

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Şaban GÜRCAN

TRAKYA’DA RİSKLİ BİR BÖLGEDE TULAREMİ İNSİDANSININ ARAŞTIRILMASI

(Uzmanlık tezi)

Dr. Mediha UĞUR

EDİRNE – 2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve tez çalışmamın her aşamasında katkılarından dolayı sayın hocam Prof. Dr. Şaban GÜRCAN'a, eğitimimdeki katkılarından dolayı sayın hocalarım Prof. Dr. Nermin ŞAKRU'ya, Doç. Dr. Neşe AKIŞ'a, Yrd. Doç. Dr. Canan ERYILDIZ'a, Prof. Dr. Murat TUĞRUL'a, Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK'a, Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ'ye, çalışma boyunca desteklerinden dolayı Kırklareli Halk Sağlığı Müdürü Dr. Çiğdem CERİT'e, Kırklareli Halk Sağlığı Müdürlüğü çalışanlarına, Kaynarca Belediye Başkanı Serdar TÜRKER'e, Kavaklı Belediye Başkanı Gürel KOŞDEMİR'e ve çalışmaya dahil edilen bütün köy muhtarlarına ve gönüllü katılımcılara ayrıca asistanlık eğitimim ve tezim boyunca her konuda yardımcı olan araştırma görevlisi ve laboratuvar personeli arkadaşlarıma ve bu süreçte destekleri için başta annem ve eşim olmak üzere tüm aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
TARİHÇE	2
<i>FRANCISELLA TULARENSIS</i> ve ÖZELLİKLERİ	5
VEKTÖRLER ve REZERVUARLAR.....	7
ETKENİN BULAŞ YOLLARI	8
KLİNİK.....	10
TANI.....	12
TEDAVİ ve KORUNMA YOLLARI	15
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	18
BULGULAR	27
TARTIŞMA.....	34
SONUÇLAR.....	44
ÖZET	46
SUMMARY	48
KAYNAKLAR	50
EKLER	

SİMGİ VE KISALTMALAR

BCYE	: Buffered charcoal yeast extract agar
BHIA	: Brain heart infusion agar
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CFU	: Colony forming unit (koloni oluşturan ünite)
CHAB	: Cystein heart agar base
CO₂	: Karbondioksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ELISA	: Enzyme- linked immunosorbent assay
FITC	: Fluorescein isothiocyanate
<i>F. novicida</i>	: <i>Francisella novicida</i>
<i>F. tularensis</i>	: <i>Francisella tularensis</i>
GE	: Genomik equivalent
GC	: Gonococcal
LPS	: Lipopolisakkarit
LVS	: Live vaccine strain (Canlı aşı suşu)
MAT	: Mikroaglutinasyon testi
M.Ö.	: Milattan önce
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
PCR	: Polymerase chain reaction (polimeraz zincir reaksiyonu)
RT-PCR	: Real time polymerase chain reaction (eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu)
TGBA	: Thioglycollate glucose blood agar

GİRİŞ ve AMAÇ

Tularemi, *Francisella tularensis* bakterisinin neden olduğu zoonotik bir hastalıktır (1). Hastalık tarih boyunca; avcı hastalığı, tavşan ateşi, geyik sineği ateşi, kene ateşi, Ohara ve Yato-byo hastalığı gibi isimlerle anılmıştır (1-4). Etken olan bakterinin biyolojik terör ajanı olması, enfektif dozunun çok düşük olması, hastalığın tanısında yaşanan zorluklar, yanlış tedaviler ve son yıllarda salgınların ortaya çıkmasından dolayı tularemi yeniden önem kazanmıştır (5-10).

Tularemi hastalığının çeşitli formları bulunmaktadır. Dünyada en sık olarak ülseroglandüler form görülmesine rağmen ülkemizde en sık görülen formu orofaringeal tularemidir (11-17). Zoonotik bir hastalık olan tularemi için farklı bulaş yolları olmakla birlikte orofaringeal formda en önemli bulaş yolu enfekte suların kullanımı, içilmesi ve bu sularla temastır (11,17-20). Suların kontamine olmasında ve böylece hastalığın bulaşmasında ve yayılmasında kemiricilerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir (11,21-25). Kemiricilerden sulara, sulardan insanlara bulaş üzerinde durulması gereken bir döngüdür.

Bu tez çalışmasının amacı Trakya’da riskli ve ona yakın bir bölgede tularemi insidans çalışması yapmak ve fare- su- insan döngüsünü araştırmaktır. Geçmiş yıllarda etkeni taşıdığı tespit edilen farelerin yaşadığı Kaynarca deresinin etrafındaki köyler risk grubu, başka derelerin etrafındaki köyler kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Yılın ilk ve son aylarında derelerden ve şebeke sularından kültür ve polimerase chain reaction (PCR) ile etken araştırılırken, köylerde yaşayan insan serumlarında *F. tularensis*’e karşı gelişen antikorların varlığı araştırılmış ve insidans çalışması yapılmıştır. Bu sayede suların etken ile kontamine olup olmadığı, bölge halkının etkenle karşılaşp karşılaşmadığını tespit etmek amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

TARİHÇE

Tularemi hastalığının varlığı çok eski tarihlere dayanmaktadır. Milattan önce (M.Ö) 14. yüzyılda Hitit vebası olarak bilinen hastalık ölümcül salgınlara neden olmuştur. Mısır kraliyet arşivlerine göre M.Ö. 1335 tarihinde bugünkü Lübnan olarak bilinen Byblos bölgesinde etkenin var olduğu ve aristokratların ölümüne neden olduğu düşünülmektedir. M.Ö 1335-1330 yıllarında Mısır'ın büyük bir askeri güç kaybı yaşadığı ve ülkede kaos ortamı olduğu belirtilmektedir. Bu duruma bir hastalığın, muhtemelen tulareminin neden olabileceği düşünülmüştür. Etken ticaret yolu boyunca gemilerle, savaşlarla yayılmış ve Orta Anadolu'ya ulaşmıştır. Hititler ve Arzavan savaşlarında kasıtlı olarak etken kullanılmış ve M.Ö. 1320-1318 yılında olan bu olay kayıtlara ilk biyolojik savaş olarak geçmiştir (26).

Dünyada ilk izolasyon 1911 yılında Kaliforniya'nın Tulare şehrinde Mc Coy ve Chopin tarafından ölü yer sincaplarından yapılmıştır. Hastalık 'kemirgenlerin veba benzeri hastalığı' olarak tanımlanmıştır. Bakteriye izole edildiği bölgeden dolayı *Bacterium tularense* adı verilmiştir (27). İki yıl sonra ilk insan vakası Ohayo'da Wherry ve Lamb tarafından bildirilmiş ve tavşan teması olan hastadan bakteri izole edilmiştir (28). Edward Francis bakteri üzerinde bilimsel kariyerini etkileyen önemli çalışmalar yapmıştır. Hastalığın klinik belirtileri, bulaş yolları, kültür ve serolojik testlerin gelişimi üzerine araştırmacının yaptığı çalışmalar nedeni ile 1947'de bakteriye *Francisella tularensis* adı verilmiştir (29).

İlk olarak Amerika’da tanımlanan hastalık 20. yüzyılın ilk yarısında Amerika kıtasında yaygın olarak görülmüştür. En büyük salgın 2291 vaka ile 1939 yılında bildirilmiş daha sonra sayı giderek azalmıştır (30).

Tularemi Kuzey yarımküre ülkelerinde sıklıkla görülmektedir (Şekil 1) (31). İkinci Dünya Savaşı’nda 1940-1942 yılları arasında Doğu Avrupa ülkelerinde her yıl 10.000- 100.000 olgunun bildirildiği su kaynaklı tularemi salgınları olmuştur (32). Eski Sovyetler Birliği’nde İkinci Dünya Savaşı sırasında 100.000 kişiyi etkileyen bir salgın yaşanmıştır (33). Japonya’nın özellikle kuzeydoğu adalarında salgınlar görülmüş ve 1945-1965 yılları arasında pik yapmıştır (3). Hastalığın endemik olarak görüldüğü İsveç’te 1967 yılında 2739 vaka bildirilmiştir (34). Geçmiş yıllarda olguların sıklıkla görüldüğü Norveç’te 2011 yılında 180 tularemi vaka bildirimi olmuştur (35).

Balkanlar’da özellikle son yıllarda hastalık artış göstermiştir. Kosova’da savaş sonrası 1999-2000 yılları arasında 327 olgu bildirilmiştir (36). Bulgaristan’da 1998-2003 yılları arasında %90’ı orofaringeal form olan 262 olgu tespit edilmiştir (37).



Şekil 1. 1952-2006 yılları arası literatür taramasına dayalı olarak dünyada tularemi hastalığının görüldüğü bölgeler (31).

Hastalık Türkiye’de ilk kez 1936 yılında Lüleburgaz’da Kaynarca deresi etrafındaki köylerde görülmüştür (38). Aynı bölgede 9 yıl sonra 18 kişinin etkilendiği ikinci bir salgın gerçekleşmiştir (11).

Hastalık, Türkiye’de olgu sayılarının artması ve farklı bölgelerden vaka bildirimlerinin olması nedeniyle 2005 yılından itibaren T. C. Sağlık Bakanlığı tarafından Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi’nde C Grubu Bildirimi Zorunlu Hastalıklar listesinde yer almaktadır (54).

FRANCISELLA TULARENSIS ve ÖZELLİKLERİ

Bakterinin sınıflandırılması yıllar içinde birçok değişikliğe uğramıştır. İlk olarak *Bacterium* cinsi, sonra *Pasteurella* cinsi ve ardından *Brucella* cinsi içine yerleştirilmiştir. Bakteri 1947’de *Francisella* olarak adlandırılan cinsin tek üyesi olarak kabul edilmiştir (55). Kuzey Amerika’da 1951 yılında sudan *Francisella novicida* ve 1969 yılında fare ve sudan *Francisella philomiragia* izole edilmiştir ve *Francisellaceae* ailesine dahil edilmiştir (1). Olsufjev ve arkadaşları (56) 1959’da *F. tularensis* var. *tularensis* ve *F. tularensis* var. *palaeartica* olmak üzere iki alttür tanımlamıştır. İki yıl sonra bu türler form A ve form B olarak isimlendirilmiştir. Aikimbaev (56) 1966’da *F. tularensis* var. *mediasiatica*’yı tanımlamıştır. *F. tularensis* var. *palaeartica* 1982’de Olsufjev ve arkadaşları (56) tarafından *F. tularensis* subsp. *holarctica* olarak tanımlanmıştır. *F. novicida*, ilk olarak *Francisella* türünün ayrı bir cinsi olarak sınıflandırılmıştır. Yapılan çalışmalarda *F. tularensis* ve *F. novicida* 16S ribozomal deoksiribonükleik asit (DNA) analizine göre %99,6 benzerlik göstermiş ve yapılan çalışmalar ile *F. novicida*’nın *F. tularensis*’in alt türü olarak tanımlanması önerilmiştir (57,58).

National Center for Biotechnology Information (NCBI) taksonomi verilerine göre *Francisella tularensis*;

- *Proteobacteria* şubesi,
- *Gammaproteobacteria* sınıfı,
- *Thiotrichales* takımı,
- *Francisellaceae* ailesi,
- *Francisella* cinsi içinde yer almaktadır.

Francisella tularensis türünde;

- *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* (Biovar tip A)
- *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* (Biovar tip B)
- *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica*
- *Francisella tularensis* subsp. *novicida* olmak üzere 4 alt tür ve henüz sınıflandırılmayan *Francisella tularensis* 99A-2628 ve *Francisella tularensis* B-SA yer almaktadır (59).

Francisella tularensis subsp. holarctica'nın eritromisin duyarlı, eritromisin dirençli ve biovar *japonica* olmak üzere 3 biovarı bulunmaktadır (55).

Francisella tularensis subsp. tularensis (Biovar tip A) Kuzey Amerika'da, yaygın olarak da Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde görülmektedir. Bu alt tür yüksek virülansa sahiptir. Enfeksiyon gelişimi için 10 koloni oluşturan ünite (cfu)'den az bakteri yeterlidir. Tedavi edilmeyen olgularda mortalite %5-6'dır. *F. tularensis subsp. holarctica* (Biovar tip B) Avrupa, Asya, Japonya ve Kuzey Amerika'da bulunur ve daha az virülandır. Bu alt tür orofaringeal form etkenidir (55). Ülkemizde bu güne kadar sadece bir tularemi olgusunun mortal seyretmesi, düşük virülanslı kökenlerle enfeksiyonu düşündürdüğünden dolayı kökenlerin *F. tularensis subsp. holarctica* olduğu düşünülmektedir. Gürcan ve arkadaşları (60) genetik çalışmalarla Karadeniz Bölgesi'ndeki kökenlerin *F. tularensis subsp. holarctica* olduğunu göstermiştir.

Francisella tularensis subsp. mediasiatica Kazakistan ve Türkmenistan'da izole edilmiştir. Bu alt tür insan ve tavşanlarda hafif seyreden bir hastalığa neden olur.

Francisella tularensis subsp. novicida düşük virülansa sahiptir ve immün sistemi baskılanmış kişilerde hastalığa neden olmaktadır. Bu alt türün son zamanlarda Avustralya'dan bildirimleri olmuştur (61,62).

Francisella tularensis, fakültatif intrasellüler, gram negatif, küçük (0,2x0,2-0,7) kokobasillerdir. Gram boyamada zayıf olarak boyanırlar. Katalaz zayıf pozitif, hareketsiz, sporsuz ve zorunlu aerob bakterilerdir (1,63). Lipid yapılı ince bir kapsülü bulunmaktadır (64). Kapsül tek başına toksik veya immünojen değildir fakat bakteriye hücre içi yaşama özelliği sağlayarak virülansında rol alır (54). Sınırlı sayıda karbonhidratlarla reaksiyona girerler. *F. tularensis subsp. tularensis* glikozu, maltozu ve gliserolü fermente eder. *F. tularensis subsp. holarctica* gliserolü, *F. tularensis subsp. mediasiatica* glikozu fermente etmez. *F. tularensis subsp. mediasiatica* sükrozu fermente eder. *F. tularensis subsp. novicida* maltozu geç fermente eder. Gaz oluşturmada asit üretirler (1).

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) bakterileri 3 gruba ayırmaktadır. Kategori A en riskli gruptur. *F. tularensis* aerosol yolla hastalık oluşturabilmesi, çevre koşullarına dayanıklı olması nedeniyle biyolojik terör ajanları arasında kategori A'da yer almaktadır (65). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre 50 kg *F. tularensis*'in aerosol şeklinin 5 milyon nüfuslu bir şehirde 19.000 ölüm dahil 250.000 kişiyi etkileyeceği belirtilmektedir (5).

VEKTÖRLER ve REZERVUARLAR

Tularemi'de kara ve su olmak üzere iki döngü bulunmaktadır (31,66). *F. tularensis*'in rezervuarları arasında vahşi tavşanlar, sincaplar, tarla faresi, kuşlar, koyunlar, kunduzlar, misk sıçanları, su fareleri olmak üzere kara ve su canlıları yer alır. Ayrıca çeşitli lagomorflar, böcek yiyen hayvanlar, ot yiyen hayvanlar, toynaklı hayvanlar, kuşlar, amfibianlar, balık ve vertebrasız hayvanlar rezervuarları arasında bulunmaktadır (11,55).

Bit, pire, tatarcık, tahtakurusu, kene, sivrisinek ve çok sayıda farklı artropodlarda da etken bulunabilmektedir. Etkenin insanlara bulaşmasında en önemli rol oynayan artropodlar ise sert keneler, geyik sineği, at sineği ve sivrisineklerdir (66,67). Artropodlar hastalığın hayvanlardan insanlara bulaşmasında da rol oynamaktadır (55). Bazı kene türleri bakteriyi vücudunda ömür boyu (1-2 yıl) taşıyarak rezervuar olarak da rol oynamaktadır (54). Hastalık insandan insana bulaşmamaktadır (31).

Kara kemiricileri Biovar tip A ve Biovar tip B, su kemiricileri Biovar tip B için rezervuardır ve su kaynaklı salgınlardan sorumludurlar (55,66).

Coğrafik bölgelere göre vektörler değişiklik göstermektedir. ABD'nin batısında geyik sineği ve keneler, doğusunda ise sadece keneler önemli vektörlerdir ve *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis* ve *Ixodes* cinsine ait türlerde etken gösterilmiştir. Kunduz ve misk sıçanlarının Kuzey Amerika'da su kaynaklı bulaşta rol oynadığı belirtilmektedir (31).

Finlandiya ve İsveç'te epidemiyolojik veriler etkenin insana bulaşmasında sivrisineklerin önemli rol aldığını göstermektedir (31). İsveç'te 1938 yılında olan salgında etken *Anopheles cinereus*'ta gösterilmiştir (68). İsveç'te 2000 olgunun incelendiği bir çalışmada ise sivrisinek ısırığı en önemli risk faktörü olarak belirlenmiştir (69).

Eski Sovyetler Birliği'nde yapılan çalışmalarda etkenin insanlara bulaşmasında farelerin rol oynadığı düşünülmüştür. Özellikle su sıçanı (*Arvicola terrestris*), tarla faresi (*Microtus arvalis*), kırmızı sırtlı tarla faresi (*Clethrionomys spp.*) ve yerli fare (*Mus musculus*) vektörleri tanımlanmıştır (31).

Balkanlarda fareler tularemi hastalığı için rezervuardır. Bulgaristan'da salgın döneminde incelenen 42 farenin 9'unda PCR ile etkenin gösterilmesi ve son 3-4 yıl içinde fare ölü sayısında artış görülmesi bunu desteklemektedir (37).

Ülkemizde ilk salgından sonra bölgede yapılan incelemelerde hastalığın rezervuarı olan tarla ve su farelerinin salgın döneminde bir artış göstermesi salgında farelerin rolü olduğunu düşündürmüştür (21). Dere kenarındaki bahçelerde fare sayısında artış olması suların kirlenmesinde farelerin rolü olduğunu destekler nitelikte olsa da kanıtlanamamıştır (21,38).

Bursa’da 1988 yılında meydana gelen salgın döneminde fare sayısında artış olduğu belirtilmiştir fakat farelerde bir çalışma yapılmamıştır (22). Düzce’de 2000 yılında birbirine yakın köylerde tespit edilen tularemi vakaları olmuştur. Vakaların olduğu dönemde fare sayısında artış olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bir kuyu suyunda fare karkasına rastlanmıştır (70). Tokat’ta 2005 yılında aynı aileden 7 kişide hastalık tespit edilmiş, risk faktörleri sorgulandığında evin çevresinde ve gıdalarını muhafaza ettikleri depoda çok sayıda fare gördükleri ortaya çıkmıştır (43). Kırıkkale’de tularemi hastalığı ve fare ilişkisini göstermek için farelerde yapılan bir çalışmada 42 farenin karaciğer ve dalak dokularında kültür ve PCR yöntemleri ile *F. tularensis* aranmış fakat pozitiflik saptanamamıştır (71). Bölgemizde 2012 yılında yapılan bir çalışmada etken dere kenarında yakalanan iki farede tespit edilmiş ve böylece farelerle tularemi arasındaki ilişki ilk kez kesin olarak gösterilmiştir (24). Etkenin farelerde tespit edilmiş olması Trakya Bölgesi’nin hastalık açısından riskli bir bölge olduğunu göstermektedir.

