



**SIĞIRLARDA VE RİSK GRUBUNDAKİ İNSANLARDA
SEROLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
LEPTOSPIRA ENFEKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

Perihan ŞERİFOĞLU BAĞATIR

Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Osman AKTAŞ**

Doktora Tezi-2023



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**SIĞIRLARDA VE RİSK GRUBUNDAKİ İNSANLARDA
SEROLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
LEPTOSPIRA ENFEKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

Perihan ŞERİFOĞLU BAĞATIR

**Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Osman AKTAŞ**

**ERZURUM
2023**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
ÖZET	II
ABSTRACT.....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
TABLolar DİZİNİ	VI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Leptospirozun Tanımı	5
2.2. Leptospiroz Tarihçesi.....	6
2.4. Taksonomi ve Sınıflandırma	14
2.5. Leptospiroz Epidemiyolojisi ve Enfeksiyon Kaynakları	20
2.6. Leptospirozda Patogenez	25
2.7. İnsan ve Hayvan Leptospirozunda Klinik Belirtiler	27
2.7.1. İnsan Leptospirozu	27
2.7.2. Hayvan Leptospirozu	29
2.8. Laboratuvar Tanı	31
2.8.1. Genel Klinik Laboratuvar Bulguları	31
2.8.2. Mikroskopik Bulgular	32
2.8.3. Kültür	32
2.8.4. Serolojik Tanı.....	33
2.8.4. Moleküler Tanı.....	35
2.8.4. Tedavi ve Koruma Yöntemleri.....	36
3. MATERYAL VE METOT	38
3.1. Hayvan Örnek Büyüklüğünün Belirlenmesi	38
3.2. Klinik Örneklerinin Alınması ve muhafazası	38
3.3. İnsan Kan Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi	39
3.4. İnsan Örneklerinin Analizi.....	40
3.5. MAT Analizi	42
3.6. DNA Ekstraksiyonu	44
3.7. Real–Time PCR Analizi.....	44

3.9. İstatistiksel Analizler.....	47
4. BULGULAR.....	48
5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	64
7. KAYNAKLAR	66
EKLER	84
EK-1. ETİK BİLDİRİM ve İNTİHAL BEYAN FORMU.....	84
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	85
EK-3. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL ONAY FORMU.....	87



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez yazım aşamasında benden desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli tez danışman hocam ve Ana Bilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Osman Aktaş'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitim boyunca Tıbbi Mikrobiyoloji ABD değerli hocaları Prof. Dr. Halil Yazgı'ya, Prof.Dr. Hakan Uslu'ya, Prof. Dr. Muhammet Hamidullah Uyanık'a sağladıkları katkılardan dolayı teşekkür ederim. Tezimi TAGEM Projesi olarak destekleyen Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırma ve Geliştirmeler Genel Müdürlüğü'ne, MAT analiz çalışmalarında yardımcı olan Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitü Spiroket Laboratuvarı Şefi Dr. Yeliz Yıkılmaz'a, teşekkür ederim. Çalışmamda her türlü desteği sağlayan Erzurum Veteriner Enstitü Müdürü Dr. Ediz Kağan Özgen'e, Real-Time PCR çalışmalarında değerli yardımları nedeniyle Uzman Biyolog Murat Özmen'e numune teminlerinde gerekli kolaylığı sağlayan Erzurum Et ve Süt Kurumu Müdürü İsmail Atasever ve Müdür Yardımcısı Tayfun Bağatır'a çok teşekkür ederim. Tez süresi boyunca bana destek olan eşime ve oğluma çok teşekkür ederim.

Perihan ŞERİFOĞLU BAĞATIR

ÖZET

Sığırlarda ve Risk Grubundaki İnsanlarda Seroloji ve Moleküler Yöntemlerle *Leptospira* Enfeksiyonlarının Araştırılması

Amaç: Erzurum'da sığır ve insan leptospirozunun ve etkenlerinin serolojik ve moleküler prevalanslarının prospektif olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Nisan-temmuz ve eylül-aralık olmak üzere iki dönemde Erzurum Et ve Süt Kurumu mezbahasında kesime gelen 289 hayvandan serum ve böbrek numunesi alındı. İnsanlardan ise çiftçi, veteriner hekim ve kasaplardan oluşan risk altındaki meslek sahiplerinden ve risk dışındaki ev hanımı ve ofis çalışanlarından 100'er adet olmak üzere toplam 200 serum örneği alınmıştır. Sığır kan serumu örneklerinde *Leptospira* antikorları mikroaglutinasyon testiyle, böbrek örneklerinde leptospira DNA'sı Real-Time PCR yöntemiyle ve insan kan serumu örneklerinde leptospira antikorları mikroaglutinasyon testi ve ELİSA yöntemleriyle araştırıldı.

Bulgular: Erzurum ve ilçelerindeki çiftliklerde yetiştirilen sığırlardan alınan kan serum örneklerinde mikroskopik aglutinasyon testi ve PCR pozitifliği sadece dişi sığırlardan elde edilmiştir. Sığırlarda mikroaglutinasyon test pozitifliği bahar döneminde üç ve güz döneminde 10 olmak üzere toplam 13(%4.5); PCR pozitifliği ise sadece güz döneminde 2(%0.7) sığırdan tespit edilmiştir. *Leptospira* serovarlarının 10 (76.9%)'u *Leptospira interrogans* (6 Hardjo, 2 Bratislava, 1 Pomana ve 1 Icterohaemorrhagiae) ve 3(%23.1)'ü de *Leptospira kirschneri* (hepsi Dadas) türüne aitti. *Leptospira* IgG antikor pozitifliği güz döneminde bahar dönemine göre istatistiksel olarak düşük düzeyde anlamlı yükseklik gösterdi. İnsanlarda MAT ile risk ve kontrol gruplarında iki *Leptospira interrogans icterohaemorrhagiae* ve bir *Leptospira hebdomadis* ve bir *Leptospira kirschneri* olmak üzere üç farklı suş tespit edilmiştir. ELISA ile risk grubunda 14 (%14.0) ve kontrol grubunda 18 (%18.0) olguda antikor pozitifliği tespit edilmiştir. İnsanlarda leptospira IgG antikor pozitifliği, risk grubu ile normal popülasyon; cinsiyetler ve yaş grupları arasında anlamlı bir fark göstermemiştir.

Sonuç: Erzurum'da sığırların *Leptospira spp.* seroprevalansı nispeten yüksek olsa da aktif enfeksiyon prevalansı düşük sayılacak orandadır. Erzurum'da normal popülasyondaki insanların leptosporalarla karşılaşma riski risk grubundaki kişiler kadar yüksektir.

Anahtar Kelimeler: ELISA, insan, *Leptospira spp.*, leptospirosis, Mikroaglutinasyon Testi, Real-Time PCR, sığır

ABSTRACT

Investigation of *Leptospira* Infections by Serology and Molecular Methods in Cattle and Humans at Risk Group

Aim: It was aimed at prospectively investigating the serological and molecular prevalences of bovine and human leptospirosis and its causative agents in Erzurum.

Material and Method: Serum and kidney samples were taken from 289 animals slaughtered in Erzurum Meat and Milk Institution slaughterhouse in two periods, April-July and September-December. A total of 200 serum samples were taken from humans, 100 each from professionals at risk consisting of farmers, veterinarians and butchers, and housewives and office workers outside the risk. *Leptospira* antibodies were investigated in bovine blood serum samples by microagglutination test, *leptospira* DNA in kidney samples by Real-Time PCR method, and *leptospira* antibodies in human blood serum samples by microagglutination test and ELISA methods.

Results: Microscopic agglutination test and PCR positivity in blood serum samples taken from cattle raised on farms in Erzurum and its districts were obtained only from female cattle. Microscopic agglutination test positivity was detected in three cattle in the spring and 10 in the fall, for a total of 13 (4.5%); PCR positivity was detected only in two (0.7%) cattle in the fall semester. Of the *Leptospira* serovars, 10 (76.9%) belonged to *Leptospira interrogans* (6 Hardjo, 2 Bratislava, 1 Pomana and 1 icterohaemorrhagiae) and 3 (23.1%) belonged to *Leptospira kirschneri* (all Dadas). *Leptospira* IgG antibody positivity showed a statistically low level of significance in the fall period compared to the spring period. Three different strains, two *Leptospira interrogans* icterohaemorrhagiae, one *Leptospira hebdomadis*, and one *Leptospira kirschneri*, were identified in humans with MAT in risk and control groups. By ELISA, 14 (14.0%) antibody positivity in the risk group and 18 (18.0%) in the control group was detected. *Leptospira* IgG antibody positivity in humans, a normal population with a risk group, did not show a significant difference between genders and age groups.

Conclusion: Although the seroprevalence of *Leptospira spp.* in cattle is relatively high in Erzurum, the prevalence of active infection is low. In Erzurum, the risk of encountering leptospires in the normal population is as high as the people in the risk group.

Key Words: Cattle, ELISA, human, *Leptospira spp.*, leptospirosis, Microagglutination test, Real-Time PCR

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
bp	: Base pair (Baz çifti)
CAAT	: Cross-agglutinin absorption test (Çapraz aglütinasyon absorpsiyon testi)
Ct	: Cycle threshold (Döngü eşiği)
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMJH	: Ellinghausen–McCullough–Johnson–Harris (Johnson ve Harris besiyeri)
FlaA	: Filament protein A
FlaB	: Filament protein B
LPS	: Lipopolisakkarit
MAT	: Mikroskopik Aglütinasyon Testi
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PCR	: Polymerase Chain Reaction
WHO	: World Health Organization DSÖ: Dünya sağlık Örgütü
WOAH	: World Organization For Animal Health (Dünya Hayvan sağlığı Örgütü)

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Adolph Weil, 1848–1916	7
Şekil 1.2. Leptospira ve Leptospirozun Tarihçesi	9
Şekil 1.3. <i>L. interrogans</i> Membran Yapısı	10
Şekil 1.4. <i>Leptospira spp.</i> Hücreleri	12
Şekil 1.5. Leptospiraların Sınıflandırılması.....	16
Şekil 1.6. Leptospira Türleri için Moleküler Tipleme Algoritması.....	18
Şekil 3.1. “Novatec Units, NTU” Hesaplanmasında Kullanılan Formül	41
Şekil 4.1 Real–Time PCR’de Pozitif Örneklerin Ct Değerlerinin Görüntüsü.....	49

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1. Leptospira'nın 20 Türü için Referans Suşlar	19
Tablo 3.1. ELISA Testinin Validasyon Ölçütleri.....	41
Tablo 3.2. ELISA Test Sonuçlarının Yorumlanması	41
Tablo 3.3. Sığırlarda MAT Analizinde Kullanılan Antijen Paneli	43
Tablo 3.4. İnsan MAT Analizinde Kullanılan Antijen Paneli	43
Tablo 3.5. Real-Time PCR'de Kullanılan Reaksiyon Karışımın İçeriği.....	45
Tablo 3.6. <i>LipL32</i> Geni İçin Real-Time PCR İşlemi.....	46
Tablo 3.7. Real-Time PCR'de Kullandığımız Primer-Problar	46
Tablo 3.8. Real-Time PCR İnternal Kontrol Primer-Problar	46
Tablo 4.1. Olguların Özellikleri	48
Tablo 4.2. Sığırlarda MAT ve PCR sonuçları.....	49
Tablo 4.3. Sığırlarda MAT Testi ile Tanımlanan Leptospira Serovarları.....	50
Tablo 4.4. İnsanlarda MAT Testi ile Tanımlanan Leptospira Serovarları.....	50
Tablo 4.5. Sığırlarda Örnek Alım Dönemlerine göre MAT Sonuçları	51
Tablo 4.6. Sığırlarda Yerleşim Bölgesine Göre MAT Sonuçları.....	51
Tablo 4.7. Meslek Gruplarında Leptospira IgG Antikor Pozitifliği.....	52
Tablo 4.8. Yaş Gruplarına Göre Leptospira IgG Antikor Pozitifliği	52

1. GİRİŞ

Leptospirosis; Weil hastalığı, Weil-Vasiliev hastalığı, Domuz çobanı hastalığı, pirinç tarlası ateşi, suyla bulaşan ateş, nanukayami ateşi, baston ateşi, bataklık ateşi, çamur humması, Stuttgart hastalığı ve Canicola ateşi gibi isimlerle de anılan bir enfeksiyon hastalığıdır (Makini ve ark., 2020). Dünya çapında en önemli zoonotik bakteriyel hastalıklardan biri olarak ifade edilen Leptospirosis genellikle kaynakları kısıtlı olan popülasyonları etkilemekte ve önemli morbidite ve mortalite ile sonuçlanmaktadır. Kendi kendini sınırlayan sistemik bir enfeksiyondan çoklu organ yetmezliğinin eşlik ettiği ölümcül bir hastalığa kadar etkisi değişen leptospirosis (leptospiroz), küreselleşme ve iklim değişikliği gibi nedenlerin de katılımı ile başta tropik bölgelerde olmak üzere tüm dünyada insidansı giderek artmakta ve yılda yaklaşık bir milyon yeni vakaya ve 58.000'in üzerinde ölüme neden olduğu (vaka ölüm oranının yaklaşık %6.8) tahmin edilmektedir (Rajapakse, 2021).

