coxiella burnetii* in the birth fluids of naturally infected sheep. American Journal of Hygiene, 58: 4, 1953.
2. Ackland, J. R., Worswick, D. A., Marmiom, BP.: Vaccine prophylaxis of Q fever. A follow-up study of the efficacy of Q-vax (CSL) 1985-1990. Med. J. Aust. 160(11): 704-8, 1994.
3. Adesiyun. A. A., Cazabon E.P.: Seroprevalences of brucellosis, Q-fever and toxoplasmosis in slaughter livestock in Trinidad. Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop. 49(1): 2830, 1996.
4. Agger, J. F., Christoffersen, A-B., Rattenborg, E., Nielsen, J., Agerholm, J.S.: prevalence of *Coxiella burnetii* antibodies in Danish dairy herds. Acta Veterinaria Scandinavica, 52: 5, 2010.
5. Aitken, ID., Bogel, K., Cracea, E., Edlinger, E., Houwers, D., Krauss, H., Rady, M., Rehacek, J., Schiefer, HG., Schmeer, N.: Q fever in Europe: Current aspects of etiology, epidemiology, human infection, diagnosis and therapy. Infection. 15: 323-7, 1987.
6. Aitken, ID.: Clinical aspects and prevention of Q fever in animals. Eur. J. Epidemiol. 5: 420-4, 1989.
7. Alpar, S., Massie, EL.: Türkiye’de Q-humması. Türk Vet. Hek. Dern. Derg. 164-165:746-55, 1953.
8. Altay, G., Emre, Z., Düzgün, A., Canpolat, S., Vatansever, Y., Mert, H.: *Coxiella burnetii*’nin kenelerden Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve PCR-RFLP ile saptanması. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, Ankara, 2007.
9. Amano, K. and Williams J.C.: Sensitivity of *Coxiella burnetii* peptidoglycan to lysozyme hydrolysis and correlation of sacculus rigidity with peptidoglycan-associated proteins. J. Bacteriol. 160(3): 989-993, 1984.
10. Amano, K., Williams J.C. :Chemical and immunological characterization of lipopolysaccharides from phase I and phase II *Coxiella burnetii*. J. Bacteriol. 3: 994-1002, 1984.

11. Andrews, PS., Marmion, BP.: Chronic Q fever. Br. Med. J. 2: 983 – 985, 1959.
12. Angelakis, E. and Raoult D.: Q Fever. Veterinary microbiology. 140: 296-309, 2010.
13. Anon. Q fever. OIE 2007.
14. Anon.: <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kars>, 19.03.2013
15. Anon.: Kars İl Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, <http://www.karstarim.gov.tr>, 19.03.2013
16. Arricau-Bouvery, N.: Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats: excretion routes. Vet. Res. 34: 10, 2003.
17. Arricau-Bouvery, N. and Rodolakis, A.: Is Q Fever an emerging or re-emerging zoonosis?. Vet. Res. 36: 327-349, 2005.
18. Arserim, N. B., Yeşilmen, S., Tel, O. Y., Özekinci, T., Keskin, O., Pulat, H., Vural A.: Seroprevalance of Coxiellosis in cows, sheep, goats and humans in Diyarbakir region of Turkey. African Journal of Microbiology Reseach, 5(15): 2041-2043, 2011.
19. Aslan, M. H.: Erzurum, Kars ve Ardahan illerindeki süt ve süt ürünleri üreticilerinde Q humması seroprevalansı. Uzmanlık Tezi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Erzurum, 2008.
20. Astobiza, I., Ruiz-Fons, F., Pinero, A., Barandika, J. F., Hurtado, A. and Garcia-Perez, A. L.: Estimation of *Coxiella burnetii* prevalence in dairy cattle in intensive systems by serological and molecular analyses of bulk-tank milk samples. J. Dairy Sci. 95: 1832-1638, 2012.
21. Attila, C.: Deviyasyon yolu ile Türkiye Hayvanlarında Q humması akımından araştırmalar. Türk İji. Tec. Biyol. Der. 2: 208-15, 1953.
22. Atun H.: Türkiye’de serolojik yolla hayvanlarda Q fever aranması. Türk Vet. Hek. Dern. Derg. 23: 1-8, 1953.
23. Aydın, N., İzgür, M., Diker, K.S., ve ark.: Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). Aydın, N., Paracıkoğlu, J. (Eds). İlke-Emek Yayınları, Ankara, 219-221, 2006.
24. Babudieri, B.: Q fever: a zoonosis. Adv. Vet. Sci. 5: 81, 1959.

25. Baca, O. G., Paretzky, D.: Q fever and *Coxiella burnetii*: A model for host parasite interactions. *Microbiol. Rev.* 47: 127–49, 1983.
26. Baca, O. G., Roman, M. J., Glew, R., Christner, J., Buhler, Aragon, A.: Acid phosphatase activity in *Coxiella burnetii*: a possible virulence factor. *Infect. Immun.* 61(10): 4232-9, 1993.
27. Banazis, M. J., Bestall, A. S., Reid, S. A., Fenwick, S. G.: A survey of Western Australian sheep, cattle and kangaroos to determine the prevalence of *Coxiella burnetii*. *Vet. Microbiol.* 143: 337-345, 2010.
28. Bayer, RA.: Q fever as an occupational illness at the National Institutes of Health. *Public. Health. Rep.* 97: 58–60, 1982.
29. Beare, P.A., Samuel, J. E., Howe, D., Virtaneva, K., Porcella, S. F., Heinzen, R.A.: Genetic diversity of the Q fever agent, *Coxiella burnetii*, assessed by microarray-based wholegenome comparisons. *J. Bacteriol.* 7: 2309-24, 2006.
30. Behymer, D., Riemann, HP.: Zoonosis update, infection. *Coxiella burnetii* *JAVMA.* 194: 764-767, 1989.
31. Berktaş, M., Ceylan, E., Yaman, G., Çiftci, İ.: Seroprevalence of *Coxiella burnetii* Antibodies in High Risk Groups in Eastern Turkey. *Türkiye Klinikleri J. Med. Sci.* 31(1): 45-50, 2011.
32. Bernasconi, M.V., Casati, S., Peter, O., Piffaretti, JC.: Rhipicephalus ticks infected with *Rickettsia* and *Coxiella* in Southern Switzerland. *Infect. Genet. Evol.* 2(2): 111-120, 2002.
33. Berri, M., Crochet, D., Santiago, S., Rodolakis, A.: Spread of *Coxiella burnetii* infection in a flock of sheep after an episode of Q fever. *Vet. Rec.* 157(23): 737-40, 2005.
34. Berri, M., Laroucau, K., Rodolakis, A.: The detection of *Coxiella burnetii* from ovine genital swabs, milk, and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.* 72(3-4): 285-293, 2000.
35. Berri, M., Rekiki, A., Boumedine, K. S., Rodolakis, A.: Simultaneous differential detection of *Chlamydomphila abortus*, *Chlamydomphila pecorum* and *Coxiella burnetii* from aborted ruminant's clinical samples using multiplex PCR. *BMC Microbiology.* 9: 130, 2009.