ETKENİN BULAŞ YOLLARI

Hastalık için kırsal alanlarda yaşayanlar ve çalışanlar, çiftçiler, bahçıvanlar, avcılar, et ile temas edenler, veterinerler ve laboratuvar çalışanları risk grubudur (11). Klorlanmamış su kullanımı, bakımsız kalmış su depoları ve köy çeşmeleri de tularemi için risk oluşturmaktadır (54).

Hastalığın değişik bulaş yolları bulunmaktadır. Enfekte hayvanlar ile doğrudan temas veya bu hayvanların çıkartıları ile temas sonucu hastalık bulaşabilmektedir. Hastalık vektör aracılığı ile de bulaşmaktadır (55,67). Solunum yolu ile bulaş, aerosol şeklinde bulunan kontamine su veya toz partiküllerinin solunmasıyla olur. Laboratuvar çalışanları, solunum yolu ile bulaş açısından oldukça riskli gruptadır. Sindirim yolu ile bulaş, kontamine yiyecek ve suyun tüketimi sonucu olmaktadır (66,72).

Amerika’da etken sık olarak *F. tularensis subsp. tularensis*’tir ve bulaşında karasal döngü yer almaktadır. Kara kemiricileri, geyik sineği ve kene gibi vektörler bulaşta rol almaktadır. ABD’de salgınlar kene ısırıkları, kemirgen ya da tavşan teması sonrası sıklıkla bildirilmiştir (73).

İsveç, Finlandiya ve Rusya’da vektör kaynaklı bulaş yaygın iken Orta Avrupa’da enfekte hayvan ile temas, kontamine gıda ve sularla bulaş yaygın olarak görülmektedir (67). İsveç’te salgınlarla ilgili yapılan çalışmalarda bulaşta özellikle sivrisineklerin rol aldığı

gösterilmiştir (69,74). Çek Cumhuriyeti'nde 1978 yılında farelerin kontamine ettiği elmalardan yapılan meyve suyu tüketimine bağlı olarak bir salgın görülmüştür (75).

Bulgaristan'da 262 olgunun incelendiği çalışmada kemirgenler tarafından kirlenen gıda ve suyun hastalığa neden olduğu sonucuna varılmıştır (37). Kosova'da savaştan sonra 1999-2000 yılları arasında 327 olgu bildirilmiştir. Salgın döneminde kemirgen sayısında artış olması, kemirgenlerin gıdalara temas etmesi ve suların korunaksız olması bulaşın kemirgenler kaynaklı olduğunu düşündürmüştür (36).

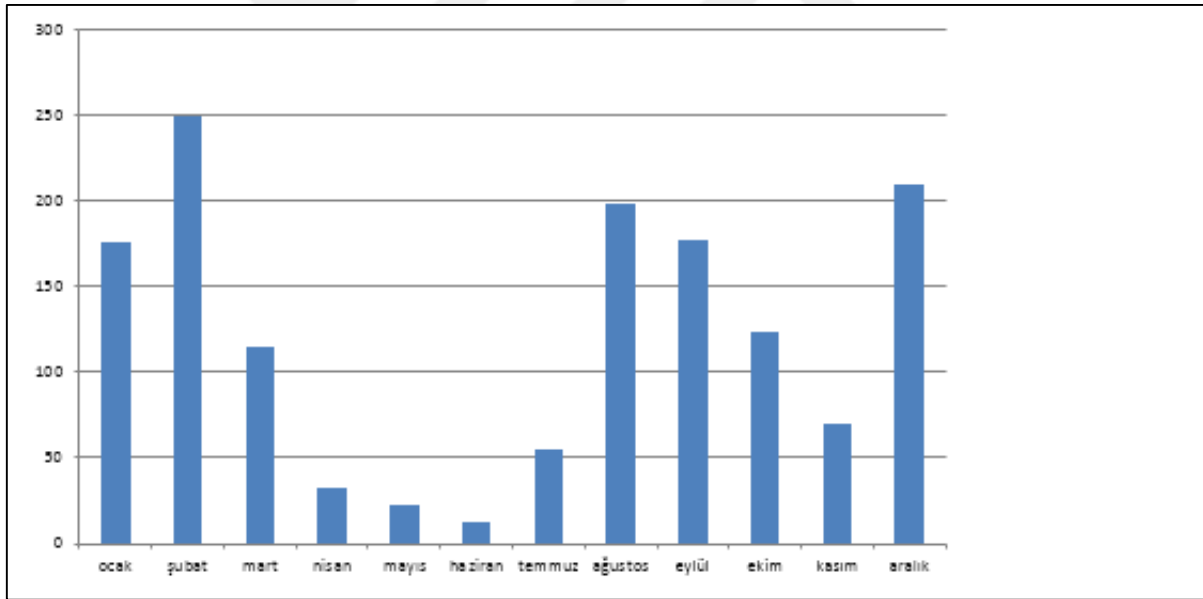
Ülkemizde en sık olarak görülen tularemi formu orofaringeal formdur ve bu formda en önemli bulaş yolu sudur. Geçmişten günümüze yapılan çalışmalarda su kaynaklı birçok salgının olduğu görülmektedir. Su kaynaklı salgınların bir kısmında etken suda tespit edilirken bir kısmında edilememiştir (15,17,19,42,45,46,52). Ülkemizde ilk salgından sonra bölgede yapılan çalışmalarda da kaynağın sular olduğu düşünülmüştür. Vakaların saptandığı dönemde, özellikle dere boyunca pirinç üretimi olması nedeniyle dere kenarlarında farelerde dikkat çeken bir artış olduğu belirtilmiştir. Bir sonraki yılda saptanan vakaların hepsinin dere etrafındaki bahçelerde çalışan köylüler olması ve dereден alınan suyun enjekte edildiği farenin ölmesi bulaşın su kaynaklı olduğunu düşündürmüştür (21). Antalya'da 1953 yılında meydana gelen salgında vakaların patlama tarzında görülmesi ve su kanallarının üstünün açık olması salgının su kaynaklı olduğunu düşündürmüştür (23). Bursa'da 1988 yılında meydana gelen salgında hasta kişilerin dağ suyunu içme suyu olarak kullandığı tespit edilmiş ve salgın su ile ilişkilendirilmiştir (22). Balıkesir'de 2002 yılında 126 olgunun saptandığı salgın döneminde yağışların artış göstermesi ve şebeke sularının kontrol eksikliği nedeniyle kaynağın kontamine sular olduğu düşünülmüştür (16). Sakarya'da 2005-2006 yılında, Çankırı'da 2009 yılında meydana gelen salgında ise etken kaynak sularında gösterilmiştir (42,44). Çanakkale'de 2009 yılında tularemi vakaları bildirilmesi nedeniyle bölgede gerçekleştirilen araştırmada su kaynaklarında etken gösterilmiştir (20). Tekirdağ- Hayrabolu'da 2010 yılında 8 çocukta tularemi tespit edilmiş, vakalar sorgulandığında çocukların hepsinin dere suyuyla doldurulan bir havuzda yüzdüğü ortaya çıkmış ve salgının bu nedenle olduğu düşünülmüştür (46). Tokat'ta 15 kişiye tularemi tanısı konulmasının ardından yapılan saha çalışmasında suların yeterince klorlanmadığı ve köylülerin doğal kaynak sularını içme suyu olarak kullandıkları tespit edilmiştir (45). Eskişehir'de 2011 yılında tularemi vakalarının sık görüldüğü yerlerden alınan su örneklerinde *F. tularensis* gösterilmiş ve vakaların su kaynaklı olduğu düşünülmüştür (52).

Francisella tularensis dış ortam koşullarına oldukça dayanıklı olup suda serbest yaşayan amiplerde canlılığını sürdürebilmektedir. Suda, toprakta, hayvan leşlerinde aylarca

canlı kalabilmektedir (76). Klorlanmamış suda 90 güne kadar canlı kalan bakteri güneş ışını, ısı ve dezenfektanlara karşı oldukça duyarlıdır (31,76). Bakterinin suda, toprakta, hayvan leşlerinde uzun süre canlı kalabilmesi, farelerde bulunabilen etkenin sulara ve sulardan insanlara bulaşmasında rol oynamaktadır. Kemiricilerin idrar, dışkı gibi artıklarının su ve gıdaları kontamine etmesi ve bunların insanlar tarafından tüketilmesi veya teması sonucu salgınlar meydana gelmektedir (66,77).

Hastalık sıklıkla kırsal kesimlerden bildirilmektedir. Ülkemizde tespit edilen olguların çoğu köylerde, kırsal kesimlerde yaşayan kişilerdir (10,17,39). Köylerde yaşayan insanların bahçe işleriyle daha çok uğraşması, derelerden bahçe sulaması yapmaları, dere, gölet gibi açık alan sularına daha çok temas etmeleri bunun nedeni olarak düşünülebilir.

Bulaşın sıklıkla sinek ve kenelerle olduğu ülkelerde vakalar daha çok yaz aylarında bildirilirken, su kaynaklı bulaşın sık görüldüğü ülkemizde vaka bildirimleri çoğunlukla Ağustos-Mart ayları arasında olmaktadır (Şekil 3) (9,12,20,78,79).



Şekil 3. 1936-2011 yılları arası Türkiye’de görülen tularemi vakalarının aylara göre dağılımı (9).

KLİNİK

Tularemi hastalığının kliniği bakterinin virülansına, giriş yoluna ve konağın immün yanıtına göre değişmektedir. Hastalık asemptomatik veya hafif klinik tablolarda seyredebildiği gibi, ağır sepsis tablosuna kadar değişen, hatta ölümlü sonuçlanan farklı klinik tablolar da

görülebilmek (31,54). *F. tularensis subsp. tularensis* ölümle sonuçlanabilen akut hastalığa neden olurken, *F. tularensis subsp. holarctica* daha hafif seyreden ve ölüme neden olmayan bir hastalığa neden olmaktadır (32,55).

Hastalığın T.C Sağlık Bakanlığı'na göre;

- Ülseroglandüler,
- Glandüler,
- Okuloglandüler,
- Orofaringeal,
- Tifoidal ve
- Pnömonik olmak üzere 6 formu bulunmaktadır (54).

Dünyada en sık ülseroglandüler ve glandüler form görülmekte iken ülkemizde en sık görülen form orofaringeal formdur (31,54).

İnkübasyon süresi ortalama 3-5 gündür. Boğaz ağrısı, halsizlik, iştahsızlık, sırt ağrısı, baş ağrısı, titreme ile yükselen ateş ve terleme semptomları hastalığın başında görülürken, takip eden semptomlar hastalığın lokalizasyonuna göre değişmektedir (11,32,55). Ülseroglandüler tularemi vektör kaynaklı bulaşmaktadır ve yurtdışında en sık görülen formdur. *F. tularensis subsp. tularensis* alt türünün neden olduğu ülseroglandüler form kene ısırması, sivrisinek sokması, enfekte hayvan dokularına temas sonrası bulaşmaktadır (72). Hastalık vektörün temas yerinde ülser ve bölgesel lenf nodlarında şişlik ile karakterizedir (32,55,67). Glandüler formda deride ülser olmaksızın ateş ve ağrılı lenfadenopati vardır (67,72). Okuloglandüler form kontamine su veya ellerin göz ile teması sonucu gelişmektedir. Bu formda tek taraflı konjonktivit ve preauriküler lenfadenopati görülmektedir (72). Ülkemizde en sık görülen form olan orofaringeal tularemi kontamine gıda ve suların sindirim yoluyla alınması sonucu bulaşmaktadır. Kliniğinde ateş, boğaz ağrısı, tonsillit, tek taraflı veya bilateral servikal lenfadenopati vardır. Tifoidal tularemi en ağır formdur ve sistemik bulgular gösterir. Hastalık septik şok, yaygın damar içi pıhtılaşma, akut respiratuvar distres ile sonuçlanabilir. Pnömonik tularemi inhalasyon veya diğer formların hematojen yayılımı ile oluşabilir. Kliniğinde ateş, halsizlik, öksürük olup akciğerde infiltratlar ve hiler lenfadenopati saptanabilir (31,72).

Hastalık ABD, İsveç, Norveç'te erkeklerde daha sık görülürken, Kosova, Bulgaristan gibi Balkan ülkeleri ve ülkemizde kadınlarda daha sık görülmektedir. Ülkemizde kadınlarda daha sık görülme nedeni olarak kadınların su ile daha çok temas etmesi düşünülebilir. 2005-2009 yılları arasında tespit edilen 1091 tularemi olgusunda kadın erkek oranı 1,18 olarak tespit edilmiştir (12,45,77).

TANI

Tulareminin başlangıç klinik belirti ve bulguları hastalığa spesifik olmadığı için birçok farklı hastalıkla karıştırılabilmektedir. Özellikle ülkemizde sık olarak görülen orofaringeal tularemi tüberküloz lenf adeniti ile karışabilmekte ve hastalar bu yüzden yanlış ve gereksiz tedavi alabilmektedir (7,80-82).

Bursa'da patoloji laboratuvarına gönderilen ve tüberküloz lenfadenit tanısı alan 32 hastanın parafin doku blok preparatlarında PCR yöntemiyle %19 oranında *F. tularensis* DNA'sı pozitif olarak tespit edilmiştir (83). Tüberküloz lenfadenit tanısı alan 1170 olgunun dahil edildiği bir çalışmada hasta serumlarında *F. tularensis* antikorları araştırılmış ve %6,75 oranında pozitif olarak bulunmuştur (84).

Aynı zamanda tularemi hastalığının endemik olduğu bölgelerde tüberküloz atlanabilmektedir. İki yıllık bir sürede tularemi şüphesi ile gönderilen servikal lenf aspiratı örneklerinde, moleküler yöntemlerle *Mycobacterium tuberculosis* aranmış ve %8,6 pozitif olarak bulunmuştur (7). Klinik ve patolojik bulguları oldukça benzer olan tüberküloz servikal lenfadenit ve orofaringeal tularemi sıklıkla karışabildiği için ayrımı konusunda dikkatli olunmalıdır (84).

Tularemi vakaları T. C. Sağlık Bakanlığı'na göre; şüpheli, kesin ve olası vaka olarak sınıflandırılmaktadır (54).

- Şüpheli vaka, tularemi ile uyumlu klinik bulguları olan vakada aşağıdakilerden en az birinin bulunması durumu;
 1. Son bir ay içerisinde tularemi bildirilen bir bölgede bulunmuş olmak,
 2. Son bir ay içinde riskli temas öyküsünün varlığı (klorlanmamış su içmek, yabani hayvanla temas, kene ısırığı, hayvan leşleriyle temas),
 3. Beta laktam grubu antibiyotiklere yanıt vermeyen akut tonsillofarenjit.
- Olası vaka, şüpheli vakada aşağıdakilerden en az birinin bulunması durumu;
 1. Aşılanmamış veya daha önce tularemi geçirmemiş vakada tek serum örneğinde 1/160 ve üzeri titrede antikor varlığı,
 2. Klinik örneklerde PCR pozitifliği,
 3. Klinik örneklerde Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), floresan mikroskopi vb. incelemelerde antikor veya antijen pozitifliği.
- Kesin vaka, şüpheli vakada aşağıdakilerden en az birinin bulunması durumu;
 1. Klinik örneklerden *F. tularensis* izolasyonu

2. En az 10 gün arayla tekrarlanan serolojik incelemede antikor titresinde en az dört kat artış.

Hastalığın tanısı ayrıntılı öykü, fizik muayene ve laboratuvar bulgularına göre konulmaktadır.

Kültür

Tularemi tanısında altın standart kültürdür. Kültürde etkenin üretilmesi kesin tanı konulmasını sağlar ve bunun yanı sıra antibiyotik duyarlılık, moleküler epidemiyolojik çalışmalar, yeni tür ve alt türlerin keşfi için önemli bir tanı yöntemidir (31). Laboratuvar çalışanları için riskli olmasından dolayı ise rutinde kullanımı yaygın değildir (32). Bakterinin enfektif dozunun düşük olması nedeniyle örneklerden besiyerine ekim işlemleri Biyogüvenlik Düzey 2 şartlarında yapılması gerekirken, etken üretildikten sonra tanımlama, antibiyogram işlemleri Biyogüvenlik Düzey 3 şartlarında yapılmalıdır.

Bakterinin kültürden izolasyonu için uygun şekilde alınmış örneğin, uygun şartlarda laboratuvara iletilmesi gerekmektedir. Tularemi hastalığından şüphelenildiğinde uygun örnek (boğaz, konjonktival sürüntü, yara, lenf aspiratı, doku) antibiyotik tedavisine başlanmadan alınmalı ve taşıma besiyerinde laboratuvara ulaştırılmalıdır (54). Taşıma besiyeri olarak Amies veya Thayer Martin besiyerleri tercih edilmelidir (85). Yara örnekleri için taşıma besiyeri kullanımı kültürün duyarlılığını %25'ten %62'ye çıkarmaktadır (11).

F. tularensis üremek için sülfidril bileşikleri (sistein, sistin) içeren besiyerine ihtiyaç duyar. Besiyeri olarak Francis besiyeri, %9 ısıtılmış koyun kanı eklenmiş cystein heart agar (CHAB), sisteinle zenginleştirilmiş çukulatamsı agar, non selektif buffered charcoal yeast extract agar (BCYE), %1 hemoglobin- %1 isovitalax eklenmiş Gonococcal (GC) agar base 2, thioglycollate- glucose blood agar (TGBA) besiyerleri kullanılabilir. En sık olarak Francis besiyeri kullanılmaktadır (86). Besiyerine penisilin, polimiksin B ve sikloheksimid ilavesi normal floranın *F. tularensis*'in üremesini baskılamasını önler (1). Üremesi için en uygun sıcaklık 35°C'dir. Uygun ortamda 18 saatte ürer fakat kolonilerin görünür hale gelmesi için 2-3 gün gereklidir (29,32,55). Çikolatamsı agarda üç günlük inkübasyondan sonra 2 mm çapında, düzgün yüzeyli, gri yağlı koloniler şeklinde görülür (86).

Seroloji

Seroloji tularemi hastalığının tanısında en yaygın kullanılan yöntemdir. Serolojik tanıda *F. tularensis*'e karşı oluşan antikorlar veya akut evrede bakteriye ait antijenlerin varlığı tespit edilebilir. Mikroaglutinasyon (MAT) ya da tüp aglutinasyon yöntemiyle hasta serumunda

bakteriye karşı oluşan antikorlar tespit edilirken, mikroaglutinasyon testi kısa sürede ve kolay yapılabilmesi, sonuçlarının kolay değerlendirilmesi nedeniyle daha sık tercih edilmektedir (1,31,54,87). MAT tulareminin serolojik tanısında duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir testtir ve referans serolojik yöntem olarak kabul edilmektedir (88). Yapılan bir çalışmada MAT duyarlılık ve özgüllüğü %100 olarak bulunmuştur (89).

Antikorlar, semptomların başlangıcından sonraki 6-10 gün içinde serumda belirir ve yıllarca serumda düşük titrelerde pozitif olarak kalır (1,32,54,90).

Akut dönemde alınan serum örneğinde MAT sonucu $\geq 1/160$ antikor titresi ve konvalesan dönemde (2-6 hafta sonra) alınan serum örneğinde ilk serum örneğine göre 4 kat titre artışı 'kesin tanı' bulgusudur (88). Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi (Hastane)'nde Bolu- Gerede köylerindeki hastaların lenf bezi aspiratlarından izole edilen bakteri kökenlerinden elde edilen patentli antijen (Patent no: TPE-2008/01623 B-Şaban Gürcan) 2005 yılından bu yana kullanılmaktadır (87).