Leptospiralar, leptospiroz belirtisi vermeyen kronik enfeksiyonlu hayvanların idrarlarıyla kırsal ve kentsel çevrelere yayılırlar (Bierque ve ark., 2020). Çevredeki bakteriler gölge, sıcak ve nem gibi koşulların uygun olduğu yerlerde aylarca yaşayabilmektedir. Çok sayıda canlı bakteri içeren kontamine ortamlar leptospiraların en önemli enfeksiyon kaynağı olarak rol oynarlar. Leptospirosisin artan toprak nemi ile ilişkili olduğu ve leptospirosis pozitif vakalarının %97'sinden fazlasının, Ağustos ve Ekim ayları arasındaki hasat mevsiminde meydana geldiği ve en yaygın olarak çiftçileri etkilediği ifade edilmektedir (Cucchi ve ark., 2019). Çiftçilerden ayrı olarak bu hastalığa yakalanma riski yine mesleki maruziyetle ilişkili olarak veteriner hekimler, kasaplar, balıkçılar ve avcılarda ve ayrıca yoksulluk, gelişmemiş kanalizasyon şebekesi, yetersiz su temini gibi sosyo-ekonomik koşullarda yaşayanlarda yüksektir (Becirovic ve ark., 2022). Leptospirosis ateş, mide bulantısı, kusma baş ve karın ağrısı gibi çok çeşitli klinik

belirtilere neden olmakta ve tedavi edilmediği takdirde ölümcül komplikasyonlara yol açabilmektedir (Nagraik ve ark., 2020).

Leptospiroz, yaygın zoonotik enfeksiyonlardan biri olmakla birlikte, oluşturduğu klinik tablolar diğer enfeksiyonlarda da gözlenen çok çeşitli belirti ve bulgularla seyretmesi tanısında güçlükler neden olmaktadır. Bu nedenle, özgün antikor (Ab)'ların tespit edilmesinde mikroskopik aglütinasyon testi (MAT), indirekt hemagglütinasyon testi (IHA) veya immüno-enzimatik testler (ELISA) gibi çeşitli laboratuvar testlerine ve leptospiraların idrarda veya dokularda kültür, karanlık alan mikroskobu, immün boyama veya PCR gibi ayırıcı tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulur (Adler, 2010).

Sığırlarda leptospiroz ölü doğumlara, düşüklere, kısırılığa, zayıf buzağı doğumuna ve süt üretimi ve veriminin azalmasına neden olur (Kader ve ark.,2021). Türkiye’de sığır böbreklerinden taşıyıcı sığırların belirlenmesi amacıyla PCR yöntemiyle leptospira çalışması bulunmamakla birlikte 2012 yılında Diyarbakır’da kesimi yapılan sığır idrarlarında PCR yöntemi ile %9.4 oranında tespit edilmiştir (Yeşilmen ve ark.,2012). Yine, 2000 yılında Elazığ’da kesimi yapılan sığır idrarlarında %4.9 oranında patojen leptospira bulunduğu bildirilmiştir (Çetinkaya ve ark.,2000).

Erzurum yöresinde leptospiroz üzerine yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olması bu çalışmanın başlatılmasında önemli rol oynamıştır. Bu çalışma ile ülkemizde yapılan leptospia çalışmalarına ait geniş bir literatür taraması yapılması ve leptospira epidemiyolojisine ait literatüre katkı sunulması da amaçlanmıştır. Çalışmamızın temel amacı ise Erzurum’da hayvancılık yapan yetiştiriciler, kasaplar, veteriner hekimlerde leptospiroz seroprevalansının belirlenmesi hem de yağışların bol olduğu dönemlerde iki dönem olmak üzere Nisan-Temmuz ve Eylül –Aralık aylarında kesime gelen sığırlardan böbrek ve kan numunesi alınarak leptospira antikor varlığı ve taşıyıcılığının araştırılmıştır. Bu sığır popülasyonunda leptospiroz etkenleri ve insidansını belirlemeye yönelik

moleküler ve serolojik çalışmanın tamamlanması ile Türkiye'deki genel leptospiroz sorununa ilişkin bir kanaatin elde edilebileceği ve bu hastalıkla ilişkili korunma ve sağlık tedbirleri hakkında çözüm önerilerine katkı sunulabileceği de öngörülmüştür.

İnsan ve hayvan sağlığını tehdit eden leptospira enfeksiyonlarının bölgesel yükünü tespit ettiğimiz bu çalışmanın enfeksiyonun erken tanısı için algoritmaların tasarlanmasına; zoonotik enfeksiyonların oluşmasında rol oynayan ekolojik ve epidemiyolojik faktörlerin tanımlanmasına ve enfeksiyonların önlenmesine, eğitim ve kontrol önlemlerinin yönlendirilmesine katkı sunacağı kanaatindeyiz.



2. GENEL BİLGİLER

Erzurum genelinde hayvansal üretimin düşük bir verime sahip olduğunu bildiren Ünal, verimin artırılması halinde çiftçi ekonomisinin olumlu etkileneceğini; gelir artışına neden olarak çiftçinin köyden kente göç etmesinin engel olabileceğini iddia etmektedir (Ünal,2004). Tarımsal üretimin hızlı büyüyen sektörlerinden olan hayvancılık, dünyanın tarımsal gayri safi yurtiçi hasılasının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Sığır, koyun, keçi gibi yurdumuzda sıklıkla üretimi yapılan hayvanların et, süt, peynir gibi ürünlerin soframıza sağlıklı bir şekilde gelebilmesinin ön koşulu bu çiftlik hayvanlarının bakımları, beslenmeleri ve çevresel koşullarına bağlıdır. Çiftlik hayvanlarının sağlık durumları sadece bir çiftlikte yaşayanlarla sınırlı olmayan çevre çiftliklerinde ve o yörede hatta tüm ülkede yaşayan diğer hayvanları da ilgilendiren durumdur. Bu nedenle ülke politikalarının sağlıklı, uzun ömürlü ve yüksek verimli hayvanları içeren sürülerin oluşmasını dikkate alarak düzenlenmesi gerekmektedir. Hayvan sahipleri sahip olduğu hayvanlardan birini bile kaybetmesi sadece o kişiyi değil bütün ülkeyi ilgilendiren bir ekonomik kayıptır. Ülkeler hayvan sağlıklarını korumak ve güven altına almak için veteriner hekimlere kısa zamanda erişebilecekleri bir sağlık ağını aktif tutmalıdır.

Dünyada insan nüfusunun artışının çiftlik hayvanları endüstrisi üzerinde bir baskı uyguladığı; süt ve et üretiminin yoğunlaşmasına ve beraberinde de kaçınılmaz olarak bulaşıcı hastalıkların yayılma ve alevlenme riskinin artmasına neden olduğu ifade edilmektedir (Vlasova ve ark., 2021). İnsan, hayvan ve vektör popülasyonlarının yoğun olduğu yerlerde, zoonotik enfeksiyonların yayılması için doğal olarak yüksek riskli ortamlar yaratır ve insanlarda da önemli morbidite ve mortaliteye neden olur. Veterinerlik ve halk sağlığı ile ilgili viral ve bakteriyel patojenler arasında en sık görülenleri bakteriler arasında *Leptospira spp.*, *Coxiella burnetii* ve *Brucella spp.*; virüsler arasında da arbovirüslerden Rift Valley humması virüsü (RVFV), Kırım-Kongo kanamalı ateşi virüsü

(KKKA), Sicilya ve Napoli kumsineği humması virüsleri (Sandfly Fever Sicilian Virus, SFSV; (Sandfly Fever Naples Virus, SFNV) bulunmaktadır (Horton ve ark., 2014).

“Sığırlarda ve risk grubundaki insanlarda serolojik ve moleküler yöntemlerle leptospira enfeksiyonlarının araştırılması” başlığıyla sunulan çalışmamızın öznesini oluşturan leptospirozun yılda 1 milyondan fazla kişiyi etkilemekte, 59.000 ölüme ve yüksek sosyoekonomik etkisini yansıtacak şekilde yılda tahmini 2.9 milyon engelliliğe ayarlanmış yaşam yılı kaybına neden olmaktadır (Biscornet ve ark., 2020). Aşağıda bu insan ve hayvan enfeksiyonlarıyla ilişkili olan hastalık ve etkenleri hakkında bilgiler sunulmuştur.

2.1. Leptospirozun Tanımı

Leptospiroz Yunanca “lepto (hafif, ince, narin)” + speira (sarmal)” + “-osis (hastalık)” kelimelerinin bileşiminden oluşan leptospira cinsindeki ince ve spiral şekilli patojenik Leptospira cinsi spiroketlerin neden olduğu bulaşıcı hastalığı ifade eden bir terimdir. İnsan ve veterinerlik açısından üzerinde yeterince ilginin gösterilmediği ihmal edilen bulaşıcı bir hastalık olarak kabul edilir. Esas olarak köpek, kemirgenler, sığır gibi enfekte memelilerin idrarı veya diğer biyolojik sıvıları ile doğrudan temas yoluyla veya kontamine toprak veya su ile dolaylı temas yoluyla insanlara bulaşan patojen leptospiralar, hasarlı cilt veya mukoza ile temas ettikten sonra, serum komplemanının etkisinden kurtularak, konakçının biyolojik bariyerlerini aşabilimekte; proksimal tübüller yoluyla enfeksiyondan sonraki 1 saat içinde karaciğer, akciğerler ve özellikle böbrekler gibi hedef organlara ulaşabilmektedirler (Daroz ve ark., 2021; Benavidez ve ark., 2019). Leptospiroz gelişmekte olan ülkelerde önemi giderek artan ve özellikle bu ülkelerin tropikal iklime sahip yörelerinde iklimlerinin uygunluğu nedeniyle sıklıkla görülmektedir (Soo ve ark., 2020). Tarım, veterinerlik, mezbaha çalışanları, hayvan bakıcıları ve

bahçıvanlar, balıkçılar, kanalizasyon işçileri ve pirinç fabrikası işçileri gibi meslek sahipleri; endemik bölgesine uygun önlemler almadan seyahat eden kişiler; sörf, mağaracılık, kano gibi tatlı su sporlarına katılan kişiler ve sel alanlarda afet yardımı çalışmalarına katılan gönüllüler leptospiroz riski altındadır (Karpagam ve ark., 2020). Yine gecekondü bölgelerinde, sağlık koşullarının eksikliği, sıçanların varlığı ve drenaj sistemlerindeki alt yapı yetersizliği, kentsel leptospiroz risk faktörlerini oluşturur.

Çok sayıda patojenik türünün olması leptospiroz için %100 koruyucu olabilen aşı geliştirilmesinde olumsuz rol oynamaktadır. Günümüzde aşı geliştirme çalışmaları esas olarak rekombinant antijen (ag)'lere odaklı olarak yapılmaktadır (Felix ve ark., 2020). İnsanlar için önerilen en önemli tedbirler leptospiral enfeksiyonun bulaşmasından sorumlu kemirgen, sığır, domuz ve diğer evcil hayvanlar, toprak ve tarım arazileri ve sularla temastan kaçınmak ve gıdalara hayvan çıkartılarının kontaminasyonunu engellemektir (Karpagam ve ark., 2020).

2.2. Leptospiroz Tarihçesi

Leptospiroz patojenik leptospira türleri ile ortaya çıkan ve dünyada yaygın görülen zoonotik karakterde bir hastalıktır. İnsanlarda subklinik formdan çoklu organ yetmezliği sendromuna kadar değişen şiddette seyreden enfeksiyon yüksek mortaliteye sahiptir. Böbrek yetmezliğine ilişkin ilk ikterik leptospiroz olgusu Heidelberg'de 1886'da Adolf Weil (Şekil 1) tarafından bildirilmiştir (Adler, 2015). Stimson ise 1907'de bir sarıhumma salgınında ölen New Orleanslı bir erkeğe ait böbrek tübüllerinde gümüş boyama tekniği ile bu bakterileri görmüş ve onlara *Spirocheta interrogans* adını vermiştir (Arent ve ark., 2022). Inada ve arkadaşları tarafından 1915 yılında ve kısa bir süre sonra da Hiibener ve Reither tarafından Almanya'da bu bakterinin enfeksiyonlarla ilişkisi onaylanmıştır (Alston ve ark., 1937). Bu organizma *Spiroceta icterohaemorrhagiae*

olarak isimlendirildi, *Leptospira* Taksonomisi Alt Komitesi tarafından 1990 yılında *Leptospira interrogans* olarak kabul edildi (Nagraik ve ark., 2020).



Şekil 1.1. Adolph Weil, 1848–1916

Japonca akiyami ya da sonbahar ateşi adı ile bilinen leptospiroz antik Çin’de pirinç hasatı yapanlarda mesleki bir tehlike olarak kabul edimiştir (Levett, 2001). Sıçanların renal leptospira taşıyıcı oldukları Japonya’da İdo ve ark. tarafından 1917 yılında tarla faresi *Microtus montebelloi*’nin böbreklerinde *Spirochceta icterohcemorrhagie*’e benzeyen spiroketlerin bulunmasına dayalı olarak raporlanmıştır (Ido ve ark., 1917).

Sığırlarda hastalık ilk olarak 1940 yılında Rusya’da rapor edilmiş, daha sonra “sığırların bulaşıcı sarıhumması” olarak anılmıştır. 1950'lere gelindiğinde, serovarların ve konakçı hayvanların yelpazesi önemli ölçüde genişlemiş ve 1980'lerde leptospiroz, köpeklerde, sığırlarda, domuzlarda, atlarda ve belki de koyunlarda büyük ekonomik öneme sahip bir veterinerlik hastalığı olarak belgelenmiştir (Adler, 2015). Spektrumu yıllar içinde giderek genişleyen patojen leptospira serovarları ile ortaya çıkan

leptospirozun klinik seyri gribe benzer hafif ateşli bir hastalıktan ölümcül olan karaciğer ve böbrek yetmezliğine ve şiddetli pulmoner kanamalara kadar değişkenlik göstermektedir. Hekimoğlu 1960 yılında yaptığı derleme çalışmasında Türkiye’de 1950 yılında Akçay ve Pamukçu'nun ikterohemoglobinuriden ölen bir dananın böbrek kesitlerinde Leptospiraları demonstre ettiklerini; 1952 yılında Çizmen ve Özgen'in danalar arasında görülen *L. grippotypcosa* enfeksiyonunu bildirdiklerini, daha sonraki yıllarda Unat ve Gürtürk'ün hasta bir köpekten *L. canicola*'yı, lağım sularından da kobaylarda *L. icterohaemorrhagiae* suşunu izole ettiklerini bildirmiştir (Hekimoğlu,1960).