36. Berri, M., Souriau, A., Crosby, M., Crochet, D., Lechopier, P., Rodolakis, A.: Relationships between the shedding of *Coxiella burnetii*, clinical signs and serological responses of 34 sheep. *Vet. Rec.* 148: 502-505, 2001.
37. Berri, M., Souriau, A., Crosby, M., Rodolakis, A.: Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of Coxiella abortion in a sheep flock. *Veterinary Microbiology.* 85: 4, 2002.
38. Brennan RE, Russell K, Zhang G.: Both inducible nitric oxide synthase and NADPH oxidase contribute to the control of virulent phase I *Coxiella burnetii* infections. *Infect. Immun.* 72: 6666–6675, 2004.
39. Brennan, R.E., Samuel, J. E.: Evaluation of *Coxiella burnetii* antibiotic susceptibilities by real-time PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 41(5): 1869-74, 2003.
40. Brouqui, P., Marrie, T., Raoul, D.: Coxiella, In: Murray P, Baron EJ, Jorgensen, JH., Landry, ML., Pfaller, MA. (eds): *Manual of Clinical Microbiology.* 9th ed. ASM Press, Washington, DC. 1062-9, 2007.
41. Büke, Ç., Atalay, S., Tunçel, M., Arsu, G., Çiçeklioğlu, M., Türk, M.: İzmir'in Ovacık beldesi'nde Q humması seroprevalansının kesitsel değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi.* 20: 155-158, 2006.
42. Camacho, M. T., I. Outschoorn, E. Kovacova, and A. Tellez. Distribution of immunoglobulin G (IgG) and A (IgA) subclasses following Q fever vaccination with soluble phase I *Coxiella burnetii* extract. *Vaccine.* 18: 1773–1777, 2000.
43. Cantas, H., Muwonge, A., Sareyyupoglu, B., Yardimci, H., Skjerve, E.: Q fever abortions in ruminants and associated on-farm risk factors in northern cyprus. *BMC Veterinary Research.* 7: 13, 2011.
44. Capo, C., Amiryan, N., Ghigo, E.: Circulating cytokine balance and activation markers of leucocytes in Q fever. *Clin. Exp. Immunol.* 115: 120–123, 1999.
45. Capo, C., Moynault, A., Collette, Y., Olive, D., Brown, EJ., Raoult, D., Mege, J-L.: *Coxiella burnetii* Avoids Macrophage Phagocytosis by Interfering with Spatial Distribution of Complement Receptor 3. *The Journal of Immunology.* 170(8): 4217-4225, 2003.

46. Capuano, F., Landolfi, M.C., Monetti, D.M.: Influence of three types of farm management on the seroprevalence of Q fever as assessed by an indirect immunofluorescence assay. *Vet. Rec.* 149: 669–671, 2001.
47. Carrieri, M. P., Tissot-Dupont, H., Rey, D., Brousse, P., Renard, H., Obadia, Y., Raoult, D.: Investigation of a slaughterhouse related outbreak of Q fever in the French Alps. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 21(1): 17-21, 2002.
48. Casadevall, A., Pirofski, LA.: A reappraisal of humoral immunity based on mechanisms of antibody-mediated protection against intracellular pathogens. *Adv. Immunol.* 91: 1-44, 2006.
49. Cerf, O., Condron R.: *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle?. *Epidemiol. Infect.* 134(5): 946-951, 2006.
50. Ceylan, E., Berktaş, M., Keleş, I., Ağaoğlu, Z.: Seroprevalance of Q fever in cattle and sheep in the east of Turkey. *Asian Journal Animal and Veterinary advances.* 4(3): 114-121, 2009.
51. Christie, P.J., Vogel, J.P.: Bacterial type IV secretion: conjugation systems adapted to deliver effector molecules to host cells. *Trends Microbiol.* 8: 354–360, 2000.
52. Clark, R. A.: The human neutrophil respiratory burst oxidase. *J. Infect. Dis.* 161(6): 1140-7, 1990.
53. Coleman, S.A., Fischer, E.R., Howe, D., Mead, DJ., Heinzen, R.A.: Temporal analysis of *Coxiella burnetii* morphological differentiation. *Journal of bacteriology.* 186(21): 7344-7352, 2004.
54. Comer, JA , Paddock, CD., Childs JE.: Urban Zoonoses Caused by *Bartonella*, *Coxiella*, *Ehrlichia*, and *Rickettsia* Species. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2: 91-118, 2001.
55. Cortezzo, D. E., Koziol-Dube, K., Setlow, B., Setlow, P.: Treatment with oxidizing agents damages the inner membrane of spores of *Bacillus subtilis* and sensitizes spores to subsequent stress. *J. Appl. Microbiol.* 97(4): 838-852, 2004.
56. Çekani, M., Papa, A., Kota, M., Velo, E., Berxholi, K.: Report a serological study of *Coxiella burnetii* in domestic animals in Albania. *The Vet. Jour.* 175: 276-278, 2008.

57. Çetinkaya, B., Kalender, H., Ertas, HB., Muz, A., Arslan, N., Ongor, H., Gurcay, M.: Seroprevalence of coxiellosis in cattle, sheep and people in the east of Turkey. *Vet. Rec.* 146: 131-6, 2000.
58. Davis, G.E., Cox, H.R.: A filter-passing infectious agent isolated from ticks. I. Isolation from *Dermacentor andersoni*, reactions in animals, and filtration experiments. *Public Health Rep.* 53: 2259-61, 1938.
59. Derrick, E. H.: "Q" fever, new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation. *Med. J. Aust.* 2: 281–299, 1937.
60. Devine, P.: Diagnosis of Q Fever. *J. Clin. Microbiol.* 36(11): 3446, 1998.
61. Diker, S.: Epidemiyoloji, A.Ü. Veteriner Fakültesi Öğrenci Ders Notu, Ankara. 1994.
62. Domingo, P., Munoz, C., Franquet, T., Gurgui, M., Sancho, F., Vazquez, G.: Acute Q fever in adult patients: report on 63 sporadic cases on an urban area. *Clin. Infect. Dis.* 29: 874–9, 1999
63. Drancourt, M., Raoult, D.: Genus I. *Coxiella*, In: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (eds), *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*. Volume 2, The Gammaproteobacteria 2nd ed. Springer-Verlag. 237-42, 2005.
64. Dumler, SJ.: Q fever. *Curr. Treat. Options. Infect. Dis.* 4: 437–45, 2002.
65. Dupuis, G., Peter, O., Luthy, R., Nicolet, J., Peacock, M., Burgdorfer, W.: Serological diagnosis of Q fever endocarditis. *Eur. Heart. J.* 7(12):1062–6, 1986.
66. Edingloh, M., Merck, CC., Manz, E.: Multiplex PCR for the diagnostic detection of *Coxiella burnetii* in cow's milk. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 112: 5-9, 1999.
67. Enright, JB., Longhurst, WM., Franti, CE., Behymer, DE., Dutson, VJ., Wright, ME.: *Coxiella burnetii* in a wildlife livestock environment. Isolations of rickettsiae from sheep and cattle. *Am. J. Epidemiol.* 94(1):72–8, 1971.
68. Eyigör, M., Kırkan, Ş., Gültekin, B., Yaman, S., Tekbıyık, S., Aydın, N.: Q humması için risk gruplarında *Coxiella burnetii*'ye karşı oluşan antikorların ELISA ve IFA testleriyle saptanması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*. 20(1): 31-36, 2006.
69. Field, PR., Mitchell, JL., Santiago, A., Dickeson, DJ., Chan, SW., Ho, DW., Murphy, A., Cuzzubblo, AJ., Devine, PL.: Comparison of a commercial enzyme-

linked immunosorbent assay with immunofluorescence and complement fixation tests for detection of *Coxiella burnetii* (Q fever) immunoglobulin. M. J. Clin. Microbiol. 38(4): 1645-7, 2000.