Serolojik sonuçların değerlendirilmesinde özellikle düşük titrelerde pozitif sonuçların çapraz reaksiyon nedeniyle olabileceği bilinmelidir. *Brucella spp.*, *Escherichia coli* O:116 ve O:157, *Salmonella* serotipleri, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas spp.* ve *Yersinia enterocolitica* serotip O:9 ve O:3, *Proteus spp.*'e karşı oluşan antikorlar *F. tularensis* ile çapraz reaksiyonlar verebilir. Özellikle *Brucella* ile çapraz reaksiyon hastalığın ülkemizde endemik olarak görülmesinden dolayı önemlidir. (11,87). Ülkemizde yapılan seroprevalans çalışmalarında *F. tularensis* ile *Brucella* arasında çapraz reaksiyon varlığı gösterilmiştir (91,92). Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'na gönderilen örneklerin incelendiği bir çalışmada tularemi pozitif 260 örneğin %18,8'inde *Brucella abortus* antijeniyle, Bruselloz tanılı 252 örneğin %9,1'inde *F. tularensis* antijeni ile çapraz reaksiyon saptanmıştır (93). Van'da kırsal alanda yaşayan insan ve sahip oldukları hayvanlarda yapılan çalışmada tularemi antikoru pozitif insan serumlarının %69,5, hayvan serumlarının %44'ünde *Brucella* antikoru tespit edilmiş ve çapraz reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (51).

ELISA yöntemi tanıda kullanılan diğer bir serolojik yöntemdir. Son zamanlarda ELISA ve Western blot (WB) yöntemlerinin kombine kullanımı hastalığın tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllük göstermektedir (31). Farklı serolojik yöntemlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada ELISA testlerinin duyarlılığı %97-%94,8, özgüllüğü %96,8-%76,6 arasında değişirken, WB duyarlılığı %93,3, özgüllüğü %83 olarak tespit edilmiştir (94).

Moleküler Yöntemler

Tularemi tanısında yaygın olarak kullanılan serolojik yöntemde, antikorların ikinci haftada saptanabilmesi ve farklı bakterilerle çapraz reaksiyon oluşabilmesi nedeniyle moleküler testlerin kullanımı son yıllarda yaygınlaşmıştır (93,95). Moleküler yöntemler oldukça duyarlıdır. Çin’de yapılan bir çalışmada duyarlılığı %82,6 olarak bulunmuştur (96). Yapılan başka bir çalışmada 15 tularemi pozitif dokunun 14’ünde DNA tespit edilebilmiştir (97). Moleküler yöntemler ile hasta örnekleri, vektörler, hayvan rezervuarlar ve çevresel örneklerde bakteri tespit edilebilir (20,24,98,99).

F. tularensis tespiti için PCR’da sıklıkla dış membran proteinlerini kodlayan *fopA* ya da *tul4* genleri hedeflenmektedir. Son yıllarda tanı için daha hızlı ve duyarlı olan real-time PCR geliştirilmiştir (31). Oldukça duyarlı ve hızlı bir PCR yöntemi olan real-time TaqMan PCR ile *ISFtu2* elementi, *23kDa* ve *tul4* genleri hedeflenmektedir (31,95). Multitarget TaqMan PCR; salgınlarda klinik örneklerde, bakterinin döngüsünü araştırmak için çevresel örneklerde ve olası biyoterör olaylarında etkeni tespit etmek için kullanılabilecek oldukça duyarlı ve özgül bir yöntemdir (100).

Diğer Yöntemler

Fluorescein isothiocyanate (FITC) işaretli tavşan antikorları kullanılarak direkt olarak klinik örneklerden *F. tularensis* tespiti yapılabilir. İmmünohistokimyasal boyama ile formalin ile tespit edilmiş dokularda *F. tularensis* varlığı tespit edilebilir (31).

F. tularensis live vaccine strain (LVS)’nin lipopolisakkaritine spesifik oluşturulan monoklonal veya poliklonal antikorların kullanımına dayalı immunkromotografik yöntemler tanıda kullanılmaktadır. Bu yöntemler kolay ve 15 dakika kadar kısa bir sürede sonuç vermektedir fakat duyarlılığı düşük olduğu için negatif sonuçlar hastalığı dışlamamaktadır (55).

TEDAVİ ve KORUNMA YOLLARI

Tularemi, iyileşme süresini kısaltmak, komplikasyonları ve relapsları önlemek, mortaliteyi azaltmak için tedavi edilmelidir (101). Hastalıkta doğru tanı ve erken tedavi önemlidir. Tip A’nın neden olduğu tularemi ölümcül seyredebilirken, ülkemizde de etken olan Tip B’nin neden olduğu hastalık daha hafif seyretmektedir (31,102). Aminoglikozidler tedavide ilk seçilecek ilaç grubudur. Gentamisin 5mg/kg/gün iki doza bölünerek uygulanır. Streptomisin günlük 2 g intramusküler 10 gün boyunca uygulanır. Daha hafif vakalarda oral olarak siprofloksasin ve doksisisiklin tercih edilir (31,55). Menenjit, perikardit, pnömonik ve tifoidal

form gibi ağır seyreden olgularda ve immünsüpresif hastalarda kombinasyon tedavisi uygulanabilir (54). Tularemi hastalığında ölüm oranı antibiyotiksiz dönemde ağır olgularda %30'larda iken günümüzde oran %2'lere kadar düşmüştür (101,102).

Orofaringeal tulareminin bir komplikasyonu olarak gelişen lenfadenopatinin gerilemesi zaman aldığı için lenf drenajı uygun bir tedavi yaklaşımıdır (101).

Tularemi hastalığında ana ilke belirlenen enfeksiyonun yayılmasının önlenmesidir. Bundan dolayı hastalık tespit edildiği zaman sağlık yetkililerine bildirilmeli, hastalık açısından endemik olan bölgelerde yaşayanlar hastalık hakkında bilgilendirilmelidir. Tularemi hastalığı için rezervuar görevi gören tavşan, fare gibi kemiricilere, ölü veya hasta hayvanlarla temastan kaçınılmalıdır. Hayvan derisi yüzerken eldiven gibi koruyucu ekipmanlar kullanılmalı ve etler iyice pişirildikten sonra yenilmelidir. Sivrisinek, kene gibi vektörlere karşı koruyucu giysiler giyilmeli, haşere kovucular kullanılmalıdır (1,103).

Özellikle su ile bulaşın sıklıkla görüldüğü ülkemizde bu konuda önlemler alınmalıdır. İçme suyu olarak sanitasyonu sağlanmış, yeterince ve düzenli klorlanmış şebeke suları kullanılmalı, dere, kuyu, göl gibi açık alan suları içme suyu olarak tüketilmemelidir. Ayrıca enfekte hayvan ölüsü ile kontamine olmuş sular kullanılmamalı, her türlü temastan kaçınılmalıdır (103). Gıda ile bulaştan korunmak için gıdaların depo edildiği yerlerin hayvanlarla teması engellenmeli, hayvan dışkısı ile kontamine olmuş gıdalar tüketilmemelidir (31).

Tularemi hastalığında insandan insana bulaş olmadığı için izolasyon gerekli değildir fakat kontamine salgılar ve açık yaralar ile temastan kaçınılmalıdır (5). Biyoterör saldırılarında ve su ve gıda kaynaklı salgınlarda profilaksi uygulanabilir. Profilakside siprofloksasin veya doksisisiklin 14 gün süreyle kullanılmaktadır (31). Laboratuvar çalışanlarının aşılınması önerilmektedir. İlk kez 1930 yılında eski Sovyetler Birliği'nde tularemi için endemik bölgelerde yaşayan milyonlarca insana bağışıklık kazandırmak için zayıflatılmış canlı aşı kullanılmıştır (5). Birleşik Devletler'de 1959 yılından beri laboratuvar çalışanlarına LVS aşısı uygulanmaktadır. Aşının respiratuvar tularemiye karşı koruyucu olmasına rağmen glandüler tularemi insidansını azaltmadığı fakat semptomları hafiflettiği gösterilmiştir (32). *F. tularensis*'e karşı Food and Drug Administration (FDA) onayı almış aşı henüz bulunmamakla birlikte özellikle tip A için aşı çalışmaları 15 yıldır devam etmektedir ve gelecek yıllarda etkili bir aşının bulunması muhtemel görülmektedir (104).

Trakya bölgesinde Kaynarca-Lüleburgaz arasında geçmiş yıllarda birçok vaka saptanmasına ve 2012 yılında farelerde etken gösterilmesine rağmen 1945 yılından beri bu

bölgedeki insanlarda tularemi hastalığı bildirimi olmamaktadır (24,38,46,91). Hastalığın sıklıkla yanlış tanı aldığı ya da akla gelmediği bilinen bir durumdur (8,82). Tularemi bildiriminin olmamasının nedenlerinden biri yanlış tanı olabilir. Diğer bir olasılık ise gerçekten vaka görülmemesidir. Bu olasılıklar aydınlatılması gereken bir durumdur. Bu çalışma ile riskli bölgeden tularemi bildirilmemesinde gerçek nedenin ortaya konulması ile ilgili yeni verilerin elde edilmesi amaçlanmıştır. Seropozitif olgular saptandığı takdirde hekimlerin yanlış tanı koyma olasılığı düşünülerek bilgi eksikliğinin giderilmesinin yanında halkın da hastalıktan korunma konusunda bilinçlendirme çalışmalarının başlatılmasının ve koruyucu diğer önlemlerin alınmasının önemi ortaya konmuş olacaktır.



GEREÇ VE YÖNTEMLER

ARAŞTIRMANIN YERİ

Bu uzmanlık tezi çalışması Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun 15.04.2015 tarihli TÜTF-BAEK-2015/77 protokol no'lu onayı (Ek-1), Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun izni (Ek-2) ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (TÜBAP) 2015/128 numaralı proje desteği ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmadaki testler Trakya Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Bölümü ve Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

ÇALIŞMA PLANI ve İŞ AKIŞI

Ocak 2016 Tarihinde Yapılan İşlemler

- Çalışma yapılacak köylerde sağlık çalışanları ve halkın hastalık hakkında bilgilendirilmesi amacıyla sunum yapılması, posterlerin asılması
- Gönüllülere 'Tularemi anket formu' doldurulması, gönüllülerden kan alımı ve serumların ayrılması
- Seroloji testleri
- Su örneklerinin alımı ve filtre edilmesi
- Suların kültür işlemleri
- Suların moleküler işlemleri
- Sonuçların bildirimi

Aralık 2016 Tarihinde Yapılan İşlemler

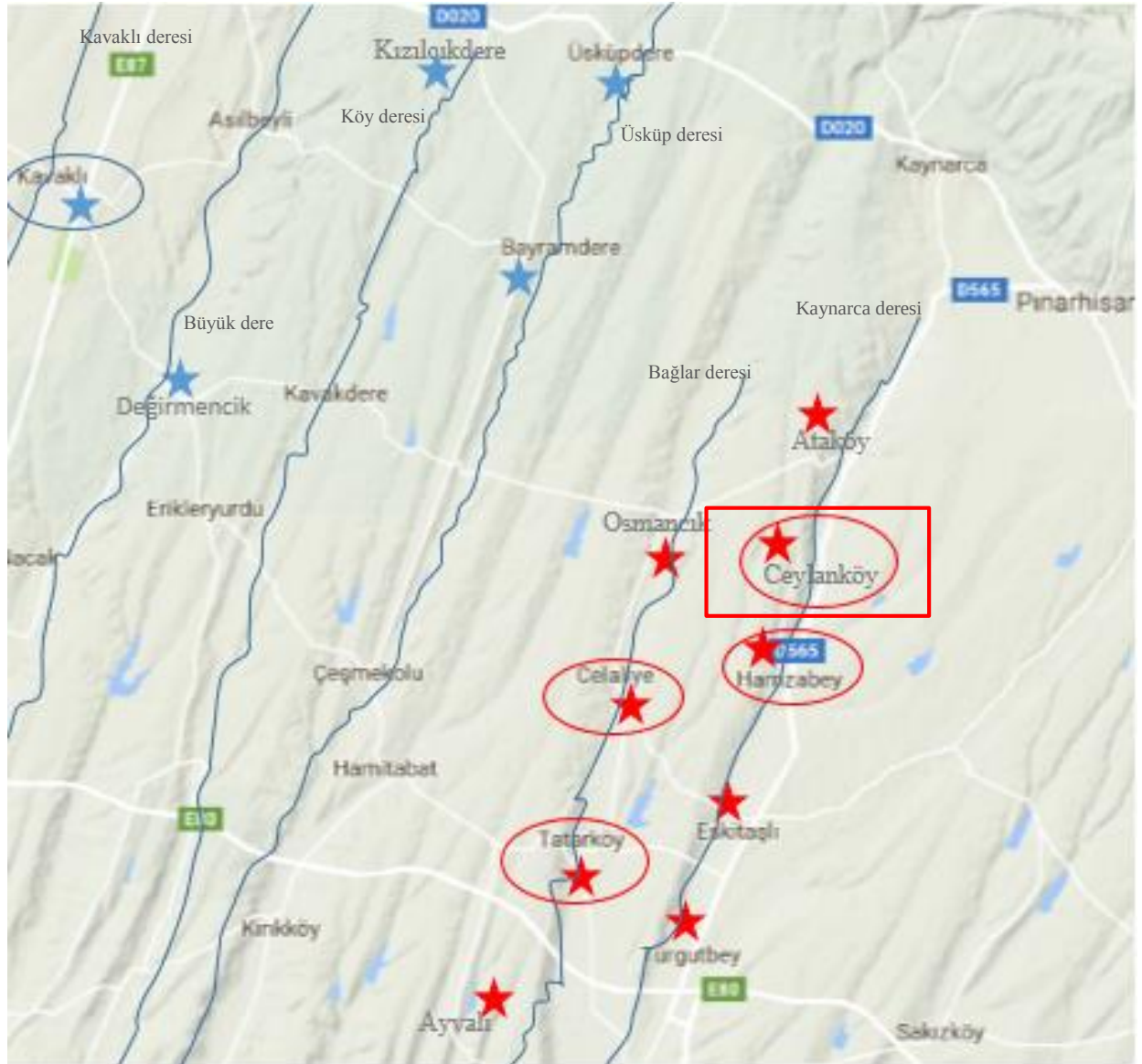
- Gönüllülerden kan alımı ve serumların ayrılması
- Seroloji testleri
- Su örneklerinin alımı ve filtre edilmesi
- Suların kültür işlemleri
- Suların moleküler işlemleri
- Sonuçların bildirimi

Çalışma Yapılacak Köylerde Sağlık Çalışanları ve Halkın Hastalık Hakkında Bilgilendirilmesi Amacıyla Sunum Yapılması, Posterlerin Asılması

Çalışmaya başlamadan önce çalışmaya dahil edilecek köyler belirlendi. Trakya Bölgesi'nde 1936 yılında yaşanan tularemi salgınının gerçekleştiği ve 2012 yılında yapılan 'Trakya Bölgesi'nde Farelerde Kültür, Seroloji ve Moleküler Yöntemlerle *Francisella tularensis* Varlığının Aranması' başlıklı çalışmada bakterinin moleküler yöntemlerle tespit edildiği iki farenin yakalandığı Kaynarca deresinin etrafındaki köyler risk grubu olarak belirlendi. Kaynarca deresi etrafında bulunan Kırklareli iline bağlı Ataköy, Ayvalı, Hamzabey, Celaliye, Ceylanköy, Eskitaşlı, Tatarköy, Turgutbey ve Osmancık köyleri risk grubu olarak ve Kaynarca deresine paralel başka dereler etrafındaki Üsküpdere, Bayramdere, Kızılcıkdere, Değirmencik köyleri ve Kavaklı beldesi kontrol grubu olarak belirlendi (Şekil 4).

Çalışmanın Trakya bölgesinde yapılacak olmasından dolayı Kılınç ve arkadaşlarının (91) tespit ettiği seroprevalans değeri esas alınarak örneklem büyüklüğü hesaplandı. Köylerin toplam nüfusu Türkiye İstatistik Kurumu 2013 verilerine göre 12.561 olarak belirlendi. Seroprevalans değeri %0,3 alınarak toplam 728 kişi hesaplandı. Kişilere çeşitli nedenlerden ötürü ulaşamaması göz önüne alınarak yaklaşık olarak %10 yedek gönüllünün çalışmaya dahil edilmesine karar verildi ve toplam örneklem büyüklüğü 800 olarak belirlendi.

Çalışmaya katılması planlanan 13 köy ve 1 belde Eylül 2016 tarihinde tek tek ziyaret edilerek muhtarlarla görüşüldü ve hastalık ve çalışma hakkında bilgilendirme yapıldı. Ekim ayında çalışmaya katılması planlanan toplam sayı üzerinden köy köy dağılım yapılarak muhtarlarla iletişime geçildi ve sayılar bildirildi. 2016 Ocak ayında tüm köyler teker teker ziyaret edildi. Tularemi hastalığı hakkında sağlık çalışanları ve köy halkı sunum yapılarak bilgilendirildi. Hastalık hakkında hazırlanan bilgilendirme yazıları dağıtıldı ve posterler asıldı (Şekil 5).





Şekil 5. Hastalık hakkında bilgilendirme toplantıları

Gönüllülere ‘Tularemi Anket Formu’ Doldurulması, Gönüllülerden Kan Alımı

Toplam örneklem büyüklüğü 800 olarak belirlenen çalışmada gönüllülük esas alındığı için çalışmanın başında 746 kişiye ulaşıldı ve çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen gönüllü kişilerin kanları alındı ve Tularemi Anket Formu dolduruldu. Doldurulan Tularemi Anket Form’larının Statistical Package for the Social Sciences for Windows 20.0 (seri numarası: 10240642) programına girişi yapıldı ve ardından istatistiksel değerlendirme yapıldı. Risk grubu ve kontrol grubuna dahil edilen gönüllüler arasında risk faktörleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı Ki-kare testiyle analiz edildi. P değeri $< 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ocak ayında çalışmaya dahil edilen ve kanları alınan 746 kişiye Aralık ayında tekrar kanları alınmak üzere ulaşılmaya çalışıldı. Kişilerin gönüllü olmaması, başka bölgeye taşınmış olması, okul ve işte olmaları nedeniyle kişilere ulaşılamaması gibi nedenlerden dolayı 464 kişiden tekrar kan alınabildi. Yılın son ayında sadece kan alımı gerçekleştirildi, anket formu doldurulmadı.

Alınan kanların aynı gün Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar ependorf tüplerine aktarıldı. Her tüp hasta adı, soyadı yazılarak etiketlendi. Köy köy ayrılan serumlar aynı hafta içinde çalışılacağı güne kadar +4°C'de saklandı. Aynı işlemler yılın ilk ayı alınan 746 ve son ayı alınan 464 örneğe uygulandı.

Seroloji Testleri

Serolojik deneylerin yapılacağı gün +4°C'de saklanan serumlar çıkarıldı ve patentli tularemi antijeni (patent no: TPE-2008/01623 B-Şaban Gürçan) ile mikroaglutinasyon testleri gerçekleştirildi. Mikroaglutinasyon testleri sonuçların daha iyi değerlendirilebilmesi için V plate kullanılarak gerçekleştirildi. Negatif kontrol olarak serum fizyolojik, pozitif kontrol olarak pozitif hasta serumu kullanıldı.