Çeşitli kaynaklardan yararlanılarak oluşturduğumuz Leptospira ve leptospirozun şematik tarihçesi şekil 1.2.’de verilmiştir (Adler., 2015; Arent ve ark., 2022; Turhan, 2012; Brightman, 2018).

Leptospira ve leptospirozun kısa bir tarihçesi

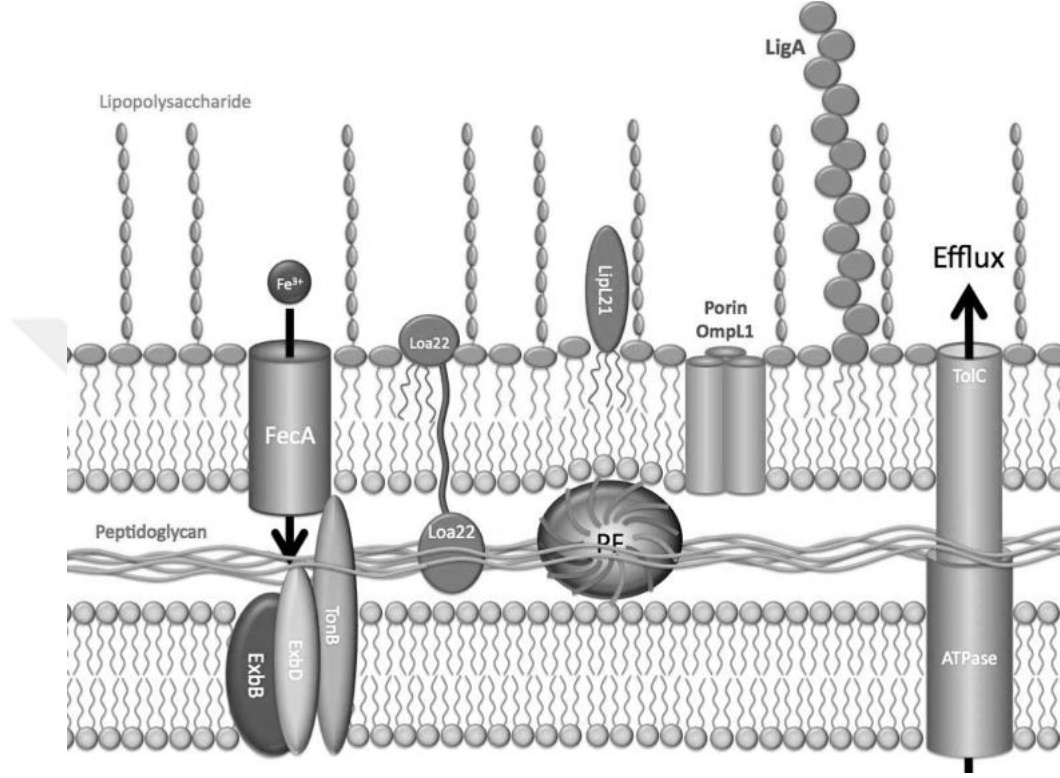


Şekil 1.2. Leptospira ve Leptospirozun Tarihçesi

2.3. Leptospira Biyolojisi ve Hücresel Özellikleri

Leptospiralar, bakteriler içinde diğerlerine benzemeyen morfolojik özelliklere sahip spiroketler şubesinin üyeleridir. Bu bakteriler genellikle 0,1 µm x 6 ila 0,1 x 20 µm boyutlarında sıkıca sarılmış esnek yapılı, hareketli spiroketlerdir (Picardeau, 2013). Ancak boyları kültürden izole edilen suşlarında çok daha uzun olabilmektedir. Sarmalın genişliği yaklaşık 0.1-µm, dalgalarının uzunluğu 0,5 µm kadardır (Levett, 2001). Sıvı ortamlarda üretilmişlerin bir veya her iki ucu belirgin kanca şeklinde ve sivri olup soru

işaretine benzer bir yapıya sahiptir (Evangelista ve ark., 2010). Leptospiralar sitoplazmik zar ve peptidoglikan yapıdaki hücre duvarı ile ilişkili dış zar bulunmaktadır. Patojenik leptospiralardan *L. Interrogans* için bu yapıyı tasviri şekil 1.3'te görülmektedir (Haake ve Zückert, 2015).



Şekil 1. 3. *L. interrogans* Membran Yapısı. Dış zar LPS'sini, LipL21, Loa22 ve LigA

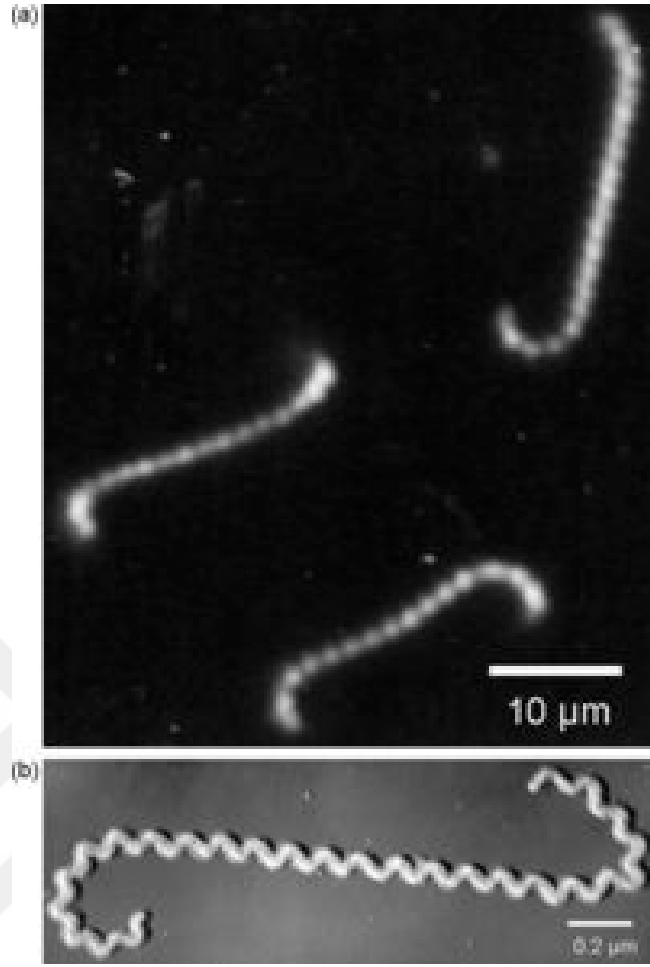
lipoproteinlerini; FecA, OmpL1, TolC ve olasılıkla Loa22 transmembran proteinleri içerir. Periplazma içerisinde peptidoglikan ve periplazmik flagella (PF) bulunur.

Dış zar içinde O ya da somatik antijeni olan lipopolisakkarit (LPS) bulunmaktadır. Leptospira, ana yüzey antijeni LPS'nin kimyasal yapısındaki değişikliğine bağlı olarak mikroagglütination testi ile saptanan 24 serogrup ve 250'den fazla serovara ayrılan heterojen bir genustur (Vanithamani ve ark., 2021). Hücrelerinin kimyasal yapıları itibariyle Gram-negatif olmalarına rağmen bakteriyolojik boyalarla boyanmazlar, onları görmek için karanlık saha mikroskopundan yararlanılır. Dokulardaki leptospiraları görmek için Warthin-Starry gümüş boyası veya immonohistokimyasal boyama

yöntemleri kullanılır (Ackermann ve ark., 2021). 16S rRNA genlerinin filogenetik analizleri sonucu, *Leptospira* türleri, patojenik ve saprofitik düzeyiyle ilişkili olarak enfeksiyonlardan sorumlu türleri içeren "patojenler" (P1 ve P2) ve enfeksiyonlardan sorumlu olmayan türleri içeren "saprofitikler" (S1 ve S2) olarak belirlenmiş iki ana gruba ayrılır (Guglielmini ve ark., 2019). Saprofit türler toprakta ve su gibi çevresel habitatlarda bulunan hastalık oluşturmazlar. Ara grubu oluşturan intermediate leptospiralar istenmeyen durumlara yol açmayan olmayan ve kendiliğinden iyileşen hastalıklara neden olur. Patojenik türler ise insanlarda ve hayvanlarda subklinikten ciddi ve ölüme kadar değişen şiddette hastalıklara neden olabilmektedir

Leptospiraların hareketi, bakterinin her iki ucundan çıkan periplazmik boşluk içinde yer alan periplazmik flagella veya endoflagella adı verilen organelleri sayesinde gerçekleşmektedir. Sıvı besiyerinde kendi eksenini etrafında bükülerek ve rotasyon ile karakteristik hızlı ve dalga şeklinde hareket ederler. Leptospiraların birkaç virülans faktöründen birini oluşturan hareketi iki ucu çengel şeklinde kıvrımlı olması aksial filamentin kasılması ile meydana gelir. Flagella kılıfı ve çekirdeği iki alt ünitesi olan Filament protein A (FlaA) ve dört alt ünitesi olan Filament protein B (FlaB) proteinleri tarafından oluşturulmaktadır. FLA ve FlaB kodlayan genlerin ürettiği proteinlerin uzunlukları ve benzerlikleri arasında farklılıklar vardır. Leptospiral FlaB proteinlerinin yüksek derece özdeşliğe (%70) ve aynı uzunluğa sahip olduğu buna karşın FLA proteinlerinin benzerliklerinin düşük olduğu (%28) ve uzunluk bakımından da farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir. Bu farklılıkları nedeniyle FlaA proteinlerinin flagellum yapısında ve/veya işlevinde farklı rollere sahip olabileceği akla gelmektedir (Lambert et al, 2012).

Leptospiraların kendine özgü spiral ve kancalı uçları yapısını gösteren karanlık alan ve elektron mikroskop görüntüleri Şekil.1.4'te de gösterilmiştir (Adler,2010).



Şekil 1.4. *Leptospira spp.* Hücreleri (a) karanlık alan ve (b) elektron mikroskobunda

Leptospiral lipid A'nın yapısı, matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) kütle spektrometrisi, "Nuclear magnetic resonance (NMR) spektroskopisi ve biyokimyasal analizler kullanılarak aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Leptospiral lipid A'nın yapısının, glukozamin analogu 2,3-diamino-2,3-dideoksi-d-glukopiranozdan yapılmış bir β ,1'-6-bağlı bir disakkaritten oluştuğu; molekül pozisyonuna göre R-3-hidroksilaurat veya R-3-hidroksipalmitat ile açillendiği belirtilmekte ve en sıra dışı özelliği olarak da metillenmiş bir 1-fosfat parçasını içermesi gösterilmektedir (Boon Hinckley ve ark, 2005). LPS'te ek olarak dış membranın içeriğinde yapısal ve fonksiyonel özelliklere sahip bazı proteinler bulunmaktadır.

Bunlardan LipL21 ve LipL41, patojenik leptospira türlerinin dış zarında en fazla bulunan lipoproteinlerdir. Yapılan çalışmalarla bu iki proteinin aşılarda ve tanıda yararlanılabilecek hedefler olduğu; çeşitli konak bileşenleriyle etkileşime girme kapasitesinin bulunduğu ve bunların konak-Leptospira etkileşimlerindeki önemi vurgulanmıştır. Takahashi ve arkadaşları, *Leptospira spp.*'nin moleküler konak-patojen etkileşim mekanizmalarının aydınlatılması, daha etkili aşılarda ve verimli teşhis ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olabileceği; dış zar proteinleri, konakçı ile etkileşime giren ve bir bağışıklık tepkisini destekleyen ilk proteinler olduklarından, aşılarda ve tanıda önem arz ettiği bildirilmiştir (Takahashi ve ark., 2021). Takahashi ve arkadaşları ayrıca, patojenik leptospiraların başlıca dış zar proteinleri arasında LipL32, Loa22, LipL41, LipL36 ve LipL21 bulunduğunu; *L. interrogans* suşlarında hücre başına yaklaşık 38.000 kopya ile 32 kDa'lık bir protein olan LipL32'nin patojenik suşlarda en fazla salgılanan dış zar proteini olduğunu da ifade etmişlerdir. Korunmuş yüzey ve yüzey altı leptospiral proteinleri olan Porin OmpL1, LipL41, LipL32, LipL21, Loa22 gibi lipoproteinler ile leptospira immunoglobulin-benzeri protein (Lig) ailesinden OMP'ler leptospiroza karşı daha etkili aşı adayları olarak gösterilmektedir (Llanos Salinas ve ark., 2020).