**70.** Fiset, P, Woodward, TE.: Q Fever, In: Evans AS, Philip SB (eds), Bacterial Infections of Humans Epidemiology and Control. 2 nd ed. Plenum Pres, New York. 547-60, 1990.

**71.** Fishbein, DB., Raoult, D.: A cluster of *Coxiella burnetii* infections associated with exposure to vaccinated goats and their unpasteurized dairy products. Am. J. Trop. Med. Hyg. 47: 5, 1992.

**72.** Fournier, P-E., Marrie, T. J. and Raoult, D.: Diagnosis of Q fever. Jour. Of Clin. Microbiol. 36(7): 1823-1834, 1998.

**73.** Fretz, R., Schaere, W., Tanner, M., Baumgartner, A.: Screening of various foodstuffs for occurrence of *Coxiella burnetii* in Switzerland. International Journal of Food Microbiology. 116: 414-418, 2007.

**74.** Gardon, J., Heraud, J. M., Laventure, S., Iadam, A., Capot, P., Fouquet, e., Favre, J., Weber, S., Hommel, D., Hulin, A., Couratte, Y., Talarmin, A.: Suburban transmission of Q fever in French Guiana: evidence of a wild reservoir. J. Infect. Dis. 184(3): 278-284, 2001.

**75.** Garner, M. G., Longbottom, H. M., Cannon, R.M, Plant, A.J.: A review of Q fever in Australia 1991-1994. Aust. N. Z. J. Public. Healt. 21(7): 722-30, 1997.

**76.** Gazyağcı, S., Aktas, M.S., Kılıç, S., Babur, C., Çelebi, B., Duru, S. Y.: Seroprevalence of Q fever in dairy cattle in the Konya province, Turkey. Revue. Med. Vet. 162(8-9): 387-390, 2011.

**77.** Ghigo, E., Capo, C., Tung, CH., Raoult, D., Gorvel, JP., Mege, JL.: *Coxiella burnetii* survival in THP-1 monocytes involves the impairment of phagosome maturation: IFN-gamma mediates its restoration and bacterial killing. J. Immuno. 169: 4488-95, 2002.

**78.** Gonder, J. C., Kishimoto, R. A., Kastello, M. D., Pedersen, C. E., Jr., Larson, E. W.: Cynomolgus monkey model for experimental Q fever infection. J. Inf. Dis. 139: 191-196, 1979.



- 79.** Gökçen, S.: Ege bölgesi sığırları arasında Q fever vak'alarının yaygınlık derecesinin mikroaglutinasyon tekniği ile araştırılması. *Pendik Vet. Mikrob. Derg.* 4: 79-85, 1989.
- 80.** Greenslade. E., Beasley. R., Jennings, L., Woodward, A., Weinstein, P.: Has *Coxiella burnetii* (Q fever) been introduced into New Zealand?. *Emerg. Infect Dis.* 9: 138- 140,2003.
- 81.** Guatteo, R., Beaudeau, F., Berri, M., Rodolakis, A., Joly, A., Seegers, H.: Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. *Vet. Res.* 37(6): 827-833, 2006.
- 82.** Guatteo, R., Beaudeau, F., Joly, A., Seegers, H.: Performances of an ELISA applied to serum and milk for the detection of antibodies to *Coxiella burnetii* in dairy cattle. *Revue Med. Vet.* 158(5): 250-252, 2007.
- 83.** Guatteo, R., Joly, A., Beaudeau, F.: Shedding and serological patterns of dairy cows following abortions associated with *Coxiella burnetii* DNA detection. *Vet. Microbiol.* 155: 430-433, 2012.
- 84.** Hackstadt, T.: Antigenic variation in the phase I lipopolysaccharide of *C.burnetii* isolates. *Infect. Immun.* 52: 337-40, 1986.
- 85.** Hackstadt, T.: Steric hindrance of antibody binding to surface proteins of *Coxiella burnetii* by phase I lipopolysaccharide, *Infect. Immun.* 56 802–807, 1988.
- 86.** Hackstadt, T., Peacock, MG., Hitchcock, PJ., Cole, RL.: Lipopolysaccharide variation in *Coxiella burnetii*: Intrastrain heterogeneity in structure and antigenicity. *Infect. Immun.* 48(2): 359–365, 1985.
- 87.** Hackstadt, T., Williams, JC.: Biochemical stratagem for obligate parasitism of eukaryotic cells by *Coxiella burnetii*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78(5): 3240–3244, 1981.
- 88.** Hackstadt, T., Williams, J. C.: pH dependence of the *Coxiella burnetii* glutamate transport system. *J. Bacteriol.* 154(2): 598, 1983.
- 89.** Hartzell, JD., Wood-Morris, RN., Martinez, L.J, Trotta, RF.: Q fever: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Mayo. Clin. Proc.* 83: 574-579, 2008
- 90.** Hatchette, T., Campbell, N., Whitney, H., Hudson, R., Marrie, T.: Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in selected populations of domestic ruminants in newfoundland. *Can. Vet. J.* 43: 363-364, 2002.