- Her bir çukura 22,5 µl %0,9'luk serum fizyolojik konuldu.
- Üzerlerine gönüllü serumlarından 2,5 µl eklenerek serumlar 1/10 seyreltildi.
- Dilüe edilmiş serumların üzerine 25 µl tularemi antijeni eklendi ve her örnek için 1/20 tarama dilüsyonu hazırlanmış oldu.
- Testler 18 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra değerlendirildi.
- Şüpheli örneklerden yeniden titrasyon yapılarak test tekrarlandı.

Aynı işlemler yılın ilk ayı alınan 746 ve son ayı alınan 464 örneğe uygulandı.

Su Örneklerinin Alımı ve Filtre Edilmesi

Ocak ayında su örneklerini toplamak için köyler yeniden teker teker ziyaret edildi ve her köyden bir dere bir şebeke suyu olmak üzere ikişer adet su örnekleri alındı. Su örneklerinin alındığı zamanlarda hava sıcaklığı (+)1-(+5)°C arasında idi. Örnekler 5'er litrelik, 2 gün öncesinden 5/1000'lik sodyum-hipoklorid ile dezenfekte edilen plastik şişelere alındı. Derelerden su örnekleri alınmadan önce örnek suyu ile 2-3 kez çalkalandıktan sonra şişelere sular toplandı. Ev veya işyerlerinden çeşme suyu alınmadan önce musluk ağzı alev ile steril edildi, su 1-2 dakika akıtıldıktan sonra örnek alındı. Alınan sular köy isimleri yazılarak etiketlendi ve aynı akşam +4°C'ye kaldırıldı. Eş zamanlı olarak şebeke sularında klor miktarları ölçüldü. Ayrıca Kırklareli Halk Sağlığı Müdürlüğü'nün çalışma yapılan köylerdeki 1 yıllık klor ölçüm sonuçları incelendi. Yılın son ayı aynı dere ve çeşme sularından aynı yöntemler ile su örnekleri alındı. Su örneklerinin alındığı tarihte hava sıcaklığı (-1)-(+2) °C arasında idi. Ocak ayında 28, Aralık ayında 28 olmak üzere toplam 56 su örneği alındı.

Alınan su örneklerine filtrasyon işlemi uygulandı. Filtrasyon işlemi vakum filtrasyon seti (Sartorius Stedim Biotech/Almanya) ile gerçekleştirildi. Filtre işleminde 0,2 µm por çaplı sellüloz nitrat filtreler (Sartorius Stedim Biotech/Almanya) kullanıldı. Her bir su örneğinin yarısı filtre edildi ve filtreler kültür işlemlerinde kullanıldı. Su örneklerinin diğer yarısı filtre edildi ve filtreler DNA izolasyon işlemlerinde kullanıldı. Dere sularının yoğun olmasından dolayı filtreleme işleminde birden fazla filtre kullanıldı.

Suların Kültür İşlemleri

Çalışmaya başlamadan önce antibiyotikli Francis besiyeri hazırlandı. Hazırlanan besiyerlerinden birer adet sterilite ve üreme kontrolü amaçlı normal ve %5 CO₂'li etüvde inkübasyona bırakıldı. Üreme kontrolü amaçlı -80°C'de saklanan Yazıkara'da elde edilen bakteri suşu kullanıldı. Bakteri ekimi gerçekleştirilen besiyerinde dördüncü günde %5 CO₂'li etüvde daha yoğun olmak üzere üreme gerçekleşti. Üreyen kolonilere Gram boyama, oksidaz, katalaz işlemleri uygulandı. Bu işlemler Sınıf 2-Biyogüvenlik Kabini'nde gerçekleştirildi. Vitek 2 cihazı ile üreyen bakterinin *F. tularensis* olduğu doğrulandı. Sterilite kontrolü amacıyla inkübasyona bırakılan petrilere onuncu gün sonunda üreme olmadı. Besiyeri hazırlanması, sterilite ve üreme kontrolü yılın ilk ve son aylarında kültür işleminden önce gerçekleştirildi.

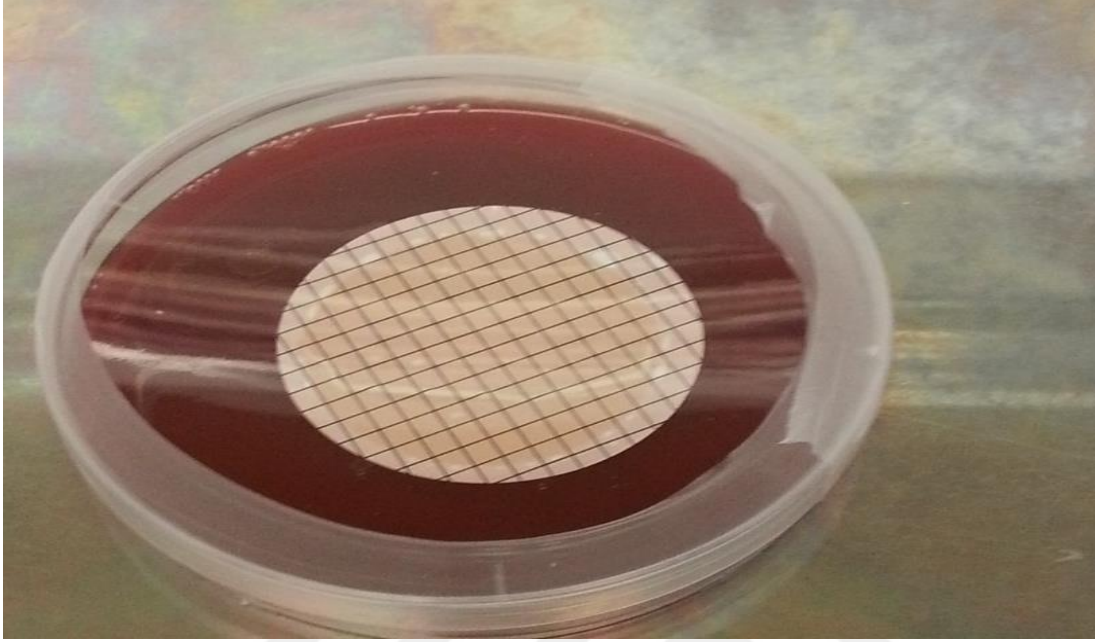
Antibiyotikli Francis besiyeri hazırlanışı:

100 ml besiyeri için;

- 100 ml brain heart infusion agar (BHIA) (Acumedia, Neogen, USA)
- 0,1 gr Cystine (Merck, Almanya)
- 1 gr glukoz (Sigma, Almanya)
- 2 gr Agar (Acumedia, Neogen, USA)
- %2,5 eritrosit süspansiyonu
- 100.000 ünite penisilin
- 10 ml sikloheksimid

100 ml BHIA hazırlandı, 2 gr agar ilave edildi. Karışım kaynatıldı ve ardından 1 gr glikoz, 0,1 gr cystine eklendi. 100 °C'de 30 dakika kaynatıldı. Ardından 50 °C'ye soğutuldu ve %2,5 eritrosit süspansiyonu eklendi. 100.000 ünite penisilin, 10 ml sikloheksimid eklendi. Her bir su örneğinin yarısı yaklaşık 2 litre filtre edildi ve filtreler steril pens ile alınarak Francis besiyerine yerleştirildi (Şekil 6). Besiyerleri 37 °C, %5 CO₂'li etüve kaldırıldı ve 10 gün boyunca her gün *F. tularensis* bakterisi açısından değerlendirildi. Şüpheli kolonilere Gram

boyama yapıldı. Gram boyamada gram negatif basil morfolojisinde görünen bakterilere oksidaz, katalaz işlemleri uygulandı.



Şekil 6. Francis besiyerine yerleştirilen membran filtreler

Suların Moleküler İşlemleri

Alınan su örneklerinin diğer yarısı filtre edildi. Sellüloz nitrat filtreler 5 ml steril distile su içeren falkon tüpler içerisine alındı. Tüpler 10 dakika vortekslenerek filtreye tutunmuş olabilecek bakterilerin distile suya geçmesi sağlandı. Ardından filtreler atıldı ve falcon tüpler 1500 devirde 20 dakika santrifüj edildi. Üste kalan kısım atılarak yaklaşık 200 µL çökelti DNA izolasyonu için kullanıldı.

- Pozitif kontrol olarak Francis besiyerinde üremiş *F. tularensis* kolonileri, negatif kontrol olarak steril distile su kullanıldı.
- DNA izolasyon işleminde peqGOLD Tissue DNA Mini Kit (peqlab, Almanya) kullanıldı.
- Elde edilen çökelti vortekslendi ve steril ependorflara alındı. Üzerlerine kit içerisinden çıkan 400 µL lysis buffer, 20 µL proteinaz K, 15 µL RNase eklendi ve 10 saniye vortekslendi. Bir saat 50 °C ısı bloğunda bekletildi. Tüpler 15-20 dakika aralıklarla vortekslendi.
- Tüpler ısı bloğundan çıkartıldı ve 30 saniye 10.000 rpm’de santrifüj edildi. Üste kalan kısım steril ependorflara aktarıldı, altta kalan kısım atıldı

- Süpernatant içeren tüplere 200 µL DNA binding buffer eklendi
- Kolonlar ve toplama tüpleri hazırlandı. Hazırlanan sıvıdan 750 µL kolonlara aktarıldı. İki dakika 10.000 rpm'de santrifüj edildi ve sıvının toplama tüplerine geçmesi, DNA'nın kolonda kalması sağlandı.
- Toplama tüpleri atıldı ve kolonlar yeni toplama tüplerine yerleştirildi. Kolonlara 650 µL DNA wash buffer koyuldu.
- Kolonlar 1 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edildi. Toplama tüpleri sıvıyla birlikte atıldı ve kolonlar yeni toplama tüplerine yerleştirildi. Bu yıkama ve santrifüj işlemi bir kez daha yapıldı.
- Kolonlar yeni toplama tüplerine yerleştirildi ve 2 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilerek kolonların kuruması sağlandı. Kolonlar tek tek etiketlenmiş ependorf tüplerine yerleştirildi ve üzerlerine 100 µL elution buffer eklendi. Üç dakika oda ısısında bekletildi ardından 1 dakika 6000 rpm'de santrifüj edilerek DNA'nın ependorflara geçmesi sağlandı. Elde edilen DNA'lar PCR işlemi yapılacak güne kadar -80 °C'de saklandı.
- Pozitif ve negatif kontroller NanoDrop ile ölçülerek DNA izolasyonu değerlendirildi.
- DNA izolasyon işlemi yılın ilk ve son aylarında alınan su örneklerine uygulandı.

Moleküler testler Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı.

- *ISFtu* genine yönelik primerlerin ve probun yer aldığı Tularemi Real Time PCR kiti kullanıldı.
- Soğuk zincir ile götürülen su örneklerinden izole edilen DNA'ların oda ısısına gelmesi beklendi.
- Her 4 örnek başına 31 µl Karışım A (Primerleri içeren tüp), 31 µl Karışım B (Prob içeren tüp), 31 µl Karışım C (MgCl₂ içeren tüp) solüsyonundan ve 1 µl Hot Start DNA polimeraz koyuldu ve pipet ile karıştırıldı.
- Steril PCR tüplerine, her örnek başına 23 µl olacak şekilde PCR karışımı dağıtıldı.
- PCR karışımının ardından 2'şer µl su örneklerinden elde edilen DNA'lar eklendi.
- Amplifikasyon işlemi Exicycler™ 96 Quantitative Real-Time PCR System'de gerçekleştirildi.
- PCR döngüsü 95°C'de 10 dakika denatürasyon, ardından 40 siklus 95°C'de 15 saniye, 60°C'de 1 dakika olarak uygulandı.

- Pozitif kontrol olarak *F. tularensis* NCTC 10857'in 10^4 GE (Genomik Equivalent) $\approx$ cfu/ml, 10^3 GE, 10^2 GE, 50 GE, 25 GE ve 10 GE dilüsyonları, negatif kontrol olarak master-mix ve *Brucella spp.* DNA'sı kullanıldı.



BULGULAR

ANKET SONUÇLARI

Yılın ilk ayında çalışmaya katılan 746 gönüllüye tularemi anket formu dolduruldu ve formların veri girişi yapılarak elde edilen veriler değerlendirildi. Anket form sonuçlarına göre çalışmaya; risk grubuna 397, kontrol grubuna 349 olmak üzere toplam 746 gönüllü katıldı.

Risk grubu olan köylerde toplam 397 kişiye ulaşıldı. Bunların 197'si kadın, 200'ü erkekti. Meslekleri sorgulandığında 18'inin avcılık, 75'inin çiftçilik, 5'inin hayvancılıkla uğraştığı tespit edildi. Risk grubunda gönüllülerin yaş ortalaması 53 olarak hesaplandı. Risk grubundaki gönüllülerde risk faktörlerine maruziyet sorgulandığında; av hayvanı yeme %11,3, av hayvanı ile temas %6,3, fare ile temas %2,5, çevreden su içme %3,3, dereden bahçe sulaması %16,6 ve derede yüzme %17,6 olarak hesaplandı (Tablo 1). Bulaşta risk faktörü olabilecek çevreden su içme, dereden bahçe sulaması ve derede yüzme gönüllülerde oldukça düşük oranlarda tespit edildi.

Risk grubu gönüllülerinin kullandıkları su kaynakları sorgulandığında %99,7 oranında şebeke, hazır su veya arıtıcı kullanarak şebeke suyu kullandıkları tespit edildi. Risk grubuna dahil edilen 397 kişiden 394'ü sularının klorlandığını belirtti (Tablo 2).

Tablo 1. Risk grubundaki gönüllülerde risk faktörlerine maruz kalanların sayıları

Köy adı	Gönüllü sayısı	Av hayvanı yeme	Av hayvanı temas	Fare ile temas	Fare sayısında artış	Kemirici atığı görme	Kemirici ölüsü görme	Böcek ısırığı	Çevreden yiyecek	Çevreden su içme	Dereden bahçe sulaması	Derede yüzme	Ev içinde hayvan	Bahçede hayvan	Ev hayvanlarında ölüm	Doğada uğraş
Ataköy	45	6	2	0	1	17	9	8	14	2	30	18	3	27	0	38
Celaliye	98	7	6	5	3	41	37	19	15	0	12	13	1	64	1	54
Ceylanköy	25	5	1	1	0	6	5	6	4	0	5	11	0	16	0	15
Eskitaşlı	55	3	1	0	0	17	10	11	8	0	5	1	1	31	2	34
Hamzabey	22	7	5	1	1	6	4	7	4	1	4	8	0	16	3	15
Osmancık	26	5	3	0	0	11	11	7	5	3	5	8	1	16	1	10
Tatarköy	48	8	7	2	4	24	16	15	6	1	2	7	0	39	4	39
Turgutbey	78	4	0	1	4	20	25	19	9	6	3	4	2	39	1	43
Toplam	397	45	25	10	13	142	117	92	65	13	66	70	8	248	12	248

Tablo 2. Risk grubunun su ile ilgili sorgulama sonuçları*

Köy adı	Gönüllü sayısı	Kullandığı su kaynağı				Su klorlanması	Yağmurlu günlerde su bulanıklığı
		Şebeke	Kaynak suyu	Hazır su	Diğer		
Ataköy	45	43	0	1	0	42	13
Celaliye	98	76	0	7	0	98	10
Ceylanköy	25	21	0	2	0	25	6
Eskitaşlı	55	51	0	3	0	55	7
Hamzabey	22	20	0	0	0	22	0
Osmancık	26	19	0	2	0	26	4
Tatarköy	48	43	0	0	0	48	7
Turgutbey	78	63	2	1	0	78	9
Toplam	397	336	2	16	0	394	56

*Risk grubundaki gönüllülerin su kullanımındaki kombinasyonlar:

Şebeke ve hazır su kullananlar; Ataköy 1, Celaliye 6, Hamzabey 1, Osmancık 2, Tatarköy 2, Turgutbey 8.

Şebeke ve arıtıcı kullananlar; Celaliye 9, Ceylanköy 2, Eskitaşlı 1, Hamzabey 1, Osmancık 3, Tatarköy 3, Turgutbey 2.

Şebeke ve kaynak suyu kullananlar; Turgutbey 2.

Kontrol grubu olan köylerde toplam 349 kişiye ulaşıldı. Bunların 164'ü kadın, 185'i erkek, 3'ü avcı, 46'sı çiftçi, 4'ü hayvancılıkla uğraşıyordu. Yaş ortalaması 52,3 olarak hesaplandı. Kontrol grubundaki gönüllülerde risk faktörlerine maruziyet sorgulandığında; av hayvanı yeme %16, av hayvanı ile temas %8,3, fare ile temas %4,3, çevreden su içme %4,9,

dereden bahçe sulaması %7,2 ve derede yüzme %4,9 bulundu (Tablo 3). Gönüllülerin kullandıkları su kaynakları sorgulandığında %99,1 oranında kaynak suyu dışındaki su kaynaklarını kullandıkları tespit edildi. Kontrol grubuna dahil edilen 349 kişiden 346'sı sularının klorlandığını belirtti (Tablo 4).

Tablo 3. Kontrol grubundaki gönüllülerde risk faktörlerine maruz kalanların sayıları

Köy adı	Gönüllü sayısı	Av hayvanı yeme	Av hayvanı temas	Fare ile temas	Fare sayısında artış	Kemirici atığı görme	Kemirici ölüsü görme	Böcek ısırığı	Çevreden yiyecek toplama	Çevreden su içme	Dereden bahçe sulaması	Derede yüzme	Ev içinde hayvan	Bahçede hayvan	Ev hayvanlarında ölüm	Doğada uğraş
Ayvalı	32	0	0	0	0	5	6	6	2	4	1	1	0	16	0	15
Bayramdere	33	6	2	1	4	12	12	0	13	0	8	2	1	29	0	28
Değirmencik	27	3	3	1	0	7	8	11	4	4	2	1	0	15	0	19
Kavaklı	166	28	16	7	19	32	31	23	17	2	8	7	10	92	5	70
Kızılcıkdere	80	19	8	6	8	39	37	4	3	7	4	4	0	62	0	58
Üsküpdere	11	0	0	0	0	7	4	0	1	0	2	2	1	7	0	9
Toplam	349	56	29	15	31	102	98	44	40	17	25	17	12	221	5	199

Tablo 4. Kontrol grubunun su ile ilgili sorgulama sonuçları*

Köy adı	Gönüllü sayısı	Kullandığı su kaynağı				Su klorlanması	Yağmurlu günlerde su bulanıklığı
		Şebeke	Kaynak suyu	Hazır su	Diğer		
Ayvalı	32	23	1	3	0	32	12
Bayramdere	33	18	0	5	0	33	5
Değirmencik	27	25	1	0	0	27	1
Kavaklı	166	126	1	8	1	163	30
Kızılcıkdere	80	60	0	3	0	80	0
Üsküpdere	11	9	0	2	0	11	0
Toplam	349	261	3	21	1	346	48

* Kontrol grubundaki gönüllülerin su kullanımındaki kombinasyonlar:

Şebeke ve hazır su kullananlar; Ayvalı 4, Değirmencik 1, Kavaklı 15, Kızılcıkdere 7

Şebeke ve artıci kullananlar; Ayvalı 1, Bayramdere 10, Kavaklı 16, Kızılcıkdere 10

Kontrol ve risk grubu risk faktörleri açısından Ki-kare testiyle değerlendirildi. Fare sayısında artış kontrol grubunda, böcek ısırığı, dereden bahçe sulaması ve dereye yüzme risk grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 5).