Leptospira hücreleri 6-16 saat arasında bölünürler yavaş ürerler. Zorunlu aerobtur, gereksindikleri optimum üreme sıcaklığı 28-30°C olan bu spiroketler katalaz ve oksidaz enzimlerine sahiptirler. İn vitro ortamlara uzun zincirli yağ asitleri ilavesi üremelerini kolaylaştırır. Bu özelliğe sahip Korthoff, Fletcher, tween 80, stuart, Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) gibi sıvı ve yarı katı olarak hazırlanan ortamlar ve ayrıca Korthof's, Stuart's veya Vervoost's ortam ya da bunlara alternatif olarak veya "Fletcher" ve "Noguchi" gibi yarı katı veya katı besiyerinin leptospira üretimi için özel besiyerleri olduğu belirtilmektedir (Guedes ve ark., 2022; Kucerova ve ark., 2013). En yaygın olarak kullanılan oleik asit, sığır serum albüminin ve

polisorbata (Tween) bulunan besiyeri EMJH'dir. Bazı suşların izolasyonu, piruvik asit veya tavşan serumunun eklenmesiyle mümkün olmaktadır. Klinik örneklerde kontaminasyonun engellenmesi için 5-florourasil, gentamisin, nalidiksik asit veya rifampisin gibi antimikrobiyaller eklenir (Kuceroğlu ve ark., 2013). *Leptospira* üreme özellikleri hakkındaki bilgiler ilerleyen sayfalarda "Kültür" başlığı altında verilecektir.

2.4. Taksonomi ve Sınıflandırma

İnsan ve hayvanlarda enfeksiyon yapan ve enfeksiyöz olmayan suşları içeren *Leptospira* türleri çevrede her yerde bulunabilmektedir. Stimson tarafından *Leptospira* cinsi 1907'de geleneksel olarak virülans derecelerine göre "saprofitler (*Leptospira biflexa sensu lato*)" ve "patojenler (*Leptospira interrogans sensu lato*)" olmak üzere iki gruba ayrılmıştır (Vincent ve ark., 2019). Hücresel organizmalar grubunda yer alan ve bugün PubMed "Taxonomy" arama motorunda tanımlanmış 70 türü bulunan *Leptospira* cinsi, Bacteria süperalemi içinde Spirochaetota şubesi, Spirochaetia sınıfı, Leptospirales takımının *Leptospiraceae* ailesi içerisinde yer almaktadır (Schoch, 2023).

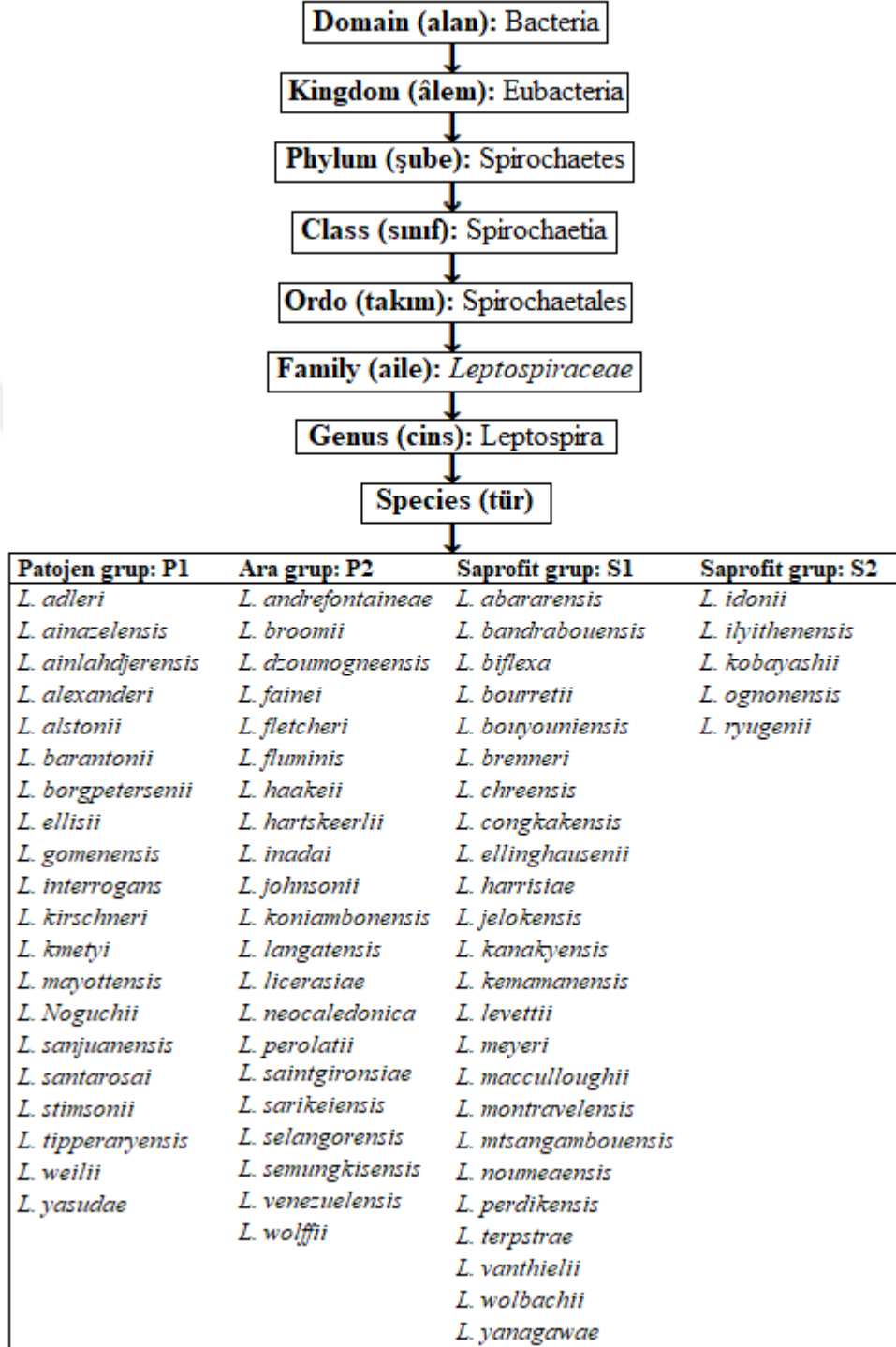
Leptospira izolatlarının tanımlanması, serovar ve serogrupların belirlenmesi bakteriyel DNA'ya göre değil, geleneksel olarak serolojik yöntemlerle yapılmakta ve türlerin tanımlanması, izolatın patojenitesi ile belirlenmektedir (Rajapakse, 2022). Leptospiraların serolojik çeşitliliğinin yüksek olmasının onların taksonomisinin kurulmasında zorluklara neden olduğunu söylememiz mümkündür. İlk sınıflandırmalarda belirtilen patojen ve saprofit ayrımı daha sonraları bu türlerin beslenme gereksinimleri ve diğer fenotipik özelliklerine göre ayrıntılandırılmıştır. İleri aşamalarda LPS karbonhidrat bileşenlerinin yapısal heterojenliği ile tanımlanan homolog antijenlerin varlığına göre *Leptospira biflexa* 60 ve "*Leptospira interrogans* en az 225 özgün serovara ayrılmıştır (Kocacıoğlu, 2002). Leptospiralar toplamda 250'den fazla serovara ve 23 serogruba

ayrılmakta ve aynı tür, birçok serogrup içerebilmektedir (Le Turnier ve ark., 2019). Leptospiraların serovar/serogrup olarak tanımlanması, epidemiyolojik çalışmalarda, uygun aşılarda geliştirilerek leptospirozun kontrol edilmesine katkı sunan bir role sahiptir. Serolojik tanıda, özel bir laboratuvar altyapısı gerektiren ve zahmetli bir test olan altın standart olarak kabul edilen “Mikroskopik Aglütinasyon Testi (MAT) ve Çapraz Aglütinin Absorpsiyon Testi “Cross-Agglutinin Absorption Test (CAAT)” kullanılmaktadır (Bulu ve ark., 1990; Guedes ve ark., 2019). Günümüzde ise bu fenotipik yöntemlerin yanı sıra “Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)” ve PCR gibi yöntemler de sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. *Leptospira* türlerinin filogenisinin belirlenmesinde 16S rRNA dizi analizlerinden yararlanılmaktadır. PCR gibi moleküler yöntemler, leptospirozun erken tanısı için ve bu bakterilerin izolasyonunu ve kültürasyonunu gerektirmemesi gibi nedenlerle de tercih edilmektedir.

Leptospira taksonomisinde kabul edilen terminoloji “Genus”, “tür”, “serovar” ve “Serovar ismi” şeklindedir. Örneğin: *Leptospira interrogans* serovar Hardjo.” Örnekte görüldüğü gibi binominal adlandırma kurallarına uygun olarak cins ve tür ismi italik olarak yazılmış, cins ismi büyük harfle, tür ismi küçük harfle başlatılmıştır.

Leptospira cinsine ait türler günümüzde patojenik (P) ve saprofitik (S) olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmış; bu sınıfların her biri de 2 alt sınıfa bölünmüştür (P1, P2; S1 ve S2). Bu sınıflandırmada P1, şiddetli virülan olan orijinal patojenik soyu; P2 orta düzeyde düşük virülanslı soyu, S1 orijinal saprofitik soyu ve S2 de yeni tanımlanmış saprofitik soyu temsil etmek için kullanılan kısaltmalardır (Vincent ve ark, 2019). Patojenik soy grubundaki organizmalar öncelikli olarak memelileri enfekte eder ve kuş, amfibi, sürüngen ve balık gibi diğer canlı gruplarında da bulunur (Wilkinson ve ark., 2021). PubMed kayıtlarında yer alan tanımlanmış 70 türün bakteriler arasındaki yeri ve türlerin patojen ya da saprofitliğine göre sınıflandırılması çeşitli kaynaklardan

yararlanılarak hazırladığımız Şekil 1.5'te verilmiştir (Arent ve ark., 2022; Fernandes ve ark., 2022; Thibeaux ve ark., 2018).

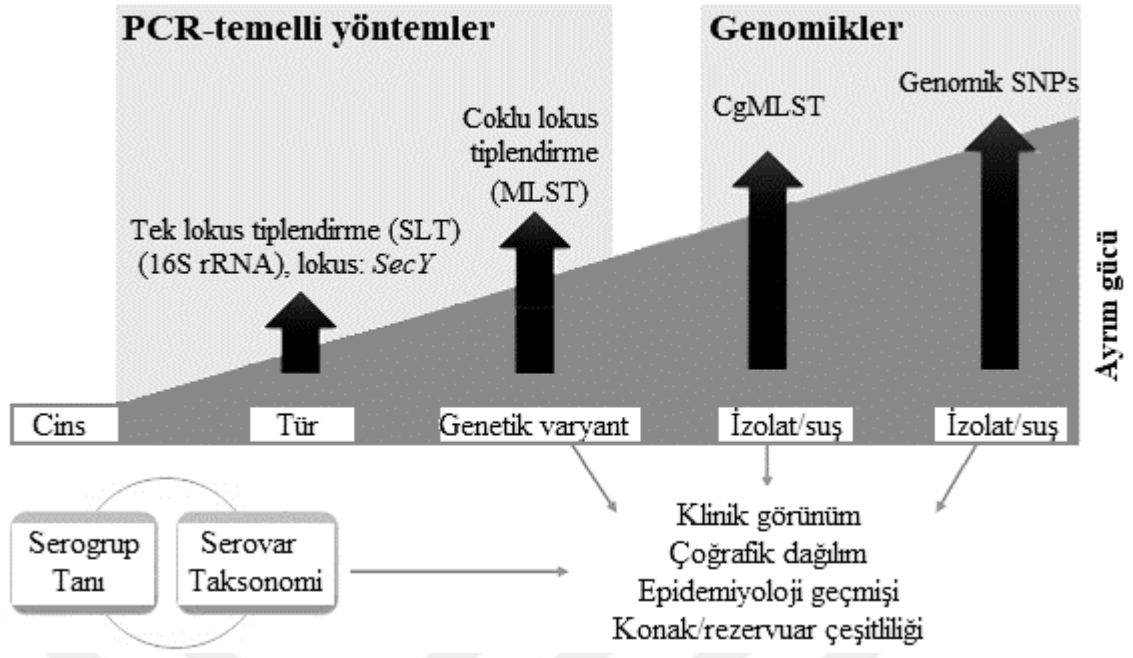


Şekil 1.5. Leptospiraların Sınıflandırılması. Tanımlanan türlerin filogenesi ile patojen

ve saprofit (P ve S) olarak iki ana; P1, P2, S1 ve S2 olarak dört alt sınıf tanımlamıştır.

Leptospiralar için iki sınıflandırma şeması kullanılır; bunlardan biri temel taksonun serovar olduğu serolojiye dayanır ve diğeri, bazen genomik olarak anılan moleküler taksonomiye kullanır. Serolojik sınıflandırmanın temeli, Gram-negatif bakterilerdeki LPS'nin antijenik farklılığına dayanır. LPS'nin antijenik yapısı leptospiraların ana serovar belirleyicisidir. Leptospiralar, Mikroskopik Agglütinasyon Testi (MAT) ve Çapraz Agglütinasyon Absorpsiyon Testi (CAAT) ile serolojik olarak saprofitik ve patojenik serogrup ve serovarlar tespit edilmektedir. (Guernier ve ark., 2018).

Leptospira tipleme yöntemleri arasında 16S rRNA'yı araştıran tek lokus tiplendirmesi "single locus typing" (SLT); "çoklu lokuslu değişken tandemlerin yinelenen analizi "Multiple-locus variable number of tandem repeats analysis (MLVA) ve çok lokuslu sekans tiplemesi "multilocus sequence typing (MLST)" gibi PCR-temelli tiplendirme yöntemleri vardır. Ayrıca tiplendirme de izolat/suşları ayırma gücü yüksek olan core genome MLST (cgMLST) ve tek nükleotid polimorfizmleri "single nucleotide polymorphisms (SNPs)" gibi karşılaştırmalı genomik yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemlerin leptospiraların cins, tür ve suş seviyelerinde ayırma güçlerini gösteren moleküler tiplendirme algoritması Şekil 1.6 Caimi ve Ruybal'ın makalesinden Türkçeleştirilmiştir (Caimi ve Ruybal., 2020).