91. Heinzen, R. A., Hackstadt, T., Samuel, J.E.: Developmental biology of *Coxiella burnetii*. Trends. Microbiol. 4: 14–54, 1999.
92. Hellenbrand, W., Breuer, T., Petersen, L.: Changing epidemiology of Q fever in Germany, 1947-1999. Emerg. Infect. Dis. 7(5): 789-96, 2001.
93. Hendrix, LR., Samuel, JE., Mallavia, LP.: Differentiation of *C.burnetii* isolates by analysis of restrictionendonuclease-digested DNA separated by SDS PAGE. J. Gen. Microbiol. 137: 269-76,1991.
94. Honstettre, A., Ghigo, E., Moynault, A., Capo, C., Toman, R., Akira, S., Takeuchi, O., Lepidi, H., Raoult, D., Mege, JL.: Lipopolysaccharide from *Coxiella burnetii* is Involved in Bacterial Phagocytosis, Filamentous Actin Reorganization, and Inflammatory Responses through Toll-Like Receptor 4. J. Immunol. 172:9, 2004.
95. Hoover, T.A., Culp, D.W., Vodkin, M.H., Williams, J.C., Thompson, H.A.: Chromosomal DNA deletions explain phenotypic characteristics of two antigenic variants, phase II and RSA 514 (crazy), of the *Coxiella burnetii* nine mile strain. Infect. Immun. 70: 6726–33, 2002.
96. Hoover, T.A., Vodkin, M. H., Williams, JC.: A *Coxiella burnetii* repeated DNA element resembling a bacterial insertion sequence. J. Bacteriol. 174(17): 5540-8, 1992.
97. Howe D., Barrows, L. F., Lindstrom, N. M., Heinzen, R. A.: Nitric Oxide Inhibits *Coxiella burnetii* Replication and Parasitophorous Vacuole Maturation. Infection and Immunity, 70(9): 5140-5147, 2002.
98. Howe, D., Melnicakova, J., Barak, I., Heinzen, R. A.: Maturation of the *Coxiella burnetii* parasitophorous vacuole requires bacterial protein synthesis but not replication. Cell. Microbiol. 5: 469–480, 2003.
99. Ibrahim, I.N., Okabayashi ,T., Ristiyanto,Lestari E.W., Yanase, T., Muramatsu, Y., Ueno, H., Morita, C.: Serosurvey of wild rodents for Rickettsioses (spotted fever, murine typhus and Q fever) in Java Island, Indonesia, Eur. J. Epidemiol. 15: 89–93, 1999.
100. Izzo, A. A., Marmion, B. P., Hackstadt, T.: Analysis of the cells involved in the lymphoproliferative response to *Coxiella burnetii* antigens. Clin. Exp. Immunol. 85: 98–108, 1991.

- 101.** Kalender, H.: Elazığ ve komsu illerdeki koyunlarda *Coxiella burnetii* enfeksiyonunun yaygınlığı. Turk J. Vet. Anim. Sci. 25: 51-55, 2001.
- 102.** Karaca, M., Akkan, H. A., Cetin, Y., Keles, I., Tutuncu, M., Ozkan, C., Tasal I.: studies on the determination of seroprevalance of Q fever in sheep in the region of Van. Journal of Animal and Veterinary advances, 8(10): 1925-1928, 2009.
- 103.** Kargar, M., Rashidi, A., Doosti, A., Ghorbani-Dalini, S., Najafi, A.: Prevalence of *Coxiella burnetii* in bovine bulk milk samples in southern Iran. Comp. Clin. Pathol. 22(3): 331-334, 2013.
- 104.** Kaufmann, S.H.E.: Immunity to intracellular microbial pathogens, Immunol. Today, 16: 338–342, 1995.
- 105.** Kennerman, E., Rousset, E., Gölcü, E., Dufour, P.: Seroprevalence of Q fever (coxiellosis) in sheep from the southern Marmara Region, Turkey. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 33: 37-45, 2010.
- 106.** Kermode, M. K., Yong, K., Hurley, S., Marmion, B.: An economic evaluation of increased uptake in Q fever vaccination among meat and agricultural industry workers following implementation of the National Q Fever Management Program. Aust. N. Z. J. Public. Health. 27(4): 390-8, 2003.
- 107.** Kersh, GJ., Wolfe, TM., Fitzpatrick, KA., Candee, AJ., Oliver, LD., Patterson, NE., Self, JS., Priestley, RA., Loftis, AD., Massung, RF.: Presence of *Coxiella burnetii* DNA in the Environment of the United States, 2006 to 2008. Appl. Environ. Microbiol. 76(13):4469-4475, 2010.
- 108.** Khalili, M., Sahae, E., Aflatoonian M. R., Shahabi-Nejad, N.: Herd prevalence of *Coxiella burnetii* (Q fever) antibodies in dairycattle farms based on bulk tank milk analysis. Asian Pacific journal of Tropical Medicine, 58-60, 2011.
- 109.** Khalili, M., Sakhaee, E.: An update on a serologic survey of Q fever in domestic animal in Iran. Am. J. Trop. Med. Hyg. 80(6): 1031-1032, 2009.
- 110.** Khavkin, T., Sukhinin, V., Amosenkova, N.: Host-parasite interaction and development of intraforms in chick embryos infected with *Coxiella burnetii* via the yolk sac. Infect. Immun. 32: 1281–91, 1981.
- 111.** Kılıç, S., Aslantaş, Ö., Çelebi, B., Pınar, D., Babür, C.: Hatay ilinde risk gruplarında Q ateşi, Bruselloz ve Toksoplazmoz seroprevalansının araştırılması. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Derg. 64(1): 16-21, 2007.

- 112.** Kılıç, S., Çelebi, B.: 1. Bölüm: Genel Bilgiler. Türk hij. Den. Biyol. Derg. 65 (3) ek 3, 2008.
- 113.** Kılıç, S., Çelebi, B.: 2. Bölüm: Türkiye’de *C. burnetii*’nin epidemiyolojisi. Türk Hij. Drn. Biyol. Derg. 65(3) ek 3, 2008.
- 114.** Kılıç, S., Komiya, T., Çelebi, B. et al.: Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in stray cats in Central Anatolia Region. T. J. Vet. Anim. Sci. 32(1): 483-6, 2008.
- 115.** Kılıç S, Pasa S, Babur C, Ozlem MB. Investigation of *Coxiella burnetii* Antibodies in Sheep in Aydın Region, Turkey. Revue Md Vet. 6: 336-40, 2005.
- 116.** Kırkan, Ş., Kaya, O., Tekbıyık, S., Parın, U.: Detection of *Coxiella burnetii* in cattle by PCR: Turk. J. Vet. Anim. Sci. 32(3): 215-220, 2008.
- 117.** Kim, SG., Kim, EH., Lafferty, CJ., Dubovi, E.: *Coxiella burnetii* in Bulk Tank Milk Samples, United States Emerging Infectious Diseases. 11: 619-621, 2005.
- 118.** Klee, S. R., Tyczka, J., Ellerbrok, H., Franz, T., Linke, S., Baljer, G., Appel, B.: Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*. BMC Microbiol. 6: 2, 2006.
- 119.** Komiya, T., Sadamasu, K., Kang, MI., Tsuboshima, S., Fukushi, H., Hirai, K.: Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infections among cats in different living environments. J. Vet. Med Sci. 65(9): 1047-8, 2003.
- 120.** Kovacova, E., Kazar, J.: Rickettsial diseases and their serological diagnosis. Clin. Lab. 46(5-6): 239-45, 2000.
- 121.** Kovacova, E., Kazar, J.: Q fever-still a query and underestimated infectious disease. Acta. Virol. 4: 193-210, 2002.
- 122.** Kruszezwska, D., Lembowicz, K., Wierzbanowska, ST.: Possible Sexual Transmission of Q Fever Among Humans. Clinical Infectious Diseases. 22(6): 1087-1088, 1996.
- 123.** Kruszezwska, D., Tylewska-wierzbanowska, S.: Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen. Res. Vet. Sci. 62(3): 299-300, 1997.
- 124.** Labrenz, M., Hirsch, P.: The genus *Coxiella*. In: Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology, Garrity G., Boone DR, Castenholz RW (eds), Springer-Verlag, New York, USA, 2003.
- 125.** Lang, GH.: Coxiellosis (Q fever) in animals. CRC press, Boca Raton. 23-48, 1990.