Tablo 5. Risk faktörlerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi

RİSK FAKTÖRLERİ	RİSK GRUBU (N=397)		KONTROL GRUBU (N=349)		Odds ratio	%95 Güvenlik Aralığı	p
	N	%	n	%			
Av hayvanı yeme	45	11,33	56	16,04	0,669	0,439 – 1,020	0,061
Av hayvanı temas	25	6,29	29	8,3	0,742	0,426 – 1,292	0,290
Fare ile temas	10	2,51	15	4,3	0,575	0,255 – 1,298	0,178
Fare sayısında artış	13	3,27	31	8,88	0,347	0,179 – 0,675	0,001
Kemirici atıklarına rastlama	142	35,77	102	29,22	1,348	0,990 – 1,836	0,057
Kemirici ölüsü görme	117	29,47	98	28,08	1,070	0,779 – 1,471	0,676
Böcek ısırığı	92	23,17	44	12,61	2,091	1,412 – 3,097	0,000
Çevreden yiyecek toplama	65	16,4	40	11,46	1,512	0,991 – 2,309	0,054
Çevreden su içme	13	3,27	17	4,9	0,661	0,316 – 1,381	0,268
Dereden bahçe sulaması	66	16,62	25	7,16	2,584	1,591 – 4,198	0,000
Dereye yüzme	70	17,63	17	4,87	4,181	2,408 – 7,257	0,000
Ev içinde hayvan	8	2,01	12	3,44	0,578	0,233 – 1,430	0,230
Bahçede hayvan	248	62,5	221	63,32	0,964	0,716 – 1,298	0,809
Ev hayvanlarında ölüm	12	3,02	5	1,43	2,144	0,748 – 6,149	0,146
Doğada uğraş	248	62,47	199	57,02	1,255	0,935 – 1,683	0,130
Su klorlanması	394	99,24	346	99,14	1,139	0,228 – 5,679	0,874
Yağmurlu günlerde su bulanıklığı	56	14,10	48	13,75	1,030	0,680 – 1,560	0,890

SEROLOJİ SONUÇLARI

Ocak ve Aralık 2016 tarihleri olmak üzere yılın ilk ve son aylarında yapılması planlanan çalışmaya Ocak 2016 tarihinde 746 gönüllü katıldı. Çalışmaya katılan 746 gönüllüden alınan kan örnekleriyle tularemi mikroaglutinasyon testi çalışıldı ve seropozitiflik saptanmadı. Yılın son ayında 464 kişiye ulaşıldı. Alınan kan örnekleriyle tularemi mikroaglutinasyon testi çalışıldı ve seropozitiflik saptanmadı. Yılın ilk ve son aylarında gönüllü serumlarında yapılan tularemi mikroaglutinasyon testinde seronegatif durumdan seropozitif hale dönen hiçbir olguya rastlanmadı ve insidans ‘sıfır’ olarak hesaplandı (Tablo 6).

Tablo 6. Yılın ilk ve son ayları seroloji sonuçları

Ocak 2016			Aralık 2016		
Köy adı	Gönüllü sayısı	Test sonucu	Köy adı	Gönüllü sayısı	Test sonucu
Risk grubu					
Ataköy	45	(-) Negatif	Ataköy	36	(-) Negatif
Celaliye	98	(-) Negatif	Celaliye	56	(-) Negatif
Ceylanköy	25	(-) Negatif	Ceylanköy	14	(-) Negatif
Eskitaşlı	55	(-) Negatif	Eskitaşlı	42	(-) Negatif
Hamzabey	22	(-) Negatif	Hamzabey	18	(-) Negatif
Osmancık	26	(-) Negatif	Osmancık	20	(-) Negatif
Tatarköy	48	(-) Negatif	Tatarköy	42	(-) Negatif
Turgutbey	78	(-) Negatif	Turgutbey	42	(-) Negatif
Ayvalı	32	(-) Negatif	Ayvalı	22	(-) Negatif
Kontrol grubu					
Bayramdere	33	(-) Negatif	Bayramdere	30	(-) Negatif
Değirmencik	27	(-) Negatif	Değirmencik	21	(-) Negatif
Kavaklı	166	(-) Negatif	Kavaklı	53	(-) Negatif
Kızılcıkdere	80	(-) Negatif	Kızılcıkdere	58	(-) Negatif
Üsküpdere	11	(-) Negatif	Üsküpdere	10	(-) Negatif
Toplam	746	(-) Negatif	Toplam	464	(-) Negatif

KÜLTÜR SONUÇLARI

Çalışmaya dahil edilen 13 köy ve 1 beldeden Ocak 2016 tarihinde alınan dere ve şebeke suyu örneklerine kültür işlemi uygulandı. Dere ve şebeke sularında 10 günlük inkübasyon sonunda *F. tularensis* üremesi olmadı. Aralık 2016 tarihinde aynı yerlerden alınan dere ve şebeke sularına kültür işlemi uygulandı. Dere ve şebeke sularında 10 günlük inkübasyon sonunda *F. tularensis* üremesi olmadı. Dere sularında Ocak ve Aralık 2016 tarihlerinde Gram (-) basil, Gram (+) basil, Gram (+) kok morfolojisinde karışık üremeler oldu. Kaynak sularında olan üremeler tablo 7’de belirtildi. Şebeke sularında eş zamanlı olarak klor ölçümü yapıldı. Ocak ve Aralık 2016 tarihinde yapılan klor ölçümleri sonucu sıfır olarak tespit edildi. Şebeke sularında klor ölçümü yapılmadan önce klor ölçüm kiti Kırklareli Halk Sağlığı Müdürlüğü’nde denendi. Ayrıca Kırklareli Halk Sağlığı Müdürlüğü 1 yıllık klor ölçüm sonuçları incelendi ve çalışma yapılan köylerde yetersiz klorlamanın olduğu görüldü.

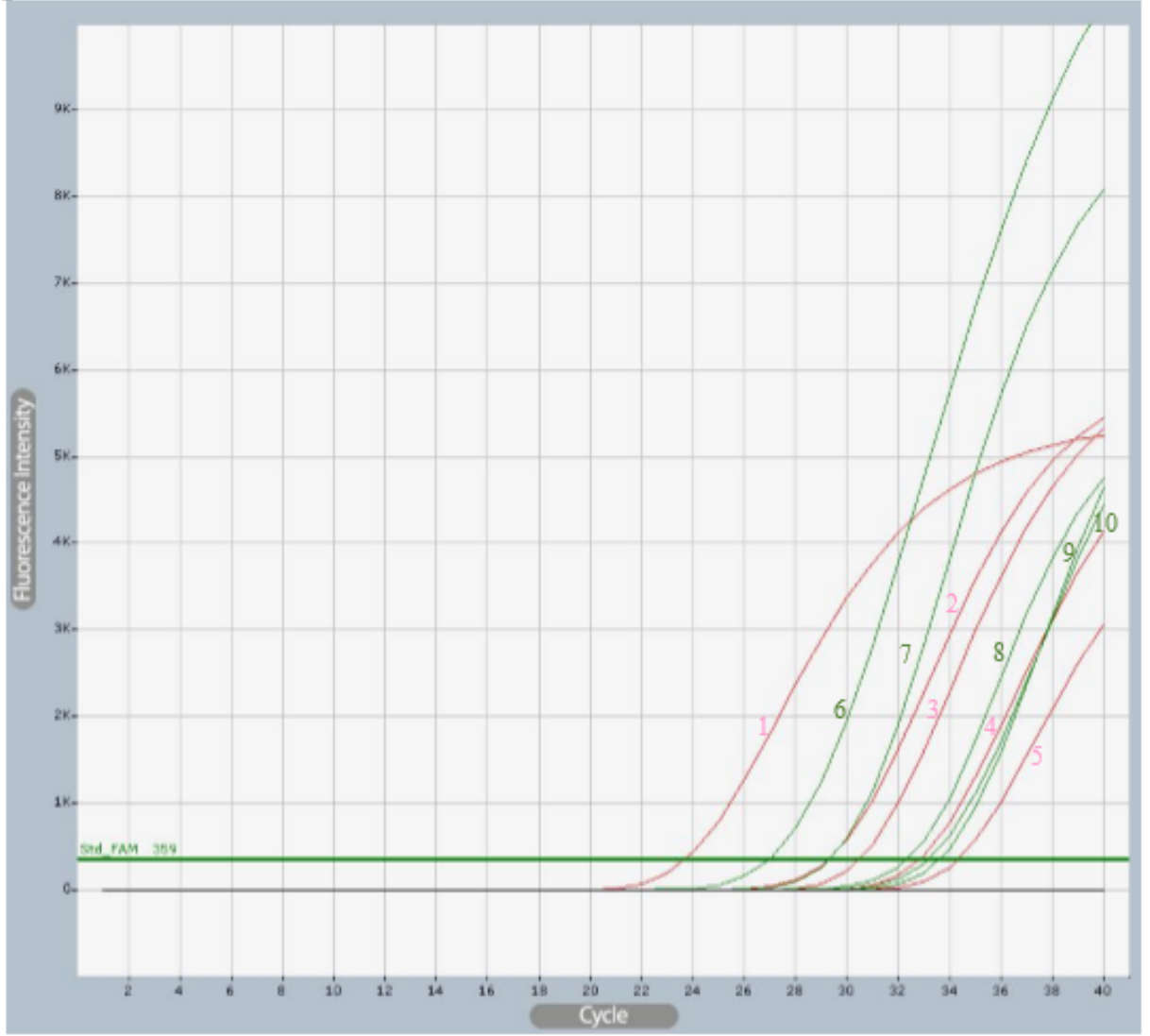
Tablo 7. Şebeke suları üreme sonuçları

Ocak 2016		Aralık 2016	
Köy adı	Kaynak suları üreme sonucu	Köy adı	Kaynak suları üreme sonucu
Risk grubu			
Ataköy	Gr (-) basil	Ataköy	Gr (-) basil, gr (+) basil
Celaliye	Üreme yok	Celaliye	Üreme yok
Ceylanköy	Gr (-) basil	Ceylanköy	Gr (-) basil
Eskitaşlı	Üreme yok	Eskitaşlı	Üreme yok
Hamzabey	Üreme yok	Hamzabey	Üreme yok
Osmancık	Üreme yok	Osmancık	Üreme yok
Tatarköy	Gr (-) basil, gr (+) basil	Tatarköy	Gr (-) basil, gr (+) basil
Turgutbey	Üreme yok	Turgutbey	Üreme yok
Ayvalı	Gr (-) basil	Ayvalı	Gr (-) basil
Kontrol grubu			
Bayramdere	Gr (-) basil	Bayramdere	Gr (-) basil
Değirmencik	Gr (-) basil	Değirmencik	Gr (-) basil
Kavaklı	Üreme yok	Kavaklı	Üreme yok
Kızılcıkdere	Gr (-) basil	Kızılcıkdere	Üreme yok
Üsküpdere	Üreme yok	Üsküpdere	Üreme yok

MOLEKÜLER SONUÇLAR

Tularemi real time-PCR testi sonucunda 2 adet dere, 3 adet şebeke suyunda pozitiflik tespit edildi. Yılın ilk ve son aylarında her köyden birer adet olmak üzere dere ve şebeke suyu alındı ve PCR uygulandı. Ocak 2016 yılında alınan örneklerde pozitiflik tespit edilmezken, Aralık 2016 tarihinde alınan örneklerde pozitiflik saptandı. Kavaklı beldesi ve Celaliye köyünden alınan dere sularında ve Hamzabey, Tatarköy, Ceylanköy köylerinden alınan şebeke sularında *F. tularensis* DNA'sı tespit edildi. Pozitiflik tespit edilen 4 köy risk grubu iken Kavaklı beldesi kontrol grubu idi. Kantitasyon amacıyla pozitif kontrolün dilüsyon sonuçları ile sulardan elde edilen sonuçlar karşılaştırıldı. Kavaklı dere suyu 10^3 GE, Celaliye dere suyu 25 GE, Hamzabey şebeke suyu 50 GE, Tatarköy şebeke suyu 10^3 GE, Ceylanköy şebeke suyu 50 GE olarak tespit edildi (Şekil 7).

Negatif kontrolde amplifikasyon saptanmadı.



Şekil 7. Pozitif kontroller ile birlikte pozitif saptanan su örneklerinin PCR eğrileri (1: 10^4 GE pozitif kontrol, 2: 10^3 GE pozitif kontrol, 3: 10^2 GE pozitif kontrol, 4: 50 GE pozitif kontrol, 5: 25 GE pozitif kontrol, 6: Tatarköy şebeke suyu, 7: Kavaklı dere suyu, 8: Hamzabey şebeke suyu, 9: Ceylanköy şebeke suyu, 10: Celaliye dere suyu)

TARTIŞMA

Tularemi, Türkiye’de ilk kez 1936 yılında Trakya Bölgesi’nde bildirilmiştir. Lüleburgaz Askeri Hastanesi’ndeki askerlerde, Silivri, Çatalca ve Tekirdağ köylerinde vakalar tespit edilmiştir (11,38). Bölgede yapılan incelemeler sonucu daha önceden hastalık geçirdiği ve nedbe izi bulunan kişilerde seropozitiflik saptanmış ve hastalığın daha eski yıllardan beri Trakya Bölgesi’nde olduğu belirtilmiştir. Lüleburgaz’da 1945 yılında Lüleburgaz garnizonundan 15 asker ve sivil halktan 3 kişinin etkilendiği ikinci bir salgın yaşanmıştır (11). Trakya Bölgesi’nde uzun bir sessizliğin ardından 2005 yılında Edirne Demirköy’de 7’si orofaringeal tularemi, 3’ü asemptomatik olmak üzere 10 kişiyi etkileyen bir salgın meydana gelmiştir (10). 2010 yılında Tekirdağ- Muzruplu’da 8 çocuk tularemi tanısı almıştır (46). Bütün bu salgınlar bize etkenin çok eski yıllardan beri bölgemizde var olduğunu ve uzun bir sessizliğin ardından yeniden ortaya çıktığını göstermektedir.

Risk grubu olarak seçilen bölge 1936 yılında vaka bildirimlerinin olduğu ve 2012 yılında etkeni taşıdığı tespit edilen farelerin yaşadığı Kaynarca deresinin etrafındaki Ataköy, Ayvalı, Hamzabey, Celaliye, Ceylanköy, Eskitaşlı, Tatarköy, Turgutbey ve Osmancık köyleridir (24). Kontrol grubu olarak seçilen bölge bu dereye paralel başka derelerin etrafındaki Üsküpdere, Bayramdere, Kızılcıkdere, Değirmencik köyleri ve Kavaklı beldesidir. Kontrol grubunda bulunan köylerin özelliği daha eski yıllar da dahil hiçbir zaman hiçbir olgunun bildirilmediği veya etkenin başka kaynaklarda da gösterilmediği köyler olmasıdır. Son yıllarda vaka bildirimini olmamasına rağmen 2012 yılında etkenin Kaynarca Deresi etrafından yakalanan farelerde tespit edilmiş olması hastalığın hala bu bölge için bir risk oluşturduğunu göstermektedir (24).

İlk salgınların Trakya Bölgesi'nde yaşanmasının ardından ülkemizin diğer bölgelerinde de birçok salgın yaşanmış ve vaka bildirimleri olmuştur. Yaşanan salgınların ve vaka bildirimlerinin ardından o bölgelerde seroprevalans çalışmaları yapılmıştır. Günümüze kadar yapılan seroprevalans çalışmalarının çoğu bir salgın veya vaka bildiriminin ardından yapılmış iken ülkemizde gerçek anlamda insidans çalışması yoktur. Bu çalışma prospektif bir insidans çalışmasıdır ve henüz bir salgın veya vaka bildirimi olmayan fakat geçmiş yıllardaki verilere dayanarak riskli olduğu tespit edilen bölgelerde gerçekleştirilmiştir.

Kuzey Amerika ve İsveç'te yapılan çalışmalarda tularemi seroprevalansının %0-1,8 arasında olduğu belirtilmektedir. Avrupa'da salgın esnasında yapılan çalışmalarda ise seroprevalans değeri %9,7-19,7 arasında değişmektedir. Amerika'da risk grubu olan bahçe işleriyle uğraşan kişilerde yapılan çalışmada seroprevalans değeri %9,1 olarak tespit edilmiştir (105). İspanya'da 559 kişinin etkilendiği salgın yaşanmadan önce alınan serumlarda daha sonradan yapılan seroprevalans çalışmasında 4825 kişiden %0,2'sinde antikor pozitifliği bildirilmiştir (106).

Ülkemizdeki seroprevalans çalışmalarını inceleyecek olursak ilk çalışma 1988 yılında Bursa'da salgından sonraki dönemde gerçekleştirilmiştir. Vaka bildirimlerinin olduğu 10 köy ve vaka bildirimi olmayan 2 köy çalışmaya dahil edilmiş, vaka bildirimi olmayan köyde seropozitiflik saptanmazken, salgının gerçekleştiği köylerde seropozitiflik oranı %20,9 olarak hesaplanmıştır (22). Bolu'da 2001 yılında aynı köyde yaşayan 5 kişinin tularemi tanısı almasının ardından bölgede yapılan çalışmada 14 kişiden alınan serum örneklerinde *F. tularensis*'e karşı oluşmuş antikorlar tespit edilmiş ve seroprevalans %16,7 bulunmuştur (39). Edirne'de 2005 yılında bir kadın hastaya tularemi tanısı konulması ve aynı köyde yaşayan başka kişilerde de benzer semptomların olduğunun öğrenilmesinin ardından bölgede tarama yapılmıştır. İlk vakanın saptandığı köyde yaşayan 266 ve çevre köylerde yaşayan 124 kişiden serum örnekleri alınmış ve seroprevalans %2,6 olarak hesaplanmıştır (10). Bu 3 çalışmada salgın ve vaka bildirimleri ardından gerçekleştirilmiştir. Bildiğimiz kadarıyla ilk defa 2006 yılında Edirne'de bir salgın yaşanmadan veya bir vaka bildirimi olmadan 1782 kişinin dahil edildiği geniş kapsamlı bir çalışma yapılmış ve seroprevalans değeri %0,3 olarak bulunmuştur. Kırklareli iline bağlı Ceylanköy köyünde 2, Seyitler köyünde 1, Tekirdağ'a bağlı Yukarısevindikli köyünde 1 ve Edirne'ye bağlı Aliçopehlivan köyünde 1 kişide olmak üzere toplam 5 kişide değişen titrelerde seropozitiflik tespit edilmiştir (91). 2011 yılında da aynı şekilde henüz hiç vaka bildiriminin olmadığı fakat tarım ve hayvancılıkla uğraşın yüksek olması nedeniyle riskli bölge olduğu düşünülen Erzurum'da seroprevalans çalışması yapılmıştır.

Özellikle tarım ve hayvancılıkla uğraşan kişilerin dahil edildiği çalışmada seroprevalans değeri %2,1 olarak bulunmuştur (92). Van'da 2012 yılında kırsal alanlarda yaşayan 495 kişinin dahil edildiği çalışmada seroprevalans değeri %3.6 olarak bulunmuştur (51).