Şekil. 1.6. *Leptospira* Türleri için Moleküler Tipleme Algoritması. Ayrıt edici

gücün, SLT'den tüm genom dizileri ile maksimum değerine ulaşan MLST'ye ve genomik yöntemlere doğru artışı görülmektedir.

Genel olarak, serolojik sınıflandırma, leptospira izolatlarının türlerini güvenilir bir şekilde belirlemek için kullanılamaya elverişli değildir. Çünkü bir serogrup, farklı leptospira türlerinden serovarları ve yine bir genomik tür birkaç farklı serogruptan bakterileri içerebilmektedir. Ayrıca, birden fazla *Leptospira* türünde çok sayıda *Leptospira* serovarı bulunur. Son yıllarda *Leptospira* için, serogrup ve serovarlara yönelik klasik sınıflandırma, moleküler tiplendirme ile birleştirilmiş olduğu; *Leptospira* epidemiyolojisini araştırmak için bireysel genomik profillerinin incelenmesinde MLVA ve MLST gibi çeşitli moleküler tekniklerin önem kazandığı bildirilmiştir (Bertasio ve ark., 2020). İzolatlar arası genetik ilişkileri belirleyen MLVA yöntemi *Leptospira* popülasyonlarının surveyansı ve genotiplerini belirlemede yararlı bir tipleme aracı olarak kullanılmaktadır. Leptospiralar filogenetik ve Patojenite özelliklerine göre Tablo.1.1'de gösterildiği gibi üç gruba ayrılır. Altı saprofitik, dokuz patojenik ve RNA 16S dizilerine

göre patojenlerden ve saprofitlerden farklı olan virulansı deneysel olarak kanıtlanmamış beş ara tür vardır (Picardeau., 2013).

Tablo. 1.1. Leptospira'nın 20 Türü için Referans Suşlar

Tür	Serogrup	Serovar	Suş
Patojenler			
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	Fiocruz LI-130
<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama	CZ 214 K
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Sejroe	M84
<i>L. weilii</i>	Celledoni	Celledoni	Celledoni
<i>L. santarosai</i>	Tarassovi	Atlantae	LT81
<i>L. alexanderi</i>	Manhao	Manhao 3	L 60
<i>L. alstonii</i>	Belirlenmemiş	Sichuan	79,601
<i>L. kmetyi</i>	Belirlenmemiş	Belirlenmemiş	Bejo-Iso 9
Intermediate			
<i>L. wolffii</i>	Belirlenmemiş	Belirlenmemiş	Korat-H2
<i>L. licerasiae</i>	Belirlenmemiş	Varillal	VAR010
<i>L. inadai</i>	Tarassovi	Kaup	LT64-68
<i>L. fainei</i>	Hurstbridge	Hurstbridge	BUT6
<i>L. broomii</i>	Undesignated	Belirlenmemiş	5399
Saprofitler			
<i>L. wolbachii</i>	Codice	Codice	CDC
<i>L. meyeri</i>	Semarang	Semarang	Veldrat
<i>L. biflexa</i>	Semarang	Patoc	Patoc 1
<i>L. vanthielii</i>	Holland	Holland	WaZ Holland
<i>L. terpstrae</i>	Belirlenmemiş	Belirlenmemiş	LT 11-33
<i>L. yanagawae</i>	Semarang	Saopaulo	Sao Paulo

2.5. Leptospiroz Epidemiyolojisi ve Enfeksiyon Kaynakları

Geniş bir coğrafi dağılım gösteren leptospiroz, özellikle tropikal, subtropik ve ılıman iklim kuşaklarında yaygındır. Endüstrileşmiş ülkelerdeki insidansı gelişmekte olan ülkelere göre düşük olup ortaya çıkan olguların büyük bir bölümünün eğlence amaçlı girilen kirli sular nedeniyle geliştiği belirtilmektedir (Sugunan, 2007). Leptospiroz insidansına ilişkin ilk çalışmalar, özellikle gelişmiş ülkelerde besi hayvanlarında leptospiroz ile ilgili meslek hastalıkları üzerinde yoğunlaşmıştır (Haake ve Levett, 2015). Tropikal ülkelerde zamanla hastalığın önemi daha iyi anlaşılmış ve leptospirozu tanısı ve kontrolünde kullanılan kılavuzlar geliştirilmiştir. Nikaragua, Brezilya, Tayland, Sri Lanka ve Hindistan gibi çeşitli yerlerde meydana gelen kasırğa ve selden sonra bir dizi leptospiroz salgınının oluştuğu; HealthMap veri tabanındaki bilgilere göre küresel temelde oluşan salgınların yarısından fazlasının (%63'ünün) Amerika Bölgesinde gerçekleştiği bildirilmektedir (Yang, 2018). DSÖ, ciddi olgularda çoklu organ tutulumuna neden olduğu durumlarda %40'tan fazla olguda ölüme yol açan leptospiral enfeksiyonların büyük çoğunluğunun subklinik olması ya da çok hafif seyretmesi nedeniyle hastaların tıbbi yardım talebinde bulunmadıklarını belirtmektedir. DSÖ ayrıca leptospirozun değişken belirtileri nedeniyle sıklıkla yanlış tanı konulduğu ve bunun bir sonucu olarak da eksik rapor edildiğini bildirmektedir (Sugunan, 2007). İnsanlarda endemik leptospiroz oranlarının bölgeden bölgeye değiştiği (Avrupa'da 0.5/100.000 nüfus, Afrika'da 95/100.000 nüfus) belirtilmiştir (Haake ve Levett, 2015).

Leptospiraların enfeksiyonu hafif, spesifik olmayan semptomlarla ortaya çıkabilse de hastalığın şiddetli formu olan Weil hastalığında sarılık, kanama ve böbrek yetmezliği gibi ağır semptomlarla kendini gösterebilmektedir. (Umei ve ark., 2017).

Teyit edilen vakalar düzensiz veya kümeler halinde tespit edilerek nokta kaynaklı salgınlara neden olur. İnsanlar arasında tanınmayan asemptomatik veya hafif

enfeksiyonlar da gelişebilir ve bu da insidansın hafife alınmasına neden olur. Etkilenen insanların yaklaşık %90'ında diğer hastalıkların semptomlarını taklit eden spesifik olmayan akut ateşli hafif bir hastalık gelişir (Becirovic ve ark., 2020). Leptospirozlu kişilerin yaklaşık yüzde 10'unda böbrek yetmezliği ve/veya karaciğer hasarı, menenjit, nefes almada zorluk ve kanama gibi ciddi hastalıklar gelişmekte; şiddetli klinik hastalığı olan vakalarda ölüm oranı %5-15 arasındadır (CDC, 2023).

Bu hastalık riski altında olan meslek grupları evcil hayvanlarla doğrudan temas gerektiren meslekler; veteriner hekim, hayvan yetiştiricileri, mezbaha işçileridir. Kontamine ortamlara maruz kalabilecekleri açık hava çalışanları içerisinde; tarım işçileri, madenciler ve balık işçileridir. Sulak alanlarda uzun süre tarımsal faaliyetlerde çalışan kişilerin leptospiral enfeksiyonu yönünden risk altında olması mümkündür.

Leptospiroz taşıyıcı hayvanların proximal renal tubullerinde kolonizasyon göstererek persisteliğini uzun süre devam ettirir. Enfekte bir hayvan semptom göstermeden tüm yaşamı boyunca idrarı ile bu etkeni saçabilir. İnsanda leptospira enfeksiyonları, doğrudan veya toprak/su kontaminasyonu yoluyla memelilerin enfekte idrarı ile temas sonucunda ortaya çıkmaktadır. Farklı leptospira serovarlarının insanlardaki prevalansı, o çevredeki rezervuar hayvanların bulunmasına ve bu hayvanların taşıdıkları serovarlara ve ayrıca yerel çevre koşullarına, tarımsal uygulamalara ve kişilerin mesleğine ve bağlıdır. (Bharti ve ark., 2003).

Hayvanlar leptospirozun ana rezervuarlarıdır. Bu rezervuarlardan biri sıçanlar olup enfeksiyon, böbrek tübüllerinde bakteri kolonizasyonu sonucu idrar yoluyla çevreye atılım ile bulaşır. Evcil olsun yabani olsun tüm memeli türleri potansiyel olarak leptospirozun rezervuarı olabilir. Sığır, domuz, koyun, keçi de reproduktif bozukluklara, atlarda üveite, köpek ve insan da ciddi sorunlara sebep olabilir. Hastalıkta tespit edilen serovarların belirli bir hayvan rezervuarı ile ilişkisi vardır. Sıçanların genellikle

Icterohaemorrhagiae serovarlarını taşıdığı; köpeklerle ilişkili olan serovarin Canicola olduğu belirtilmektedir. (Piredda ve ark., 2021).

Sığır leptospirozu iki şekilde kategorize edilmektedir: (1) diğer evcil ve evcil olmayan hayvanların taşıdığı serovarların neden olduğu ve sığırları enfekte eden tesadüfi sığır leptospirozu ve (2) sığırların taşıdığı suşların neden olduğu, bulaşmasında başka hayvana gereksinim duyulmayan sığır leptospirozu. Bu sendromların her ikisi de kronik leptospirozla karakterize abort ile şekillenen reproduktif hastalıklar sonuçlanır. Pomona, Grippotyphosa ve Icterohaemorrhagiae sığırlarda rastlantısal enfeksiyonlarda sık tanımlanan serogruplar olup bunlar domuz, kemirgen ve yabani hayvanlarla da ilişkilidir (Aliberti ve ark., 2022).

Leptospira yönünden asıl veya tesadüfi konak olarak hareket eden evcil ve vahşi taşıyıcılar renal tübüllerde kronik enfeksiyon geliştirirler ve uzun süre leptospiraları çevreye yayarken kendileri asemptomatik kalırlar. Patojenik serovarlar için birincil yaşam alanı, kolonize oldukları, çoğaldıkları ve insanlara veya diğer memeli konakçılara bulaşabildikleri renal tübüldür. Bakterilerin bulaşma yolları, burun, ağız ve gözlerdeki mukus zarlarının veya kesik ve sıyrık gibi nedenlerle zarar görmüş derinin enfekte hayvanların idrarı veya dokularıyla doğrudan temasıyla olmaktadır. Kirli su, toprak ve çamura maruz kalan olgularda indirekt bulaş söz konusudur. Direkt ve indirek bulaşmanın dışındaki bulaşma yollarından birisi de konjenital bulaştır. Örneğin, gebe kadınların çevreden edindiği zührevi olmayan enfeksiyonlar da dâhil olmak üzere konjenital transplasental enfeksiyonlar ve birçok hayvan türünün vajinal sıvılarında ve semenlerinde leptospiraların varlığı gösterilmiştir (Felt ve ark., 2011).

Nikaragua, Sri Lanka ve Filipinler'de 2000 ile 2010 yılları arasında leptospira salgını kayıtlarının bulunduğu; İtalya, Pakistan, Japonya, Brezilya, Hindistan ve Sri Lanka'da leptospiroz olguları bildirilmiştir (Samrot ve ark., 2021). Leptospiroz için risk

faktörleri yağış, sel, açık lağımlar, kalabalık, nüfus, hayvanlarla temas ve kötü temizlik nedeniyle artmaktadır. Birçok ülkede sel sonrası leptospiroz salgınının meydana geldiği rapor edilmiştir (Mohd Radi ve ark., 2018).

Ülkemizde de yaygın olarak vaka bildirimi şeklinde olmasının yanı sıra subklinik seyir göstermesi nedeniyle leptospiroz olgularının bir kısmında tanı atlanmaktadır. Leptospiroz insidansı ve prevalansını bildiren çalışmaların verilerine göre, Türkiye’de leptospiroz prevalansının insanlarda %2-12, hayvanlarda %3.5-63 arasında olduğu ifade edilmiştir (Yılmaz ve ark., 2019).

Leptospiralar enfekte hayvanların idrarıyla etrafa yayılarak çevrede canlılığını koruyabilmekte, yeni konakçılara bulaşabilmekte ve glomerulus veya peritübüler kılcal damarlar yoluyla böbreklere hematojen yolla yayılabilmektedir (Haake ve Levett, 2015). Leptospiranın Antarktika hariç tüm kıtalarda bulunduğu ve incelenen hemen hemen tüm memeli türlerinde taşındığına dair kanıtların gösterildiği belirtilmektedir (Adler, 2010). Leptospiraların sürüngenler, amfibiler, balıklar ve omurgasızlar dâhil olmak üzere 60’tan fazla memeli türünden izole edildiği, insanlar için önemli enfeksiyon kaynakları olarak kabul edilen türlerin küçük memeliler, özellikle yabani ve evcil kemirgenler (sıçanlar ve fareler), böcekçil memeliler (fareler ve kirpiller) ve sığır, domuz, koyun, keçi, at ve köpek gibi evcil hayvanlar olduğu belirtilmektedir (Azócar-Aedo., 2023). Köpekler, leptospiralar ile kontamine su veya enfekte idrarla karşılaştıklarında enfekte olabilir ve patojenleri idrarlarına geçirerek sahiplerini riske atabilir. Ek olarak, Muenchen, Pomona ve Tarassovi Mitis serovarlarının rezervuar konakçılarının domuzlar olduğu kabul edilmektedir. Sıçanlar için *Icterohaemorrhagiae*, köpekler için *Canicola* ve sığırlar için *Hardjo* enfeksiyonda öne çıkan serovarlardır. (Lee ve ark., 2017). Bu bulgular diğer gelişmekte olan ülkeler için de geçerli olabilir ve insanlara bulaşma riskini önlemek için evcil hayvanların endemik ülkelerde aşılması gerektiğini düşündürür. Enfektif

serovarların coğrafi dağılımı açısından Serovar Ballum Okyanusya'daki sıçanlarda ana enfeksiyona neden olan serovar olabileceği; Serovar Sejroë'nin Avrupa ülkelerinde yaygın, genel olarak, serovar Icterohaemorrhagiae'nın hemen hemen tüm coğrafi konumlarda en sık rapor edilen serovar olduğu ifade edilmektedir (Boey ve ark., 2019).