- 126.** Leloğlu, N.: Erzurum, Kars ve Ağrı illerinde Q humması üzerine çalışmalar. Atatürk Üni. Ziraat Fak. Derg. 8: 113-31, 1977.
- 127.** Leung-Shea, C., Danaher, PJ.: Q fever in members of the United States armed forces returning from Iraq. Clin. Infect. Dis. 43: 77-82, 2006.
- 128.** Little, J. S., Kishimoto, R. A., Canonico, P.: In vitro studies of interaction of *Rickettsia* and macrophages effect of ultraviolet liht on *Coxiella burnetii* inactivation and macrophage enzymes. Infection and Immunity. 27(3): 837-841, 1980.
- 129.** Lührmann A., Roy, C. R.: *Coxiella burnetii* Inhibits Activation of Host Cell Apoptosis through a Mechanism That Involves Preventing Cytochrome *c* Release from Mitochondria. Infect. and Immunity. 75(11): 5282-5289, 2007.
- 130.** Madariaga, M.G., Rezai, K., Trenholme, G.M., Weinstein, R.A.: Q fever: a biological weapon in your backyard. Lancet Infect. Dis. 3: 709–21, 2003.
- 131.** Mahapatra, S.: Analysis of *Coxiella burnetii* mediated modulation of host cells during infection. Master of Science in Microbiology Orissa University of Agriculture and Technology Bhubaneswar, India. 2003
- 132.** Marmion, BP.: Development of Q-fever vaccines, 1937 to 1967. Med. J. Aust. 2: 1074–78, 1967.
- 133.** Marmion, B. P., Ormsbee, RA., Kyrkou, M., Wright, J., Worswick, DA., Izzo A. A., Esterman, A., Feery, B., Shapiro, RA.: Vaccine prophylaxis of abattoir-associated Q fever: eight years' experience in Australian abattoirs. Epidemiol. and infect. 104(2): 275-287, 1990.
- 134.** Marmion, B.P., Storm, P. A., Ayres, J. G., Semendric, L., Mathews, L., Winslow, W., Turra, M., and Harris, R. J.: Long-term persistence of *Coxiella burnetii* after acute primary Q fever. QJM, 98: 7-20, 2005.
- 135.** Marrie, TJ.: Q fever, clinical signs, symptoms, and pathophysiology. In: Biology of Rickettsial Diseases. Edited by Walker DH, vol. 2. Boca Raton: CRC Press. 16, 1988.
- 136.** Marrie TJ.: Acute Q fever. Ere. Press. Inc., Boca Raton, Fla. 125-160, 1990.
- 137.** Marrie, TJ.: *Coxiella burnetii* (Q fever). In: Mandell, GL., Douglas, RG Jr., Bennett, JE., Dolin, R., eds. Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone. 2043–50, 2000.

- 138.** Marrie, T.J., Fraser, J.: Prevalence of antibodies to among veterinarians and slaughterhouse workers in Nova Scotia. *Coxiella burnetii*. Can. Vet. J. 26: 181-4, 1985.
- 139.** Masala, G., Porcu, R., Sanna, G., Chessa, G., Cillara, G., Chisu, V., Tola, S.: Occurrence, distribution, and role in abortion of *Coxiella burnetii* in sheep and goats in Sardinia, Italy, Vet. Microbiol. 99 301–305, 2004.
- 140.** Mason, P.R., Kelly, P.J.: Rickettsia and Rickettsia-like Organisms. In: Cohen J, Powderly W (eds), Infectious Diseases, 2nd ed. Edinburg, Elsevier Limited. 2317-2330, 2004.
- 141.** Maurin, M., Benoiel, A. M., Bongrand, P., Raoult, D.: Phagolysosomes of *Coxiella burnetii*-infected cell lines maintain an acidic pH during persistent infection. Infect. and Immunity. 60(12): 5013-5016, 1992.
- 142.** Maurin, M., Raoult, D.: Q Fever. Clin. Microbiol. Rev. 12(4): 518-553, 1999.
- 143.** McCaughey, C., McKenna, J., McKenna, C.: Human Seroprevalence to *Coxiella burnetii* (Q fever) in Northern Ireland. Zoonoses Public. Health. 55: 189-194, 2008.
- 144.** McCaughey, C., Murray, L. J., McKenna, J. P., Menzies, F. D., McCullough, S. J., Neill, H. J. O., Wyatt, D. E., Cardwell, C. R., Coyle, P. V.: *Coxiella burnetii* (Q fever) seroprevalence in cattle. Epidemiol. Infect. 138: 21-27, 2010.
- 145.** McCaul, T.F., Banerjee-Bhatnagar, N., Williams, J.C.: Antigenic differences between *Coxiella burnetii* cells revealed by postembedding immunoelectron microscopy and immunoblotting. Infect Immun. 59: 3243–3253, 1991.
- 146.** McCaul, T.F., Williams J. C.: Developmental cycle of *Coxiella burnetii*: structure and morphogenesis of vegetative and sporogenic differentiations. J. Bacteriol. 147(3): 1063-1076, 1981.
- 147.** McQuiston, J.H., Childs, J. E.: Q fever in humans and animals in the United States. Vector Borne Zoonotic Dis. 2: 179–91, 2002.
- 148.** McQuiston, J.H., Holman, R.C., McCullough, C.L., Childs, J.E., Swerdlow, D.L., Thompson, H.A.: National surveillance and the epidemiology of human Q fever in the United States, 1978 -2004. Am. J. Trop. Med. Hyg. 75: 36- 40, 2006.
- 149.** Meconi, S., Capo, C., Remacle-Bonnet, M., Pommier, G., Raoult, D., Mege JL.: Activation of protein tyrosine kinases by *Coxiella burnetii*: role in actin

cytoskeleton reorganization and bacterial phagocytosis. *Infect. Immun.* 69: 2520-2526, 2001.

**150.** Meconi, S., Jacomo, V., Boquet, P.: *Coxiella burnetii* induces reorganization of the actin cytoskeleton in human monocytes. *Infect Immun.* 66: 5527–5533, 1998.

**151.** Mege, J. L., Maurin, M., Capo, C., Raoult, D.: *Coxiella burnetii*: the ‘query’ fever bacterium, A model of immune subversion by a strictly intracellular microorganism. *Fems Microbiol. Reviews.* 19: 209-217, 1997.

**152.** Mertens, K., Lantsheer, L., Samuel, JE.: A minimal set of DNA repair genes is sufficient for survival of *Coxiella burnetii* under oxidative stress. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1063: 73-5, 2005.

**153.** Milazzo, A., Hall, R., Storm, PA., Harris, RJ., Winslow, W., Marmion, BP.: Sexually Transmitted Q Fever. *Clinical Infectious Diseases.* 33(3): 399-402, 2001.

**154.** Miller, J.D., Shaw, E.I., Thompson, H.A.: *Coxiella burnetii*, Q Fever, and Bioterrorism. In: Anderson B, Friedman H, Bendinelli M, eds. *Microorganisms and Bioterrorism.* Springer Science-Business Media, Inc. 181-224, 2006.