Bu çalışmada 2016 yılının ilk ve son aylarında gönüllü serumlarında *F. tularensis*'e karşı gelişen antikorlar aranmış ve insidans hesaplaması yapılması hedeflenmiştir. Ocak 2016'da bölgede yaşayan 746 kişiye ulaşılmış ve seropozitiflik tespit edilmemiştir. Yılın son ayı aynı kişilere ulaşılmaya çalışılmış fakat taşınma, çalışmanın yapıldığı dönemde köyde bulunmama veya gönüllü olmama gibi nedenlerden dolayı 464 kişiye ulaşılmıştır. Özellikle kontrol grubunda yer alan Kavaklı beldesinde çalışmaya katılımda büyük bir düşüş yaşanmıştır. Bir önceki yıl beldede bulunan fabrikanın kapanması ve burada çalışan belde halkının il merkezinde çalışmaya başlaması düşüşün bir nedenidir. Köylerde katılım sayısında önemli bir düşüş yaşanmamıştır. Yılın ilk ve son aylarında gönüllü serumlarında yapılan tularemi mikroaglutinasyon testinde seronegatif durumdan seropozitif hale dönen hiçbir olguya rastlanmamış ve insidans 0 olarak hesaplanmıştır. Henüz bir vaka veya salgın yok iken yapılan çalışmada riskli bölgelerde yaşayan kişilerin tularemi açısından taranması hedeflenmiştir. Salgın veya vaka bildirimleri ardından yapılan çalışmalarda seroprevalans oranı %20 gibi yüksek değerlere ulaşırken, diğer çalışmalarda oran %0,3-3,6 gibi düşük değerlerde tespit edilmiştir. Bizim çalışmamız da henüz bir vaka bildirimi yok iken yapılmıştır ve insidans 'sıfır' olarak bulunmuştur.

Çalışmanın bir diğer amacı sulara etkenin aranması idi. Farelerde tespit edilen etkenin fare çıkartıları veya ölümleri ile sulara karışmış olma ihtimali bulunmaktadır (24). Bu nedenle 2012 yılında etkenin farelerde tespit edildiği Kaynarca deresi boyunca ve paralel başka derelerden ve bu derelerin geçtiği yerleşim yerlerindeki şebeke sularından örnekler alınarak kültür ve PCR çalışması yapılmıştır.

Ülkemizde sık olarak görülen orofaringeal tularemi en önemli bulaş yolu sudur ve suların fare gibi kemirgenlerle kontamine olduğu düşünülmektedir (20-22,44,70). Kosova'da yaşanan salgında fare sayısında artış yaşandığı ve farelerin gıda ve suları kontamine ettiği belirtilmektedir (36). Ülkemizde ilk salgından sonra yapılan incelemelerde farelerde önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir. Farelerin özellikle dere kenarlarında artış göstermesi derelerin fareler tarafından kontamine edildiğini düşündürmüştür (21). Bursa'da 1988 yılında yaşanan salgında da fare sayısında artış olduğu belirtilmiştir (22). Düzce'de 2000 yılında yaşanan salgında kümes hayvanı çiftliklerinin kurulması nedeni fare sayısında artış olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bir kuyu suyunda fare karkasına rastlanmış olması suların fareler

tarafından kontamine edildiğini düşündürmektedir (70). Tokat'ta 2005 yılında yaşanan salgınlarda farelerden bulaş olduğu düşünülmüş fakat etken farelerde gösterilememiştir (43). Edirne – Demirköy'de 2005 yılında yaşanan salgından önce bölgede fare sayısında artış olduğu belirtilmiştir. Salgında ölü olarak yakalanan 8 farenin karaciğer ve dalak dokusuna kültür ve PCR yöntemleri uygulanmış fakat etken tespit edilememiştir (10). Kırıkkale'de 42 farenin karaciğer ve dalak dokularında kültür ve PCR yöntemleri ile *F. tularensis* aranmış fakat pozitiflik saptanamamıştır (71). Trakya Bölgesi'nde 2012 yılında etken farelerde aranmış ve Kaynarca deresi etrafında yakalanan iki farede PCR ile etken gösterilmiştir (24). Etkenin bölgedeki farelerde tespit edilmiş olması suların fareler tarafından kontamine edilme riskini düşündürmektedir.

Çalışmamızda suların kontaminasyon riskini ortaya çıkarmak amacıyla Kaynarca deresi boyunca olan dere kollarından ve bu derelerin geçtiği köylerdeki şebeke sularından ve paralel başka dere ve bu derelerin içinden geçtiği köylerdeki şebeke sularından örnekler alınmıştır. Yapılan kültür işlemi sonucu *F. tularensis* bakterisi izole edilememiş fakat etken PCR ile 2 dere ve 3 şebeke suyunda pozitif olarak saptanmıştır. Derelerden biri risk grubu olarak kabul edilen Kaynarca deresine çok yakın olan ve 1936 yılında vakaların görüldüğü Celaliye köyünden geçen dere iken diğeri aynı bölgede fakat daha uzak mesafede olan ve kontrol grubu olarak kabul edilen Kavaklı beldesinden geçen deredir. Ayrıca 1936 yılında olgu bildirimlerinden dolayı risk grubu olarak kabul edilen Kaynarca deresi etrafında bulunan Hamzabey, Ceylanköy ve Tatarköy köylerinden alınan şebeke sularında da etken tespit edilmiştir. Sulara kültür ve PCR işlemleri uygulanmış, kültürde üreme saptanmazken PCR ile pozitiflik tespit edilmiştir. Günay ve ark. (91) tarafından 2006 yılında yapılan seroprevalans çalışmasında Ceylanköy'de yaşayan 2 kişide tularemi seropozitifliği saptanmış olması düşünüldüğünde aynı yerde 10 yıl sonra şebeke suyunda etkenin gösterilmiş olması ilginçtir. Bu bulgular riskli bölgede riskin devam ettiği hatta yakın bölgelere de riskin yayıldığını düşündürmüştür.

Etkeni üretmek için altın standart yöntem kültürdür. Bulaş riski yüksek bir bakteri olması nedeniyle örneklerin çalışılması için biyogüvenlik düzeyi 2 şartlarında, kültür, antibiyogram ve biyokimyasal testlerin yapılması için ise biyogüvenlik düzeyi 3 şartlarında çalışmak gerekmektedir. İn vitro olarak yavaş ve nazlı üremesi nedeniyle etkeni kültürden izole etmek zor iken, laboratuvar enfeksiyonu riski nedeniyle de tehlikelidir (86). Kültürün duyarlılığın %25 gibi çok düşük oranda olduğu gözönüne alındığında PCR ile tespit edilen etkenin kültür ile izole edilememesi olağan bir durumdur (11). Birçok çalışmada etken çok

düşük oranlarda kültürde üretilebilmiştir. 1984-1985 yıllarında Norveç'te meydana gelen salgında 57 kişi tularemi tanısı almış ve yalnızca bir hastanın deri ülserinden etken izole edilmiştir (107). 88 tularemi vakasının incelendiği bir çalışmada sadece 5 hastadan alınan 2 kan, 2 deri ülseri sürüntüsü ve bir konjunktival akıntıda etken kültür ile izole edilebilmiştir (108). Bursa'da 205 tularemi vakasının incelendiği bir çalışmada sadece 10 hastadan alınan örneklerde etken kültürde üretilmiştir (109). 2005-2006 yıllarında tularemi tanısı konulan 12 hastaya ait 16 örneğe Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde kültür yapılmış, sadece iki hastanın lenf nodu aspiratından etken üretilmiştir (60). Şimşek ve arkadaşları (110) üç farklı salgında toplanan 154 klorlanmamış su örneğine kültür ve PCR işlemi uygulamış ve örneklerin 17 tanesinde etken PCR ile gösterilirken, 4 tanesinden *F. tularensis* izole edebilmişlerdir. Bütün bu çalışmalar etkeni kültür ile üretmenin zor olduğunu göstermektedir. Sunulan çalışmada da etkenin sulardan izole edilememesi doğal bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Kültürün tularemi etkenini saptamadaki düşük başarısı nedeniyle son yıllarda moleküler teknikler klinik ve çevresel örneklerden bakterinin tespitinde önem kazanmıştır ve sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle DNA miktarının eş zamanlı izlenebildiği Real-Time PCR daha hızlı sonuç vermesi ve duyarlılığın standart PCR'a göre daha iyi olması nedeniyle tercih edilmektedir. Real-Time PCR saptama sınırı 10-100 GE'dir. Real-time TaqMan PCR metodu *F. tularensis*'e ait DNA'nın saptanmasında kullanılan bir moleküler yöntemdir. Bu yöntemde primerlere ek olarak bir prob kullanılır ve PCR siklusları ilerledikçe çalışılan örnekte hedef DNA varsa prob yıkılır, ucundaki florofor serbest kalır ve ışıma gittikçe artar. Real time TaqMan PCR hayvan dokuları ve idrar, dışkı gibi çıkartıları yanı sıra su örneklerinde etkeni tespit etmek için sıklıkla kullanılmaktadır (95). Çalışmada Real time TaqMan PCR yöntemi kullanılmış ve sularda *F. tularensis* DNA'sı tespit edilmiştir.

Amerika'da yapılan bir çalışmada 10 klinik, 6 hayvan dokusu olmak üzere toplam 16 örneğin 15'inde etken PCR ile tespit edilmiştir (97). Yine Amerika'da infekte hayvan karkasları üzerinde yapılan bir çalışmada kültür ve Real time TaqMan PCR kıyaslanmış ve TaqMan PCR anlamlı olarak ($p \leq 0,05$) daha duyarlı bulunmuştur (100). Yapılan birçok çalışmada hem sularda hem insan ve hayvan örneklerinde etken kültürde üretilemez iken PCR ile tespit edilmiştir. Çin'de yapılan bir çalışmada bakteri inoküle edilen farelerde 24 saat sonra yapılan çalışmada 46 farenin 38'inde PCR ile etken tespit edilmiştir (111). Kocaeli'de 2005 yılında 17 kişinin seropozitif olarak bulunduğu salgında, salgının kaynağını tespit etmek için su örnekleri toplanmıştır. Pınar sularından alınan örneklerde kültür ile üreme saptanmazken Real time PCR ile *F. tularensis* DNA'sı gösterilmiştir (17). Edirne Demirköy'de 2005 yılında 3'ü

asemptomatik 10 tularemi vakasının tespit edildiği salgınının ardından bölgede gerçekleştirilen saha çalışmaları sonucunda etken sulara ve bir lenf nodu aspiratında PCR ile tespit edilmiştir. Hasta örnekleri, hayvan dokuları ve su örneklerine PCR'ın yanısıra kültür işlemi de uygulanmış fakat etken üretilmemiştir (10). Çanakkale'de 2009 yılında tularemi salgını sonrası yapılan bir çalışmada su örnekleri incelenmiş ve 16 su örneğinin 8'inde PCR ile pozitiflik tespit edilmiş, kültürde üreme olmamıştır. Ayrıca seropozitif kişilerden alınan bir lenf bezi akıntısında ve bir boğaz sürüntüsünde etken PCR ile pozitif bulunurken kültürde üreme olmamıştır (20). Çankırı'da 2009 yılında aynı köyden gelen iki hastaya tularemi tanısı konulmasının ardından bütün köy halkından ve sulardan örnekler alınmıştır. 15 kişide seropozitiflik tespit edilirken ortak kullanılan köy suyunda PCR ile etken gösterilmiştir. Sulara kültür işlemi uygulanmış fakat etken üretilmemiştir (44). Çalışmamızda da birçok çalışma ile uyumlu olarak etken 5 su örneğinde Real-time TaqMan PCR metodu ile tespit edilirken kültür ile izole edilememiştir.

Çalışmamızda şebeke sularından kültür ve PCR işlemi için örnek alınırken eş zamanlı klor ölçümü yapılmış ve klor değerleri sıfır olarak tespit edilmiştir. Anket sonuçlarına göre gönüllülerin tamamına yakını klorlu su kullandıklarını belirtmişlerdir fakat yapılan ölçümler bunu göstermemektedir. Ayrıca Kırklareli Halk Sağlığı Müdürlüğü verileri 1 yıllık klor ölçüm sonuçları klorlamanın yetersiz olduğunu göstermektedir. Çalışma yapılan köylerin 1 yıllık şebeke suyu klor ölçümleri de incelendiğinde klorlamanın yetersiz olduğu görülmüştür. Bu nedenle sunulan çalışmada sulara tularemi etkeninin saptanmış olmasına şaşmamak gereklidir.

Francisella tularensis klorlanmış suda canlılığını sürdürebektedir. Pınar, dere gibi açık alan su kaynakları, bakımsız su depoları, klorlanmamış sular hastalık için risk taşımaktadır. Su kaynağında veya depolandığı noktada, kullanıldığı uç noktada 0,5 mg/l serbest klor olacak şekilde klorlanmalıdır. Uç noktadaki serbest klor miktarı düzenli aralıklarla ölçülerek kontrol edilmelidir (112). Çanakkale'de yapılan bir çalışmada klorlamanın yapıldığı depodan alınan su örneğinde bakteri PCR ile negatif olarak bulunurken depo sonrası alınan köy şebeke suyunda yani uç noktada pozitif olarak bulunmuştur (20). Bu nedenle hem suyun depolandığı yerler hem de evlerdeki sulara düzenli aralıklarla klor ölçümü yapılmalıdır. Sunulan çalışmada şebeke sularının düzenli bir şekilde değil de zaman zaman klorlandığı öğrenilmiştir. Suların düzensiz de olsa klorlanması tularemi etkeninin tespit edilmesine rağmen herhangi bir salgına neden olmaması, etkenin enfeksiyon yapıcı miktarlara ulaşamamasıyla açıklanabilir.

Ülkemizde yapılan birçok çalışmada etken tespit edilen suların yetersiz klorlandığı veya klorlanmadığı belirtilmektedir. Kocaeli Karamüresel'de 2005 yılında 17 hastaya tularemi tanısı konulmasının ardından bölgede yapılan çalışmada etken köy suyunda tespit edilmiştir ve suların

klorlanmasının ardından salgın kontrol altına alınmıştır (17). Çanakkale’de salgın ardından yapılan çalışmalarda iki köyden toplam 16 su örneği alınmış ve her iki köyden alınan dörder örnekte etken tespit edilmiştir. Bir köyden alınan 5 örneğin dördünde de etken tespit edilirken sadece klorlamanın yapıldığı depoda PCR negatif olarak bulunmuştur. Her iki köyde de şebeke sularında klor tespit edilmemiş ve suların klorlanmasının ardından vakaya rastlanmamıştır (20). Çankırı’da salgın sonrası yapılan çalışmalarda etkenin tespit edildiği suların klorlanmadığı ve suların klorlanmasının ardından salgının kontrol altına alındığı belirtilmiştir (44). Etkenin sulara tespit edilemediği salgınlarda da yapılan araştırmalar sonucu kaynağın klorlanmamış su olduğu belirtilmiştir (47,53). Havza-Samsun bölgesinde yaşanan salgında içme suyu olarak kullanılan suyun yetersiz klorlandığı ve Van ili ve çevresinde yapılan bir seroprevelans çalışmasında seropozitif saptanan olgularının tamamının klorlanmamış su kullandığı belirtilmektedir (15,51). Sunulan çalışmanın bulguları Kırklareli Halk Sağlığı Müdürlüğü’ne hemen sunulmuş ve suların klorlanmasıyla ilgili işlemlerin gerçekleştirilmesi ve olası salgınlara önlenmesine yardımcı olunmuştur.

Çalışmada 2 dere ve 3 şebeke suyunda etkenin PCR ile tespit edilmesinin ardından Kırklareli Halk Sağlığı Müdürlüğü’nün klorlama, halkı ve sağlık birimlerini uyarması gibi koruyucu önlemler faydalı olmuştur. Nitekim iki ay sonra pozitif çıkan yerlerden tekrar örnekler alınmış ve bu sefer PCR negatif olarak tespit edilmiştir. Köylere gelen şebeke suyunun köylerin yakınında bulunan depolardan geldiği tespit edilmiştir. Yakın zamanda farelerde etkenin gösterilmiş olması bu depoların fareler tarafından kontamine olduğunu düşündürmektedir. Anket sonuçlarına göre gönüllüler kemirici ölü ve artıklarına rastladıklarını belirtmişlerdir. Dere suları pozitif çıkan köy ve beldede yaşayan gönüllülere yapılan anket sonuçlarında dereden bahçe sulaması ve derede yüzme gibi eylemlerin çok düşük oranlarda olduğu ve içme suyu olarak dere suyunun kullanılmadığı tespit edilmiştir. Dağ suyu veya açık alanlardan su içme sonucu bildirilen tularemi vakaları mevcuttur (19). Tokat’ta 2010 yılında 15 kişinin tanı aldığı salgında köylülerin açık alan suyu kullandıkları tespit edilmiştir. Etken sulara gösterilmemiş olsa da salgının kaynağının sular olduğu düşünülmüştür (45). Çalışmamızda gönüllülerin ekonomik ve kültür düzeyi yüksek bir coğrafyada yaşaması, hijyen kurallarına uyması ve dere suyu ile temaslarının çok düşük olması nedeniyle seropozitiflik tespit edilmemiş olabilir.

İçme suyu olarak kullanılan şebeke sularında etken tespit edilmesine karşın hiç vakaya rastlanmamıştır fakat sulara etkenin tespit edilmesi olası bir salgının habercisi niteliğindedir. Örnek alınırken klor seviyeleri sıfır olarak ölçülmüş ve bu nedenle muhtarlar uyarılmıştır.

Örnek alımının hemen ardından suların klorlanmış olması olası bir salgını önlemiş olabilir. Tularemi etkeni olan *F. tularensis*'in enfektif dozu düşük olmasına rağmen insanlardaki enfeksiyöz doz bulaş şekline göre farklılıklar göstermektedir. Deriden veya mukozal yol ile alınan 10-50 bakteri enfeksiyonun gelişmesi için yeterlidir. Solunum yolu ile bulaşta da doz 10-50 bakteri iken sindirim yoluyla alınan bakterinin enfeksiyon oluşturabilmesi için en az 10^8 bakteri gerekmektedir (54,113,114). Çalışmada PCR ile Kavaklı dere suyunda ve Tatarköy şebeke suyunda 10^3 GE $\approx 10^3$ bakteri tespit edilirken, Hamzabey şebeke suyu ve Ceylanköy şebeke suyunda 50 GE ≈ 50 bakteri, Celaliye dere suyu 25 GE ≈ 25 bakteri kadar düşük oranlarda bakteri tespit edilmiştir. Sindirim yolu ile bulaşta enfektif doz ile yayınlar çok kısıtlı olmakla birlikte bu miktarların bulaş için yeterli olmadığı düşünülmektedir. Nitekim hiç vakaya rastlanmamış olması bunu destekler niteliktedir. Günay ve ark. (91)'nin 2006 yılında Ceylanköy'de 2 olguda seropozitiflik saptamasına rağmen kayıtlarda bir tularemi salgınına rastlanmamıştır. Aynı köyde 10 yıl sonra etkenin şebeke suyunda da tespit edilmiş olması tesadüf değildir. Ancak etkenin düşük konsantrasyonlarda bulunması ve/veya PCR pozitifliği sonrası hızla suların klorlanmasının tularemi salgınına önlediği kanısına varılmıştır.