Yabani ve evcil hayvanlar dâhil çeşitli memeliler leptospiroza neden olan *Leptospira* türlerinin taşıyıcısı olabilmektedir. Böyle bir durum çiftçi, maden ocaklarında çalışanları, mezbaha işçilerini, evcil hayvan tüccarlarını, veteriner hekimleri, kemirgen avcılarını, kanalizasyon işçilerini, çöp toplayıcılarını ve hayvan yetiştiricilerini enfekte edebildiği için bu gruplarda yer alan insanların görevleri boyunca çeşitli hayvanlarla sürekli temas halinde olması mesleki riski daha geniş boyutlara taşır (Samrot ve ark., 2021).

İklim, patojenlerin hayatta kalmasını, büyümesini ve üremesini etkilediği için bir hastalığın dinamiklerini, endemik özelliklerini ve yayılma potansiyellerini belirler. Tropikal ülkeler, iklimlerinin uygunluğu nedeniyle leptospiroz dâhil olmak üzere çeşitli endemik bulaşıcı hastalıklarla mücadele etmektedir. Leptospiraların çevrede hayatta kalması toprak ve havanın nemine, sıcaklığına ve yüzey sularına bağlıdır (Ehelepola ve ark., 2019). Leptospiralar sel suları ve su kanalları ile yayıldığı dikkate alındığında bir bölgenin hava durumunun o bölgenin leptospiroz insidansını etkileyeceğini söyleyebiliriz. Saçılan patojen etkenler doğrudan güneş ışığından uzakta sıcak ve nemli bölgelerde haftalarca ve aylarca kalabilir. Ayrıca, kanalizasyonun taşması ve kanalizasyona yapısal hasar verilmesi, su kirliliğine yol açar, bu da *Leptospira spp.* dâhil olmak üzere su kaynaklı patojenlerin konakçıları enfekte etmesine yol açar. Tropikal olmayan gelişmiş ülkeler de yoğun yağışlardan sonra leptospiroza duyarlı olabilir.

2.6. Leptospirozda Patogenez

Leptospiralar cilt bütünlüğünün bozulduğu küçük kesikler, sıyrıklardan, konjonktiva gibi mukoza zarlarından veya nemli cilt yoluyla vücuda girerler; insanlara en yaygın olarak doğrudan veya kontamine su veya topraktan, taşıyıcı hayvanların idrarıyla, mesleki veya ev içi temas yoluyla bulaşır (Adler, 2010; Daroz ve ark., 2021; Benavidez ve ark., 2019; Haake ve Levett, 2015). Bir hafta kadar süren leptospiremik faz ile kan dolaşımında dolaşırlar. Giriş kapısı olarak ağız mukozasının, kontamine suda yüzerken bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Ağız mukozasına geçen bakterinin yayılımındaki bir diğer yol hematogen yayılımdır. Deride enfeksiyon oluşumuna işaret eden deri lezyonlarına neden olan *Borrelia burgdorferi* ve *Treponema pallidum* gibi diğer patojenik spiroketlerin aksine, patojenik leptospireler kan dolaşımına girer ve hastalığın leptospiremik evresi boyunca orada kalır (Samrot ve ark., 2021). Bugüne kadar, leptospiralarda (1) Loa22, (2) hem oksijenaz, (3) FliY (flagellar motor switch proteini) ve (4) LPS proteinleri olmak üzere yalnızca dört virülans faktörü tanımlanmıştır. Leptospiraların dış zarlarının mimari yapısı Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerin benzer özelliklerini göstermesine rağmen leptospiral LPS'nin endotoksik potansiyeli diğer Gram-negatif LPS'ye kıyasla olasılıkla Lipid A ile ilişkili olarak daha düşük olduğu rapor edilmiştir (Fraga ve ark., 2011).

Kan ve dokulardaki bakteri sayısı belli bir düzeye ulaştıktan sonra kritik düzeyde, tanımlanmamış leptospiral toksinlerin veya toksik hücrel bileşenlerin etkisine bağlı lezyonlar ve buna bağlı semptomlar oluşur. Organlarda kılcak kan damarlarının endotelindeki hasar renal tübüler nekroz, hepatoselüler ve pulmoner hasar, menenjit, miyozit ve plasentit gibi rahatsızlıklara neden olan birincil lezyon olarak ortaya çıkar. Leptospirozun şiddetli seyrettiği olgularda kanamalar ve sıklıkla trombosit eksikliği görülür. Hastalarda genellikle hafif bir granülositoz ve splenomegali vardır.

Oluşan antikorlar dolaşıma geçerek leptospiraları opsonofagositoz yoluyla dolaşımdan ve dokulardan uzaklaştırılır. Doku hasarı, şiddetli olmasına rağmen geri dönüşümlü olabilir ve ardından tam onarım (örn. böbrek, karaciğer) gelebilir, ancak uzun süreli hasar (örn. miyokardit) bir komplikasyon olabilir. Seroreaktif hayvanların böbreğinde “beyaz noktalar” şeklinde makroskopik lezyonlar görülebilir (Almeida ve ark, 2019). Enfeksiyonun ilk adımı patojenin hedef konakçı hücreye bağlanması ile başlar. Patojenik leptospiraların hücre dışı matris moleküllerinden fibronektin (FN), kollajen I (COL1), COL4 ve laminin (LN)’e yapışabileceği gösterilmiştir (Zhao ve ark., 2022). Patojenik leptospiralar, fagositik olan ve olmayan hücreler içinde çoğaldıkları gösterilmiştir. İnsan makrofajları ve insan vasküler endotel hücrelerinde leptospira endositozunun oldukça farklı olduğu, makrofajların enfeksiyon sırasında insan vücudundaki bakterileri ortadan kaldırmaktan sorumlu olduğu, vasküler endotel hücrelerinin ise leptospiraların kan damarlarından hedef organlara yayılmasını kolaylaştırarak yaralanmaya neden oldukları rapor edilmiştir. Hastalığın ilk evresinde kan dolaşımına girerek bakteriyemiye neden olan bakteriler bunu takiben böbrek, karaciğer, dalak, merkezi sinir sistemi, oküler doku ve genital sistemde çoğalabilmektedir. Leptospirozun hemorajik, renal ve hepatik formla temsil edilen üç ana formu vardır. Enfeksiyonun hemorajik formu, genellikle kanamaya neden olur, renal formu ise, esas olarak böbrekte ortaya çıkar, bakteriler, renal tübüler epitel hücrelerinde çoğalarak akut nefrite neden olur. Leptospiraların karaciğere yerleşmesi söz konusu olduğunda hepatik form gelişir. Karaciğerin akut dolaşım yetmezliğine bağlı gelişen iskemik hepatite ve safra kanalının tıkanmasına neden olur (Constantinescu ve ark., 2015).

2.7. İnsan ve Hayvan Leptospirozunda Klinik Belirtiler

2.7.1. İnsan Leptospirozu

İnsan leptospirozun çeşitli klinik belirtileri vardır. İnsanlarda klinik hastalık, hafif, kendi kendini sınırlayan akut ateşli hastalıktan, çoklu organ disfonksiyonu ile ciddi, yaşamı tehdit eden bir duruma kadar değişebilir (Levett,2001). Bakterilerle temastan hastalık semptomlarının başlamasına kadar olan kuluçka süresi 3 gün kadar kısa veya bir ay kadar uzun olabilmekte, ortalama 7-12 gün sürmektedir. (Al-orry ve ark., 2016). Birçok organ sistemini değişen virülanslarda etkileyebilen hastalığın çok sayıda atipik veya olağandışı komplikasyonları tanımlanmıştır. Leptospirozun klinik özellikleri, diğer birçok ateşli hastalıkta, özellikle dang ve diğer hemorajik ateşler, riketsiyal enfeksiyon, sıtma ve bakteriyel sepsis gibi tropiklerde görülen hastalıklar benzer özelliklerdir. Çoğunlukla komplikasyonsuz ateşle kendini gösterirken, yaklaşık %10'unda ciddi hastalık gelişir. Konjonktival sufüzyon, sarılık ve akut böbrek hasarı ile klasik prezentasyon Weil sendromunu oluşturur. Pulmoner hemorajinin son zamanlarda önemli bir mortalite nedeni olduğu gösterilmiştir (Rajapakse ve ark., 2022).

Leptospirozun klinik seyri septisemik (akut) ve immün faz olmak üzere iki dönemde izlenir. Septisemik dönem bir hafta kadar sürer, daha sonra ikinci haftada immün dönemi başlar ve antikor üretimi ve idrarla leptospira atılımı gerçekleşir. Bağışıklık döneminde leptospiraların dokulara lokalizasyonu söz konusudur. Zengin çeşitlilikte faunaya sahip bir bölge, az sayıda hayvan barındıran bir bölgeye göre daha fazla serogrup çeşitliliğini destekleyecektir. İnsanlarda görülen ağır leptospiroz formu çoğunlukla “icterohaemorrhagiae” serovarlarından kaynaklanır, Coğrafi konum ve yerel konakların ekolojisiyle ilişkili olarak belli başlı serovar izole edilmektedir. (Levett,2001). Klinik olarak leptospiroz özgün olmayan akut ateşli bir hastalık olarak ortaya çıktığı ve

ateş, titreme, miyalji ve baş ağrısı gibi semptomların mevcut olduğu belirtilmektedir (Karande ve ark., 2005).

Leptospiroz gezginlerde giderek artan bir şekilde tanımlanmaktadır. Gezginler için sudan geçme, yüzme, akarsu salıncılığı, kano gibi önemli ölçüde tatlı su maruziyetini içeren etkinlikler risk oluşturmaktadır. İnsanlarda semptomatik vakaların yaklaşık %90'ında kendi kendini sınırlayan sistemik ateşe neden olan anikterik leptospiroz görülür (Sellman ve ark., 2002). Weil hastalığı olarak da bilinen ikterik leptospiroz, başlangıçtaki spesifik olmayan semptomlardan sonra gelişen sarılık, kanama ve böbrek yetmezliği gibi semptomlarla kendini gösteren hızla ilerleyen klinik seyirli ciddi bir hastalıktır. Tipik leptospirozun seyri sırasında hastalığın birkaç gün sonrasında sarılık ve sonra hepatosplenomegali ortaya çıkar. Leptospiraların akut pankreatit ve miyokardit, vaskülit ve kangren gibi nadir görülen komplikasyonlara da neden olduğu bildirilmektedir (Yücel Koçak ve ark., 2018). Leptospirozda meydana gelen sarılık iyileştikten sonra karaciğer fonksiyonu normale döner. Oligüri, akut böbrek yetmezliği olan hastalarda ortaya çıksn ve ölümle sonuçlanan önemli bir hastalık bulgusudur. Leptospirozdaki deri altı, konjonktival ve gastrointestinal kanamalar görülebilmektedir. Göğüs ağrısı, öksürük ve dispne dâhil olmak üzere hafif ve nonspesifik belirtilerle gözlenen Leptospirozla ilişkili pulmoner hemoraji sendromu "leptospirosis-associated pulmonary hemorrhage syndrome (LPHS)" gelişen olgularda endemik bölgelerde bile kesin tanı konulmasında sorunlar yaşanmaktadır (Toyokawa ve ark., 2011).

Leptospirozda oküler tutulum, geri dönüşümsüz körlüğe kadar gidebilen ciddi sonuçlara yol açabilmektedir. Üveit su kaynaklı leptospiraların neden olduğu sistemik leptospirozun iyi bilinen geç bir komplikasyonudur. Dünyanın en yaygın ateşli hastalıklarından biri olmasına rağmen, temel olarak değişken belirtiler, farkındalık eksikliği ve laboratuvar desteğinin olmaması nedeniyle yeterince tansı yapılamamaktadır.

Evcil hayvanlardan vahşi hayvanlara kadar geniş bir spektumda yer alan hayvanları etkileyebilir. Ancak hayvanlarda leptospiroz ile ilişkili üveitin yalnızca atlarda görüldüğü ve bu hastalığa yinelenen at üveiti "recurrent equine uveitis" adı verilir. Recurrent equine uveitis, görme kaybının ana nedenlerinden biridir ve finansal maliyetlere yol açmaktadır. Hayvan sağlığı üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olan bu hastalık genellikle ötenazi ile sonuçlanır (Rathinam, 2002). Üveit, akut evreden haftalar, aylar veya bazen yıllar sonra ortaya çıkabildiği, akut hastalıktan sonra 20 yıl veya daha uzun süre devam eden kronik görme bozukluğu şeklinde seyrettiği bildirilmiştir (Arrieta-Bechara,2022).