**155.** Moos, A., Hackstadt, T.: Comparative virulence of intra- and intestrain lipopolysaccharide variants of *Coxiella burnetii* in the guinea pig model. *Infect. Immun.* 55(5): 1144-50, 1987.

**156.** Muskens, J., Maanen, C. van, Mars, M. H.: Dairy cows with metritis: *Coxiella burnetii* test results in uterine, blood and bulk milk samples. *Vet. Microbiol.* 147: 186-189, 2011.

**157.** Noda, H., Munderloh, U.G., Kurtti TJ.: Endosymbionts of ticks and their relationship to *Wolbachia* spp. And tick-borne pathogens of humans and animals. *Appl. Environ. Microbiol.* 63 (10): 3926-32, 1997.

**158.** Norlander, L.: Q fever epidemiology and pathogenesis. *Microbes and Infection.* 2: 417-424, 2000.

**159.** Omsland, A., Cockrell, DC., Howe D, Fischer, ER., Virtaneva, K., Sturdevant, D., Porcella, SF., Heinzen, RA.: Host cell free growth of the Q fever bacterium *Coxiella burnetii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 106:4, 2009.

**160.** Ormsbee, R.A.E.: The growth of *Coxiella burnetii* in embryonated eggs. *Journal of Bacteriology.* 63, 73–86, 1952.

- 161.** Ormsbee, R. A., Pickens, E. G.: A comparison by means of the complement-fixation test of the relative potencies of chloramphenicol, aureomycin, and terramycin in experimental Q fever infections in embryonated eggs. *J. Immunol.* 67: 437-448, 1951.
- 162.** Ormsbee, R., Peacock, M., Gerloff, R., Tallent, G., Wikw, D.: Limits of Rickettsial infectivity. *Infect. Immun.* 19(1):239-245, 1978.
- 163.** Oyston, P. C. F., Davies, C.: Q fever: the neglected biothreat agent. *Journal of Medical Microbiology.* 60: 9-29, 2011.
- 164.** Öngör, H., Cetinkaya, B., Karahan, M., Acik, MN., Bulut, H., Muz, A.: Detection of *Coxiella burnetii* by Immunomagnetic Separation-PCR in the Milk of Sheep in Turkey. *Vet. Rec.* 18: 570-2, 2004.
- 165.** Özbey, G., Kalender, H., Muz, A.: Q humması'nın epidemiyolojisi ve teşhisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences).* 18(2):100-110, 2009.
- 166.** Özgür, NY., Hasöksüz, M., Yılmaz, H., İkiz, S., Ilgaz, A.: Risk grubundaki insanlarda *Coxiella burnetii* antikorlarının araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi,* 26: 109-113, 1996.
- 167.** Özgür, NY., Hasöksüz, M., Yılmaz, H., İkiz, S., Ilgaz, A.: İnfertilite sorunu olan dişi sığırlarda ve insanlarda *Coxiella burnetii* antikorlarının ELISA testi ile belirlenmesi ve sero-prevalansının saptanması. *Pendik Vet. Mikrob. Derg.* 2: 207-18, 1997.
- 168.** Öztürk, D., Kale, M., Pehlivanoğlu, F., Hasırcıoğlu, S., Turutoğlu, H. Evaluation for some bacterial and viral abortions of dairy cattle farms in Burdur district of Turkey. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 18(2): 255-258, 2012.
- 169.** Pape, M., Bouzalas, E. G., Koptopoulos, G. S., Mandraveli, K., Arvanitidou Vagiona, M., Nikolaidis P., Alexiou-Daniel S.: The serological prevalence of *Coxiella burnetii* antibodies in sheep and goats in northern greece. *Clin. Microbiol. And Infect.,* 15(2): 146-147, 2009.
- 170.** Parın, U.: Sığır, koyun ve keçi sürülerinde *Coxiella burnetii* yayılımının saptanması. *Adnan Menderes Üniv. Sağ. Bil. Enst. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mik-D-2011-002,* 2011.



- 171.** Parisi, A., Fraccalvieri, R., Miccolupo, A., Padalino, I., Montagna, C., Capuano, F.: Diagnosis of *Coxiella burnetii*-related abortion in Italian domestic ruminants using single-tube nested PCR. *Vet. Microbiol.* 118: 101–6, 2006.
- 172.** Paul, S., Toft, N., Agerholm, J. S., Christoffersen, A-B., Agger, J. F.: Bayesian estimation of sensitivity and specificity of *Coxiella burnetii* antibody ELISA tests in bovine blood and milk. *Prev. Vet. Med.* 109: 258- 263, 2013.
- 173.** Payzın, S.: Epidemiological Investigations on Q fever in Turkey. *Bull World Hlth. Org.* 9: 553-8, 1953.
- 174.** Peter, O., Dupuis, G., Burgdorfer, W.: Evaluation of the complement fixation and indirect immunofluorescence tests in the early diagnosis of primary Q fever. *Eur J Clin Microbiol. Infect. Dis.* 4: 394-396, 1985.
- 175.** Peter, O., Dupuis, G., Peacock, MG., Burgdorfer, W.: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and complement fixation and indirect fluorescent-antibody tests for detection of *Coxiella burnetii* antibody. *J. Clin. Microbiol.* 25(6): 1063-7, 1987.
- 176.** PHAC.: Material safety data sheet: infectious agent; *Coxiella burnetii*. C. Office of Laboratory safety, Health Canada. 2001.
- 177.** Philip, C.B.: Comments of the name of the Q fever organism. *Public Health Rep.* 63: 58, 1948.
- 178.** Pope, J. H., Scott, W., Dwyer, R.: *Coxiella burnetii* in kangaroos and kangaroo tick in western Queensland. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 38: 17-27, 1960.
- 179.** Porten, K., Rissland, J., Tigges, A., Broll, S., Hopp, W., Lunemann, M., van Treeck, U., Kimmig, P., Brockmann, SO., Wagner-Wiening, C.: A superspreading ewe infects hundreds with Q fever at a farmers' market in Germany. *BMC Infect. Dis.* 6: 147, 2006.
- 180.** Ransom, S. E., Uebner, R. J.: Studies on the resistance of *Coxiella burnetii* to physical and chemical agents. *Am. J. Hyg.* 53(1): 110-119, 1951.
- 181.** Raoult, D.: Host Factors in the Severity of Q Fever. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 5, 1990.
- 182.** Raoult, D.: Treatment of Q fever. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37(9): 1733-6, 1993.