Tularemi tanısında en sık kullanılan yöntem serolojik testlerdir. Mikroaglutinasyon testi kısa sürede sonuç vermesi, sonuçlarının kolay değerlendirilmesi nedeniyle sık olarak tercih edilen serolojik yöntemdir. Tulareminin tanısında 5 farklı serolojik yöntemin değerlendirildiği bir çalışmada mikroaglutinasyon yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak tespit edilmiştir (89). Dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmaların çoğunda vaka tespiti için mikroaglutinasyon yöntemi kullanılmıştır. Fakat serolojik testler hastalığın erken döneminde, immünsüpresif durumlarda negatif olarak saptanabilir. Tularemi antikorları semptomlar başladıktan 6-10 gün sonra serumda saptanabilmektedir (87). İsveç'te 1979 yılında yapılan bir çalışmada klinik olarak tularemi tanısı alan 40 hastadan alınan serum örneklerinde antikor tespiti yapılmıştır. 19 serum örneği birinci, 13 serum örneği ikinci, 28 serum örneği üçüncü haftada alınmış ve birinci hafta alınan serum örneklerinin yalnızca 3'ünde, ikinci hafta alınan serum örneklerinin ise 7'sinde antikor tespit edilebilmiştir (115). Aşılama sonrası serumda antikor yanıtının araştırıldığı bir çalışmada ise serolojisi negatif olduğu bilinen 13 gönüllünün aşılama sonrası antikor titreleri ölçülmüş ve 2. haftada 3'ünün negatif olduğu tespit edilmiştir (116).

Erken dönemlerde antikorların serumda saptanamamasının yanı sıra immünsüpresif konakta veya normal şartlarda da bazı konaklarda antikorlar negatif kalabilmektedir (24). Bulgaristan'da 1997-2005 yılları arasında saptanan 205 vakanın incelendiği bir çalışmada

seronegatif bulunan bir hastanın biyopsi materyalinde etken PCR ile tespit edilmiştir (117). İsveç'te yapılan bir çalışmada tularemi kliniği gösteren bir hastada etken PCR ile tespit edilirken serumda antikor tespit edilememiştir (118). Johansson ve ark. (119) seroloji sonucu negatif olan 4 kişiden alınan örneklerde PCR ile *F. tularensis* DNA'sını tespit etmişlerdir. Çanakkale'de meydana gelen salgında bir kişiden alınan boğaz sürüntü örneğinde etken PCR ile tespit edilirken ilk ve 1 ay sonra alınan ikinci serum örneklerinde seropozitiflik saptanmamıştır (20). Trakya Bölgesi'nde fareler üzerinde yapılan bir çalışmada seronegatif olan iki farede etken PCR ile tespit edilmiştir (24). Çalışmalar erken dönemlerde serumda antikor saptanamayabileceğini ve bazen antikorların negatif kalabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda etken sulara gösterilirken seropozitiflik saptanmasının diğer olası nedenleri bu durumlardan kaynaklanıyor olabilir.

Kocaeli'de yapılan bir çalışmada köy şebeke suyunda etken PCR ile gösterilmiş ve 362 nüfuslu köyde sadece 17 tularemi vakası tespit edilmiştir. Ortak içme suyunda etken tespit edilmesine rağmen az sayıda vakaya rastlanması oral bulaş dozuna ulaşmama veya serumda tespit edilecek miktarda antikor oluşmaması nedeniyle olabilir (17). Çankırı'da etkenin ortak içme suyunda tespit edildiği bir köyde 53 kişiden kan alınmış ve 20 kişide seropozitiflik saptanmıştır (44). *F. tularensis*'in PCR yöntemi ile içme sularında tespit edildiği Ceylanköy, Hamzabey ve Tatarköy köylerinin nüfusu sırasıyla 485, 352 ve 853 iken, etkenin sulara tespit edildiği tarih olan Aralık 2016'da kan alınan gönüllü sayısı sırasıyla 14, 18 ve 42'dir. Çalışmada gönüllülük esas alındığı için tüm köy halkından kan alınamamıştır. Seropozitif kişi tespit edilememesinin bir diğer nedeni de katılım sayısının azlığı olabilir. Nitekim 2006 yılında yapılan seroprevelans çalışmasında Ceylanköy'de 2 olguda seropozitiflik saptanmışken 2016 yılında aynı köyde hiç seropozitif olguya rastlanmamış olması da bu olasılığı destekler niteliktedir (91).

Çalışma uzun yıllardır vaka tespit edilmeyen fakat etkenin farelerde gösterildiği Trakya Bölgesi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada gönüllülerde seropozitiflik tespit edilmemiş fakat etken PCR ile sulara gösterilmiştir. Bu da geçmiş yıllarda bölgede yaşayan farelerde tespit edilen etkenin fareler aracılığıyla suları kontamine ettiğini desteklemektedir. Depolardan gelen şebeke suyunun düzenli klorlanmaması sonucu etken sulara tespit edilmiştir. Henüz bir vaka bildirimi olmadan yapılan çalışma ile gerekli önlemlerin alınması sağlanarak olası bir salgın engellenmiştir. Sonuçlar köy muhtarları ve Kırklareli Halk Sağlığı Müdürlüğü'ne bildirilmiştir. Köy muhtarları ve köy halkı suların klorlanması, derelerden veya açık alanlardan su içilmemesi, dere suyu ile temas edilmemesi konularında bilgilendirilmiştir. Sunulan çalışma tularemi

açısından riskli bölgelerin yakından takip edilmesinin olası salgınları önlemede oldukça önemli olabileceğini göstermiştir. Özellikle geçmiş yıllarda etkenin fareler, sular veya insanlarda var olduğunun bilindiği bölgelerde olası kaynaklar (kemiriciler, keneler, sinekler, sular vb.) etken varlığı açısından araştırılmalı ve kırsal kesimde yaşayanların içme suları ve hastalık hakkında sürekli bilgilendirilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür.



SONUÇLAR

Bu tez çalışması ile Trakya’da riskli bir bölgede tularemi insidans hesaplaması yapılmış ve sularda *F. tularensis* varlığı araştırılmıştır. Ocak 2016 tarihinde risk grubu olarak seçilen 9 ve kontrol grubu olarak seçilen 4 köy ve 1 beldeye gidilerek 746 kişiden kan alınmıştır. Aralık 2016 tarihinde aynı kişilere ulaşılmaya çalışılmış fakat çeşitli nedenlerden dolayı 464 kişiye ulaşılabilmekmiştir. Ayrıca Ocak ve Aralık 2016 tarihlerinde 13 köy ve 1 beldeden dere ve şebeke suyu olmak üzere ikişer su örneği alınarak kültür ve moleküler çalışma yapılmıştır. Çalışmanın sonuçları aşağıda belirtilmiştir:

1. Bölgede yaşayanlarda hiç seropozitif olgunun olmaması ve insidansın sıfır olarak saptanması, hijyen kurallarına uyulduğunda tularemiden korunulabileceğini göstermiştir.
2. Ocak 2016’da alınan su örneklerinde kültür ve PCR ile etken tespit edilememesine rağmen Aralık 2016’da alınan su örneklerinde 2 dere, 3 şebeke suyu olmak üzere toplam 5 su örneğinde PCR ile etkenin tespit edilmesi zaman zaman doğadaki faktörlerle etkenlerin su kaynaklarına ulaşabileceğini göstermiştir.
3. *F. tularensis* varlığını göstermek için moleküler yöntemlerin kültüre göre daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir.
4. İnsanlarda tularemi seropozitifliğinin saptanamaması köylülerin hijyen kurallarına dikkat etmesine ve bilinçli olmasına bağlanmıştır.
5. Zaman zaman da olsa suların klorlanması etkenlerin enfeksiyon oluşturacak konsantrasyona ulaşamamasını sağlamış olabilir.

6. Trakya Bölgesi'nin halen hastalık için riskli bir bölge olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle halkın güvenli içme suları ve hijyenik kurallara uyma konusunda bilinçlendirme ve farkındalığı artırma etkinliklerinin sürdürülmesinde yarar vardır.
7. Etkenin varlığı ile ilgili veriler elde edilir edilmez gerekli kişi ve kurumlar bilgilendirilerek suların klorlanması ve bölge halkının uyarılması sağlandı ve böylece olası bir salgın önlenmiş oldu. Üniversiteler ile sağlık otoriteleri arasındaki sıkı işbirliği salgın hastalıklarının önlenmesinde çok etkin rol oynadığı tespit edilmiştir.



ÖZET

Tularemi ülkemizde ilk kez 1936 yılında Trakya Bölgesi'nde tespit edilmiştir. Sonraki yıllarda bölgede salgınlar yaşanmaya devam etmiştir. Uzun bir sessizliğin ardından 2010 yılında hastalık yeniden bölgede görülmüş ve 2012 yılında etken Kaynarca deresinin etrafındaki farelerde tespit edilmiştir. Etkenin farelerde tespit edilmiş olması hastalığın bölgemiz için hala risk oluşturduğunu göstermektedir. Bu nedenle çalışmada Trakya Bölgesi'nde 13 köy ve bir beldede tularemi seropozitifliği araştırılmıştır. Yılın ilk ayı 746 kişiden kan alındı ve tularemi mikroaglutinasyon testi uygulandı. Seropozitiflik saptanmadı. Yılın son ayı 746 kişiden 464'üne ulaşıldı ve tekrar kanları alındı. Seronegatif durumdan seropozitif duruma geçiş saptanmadı ve insidans sıfır olarak hesaplandı. Ayrıca etkenin farelerde tespit edilmiş olmasından dolayı farelerin suları kontamine etmiş olabileceği düşünüldü. Bu nedenle serumlarla eş zamanlı olarak 13 köy ve bir beldeden geçen derelerden ve şebeke sularından örnekler alındı. Alınan su örneklerine kültür ve PCR işlemi uygulandı. Etken kültürde izole edilemedi fakat 2 dere, 3 şebeke suyu olmak üzere toplam 5 örnekte PCR ile *F. tularensis* DNA'sı tespit edildi. Pozitiflik tespit edilen dereler Kaynarca deresine çok yakın olan ve geçmiş yıllarda vakaların görüldüğü Celaliye köyünden geçen dere diğeri aynı bölge fakat daha uzak mesafede olan Kavaklı beldesinden geçen dere dir. Pozitiflik tespit edilen şebeke suları ise Kaynarca deresi etrafında bulunan Hamzabey, Ceylanköy ve Tatarköy köylerinden alınan şebeke sularıdır.

Bu çalışma ile etken sularda tespit edilmiştir. Seropozitiflik saptanmamış olsa bile etkenin sularda var olması hastalığın hala bölgemiz için risk oluşturduğunu göstermektedir.

Bu nedenle bölge halkı hastalık hakkında bilgilendirilmeli ve çalışmada tespit edilen suların klorlanmasındaki aksaklıklar giderilmelidir.

Anahtar kelimeler: *Francisella tularensis*, tularemi insidansı, seroloji, kültür, PCR



INVESTIGATION OF TULAREMIA INCIDENCE IN A REGION OF THRACE HAD THE RISK

SUMMARY

Tularemia is first occurred in at Thrace region of our country in 1936. In the following years, epidemics continued to be seen in the region. After a long silence, the disease was seen again at the region in 2010 and 2012, the causative agent was detected in the mice around Kaynarca stream. As the agent was detected the fact that the agent has been detected in the mice suggests the disease is still a threat for our region. For this reason, tularemia seropositivity was searched in 13 villages and 1 town of Thrace region. In the first month of the year, blood were obtained from 746 people and tularemia microagglutination tests were applied to them. No seropositivity was detected. In the last month of the year, 464 of 746 people were reached and their blood were obtained again. Seroconversion was not observed and the incidence was calculated as zero. It was also thought that the mice could have contaminated the water because the agent was detected in the mice. For this reason, samplings were taken from mains waters and the streams simultaneously with the sera of the volunteers in 13 villages and 1 town. Obtained samples were examined by culture and PCR methods. The causative agent was not isolated from the cultures but *F. tularensis* DNAs were detected by PCR methods in 2 stream and 3 mains water samples. One of the stream with positivity was very near to Kaynarca stream and passing through Celaliye village where had tularemia cases in the past. The other one of the stream was passing through Kavaklı town where located same region but farther away Kaynarca Stream. Main waters

with positivity were in Hamzabey, Ceylanköy and Tatarköy villages located around Kaynarca Stream.

In this study, the causative agent was detected in the waters. Even if the seropositivity was not detected in the people, the presence of the agent in the water suggests that the disease still pose a risk for our region. For this reason, people of the region should be informed about the disease and more attention should be paid for chlorination of the waters.

Key words: *Francisella tularensis*, tularemia incidence, serology, culture, PCR



KAYNAKLAR

1. Lindouist D, Chu MC, Probert WS. *Francisella and Brucella* In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (Eds.). Manual of Clinical Microbiology 9th ed. Washington: ASM Press; 2009:815-24.
2. Şahin İ. Tulareminin Genel Epidemiyolojik Özellikleri. Gürçan Ş (editor). *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:89-94.
3. Ohara Y, Sato T, Homma M. Epidemiological analysis of tularemia in Japan (yato-byo). FEMS Immunol Med Microbiol 1996;13:185-9.
4. Francis E, Moore D. Identity of Ohara's disease and tularemia. JAMA 1926;86(18):1329-32.
5. Dennis DT, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, et al. Tularemia as a Biological Weapon. JAMA 2001;285:2763-73.
6. Tekin M, Çam OH, Acar G, Kaytancı E, Hanege FM. Boyunda kitle ile prezente olan tularemi olgusu. Göztepe Tıp Derg 2011;26(1):46-50.
7. Albayrak N, Çelebi B, Kavas S, Şimşek H, Kılıç S, Sezen F, ve ark. Tularemi Lenfadeniti Şüphesi ile Alınan Lenf Aspiratı Örneklerinde *Mycobacterium tuberculosis* Varlığının Araştırılması. Mikrobiyol Bul 2014;48(1):129-34.
8. Bıçakçı Z. Lenfadenopati Ayırıcı Tanısında Az Bilinen Bir Zoonoz: Orofarengeal Tularemi. 35. Ulusal Hematoloji Kongresi, Antalya, Türkiye. 2009.
9. Gurcan S. Epidemiology of tularemia. Balkan Med J 2014;31(1):3-10.
10. Gurcan S, Eskiocak M, Varol G, Uzun C, Tatman-Otkun M, Sakru N, et al. Tularemia Re-Emerging in European Part of Turkey after 60 Years. Jpn J Infect Dis 2006;59:391-3.
11. Gürçan Ş. *Francisella tularensis* ve Türkiye’de Tularemi. Mikrobiyol Bul 2007;41:621-36.

12. Yanık K, Sarıaydın M, Uzun Ö, Çoban AY, Seçilmiş H. Amasya'da Tularemi Olgularının Mevsimsel ve Bölgesel Dağılımı. Mikrobiyol Bul 2015;49(1):139-41.
13. Ozdemir D, Sencan I, A AN, Karadenizli A, Guclu E, Sert E, et al. Comparison of the 2000 and 2005 outbreaks of tularemia in the duzce region of Turkey. Jpn J Infect Dis 2007;60:51-2.
14. Mengeloglu Z, Duran A, Hakyemez IN, Ocak T, Kucukbayrak A, Karadag M, et al. Evaluation of patients with Tularemia in Bolu province in northwestern Anatolia, Turkey. J Infect Dev Ctries 2014;8(3):315-9.
15. Acicbe Ö, Aydın H, Doğancı L. Havza/Samsun Bölgesi'nde Tularemi Endemisi: İzlenen Olgularinin Retrospektif Yorumu. Enfeksiyon Derg 2007;21(2):55-8.
16. Turhan V, Ardıc N, Sahinoglu L, Besirbellioglu BA, Gedikoglu S. A General View to Tularemia Cases in Turkey: On to a Pure Oropharyngeal Type Outbreak. The Anatolian J Clin Invest 2007;1(2):71-7.
17. Meriç M, Sayan M, Willke A, Gedikoğlu S. Su Kaynaklı Küçük Bir Tularemi Salgını. Mikrobiyol Bul 2008;42:49-59.
18. Willke A, Meric M, Grunow R, Sayan M, Finke EJ, Splettstosser W, et al. An outbreak of oropharyngeal tularaemia linked to natural spring water. J Med Microbiol 2009;58(1):112-6.
19. Sarlak H, Arslan E, Sari O, Cakar M, Demirbas S, Aydogan M, et al. Tularemia Associated to Drinking Mountain Water Presenting with Lymphadenopathy: a Case Report. TAF Prev Med Bull 2012;11(2):243.
20. Tatman Otkun M, Akçalı A, Karadenizli A, Özbey N, Gazel D, Şener A, ve ark. Çanakkale'de Hızla Önlene Bir Tularemi Salgınının Epidemiyolojik Olarak Değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2011;45(1):48-57.
21. Plevnelioğlu KH. Memleketimizde Tularemi İnsanlara Nasıl Geçiyor? Tedavi Kliniği ve Laboratuvarı Derg 1937;7:109-12.
22. Gedikoğlu S, Göral G, Helvacı S. Bursa'daki tularemi epidemisinin özellikleri. Enfeksiyon Derg 1990;4(1):9-15.
23. Utku I. Antalya'da tularemi epidemisi ve hususiyetleri. Turk Hij Tecr Biyol Derg 1954;14:288-93.
24. Ünal Yılmaz G, Gürçan Ş, Özkan B, Karadenizli A. Trakya Bölgesi'nde Farelerde Kültür, Seroloji ve Moleküler Yöntemlerle *Francisella tularensis* Varlığının Aranması. Mikrobiyol Bul 2014;48(2):213-22.
25. Uzun MÖ, Yanık K, Erdem M, Kostakoglu U, Yilmaz G, Tanriverdi Cayci Y. Epidemiological and clinical characteristics and management of oropharyngeal tularemia outbreak. Turk J Med Sci 2015;45:902-6.
26. Trevisanato SI. The 'Hittite plague', an epidemic of tularemia and the first record of biological warfare. Med hypotheses 2007;69(6):1371-4.

27. McCoy GW, Chapin CW. Further observations on a plague-like disease of rodents with a preliminary note on the causative agent, *Bacterium tularense*. *J Infect Dis* 1912;61-72.
28. Wherry WB, Lamb B. Infection of man with *Bacterium tularense*. *J Infect Dis* 1914;331-40.
29. Feldman KA. Tularemia. *JAVMA* 2003;222(6):725-30.
30. Farlow J, Wagner DM, Dukerich M, Stanley M, Chu M, Kubota K, et al. *Francisella tularensis* in the United States. *Emerg Infect Dis* 2005;11(12):1835-40.
31. Tärnvik A. WHO Guidelines on Tularaemia. France: 2007.
32. Tarnvill A, Berglund L. *Eur Respir J* 2003;21(2):361-73.
33. Eliasson H, Broman T, Forsman M, Bäck E. Tularemia: current epidemiology and disease management. *Infect Dis Clin North Am* 2006;20(2):289-311.
34. Tarnvik A, Sandstrom G, Sjostedt A. Epidemiological analysis of tularemia in Sweden 1931-1993. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1996;13:201-4.
35. Larssen KW, Bergh K, Heier BT, Vold L, Afset JE. All-time high tularaemia incidence in Norway in 2011: report from the national surveillance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33(11):1919-26.
36. Reintjes R, Dedushaj I, Gjini A, Jorgensen TR, Cotter B, Lieftucht A, et al. Tularemia Outbreak Investigation in Kosovo: Case Control and Environmental Studies. *Emerg Infect Dis* 2002;8(1):69-73.
37. Christova I, Velinov T, Kantardjiev T, Galev A. Tularaemia outbreak in Bulgaria. *Scand J Infect Dis* 2009;36(11-12):785-9.
38. Plevnelioğlu KH. Memleketimizde tularemi. *Tedavi Kliniği ve Laboratuvarı Derg* 1936;6:119-35.
39. Gurcan S, Otkun MT, Otkun M, Arikan OK, Ozer B. An outbreak of tularemia in Western Black Sea region of Turkey. *Yonsei Med J* 2004;45(1):17-22.
40. Celebi G, Baruonu F, Ayoglu F, Cinar F, Karadenizli A, Ugur MB, et al. Tularemia, a Reemerging Disease in Northwest Turkey, Epidemiological Investigation and Evaluation of Treatment Responses. *Jpn J Infect Dis* 2006;59:229-34.
41. Sahin M, Atabay HI, Bıçakçı Z, Unver A, Otlı S. Outbreaks of Tularemia in Turkey. *Kobe J Med Sci* 2007;53(1):37-42.
42. Meric M, Sayan M, Dundar D, Willke A. Tularaemia outbreaks in Sakarya, Turkey: case-control and environmental studies. *Singapore Med J* 2010;51(8):655.
43. Barut S, Cetin I. A tularemia outbreak in an extended family in Tokat Province, Turkey: observing the attack rate of tularemia. *Int J Infect Dis* 2009;13(6):745-8.
44. Ulu Kılıç A, Kılıç S, Şencan İ, Çiçek Şentürk G, Gürbüz Y, Tütüncü E, ve ark. İç Anadolu Bölgesinde *Francisella tularensis* alt tür *halorctica*'ya Bağlı Su Kaynaklı Bir Tularemi Salgını. *Mikrobiyol Bul* 2011;45(2):234-47.