2.7.2. Hayvan Leptospirozu

Leptospiroz, hayvancılık endüstrileri üzerinde büyük bir ekonomik etkisi olan önemli bir küresel hayvan hastalığıdır. Hastalığın şiddeti, enfekte eden serovara ve hayvan türüne göre değişir, ancak enfeksiyonun akut fazı çoğunlukla sub-klinik ve en büyük ekonomik ve üreme kaybına neden olan kronik enfeksiyondan kaynaklanmaktadır. Hayvan leptospirozu en sık olarak göz, ağız, burun veya genital yolların mukoza zarlarında meydana gelir. Vertikal yolla da bulaşabilen bu enfeksiyonda genellikle 1 veya 2 gün sonra bir hafta sürebilen ve bakterilen kandan, vücudun birçok organından ve BOS'tan izole edilebildiği bir bakteriyemi dönemi başlar (Ellis, 2015). Leptospirozun akut döneminde hastaların kanında, idrarında ve birçok iç organında leptospiralar bulunur. Bu nedenle, özgün antikorlar kullanılarak leptospira antijenlerinin aranması mümkün olabilmektedir (Saengjaruk ve ark., 2002). Hayvan leptospirozu kuluçka süresi 4 ila 19 gün arasında, ortalama 10 gün sürmektedir. Bakteriyemi dönemi enfeksiyondan 1 veya 2 gün sonra başlayarak bir hafta kadar sürebilir. Birincil bakteriyemi dönemi, antikorların dolaşıma geçmesiyle sona erer ve yaklaşık iki hafta içinde tespit edilebilir.

Sekonder bakteriyemi periyodu, 15-26 günlük primer bakteriyemi periyodundan sonra ortaya çıkar (Syamsuar Manyullei ve ark., 2021).

Genellikle rastlantısal enfeksiyonlarla ilişkili olduğu bilinen serogrupların başında, hemolitik hastalığa, hemoglobinüriye, sarılığa ve ölüme neden olan Pomona veya Icterohaemorrhagiae gelmektedir. Icterohaemorrhagiae ve Ballum serogrupları başlıca kemirgenlerle, Pomona ve Tarassovi serogrupları domuzlar ve yaban domuzlarıyla, Bratislava serogrupları atlarla ve Sejroe serogrupları sığır ve koyunlarla ilişkilidir (Blanda ve ark.2022). Özellikle köpeklerde Canicola suşları ile gelişen enfeksiyon sonucu böbrek hasarı ortaya çıkar. Agalactia serogrubuna ait suşlar sığır, manda ve koyunlarda görülebilmektedir.

Yaklaşık 3-6 haftada maksimum seviyelere ulaşan antileptospiral aglütininler, enfeksiyondan yaklaşık 10-14 gün sonra kanda saptanabilmektedir. MAT ile yapılan incelemelerde antikorların tepe titreleri 1.000 ila 100.000 arasında değişebilmektedir. Gelişen antikorların kandaki varlığı leptospira türleriyle ilişkili olarak 6 haftaya kadar sürmekte ve altıncı haftadan itibaren kademeli bir düşüş meydana gelmektedir. Leptospiral antikorlar hayvanların bazılarında birkaç yıl boyunca düşük titrelerde saptanabilmektedir (Ellis, 2015).

Leptospiraların ana rezervuarı olan sıçanlarda hastalık, böbrek tübüllerinde leptospiraların yerleşmesi ve idrarla atılmasıyla çevreye geçer ve diğer hayvanlara bulaşır. Sonuçta asemptomatik kronik bir hastalık ortaya çıkar. Renal taşıyıcılığın seroprevalansı ve prevalansı, türe bağlı olarak büyük ölçüde değişmektedir. Norveç'te yapılan bir çalışmada; en yüksek sıçanlarında ve en düşük seroprevalans kirpi benzeri bir memeli olan tenreklerde bulunmuştur (Desvars ve ark.2013).

Sığır leptospirozunda gözlenen sendromlar neticesinde geç dönem abort ve kronik leptospirozla karakterize üreme bozuklukları ortaya çıkmaktadır (Loureiro ve ark.,

2019). Serovar Hardjo nedeniyle gelişen kalıcı enfeksiyonların geçici kısırılık ile ilişkili olduğu buna karşılık, Pomona ve Grippotyphosa serovarlari nedeniyle gelişen enfeksiyonların, kısa süre içinde şiddetli semptomların eşlik ettiği çok sayıda aborta neden olan bir "fırtına" şeklinde kendini gösterdiği ifade edilmektedir. (Orjuela ve ark., 2022). Sığır leptospirozu esas olarak, L. interrogans serovar Hardjo (Hardjoprajitno tipi) ve L. borgpetersenii serovar Hardjo (Hardjobovis tipi) olmak üzere iki tür olarak tanımlanan serovar Hardjo'dan kaynaklanmaktadır. Süt ineklerinin Leptospira interrogans Hardjoprajitno ile akut enfeksiyonu, süt üretiminde düşüş ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Salgado ve ark., 2015).

2.8. Laboratuvar Tanı

Leptospiroz, hastalığın erken dönemindeki spesifik olmayan semptomlar ve hem kültür hem de referans serolojik test olan MAT'ın gerçekleştirilmesinde yaşanan zorluklar nedeniyle sıklıkla tanımlanamamaktadır. Şiddetli enfeksiyonlarda ölüm oranı %15'e kadar çıkabilen leptospirozda antibiyotik tedavisinin etkili olabilmesi için erken tanı önem arz etmektedir.

2.8.1. Genel Klinik Laboratuvar Bulguları

Leptospirozda anormal lökosit sayısı ile trombositopeni, anormal karaciğer enzimleri, hiponatremi ve kreatinin düzeyinde yükselme gözlenmektedir (Fann ve ark., 2020). Hastalığın akut döneminde kan üre nitrojeni ve serum kreatinin değeri düşmektedir. Böbrek fonksiyon bozukluğu, yükselen plazma kreatinin seviyeleri ile gösterilir. Hipotansiyon, trombositopeni ve CPK artışı tanıyı destekleyici göstergeler olduğu ve genellikle nefrotik sendrom ve Akut böbrek yetmezliği (ABY) diyalize gerek kalmadan uygun antimikrobiyal tedavi ile iyileştiği rapor edilmiştir (Kayacan ve ark., 2009).

2.8.2. Mikroskopik Bulgular

Leptospiralar sıradan mikroskoplar tarafından tespit edilemeyecek kadar incedirler bu yüzden ancak karanlık alan mikroskobu ile ya da uygun boyamadan sonra immüno Floresan veya ışık mikroskobu ile görselleştirilebilirler.

Leptospiralar hareketlidirler, hareketleri zar kılıfının altında yer alan iki endoflajellanın dönüşü ile sağlanır. Karanlık alan mikroskopunda kan, idrar gibi sıvılarda ince, sarmal biçimli, hızlı hareket eden mikroorganizmalar olarak gözlenirler (Safiullah ve ark., 2009). Ancak karanlık saha mikroskopisi teknik olarak zahmetli bir yöntem olduğu gibi örneklerde az sayıda bakterinin bulunması halinde duyarlılığı düşük olmaktadır. Alan başına bir hücrenin karanlık alan mikroskobu tarafından görülebilmesi için mililitrede yaklaşık 10 leptospira hücresi gereklidir. Karanlık saha mikroskopunda leptospiraların tespit edilme pozitifliği, enfeksiyonun bir haftadan fazla sürmesi halinde %10 kadar azaldığı; bu tekniğin bir diğer dezavantajının ise deneyimli ellerde bile kolayca hem yanlış pozitif hem de yanlış negatif tanının yapılabilmesinin mümkün olduğu belirtilmektedir (Budihal ve ark, 2014). Klinik örnekte leptospiraları doğrudan saptamak için ayrıca immüno Floresan, immünoperoksidaz ve gümüş boyama gibi yöntemler de kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden tatminkâr sonuç almak için iyi yetişmiş uzmanlara ihtiyaç vardır.

2.8.3. Kültür

Kan, idrar, doku gibi biyolojik örneklerden yapılan kültür, leptospirozun kesin tanısını sağlayan ancak ülkelerin çoğunda rutin olarak kullanılmayan bir işlemdir. Leptospiremi hastalık semptomlarının ortaya çıkmasından önce başlar ve akut hastalığın ilk haftasının sonunda sona ermesi nedeniyle hasta geldikten sonra en kısa sürede kan kültürleri alınmalıdır. Kültür işleminin hasta başında yapılması 5-fluorourasil içeren 10

ml yarı katı besiyerine bir veya iki damla kan inoküle edilmesi önerilir. Kan örneklerinin hacmi, *Leptospira spp.*'nin izolasyon oranını etkiler. Genel kullanımda olan yöntem, 100–200 µL tam kanı doğrudan EMJH ortamına inoküle etmek şeklinde uygulanmaktadır. Yüksek izolasyon oranına erişmek için birden çok örnek alınarak kültür yapılmalıdır, ancak bu neredeyse imkansızdır. Kullanılan ortamlar arasında %10 tavşan serumu içeren LVW agar da vardır. Kültürde leptospira kolonilerinin elde edilmesi bu bakterinin antimikrobiyal duyarlılık testini mümkün kılar (Mohamad Safiee ve ark., 2020). Leptospiraların yavaş üreyen titiz bir organizmalar oluşu kültür tekniğini sıkıcı ve zor hale getirir.

Primer kültür için sıvı ortamların kullanılmasının uygun olduğu, hastalığın ilk haftasında CSF ve diyalizat sıvılarının da kullanılabileceği, semptomatik hastalığın ikinci haftasının başından itibaren idrar kültürü yapılabileceği ve EMJH gibi Tween (oleat)-albümin ortamlarında tavşan serumlu ortamlara göre daha fazla verim ve daha hızlı büyüme elde edileceği ifade edilmiştir (Budihal ve ark., 2014). Kültürler 28-30°C sıcaklıklarda üç ay boyunca inkübe edilir (organizmanın 6-8 saatten daha uzun bir jenerasyon süresine sahip olduğu için) ve karanlık alan mikroskobu ile incelenerek takipleri yapılır. Kontamine numunelerden birincil izolasyon için rifampisin, neomisin, aktidon içeren besiyerleri kullanılır. Bu bakterilerin oldukça bulaşıcı olması nedeniyle Biyogüvenlik seviyesi II kabinlerde çalışılması gerekmektedir.

2.8.4. Serolojik Tanı

Leptospirozun serolojik tanısında yaygın olarak kullanılan ve MAT'tan daha hassas olan test immünoglobulin M (IgM) antikorların arandığı ELISA'dır. IgM veya hem IgM hem de IgG olmak üzere cinse özgü antikorları saptayan hızlı yöntemler artık ticari olarak mevcuttur. Bu testlerden IgM-dipstick testi ve indirekt hemaglutinasyon testi

(IHA) testlerin duyarlılıklarının %87-100 arasında değiştiği bildirilmektedir (Levett ve ark., 2001). Ticari ELISA testlerinin üretiminde, leptospiral LipL32, LigA veya dış zar porin OmpL1 gibi rekombinant lipoproteinler kullanılmaktadır. Ticari olarak geliştirilen sentetik rLipL32 rekombinant antijen kullanan bir ELISA testinin, insan serum numunelerinde *Leptospira*'ya özgül IgM 'yi %65 duyarlılık ve %80 özgüllekle ve IgG'yi %100 duyarlılık ve %55 özgüllekle ayırt edebilen leptospiroz için hızlı bir tanı testi olarak hizmet etme potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Yaakob ve ark., 2017). Hastalığın tanısında IgM antikorları hastalığın akut ve subakut döneminde, IgG antikorları ise akut dönemin sonunda başlayıp hastalığın ilerleyen dönemlerinde ortamda kaldığı için bu antikorlar hastalığın her döneminde tespitini mümkün kılar (Natarajaseenivasan ve ark., 2004). Antikor aranmasında makroaglutinasyon, lateks aglutinasyon, lateral flow assays ve IgM dipstick gibi yöntemler de kullanılmaktadır.

MAT akut leptospiroz için en yaygın kullanılan tanı testidir. MAT'ın kullanılmasının bir diğer amacı da *Leptospira spp.*'yle önceden maruz kalınıp kalınmadığını belgelemektir. MAT'ın zayıf yönlerinden biri leptospiroz olduğundan şüphelenilmeyen, ancak kronik olarak enfekte hayvanlarda antikor titreleri düşük olabileceğinden, bir hayvanın taşıyıcı olup olmadığı hakkında herhangi bir bilgi sağlamada yeterli olmayışıdır. MAT'ın prensibi esas itibariyle, hasta serumunun seri dilüsyonları ile karşılaştırılan canlı leptospiral serovarlarının in vitro olarak aglutinasyon verme yeteneğinin belirlenmesine dayanır. Bir serovara karşı tespit edilen MAT pozitifliği, karşılıklı gelen serogruba ait bir serovarla temasın varlığını düşündürür (Schuller ve ark., 2015). Leptospirozda antikorlar, hastalığın ortaya çıkışından yaklaşık 6-10 gün sonra kanda saptanabilir. Üç ile dört hafta içinde pik yapar ve sonra seviyesi kademeli olarak düşebilir ancak yıllarca tespit edilebilir durumda kalabilir. MAT duyarlı bir test olmasına rağmen *Leptospira spp.* suşlarının antijenik çeşitliliği nedeniyle çok

sayıda serovar antijenini gerektirir (Budihal ve ark., 2014). Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Leptospiroz Derneği (WHO-ILS), mikroskopik aglütinasyon testini (MAT) gerçekleştirmek için antijen panelinde 19 suşun kullanılmasını önermektedir (Scialfa ve ark,2020).