- 183.** Raoult, D., Dupont, HT., Foucault, C., Gouvernet, J., Fournier, FE., Bernit, E.: Q Fever 1985-1998; Clinical and Epidemiologic Features of 1,383 Infections. *Medicine*, 2: 109-23, 2000.
- 184.** Raoult, D., Fenollar, F., Stein, A.: Q fever during pregnancy. Diagnosis, treatment, and follow-up. *Arch. Intern. Med.* 162: 701-4, 2002.
- 185.** Raoult, D., Marrie, T., Mege, J.: Natural history and pathophysiology of Q fever. *Lancet Infect. Dis.* 4: 219-26, 2005.
- 186.** Raoult D., Mege J.L., Marrie T.: Q Fever: Queries remaining after decades of reseach. In: Scheld WM, Craig WA, Hughes JM (eds), *Emercing Infections* 5. 1st ed. AS Press, Washington. DC. 29-56, 2001.
- 187.** Reeves, W.K., Lotfis, A.D.: Molecular and biological characterization of a novel coxiella-like agent from *Carios capensis*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1063: 343-345, 2005.
- 188.** Reimer, L.G.: Q Fever. *Clin. Microbiol. Rev.* 6(3): 193-198, 1993.
- 189.** Relman, DA., Swartz, MN.: Rickettsial diseases and Q fever. In: Dale DC (ed), *Infectious Diseases: The Clinician"s Guide to Diagnosis, Treatment, and Prevention*. New York: Web MD Inc. 209, 2004.
- 190.** Rodolakis, A.: Q fever, state of art: Epidemiology, diagnosis and prophylaxis. *Small Ruminant Research.* 62(1-2): 121-124, 2006.
- 191.** Rodolakis, A., Berri, M., Hechard, C., Caudron, C., Souriau, A., Bodier, CC, Blanchard, B., Camuset, P., Devillechaise, P., Natorp, JC., Vadet, JP., Arricau Bouvery, N.: Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine and ovine herds. *Journal of Dairy Science.* 90(12): 5352-5360, 2007.
- 192.** Roest, H. I. J., Ruuls, R. C., Tilburg, J. J. H. C., Nabuurs-Franssen, M. H.: Molecular epidemiology of *Coxiella burnetii* from ruminants in Q fever outbreak, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases.* 17(4): 668-675, 2011.
- 193.** Rooij, M. T. M., Schimmer, B., Versteeg, B., Schneeberger, Berends, P., B. R., Heederik D., Hoek, W.v.d., Wouters, I. M.: Risk Factors of *Coxiella burnetii* (Q Fever) Seropositivity in Veterinary Medicine Students. *Plos One.* 7(2): e32108, 2012.

- 194.** Roux, V., Bergoin, M., Lamaze, N., Raoult, D.: Reassessment of the taxonomic position of *Rickettsiella grylli*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 1255–1257, 1997.
- 195.** Samuel, J.E., Frazier, M.E., Mallavia, L.P.: Correlation of plasmid type and disease caused by *Coxiella burnetii*. *Infect. Immun.* 49(3): 775-779, 1985.
- 196.** Sanchez, J., Sauriau, A., Buendia, A.J., Arricau-Bouvery, N., Martinez, C.M., Salinas, Rodolakis, A., Navarro, J.A.: Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats: A histopathological and immunohistochemical study. *J. Comp. Pathol.* 135(2): 108-115, 2006.
- 197.** Schelling, E., Diguimbaye, C., Daoud, S., Nicolet, J., Boerlin, P., Tanner, M., Zinsstag, J., Brucellosis and Q-fever seroprevalences of nomadic pastoralists and their livestock in Chad. *Prev. Vet. Med.* 61: 279–293, 2003.
- 198.** Schramek, S., Radziejewska-Lebrecht, J., Mayer, H.: 3-C-branched aldoses in lipopolysaccharide of phase I *Coxiella burnetii* and their role as immunodominant factors. *Eur. J. Biochem.* 148(3): 455-61, 1985.
- 199.** Scott, G. H., Williams, J. C.: Susceptibility of *Coxiella burnetii* to chemical disinfectants. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 590: 291-296, 1990.
- 200.** Segal, G., Feldman, M., Zusman, T.: The Icm/Dot type-IV secretion systems of *Legionella pneumophila* and *Coxiella burnetii*. *FEMS Microbiology Reviews.* 29: 65-81, 2005.
- 201.** Sertpolat, M., Karakartal, G.: İzmir ve çevresindeki sağlıklı kan vericilerinde *Coxiella burnetii* seroprevalansının indirekt immünfloresan antikor testi ile araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi.* 19(4): 419-423, 2005.
- 202.** Seshadri, R., Paulsen, I.T., Eisen, J.A., Read, T.D., Nelson, K.E., Ward, N.L., Tettelin, H., Daviidesen, T.M., Beanan, M.J., Deboy, R.T., Daugherty, S.C., Brincaç, S.C., Madupu, R., Dodson, R.J., Khouri, H.M., Lee, K.H., Carty, H.A., Scanlan, D., Heinzen, R.A., Thompson, H.A.; Samuel, J.E., Fraser, C.M., Heidelberg, J.F.: Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 9: 5455–60. 2003.
- 203.** Seshadri, R., Samuel, J. E.: Characterization of a stress-induced alternate sigma factor, RpoS, of *Coxiella burnetii* and its expression during the development cycle. *Infect. Immun.* 69(8): 4874-4883, 2001.

- 204.** Seyitoğlu, F., Özkurt, Z., Okumus, B.: The seroprevalance of Coxiellosis in Farmers and cattle in Erzurum District in Turkey. *Turk .J. Vet. Anim. Sci.* 30: 71-75, 2006.
- 205.** Shannon, J. G., Heinzen, R. A.: Adaptive immunity to the obligate intracellular pathogen *Coxiella burnetii*. *Immunol. Res.* 43(1-3): 138-148, 2009.
- 206.** Smith, DL., Ayres, JG., Blair, I., Burge, PS., Carpenter, MJ., Caul, EO., Coupland, B., Desselberger, U., Evans, M., Farrell, ID.: A large Q fever outbreak in the West Midlands: Clinical aspects. *Resp. Med.* 87: 509–16, 1993.
- 207.** Soliman, A. K., Botros, B.A., Watts, DM.: Evaluation of a competitive enzyme immunoassay for detection of *Coxiella burnetii* antibody in animal sera. *J. Clin. Microbiol.* 30(6): 1595-7, 1992.
- 208.** Stein. A., Raoult, D.: Lack of pathotype specific gene in human *Coxiella burnetii* isolates. *Microb. Pathog.* 15: 177–85, 1993.
- 209.** Stein, A., Raoult, D.: Q fever during pregnancy: A public health problem in southern France. *Clin. Infect. Dis.* 27: 592–596, 1998.
- 210.** Thompson, H.A., Dennis, D.T., Dasch, G.A.: Q fever. In: Goodman (eds), *Tick-Borne Diseases of Humans*. 1 st ed. ASM Press., Washington, DC. 328-43, 2005.
- 211.** Tigertt, WD., Benenson, S., Bochenour, W.: Airborne Q fever. *Bacteriol. Rev.* 25: 285-93, 1961.
- 212.** To, H., Htwe, K.K., Kako, N., Kim, H.J., Yamaguchi, T., Fukushi, H., Hirai, K.: Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in dairy cattle with reproductive disorders, *J. Vet. Med. Sci.* 60: 859–861, 1998.
- 213.** To, H., Htwe, KK., Yamasaki, N.: Isolation of *Coxiella burnetii* from dairy cattle and ticks, and some characteristics of the isolates in Japan. *Microbiol. Immunol.* 39: 663–671, 1995.
- 214.** Tujulin, E., Lilliehöök, B., Macellaro, A., Sjöstedt, A., Norlander, L.: Early cytokine induction in mouse P388D1 macrophages infected by *Coxiella burnetii*, *Vet. Immunol. Immunopathol.* 68: 159–168, 1999.
- 215.** Turco, J., Thompson, H.A., Winkler, H.H.: Interferon-c inhibits growth of *Coxiella burnetii* in mouse fibroblasts, *Infect. Immun.* 45: 781–783, 1984.