45. Gönen İ. A small outbreak of tularemia in a rural area. *Turk J Med Sci* 2013;43:75-8.
46. Gürcan S, Varol Saraçoğlu G, Karadenizli A, Özkayın EN, Öztürk Ş, Çiçek C, et al. Tularemia as a result of outdoor activities for children in the countryside. *Turk J Med Sci* 2012;42(6):1044-9.
47. Dikici N, Ural O, Sümer Ş, Öztürk K, Albayrak Yiğit Ö, Katlanır E, ve ark. Konya Bölgesinde Tularemi. *Mikrobiyol Bul* 2012;46(2):225-35.
48. Uyar M, Cengiz B, Ünlü M, Çelebi B, Kılıç S, Eryılmaz A. Orta Anadolu Bölgesi İllerinden Hastanemize Başvuran Orofaringeal Tularemi Olgularının Değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2011;45(1):58-66.
49. Engin A, Altuntaş EE, Cankorkmaz L, Kaya A, Elaldı N, Şimşek H, ve ark. Sivas İlinde Saptanan İlk Tularemi Salgını: 29 Olgunun Değerlendirilmesi. *Klinik Derg* 2011;24(1):17-23.
50. Balci E, Borlu A, Kilic AU, Demiraslan H, Oksuzkaya A, Doganay M. Tularemia outbreaks in Kayseri, Turkey: an evaluation of the effect of climate change and climate variability on tularemia outbreaks. *J Infect Public Health* 2014;7(2):125-32.
51. Bayram Y, Özkaçmaz A, Parlak M, Başbuğan Y, Kılıç S, Güdücüoğlu H. Van İli ve Çevresinde Risk Altındaki İnsan ve Hayvan Gruplarında Tularemi Seroprevalansı. *Mikrobiyol Bul* 2015;49(4):532-41.
52. Korkmaz M, Korkmaz P, Koç F, Gültekin H, Ünlüoğlu İ. Eskikmaz M, Korkmaz P, Koç F, Gültekin H, Ünlüoğlu İ. İ. üçüoğlu. *Klinik Derg* 2015;26(3):94-7.
53. Bozkurt İ, Kılıç S. Tularemi Türkiye'nin Kuzeyinden Güneyine Doğru Yayılıyor: Kahramanmaraş'da Küçük Bir Salgın. *Mikrobiyol Bul* 2014;48(3):413-9.
54. Sağlık Bakanlığı. Tularemi Hastalığının Kontrolü İçin Saha Rehberi. Ankara: Sağlık Bakanlığı Yayın No: 799; 2011.
55. Ellis J, Oyston PCF, Green M, Titball RW. Tularemia. *Clin Microbiol Rev* 2002;15(4):631-46.
56. Olsufjev NG, Meshchekyakova IS. Subspecific Taxonomy of *Francisella tularensis* McCoy and Chapin 1912. *Int J Syst Evol Microbiol* 1983;33(4):872-4.
57. Hollis DG, Weaver RE, Steigerwalt AG, Wenger JD, Moss CW, Brenner DJ. *Francisella philomiragia* comb. nov. (Formerly *Yersinia philomiragia*) and *Francisella tularensis* Biogroup Novicida (Formerly *Francisella novicida*) Associated with Human Disease. *J Clin Microbiol* 1989;27(7):1601-8.
58. Forsman M, Sandstrom G, Sjöstedt A. Analysis of 16s Ribosomal DNA Sequences of *Francisella* Strains and Utilization for Determination of the Phylogeny of the Genus and for Identification of Strains by PCR. *Int J Syst Bacteriol* 1994;44(1):38-46.
59. National Center for Biotechnology Information. USA. (cited 2016 October 20). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy/?term=francisella+tularensis>

60. Gurcan Ş, Karabay O, Karadenizli A, Karagol Ç, Kantardjiev T, Ivanov I. Characteristics of the Turkish Isolates of *Francisella tularensis*. Jpn J Infect Dis 2008;61:223-5.
61. Broman T, Forsman M, Petersen J, Sjöstedt A. The infectious agent. In: Tärnvik A, (Ed.). WHO Guidelines on Tularemia. France: 2007.
62. Farlow J, Wagner DM, Dukerich M, Stanley M, Chu M, Kubota K, et al. *Francisella tularensis* in the United States. Emerg Infect Dis 2005;11(12):1835-41.
63. Otkun M. Mikrobiyolojik Özellikler. Gürcan Ş, (editor). *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:75-80.
64. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Francisella ve Brucella*. Başustaoğlu AC, (Editor). Tıbbi Mikrobiyoloji 6. Baskı. Ankara: Atlas Yayıncılık; 2010:357-63.
65. Kılıç S. Biyolojik Silah Olarak Bakteriler: 'Kategori A Ajanlar'. Türk Hij Den Biyol Derg 2006;63:21-46.
66. Şahin İ. Tulareminin Bulaş Yolları. Gürcan Ş, (editor). *Francisella tularensis* ve tularemi İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:95-8.
67. Petersen JM, Mead PS, Schriefer ME. *Francisella tularensis*: an arthropod-borne pathogen. Veter Res 2009;40(2):1.
68. Olin G. The Occurrence and Mode of Transmission of Tularemia in Sweden. APMIS 1942;19(2):220-47.
69. Eliasson H, Lindbäck J, Nuorti JP, Arneborn M, Giesecke J, Tegnell A. The 2000 Tularemia Outbreak: A Case-Control Study of Risk Factors in Disease-Endemic and Emergent Areas, Sweden. Emerg Infect Dis 2002;8(9):956-60.
70. Sencan I, Sahin I, Kaya D, Oksuz S, Ozdemir D, Karabay O. An outbreak of oropharyngeal tularemia with cervical adenopathy predominantly in the left side. Yonsei Med J 2009;50(1):50-4.
71. Kaygusuz S, Arıkan O, Azkur K, Şimşek H, Gazyağcı S, Muluk N, et al. Epidemia of tularemia in Central Anatolia. J Animal Vet Advances 2010;9(12):1702-6.
72. Helvacı S. Tularemi Klinik Özellikler. Gürcan Ş, (editor). *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:205-7.
73. Geyik MF. Dünyada Tularemi. Gürcan Ş, (editor). *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:99-106.
74. Ryden P, Bjork R, Schafer ML, Lundstrom JO, Petersen B, Lindblom A, et al. Outbreaks of tularemia in a boreal forest region depends on mosquito prevalence. J Infect Dis 2012;205(2):297-304.
75. Cerny Z. Changes of the epidemiology and the clinical picture of tularemia in Southern Moravia (the Czech Republic) during the period 1936–1999. Eur J Epidemiol 2001;17:637-42.
76. Kılıç S. Biyogüvenlik ve Tularemi. Gürcan Ş, (editor). *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:5-68.

77. Kılıç S. A General Overview of Francisella tularensis and the Epidemiology of Tularemia in Turkey. Flora 2010;15(2):37-58.
78. Payne L, Arneborn M, Tegnell A, Giesecke J. Endemic tularemia, Sweden, 2003. Emerg Infect Dis 2005;11(9):1440-2.
79. Hansen CM, Vogler AJ, Keim P, Wagner DM, Hueffer K. Tularemia in Alaska, 1938-2010. Acta Vet Scand 2011;53(1):1.
80. Bayoğlu D, Aydın C, Bayoğlu V, Nuhuğlu Ç, Avşar B, Çankaya H. Lenfadenit Ayırıcı Tanısında Anımsanmayabilen Bir Hastalık: Tularemi. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Derg 2011;51(2):85-7.
81. Karabay O, Yılmaz F, Gürcan Ş. Tularemi: Türkiye’de servikal lenfadenopatinin beklenmeyen ancak yaygın bir nedeni. Olgu sunumu ve literatür derlemesi. Türk Otolarengoloji Arşivi 2008;46(1).
82. Karagöz E, Ülçay A, Hatipoğlu M, Turhan V. Servikal Lenfadenitlerin Etiyolojisinde Tüberküloz ve Tularemi Ayırıcı Tanısı. Mikrobiyol Bul 2014;48(4):707-8.
83. Yildirim S, Turhan V, Karadenizli A, Onem Y, Karagoz E, Eroglu C, et al. Tuberculosis or tularemia? A molecular study in cervical lymphadenitis. Int J Infect Dis 2013;1-5.
84. Karabay O, Kilic S, Gurcan S, Pelitli T, Karadenizli A, Bozkurt H, et al. Cervical lymphadenitis: tuberculosis or tularaemia? Clin Microbiol Infect 2013;19(2):13-7.
85. Karahan ZC, Kılıç S. Tanı İçin Örneklerin Alınması, Saklanması ve Taşınması Gürcan Ş, (editor). Francisella tularensis ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:259-68.
86. Kolaylı F. Francisella Tularensis Kültürü ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri. Gürcan Ş, (editor). Francisella tularensis ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:273-81.
87. Gürcan Ş. Serolojik Tanı Yöntemleri. Gürcan Ş, (editor). Francisella tularensis ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2009:269-72.
88. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. Ankara:Sağlık Bakanlığı Yayın No: 934; 2014.
89. Porsch-Ozcurumez M, Kischel N, Priebe H, Splettstosser W, Finke EJ, Grunow R. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, Western blotting, microagglutination, indirect immunofluorescence assay, and flow cytometry for serological diagnosis of tularemia. Clin Diagn Lab Immunol 2004;11(6):1008-15.
90. Bevanger L, Maeland JA, Kvam AI. Comparative Analysis of Antibodies to Francisella tularensis Antigens during the Acute Phase of Tularemia and Eight Years Later. Clin Diagn Lab Immunol 1994;1(2):238-40.
91. Dedeoğlu Kılınç G, Gürcan Ş, Eskioçak M, Kılıç H, Kunduracılar H. Trakya Bölgesinin Köylerinde Tularemi Seroprevalansının Araştırılması. Mikrobiyol Bul 2007;41:411-8.
92. Yazgı H, Uyanık MH, Ertek M, Kılıç S, Kireççi E, Özden K, ve ark. Erzurum Merkez ve Kırsalında Yaşayan Riskli Gruplarda Tularemi Seroprevalansı. Mikrobiyol Bul 2011;45(1):67-74.

93. Kilic S, Celebi B, Bayram Y, Citil B. Investigation of cross-reactions with *Francisella tularensis* antibodies to *Brucella*. Turk Hij Den Biyol Derg 2013;70(2):65-70.
94. Chaignat V, Djordjevic-Spasic M, Ruettger A, Otto P, Klimpel D, Müller W, et al. Performance of seven serological assays for diagnosing tularemia. BMC Infect Dis 2014;14(234).
95. Karadenizli A. Moleküler Tanı ve Tiplendirme Yöntemleri. Gürcan Ş, (editor). *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:283-88.
96. Junhu Z, Ruifu Y, Jianchun L, Songle Z, Meiling C, Fengxiang C, et al. Detection of *Francisella tularensis* by the polymerase chain reaction. J Med Microbiol 1996;45:477-82.
97. Lamps LW, Havens JM, Sjostedt A, Page DL, Scott MA. Histologic and molecular diagnosis of tularemia: a potential bioterrorism agent endemic to North America. Mod Pathol 2004;17(5):489-95.
98. Karataş Yeni D, İzgür M. Investigation on Tularemia in potential reservoirs of Anatolia. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2015;62:93-8.
99. Broman T, Thelaus J, Andersson AC, Backman S, Wikstrom P, Larsson E, et al. Molecular Detection of Persistent *Francisella tularensis* Subspecies *holarctica* in Natural Waters. Int J Microbiol 2011;2011.
100. Versage JL, Severin DDM, Chu MC, Petersen JM. Development of a Multitarget Real-Time TaqMan PCR Assay for Enhanced Detection of *Francisella tularensis* in Complex Specimens. J Clin Microbiol 2003;41(12):5492-9.
101. Kılıç S, Yeşilyurt M. Tularemi: Güncel Tedavi Seçeneklerine Genel Bir Bakış. Klimik Derg 2011;24(1):2-10.
102. Wilke Topçu A. Tedavi. Gürcan Ş, (editor). *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:291-6.
103. Öztoprak N. İnsanlarda Korunma ve Kontrol. Gürcan Ş, (editor). *Francisella Tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:299-304.
104. Sunagar R, Kumar S, Franz BJ, Gosselin EJ. Tularemia vaccine development: paralysis or progress?. Vaccine (Auckl) 2016;6:9-23.
105. Feldman KA, Stiles-Enos D, Julian K, Matyas BT, Telford III SR, Chu MC, et al. Tularemia on Martha's Vineyard: seroprevalence and occupational risk. Emerg Infect Dis 2003;9(3):350-4.
106. Gutiérrez MP, Bratos MA, Garrote JI, Dueñas A, Almaraz A, Alamo R, et al. Serologic evidence of human infection by *Francisella tularensis* in the population of Castilla y Leon (Spain) prior to 1997. FEMS Immunol Med Microbiol 2003;35(2):165-9.
107. Bevanger L, Maeland JA, Naess AI. Agglutinins and antibodies to *Francisella tularensis* outer membrane antigens in the early diagnosis of disease during an outbreak of tularemia. J Clin Microbiol 1988;26(3):433-7.

108. Evans ME, Gregory DW, Schaffner W, Mcgee ZA. Tularemia: a 30-year experience with 88 cases. *Medicine* 1985;64(4):251-69.
109. Helvacı S, Gedikoglu S, Akalın H, Oral H. Tularemia in Bursa, Turkey: 205 cases in ten years. *Eur J Epidemiol* 2000;16:271-6.
110. Simsek H, Taner M, Karadenizli A, Ertek M, Vahaboglu H. Identification of *Francisella tularensis* by both culture and real-time TaqMan PCR methods from environmental water specimens in outbreak areas where tularemia cases were not previously reported. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31(9):2353-7.
111. Junhui Z, Ruifu Y, Jianchun L, Songle Z, Meiling C, Fengxiang C, et al. Detection of *Francisella tularensis* by the polymerase chain reaction. *J Med Microbiol* 1996;45(6):477-82.
112. Ayoğlu FN. Tularemide Halk Sağlığı Yaklaşımları. In: Gürcan Ş, editor. *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009. p. 223-44.
113. Oral B. Tularemi immünopatogenezi ve patolojisi. Gürcan Ş, (editor). *Francisella tularensis* ve Tularemi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:193-200.
114. Willke A. Tularemi. *Ankem Derg* 2006;20:222-6.
115. Carlsson HE, Lindberg AA, Lindberg G, Hederstedt B, Karlsson KA, Agell BO. Enzyme-linked immunosorbent assay for immunological diagnosis of human tularemia. *J Clin Microbiol* 1979;10(5):615-21.
116. Koskela P, Herva E. Cell-mediated and humoral immunity induced by a live *Francisella tularensis* vaccine. *Infect Immun* 1982;36(3):983-9.
117. Kantardjiev T, Ivanov I, Velinov T, Padeshki P, Popov B, Nenova R, et al. Tularemia Outbreak, Bulgaria, 1997–2005. *Emerg Infect Dis* 2006;12(4):678-80.
118. Sjöstedt A, Eriksson U, Berglund L, Tärnvik A. Detection of *Francisella tularensis* in ulcers of patients with tularemia by PCR. *J Clin Microbiol* 1997;35(5):1045-8.
119. Johansson A, Berglund L, Eriksson U, Göransson I, Wollin R, Forsman M, et al. *J Clin Microbiol* 2000;38(1):22-6.

EKLER



Ek 1

T.C. TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2015/77	
	PROTOKOL ADI	Trakya'da Riskli Bir Bölgede Tularemi İnsidansının Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Prof. Dr. Şaban GÜRCAN	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 07/05		Tarih: 15.04.2015
	Fakültemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Şaban GÜRCAN'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen çalışmanın araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Başkan Yardımcısı	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ç. Hakan KARADAĞ Üye	Tıbbi Farmakoloji	T.Ü.T.F. Tıbbi Farmakoloji A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Hasan ÜMİT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Selma Arzu VARDAR Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	K	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Salim DÖNMEZ Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	K	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Koray ELTER Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	E	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Berkan DEMİRAL Üye		T.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi	E	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

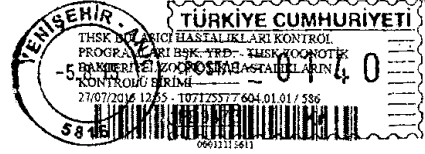
Serap KORKMAZ
Fakülte Sekreteri

Prof. Dr. Recep YAĞIZ
Dekan

Ek 2



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Türkiye Halk Sağlığı Kurumu



Sayı : 10712557/604.01.01
Konu : Araştırma İzni

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜNE

İlgi : 25.06.2015 tarih ve 59803669/604-01-01/2131 sayılı yazınız.

Üniversiteniz Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Şaban GÜRCAN'ın yürütücülüğünü yaptığı ve Arş. Gör. Dr. Mediha CERRAH'ın tezi olan "Trakya'da Riskli Bir Bölge'de Tularemi İnsidansı'nın Araştırılması" isimli çalışmanın yapılabilmesi için izin verilmesini talep eden ilgi yazınız ve ekleri incelenmiştir.

Bilimsel ve etik izin prosedürlerinin tamamlanması halinde bahsi geçen araştırmanın gerçekleştirilmesinin Kurumumuz açısından bir sakıncası yoktur. Bilgilerini ve gereğini rica ederim.

Uzm. Dr. Seher MUSAONBAŞIOĞLU
Bakan a.
Kurum Başkan Yardımcısı

Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar Daire Başkanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Refik Saydam Yerleşkesi
Sağlık Mah. Adnan Saygun Cad. No:55 Yenışehir/ANKARA
Şenay Özgülcü senay.ozgulcu@saglik.gov.tr

Bu belge 5070 sayılı elektronik imza kanuna göre güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Evrakın elektronik imzalı suretine <http://e-belge.saglik.gov.tr> adresinden ac793414-2b17-4140-9ff4-3b17c23f9c03 kodu ile erişebilirsiniz.