- 216.** Turtin O.: Q-hummasının epidemiologie'si ve hayvanlardaki Q humması hakkında toplu bilgi ile bu konuda yapılmış bazı şahsi araştırmalar. Kader Basımevi. İstanbul. 1955.
- 217.** Tyczka, J., Eberling, S., Baljer, G.: Immunization experiments with recombinant *Coxiella burnetii* proteins in a murine infection model. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1063: 143-8, 2005.
- 218.** Uhaa, I. J., Fishbein, DB., Olson, JG., Rives, CC., Waag, DM., Williams, JC.: Evaluation of specificity of indirect enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of human Q fever. J. Clin. Microbiol. 32: 1560-1565, 1994.
- 219.** Vaidya, V. M., Malik, S. V. S., Bhilegaonkar, K. N., Rathore, R. S., Kaur, S., Barbuddhe, S. B.: Prevalence of Q fever in domestic animals with reproductive disorders. Comparative Immunology, Microbiology an Infectious Diseases, 33: 307-321, 2010.
- 220.** Vaidya, VM., Malik, SV., Kaur, S., Kumar, S., Barbuddhe, SB.: Comparison of PCR, immunofluorescence assay, and pathogen isolation for diagnosis of Q fever in humans with spontaneous abortions. J Clin Microbiol. 46(6):2038-44, 2008.
- 221.** Varga, V.: An explosive outbreak of Q-fever in Jedl'ove Kostol'any, Slovakia. Cent Eu. J. Public. Health. 4: 180-182, 1997.
- 222.** Vodkin, M. H., Williams, J. C.: Overlapping deletion in two spontaneous phase variants of *Coxiella burnetii*. J. Gen. Microbiol. 132(9):2587-94, 1986.
- 223.** Vogel, J.P.: Turning a tiger into a house cat: using *Legionella pneumophila* to study *Coxiella burnetii*. Trends Microbiol. 12: 103-105, 2004.
- 224.** Voth, D. E., Heinzen, R. A.: Lounging in a lysosome: The intracellular lifestyle of *Coxiella burnetii*. Cellular Microbiol. 9(4): 829-840, 2007.
- 225.** Voth, D. E., Heinzen, R. A.: *Coxiella* type IV secretion and cellular microbiology. Current Opinion in Microbiology. 12: 74-80, 2009.
- 226.** Waag, D. M.: *Coxiella burnetii*: Host and bacterial responses to infection. Vaccine. 25: 7288-95, 2007.
- 227.** Waag, D. M., England, M. J., Pitt, ML.: Comparative efficacy of a *Coxiella burnetii* chloroform:methanol residue (CMR) vaccine and a licensed cellular vaccine (Q-vax) in rodents challenged by aerosol. Vaccine. 15(16): 1779-83, 1997.

- 228.** Welsh, HH., Lennette, EH., Abinanti, FR., Winn, JF.: Q fever in California. IV. Occurrence of *Coxiella burnetii* in the placenta of naturally infected sheep. Public. Health Rep. 66(45):1473-1477, 1951.
- 229.** Williams, J. C., Damrow, T. A., Waag, D. M., Amano, K.-I. Characterization of a phase I *Coxiella burnetii* chloroform methanol residue vaccine that induces active immunity against Q fever in C57BL/10 ScN mice. Infect. and immun. 51: 851, 1986.
- 230.** Willems, H., Jager, C., Baljer, G.: Physical and genetic map of the obligate intracellular bacterium *Coxiella burnetii*. Journal of Bacteriology. 3816-3822, 1998.
- 231.** Willems, H., Thiele, D., Frolich-Ritter, R., Krauss, H.: Detection of *Coxiella burnetii* in cow's milk using the polymerase chain reaction (PCR). Zentralbl. Veterinary. Med. B. 41: 580-587, 1994.
- 232.** Williams, J. C., Peacock, M. G., McCaul, T.F.: Immunological and biological characterization of *Coxiella burnetii*, phases I and II, separated from host components. Infect. Immun. 32(2):840-51, 1981.
- 233.** Woldehiwet, Z.: Q fever (coxiellosis): Epidemiology and pathogenesis. Res. Vet. Sci. 2: 93 -100, 2004.
- 234.** Yanase, T., Muramatsu, Y., Ueno, H., Morita, C.: Seasonal variations in the presence of antibodies against *Coxiella burnetii* in dairy cattle in Hokkaido, Japan. Microbiol. Immunol. 41(2): 73-5, 1997.
- 235.** Yurtalan, S.: Marmara bölgesindeki sığırlarda *Coxiella burnetii* (Q fever) enfeksiyonunun Seroprevalansının belirlenmesi. Pendik Vet. Mikrobiol. Derg. 1-2: 41-50, 2003.
- 236.** Zamboni, DS., Campos, MA., Torrecilhas, AC., Kiss, K., Samuel, JE., Golenbock, DT., Lauw, FN., Roy, CR., Almeida, IC., Gazzinelli, RT.: Stimulation of toll-like receptor 2 by *Coxiella burnetii* is required for macrophage production of pro-inflammatory cytokines and resistance to infection. J. Bio. Chem. 279(52): 54405-15, 2004.
- 237.** Zhang, G.Q., Samuel, J.E.: Identification and cloning potentially protective antigens of *Coxiella burnetii* using sera from mice experimentally infected with Nine Mile phase I. Ann. NY Acad. Sci. 990: 510-520, 2003.

- 238.** Zhang, G.Q., To, H., Yamaguchi, T., Fukushi, H., and Hirai, K.: Differentiation of *Coxiella burnetii* by sequence analysis of the gene (com1) encoding a 27-kDa outer membrane protein. *Microbiol. Immunol.* 41: 871-7, 1997.
- 239.** Zhang, J., Wen, B., Chen, M., Zhang, J., Niu, D.: Balb/c mouse model and real-time quantitative polymerase chain reaction for evaluation of the immunoprotectivity against Q fever. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1063:171-5, 2005.
- 240.** Zusman, T., Yerushalmi, G., Segal G.: Pathogenesis systems of *Coxiella burnetii* and *Legionella pneumophila*. *Infect. Immun.* 71(7): 3714, 2003.
- 241.** Zvilich, M., Williams, J.C., Waag, D., Rill, W.R., Malli, R.J., Bell, P., Kende, M.: Characterization of the non-specific humoral and cellular antiviral immunity stimulated by the chloroform-methanol residue (CMR) fraction of *Coxiella burnetii*. *Antiviral Res.* 27(4): 389-404, 1995.

## 9. ÖZGEÇMİŞ

Tunceli doğumluyum. İlköğretim ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2001 yılında girdiğim Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 2006 yılında "Veteriner Hekim" ünvanı alarak mezun oldum. 2007 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Doktora başladım. 2008 yılında Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak başladım. Halen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.