2.8.4. Moleküler Tanı

Örnekler üzerindeki Doğrudan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), en azından enfeksiyonun erken ve iyileşme evrelerinde hızlı ve doğrudan teşhis sağlar. PCR kan, idrar veya dokularda leptospira-DNA'sının araştırıldığı direkt tanımlama yöntemidir. Bu yöntem ile örneklerdeki leptospiral DNA, yaklaşık 10 leptospira veya daha az DNA içeriğine sahip son derece küçük miktarlara olması halinde bile saptayabilmektedir. Leptospirozda çoğu PCR testinin enfektif serovarı tanımlayamaması bu testi sınırlayan en önemli durumdur (Bal ve ark., 1994). Hızlı ve doğru bir tanı için, insan kan, idrar veya BOS örneklerinde nested polimeraz zincir reaksiyonu (N-PCR) ile Leptospiral DNA varlığı uzun bir zamandan beri araştırılmaktadır (Na ve ark., 2020). Real-time-PCR konvansiyonel PCR'ye göre gerçekleştirilmesi daha kolaydır, daha az zaman alır ve kontaminasyon oluşumu daha azdır. Ayrıca Real-time-PCR'nin çevrimiçi izleminin kolay oluşu ve reaksiyon sonrası analizler gerektirmemesi diğer bir avantaj sağlamaktadır. Leptospiroz tanısı için farklı hedef dizilerinin amplifikasyonunu yapan bazı Real-time -PCR testleri tanımlanmıştır. Bu çalışmaların çoğu, leptospiraların LipL32 lipoproteinini kodlayan lipL32 geninin birincil rolü olduğuna işaret etmektedir. LipL32'nin patojenik türlerde bulunan bir virülans faktörü olması nedeniyle patojenik leptospiraların seçici tespitini sağlayan ve bu yöntemlerin özgüllüğünü artıran bir proteindir (Podgoršek ve ark., 2020). Tanısal kullanım için geliştirilen, rrs, gyrB veya

secY gibi gen bölgeleri veya lipL32, lig veya lfb1 gibi patojene özgü gen bölgelerini hedefleyen çeşitli moleküler testler mevcuttur (Shukla ve ark., 2021).

2.8.4. Tedavi ve Koruma Yöntemleri

Önemli bir zoonotik hastalık olan leptospiroziste en yüksek ölüm riski, mekanik ventilasyona ihtiyaç duyan veya oligürik akut böbrek yetmezliği gelişen hastalarda tanımlanmıştır. Tedaviye ne kadar geç başlanırsa ölüm oranı riski o kadar artmış olacaktır. Penisilinle tedavi hastalığın erken safhalarında fayda sağladığı gözlenmiştir (Costa ve ark., 2003). Leptospiroz ile ilişkili böbrek hastalığının tedavisi, özellikle enfeksiyonun erken döneminde genellikle klinik semptomlara bağlı olarak gerçekleştirilir. Şiddetli leptospirozluların tedavisinde önerilen intravenöz antibiyotikler; 6 saatte bir 0.5–1 g ampicilin, her 12 saatte 1g seftriakson veya 6 saatte bir 1g sefotaksimdir. Tayland'da ciddi leptospirozu olan hastalarda her 6 saatte bir 1.5 milyon ünite intravenöz sodyum penisilin G uygulamasının seftriakson kadar etkili olduğunu göstermiştir. Erken enfeksiyon başlangıcı olan erişkin ayaktan hastalar günde iki kez 100 mg doksisisiklin veya günde 500 mg azitromisin; Penisilin grubuna aşırı duyarlılığı veya alerjisi olan hastalara 5 gün süreyle günde 4 kez 250 mg eritromisin veya 10 gün süreyle günde 2 kez 100 mg doksisisiklin verilebileceği ifade edilmiştir. Ayrıca tetrasiklinin çocuklarda, hamile kadınlarda ve böbrek yetmezliği hastalarında kontrendike olduğu belirtilmiştir (Chancharoenthana ve ark., 2022).

Önleyici tedbirlerin başında memeli rezervuarını ve insan maruziyetini sınırlamak gelmektedir. Ayrıca, ihmal edilen bu hastalıkla mücadele etmek için kentsel gecekondu topluluklarının altında yatan çevresel koşulların ve altyapı eksikliklerinin iyileştirilmesine ihtiyaç vardır. Kemoprofilaksi, insanları leptospirozdan korumanın bir yolu olarak kabul edilmiştir. Penisilin G sodyum (penisilin G) genellikle şiddetli

leptospiroz için önerilen antibiyotik olup, penisilin G'ye alternatif olarak doksisiklin veya seftriakson gibi diğer antibiyotikler önerilmiştir (Guzmán ve ark., 2021). Hayvan leptospirozuna karşı 1970'lerden beri aşılar mevcuttur. Bivalan aşılarından kazanılan bağışıklık serovara özgü olduğu için çapraz bağışıklık sağlamaz.

Doğru ve bilinçli kullanılan antibiyotikler hayvanları tedavi etmek için kullanılabilir ancak leptospirozu bir popülasyondan yok etmek çok zor olabilmektedir. Veteriner hekimler, hayvan sahipleri, kasaplar, mandıra çalışanları gibi risk altındaki popülasyonlar için temel koruyucu önlemler arasında diğer zoonotik enfeksiyonlar için önerilen; gözlerin koruyucu gözlüklerle korunması, ciltte çizik ve kesikler varsa eldiven giyilmesi, durumu bilinmeyen hayvanlarla etkileşimden sonra ve yiyecek veya su gibi besinleri tüketmeden önce ellerin iyice yıkanması sayılmaktadır. Zoonotik hastalıkların önlenmesinin her adımında personel eğitiminin önemi büyüktür. Hayvan hastanesinde zoonotik hastalığın bir başka yönü de hastane personeline ve evcil hayvan sahiplerine potansiyel bulaşmayla riskinin dikkate alınması gerektiği iyi anlatılmalıdır.

Çin'de, 1950-1960'larda *L. interrogans* serogrup Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa veya Autumnalis'e ait üç suşun formalinle öldürülmüş hücrelerini içeren üç değerlikli bir aşı kullanılmıştır. *L. interrogans* suşlarının kültürü için 1970'lerden beri kullanılan serumsuz besiyerleri geliştirilmiştir ve alerjik tepkilerin insidansı önemli ölçüde azalmıştır. Daha sonra 1990'larda, immünojen olarak üç leptospiral suştan elde edilen bir dış zarf karışımını içeren yeni bir üç değerlikli aşı geliştirilmiş ve Çin'de resmi olarak aşılamada kullanılması onaylanmıştır. Daha sonra, aşılama için farklı *L. interrogans* serogruplarına ait beş veya yedi suş içeren bir tam hücreli aşı da geliştirilmiş leptospirozun endemik bölgelerinde yaşayan 7-60 yaş arası bireylere uygulanması tavsiye edilmiştir (Hu ve ark., 2014).

3. MATERYAL VE METOT

Prospektif çalışmamızda, 2022 yılının bahar ve güz dönemlerini kapsayan süreçte 200 adet insan kan serumu MAT ve ELISA yöntemiyle ve 289 adet sığır kan serumu ve böbrek örneği Real-Time PCR ve MAT testleri ile *Leptospira spp.* varlığı yönünden değerlendirilmiştir. Çalışmaya 18 yaş altı insanlar ve 1 yaşın altındaki sığırlar dâhil edilmemiştir. Yapılan çalışmalara ait bilgi ve veriler istatistik çalışmalarında ve tabloların oluşturulmasında kullanılmak üzere Mac için Microsoft Excell (sürüm 16.70) ortamına aktarılmıştır. Çalışmamız, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 05/11/2020 tarih ve 470 sayılı karar ile ve Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan da 09/11/2020 tarih ve 56 sayılı karar ile onay alınmıştır.

3.1. Hayvan Örnek Büyüklüğünün Belirlenmesi

Çalışma kapsamındaki sığırlardan kan ve böbrek numuneleri alınacak olan kesime gelen hayvanların yaşı, cinsiyeti, geldiği yer, aşı durumu gibi sorular hayvan sahibine sorularak anket çalışması yapıldı. Örnek büyüklüğü <http://sampsiz.sourceforge.net/iface/index.html> adresindeki hesaplama sistemi kullanılarak belirlendi (Glaziou, 2022). Temur ve Sağlam tarafından Erzurum bölgesinde yürütülen çalışmada rapor edilen %24.2 pozitiflik oranı tahmini prevalans olarak kabul edildi (Temur ve ark., 2003). Örnek büyüklüğü %95 güven aralığında, %5 hata payı ve %24.2 tahmini prevalans ile toplam en az 285 örnek alınması gerektiği hesaplandı.

3.2. Klinik Örneklerinin Alınması ve muhafazası

Çalışmada kullanılan biyolojik örnekler Erzurum il ve ilçelerinden 2022 yılı içerisinde Nisan–Temmuz ve Eylül–Aralık ayları içerisinde Erzurum Et ve Süt Kurumuna kesime gelen hayvanlardan temin edilmiştir. İnsan numuneleri ise risk grubu

mesleklerden olan hayvan sahibi, veteriner hekim, kasaplardan temin edilmiştir. Çalışmada hayvanlara ait toplamda 289 adet kan ve böbrek numunesi, 100'ü risk grubundan 100'ü de kontrol grubunu oluşturmak üzere diğer meslek gruplarından insanlara ait 200 adet kan örneği alınmıştır. Doku örnekleri ile birlikte kan numunelerinin toplanması sırasında hiçbir makroskopik bulgu dikkate alınmamıştır.

Hayvanlardan kesim öncesi ölüm yolunda zapturapt altına alındıktan sonra vena jugularisten antikoagulan içermeyen tüplere en az 5 ml kan örneği alındı. Kesimi yapılan hayvanların böbrek numuneleri steril numune poşetlerine alınarak soğuk zincirde laboratuvara getirildi. Hayvandan alınan kan örnekleri santrifüj edilerek ependorf tüplere aktarıldı ve MAT testi yapılncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi. Hayvan böbrek örnekleri 2 ml'lik steril vida kapaklı boncuklu tüplere alınıp üzerine Phosphate-buffered saline (pH: 7.4) eklenip -20°C'de ekstraksiyon yapılncaya kadar derin dondurucuda muhafaza edildi. İnsan kan serum örnekleri de aynı şekilde ependorf tüplere alınarak -20°C'de ELİSA ve MAT testi yapılncaya kadar muhafaza edildi. Hemolize olan örnekler çalışmaya dâhil edilmemiştir.

3.3. İnsan Kan Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi

Belirlenen tarihlerde risk grubunda olan mezbahalarda çalışan kasaplar, veteriner hekimler ve hayvan sahiplerinden belirlenen dönemlerde toplamda 100 kişiden kan örneği alındı. Risk grubundan olmayan hayvancılıkla uğraşmayan, hayvan temaslı olmayan mesleklerden oluşan toplamda 100 kişiden oluşan kontrol grubundan ELISA yöntemi ile serum antikor düzeylerinin tespiti için kan alındı. Çalışmaya hasta bilgilendirme formunu okuyup onam formunu imzasıyla onaylamış 18 yaş ve üzeri gönüllü bireyler dâhil edildi. Risk grubunda olan meslekteki kişilerden kan almak için hemşire tarafından uygun kolda dirsek yukarısında turnike uygulanıp sonra %70'lik etil

alkol ile temizlendikten sonra dirseğin iç kısmında belirgin venalardan venöz kan antikoagulan içermeyen vakumlu kan tüpüne en az 5 ml kan örneği alınarak soğuk zincirde laboratuvara getirildi. Alınan kan örnekleri 3000 rpm devirde 3 dakika santrifüj edilerek 2 ml'lik ependorf tüplere alınarak analiz yapılncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi.

3.4. İnsan Örneklerinin Analizi

Tüm numuneler toplandıktan sonra Veteriner Kontrol Enstitü Müdürlüğü Abortif Bakteriyel Hastalıklar Laboratuvarında leptospira IgG antikorları özgülülüğü %97.37, duyarlılığı %100 olarak belirtilen NovaLisa ELİSA kitleri (NovaLisa/NovaTec Immundiagnostica GmbH, Germany) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda aşağıda belirtildiği şekilde çalışıldı:

- Serum numuneleri ve test kitleri oda sıcaklığına getirildikten sonra 1000 µl IgG Sample Dilution Buffer içine 10 µl serum eklenerek dilüe edildi.
- A1 kuyucuk hariç diğer kuyucuklara dilüe serumlar, negatif-pozitif kontrol ve standart serumlardan 100 µl pipetlendi ve 60 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında mikropalak kuyucukları 4 kez 300 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Ardından ilk kuyucuk (substrat blank) hariç tüm kuyucuklara 100 µl konjugat solüsyonu eklendi ve 30 dakika boyunca 37 °C'de inkübe edildi.
- İnkübasyon tamamlanınca mikropalak kuyucukları 4 kez 300 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Ardından tüm kuyucuklara 100 µl substrat eklendi ve 15 dakika karanlık ortamda oda sıcaklığında (20-25°C'de) inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında yıkama yapılmadan stop solüsyonu eklenerek yarım saat içerisinde ELİSA reader ile optik dansiteler okuma referans dalga boyu 450-620 nm arasında olacak şekilde belirlendi.

- Elde edilen optik dansiteler NovaLisa leptospira IgG kitinde belirtilen validasyon ölçütlerine göre Tablo 3.1’de belirtilen parametrelerin absorbans değerleri dikkate alınarak Şekil 3.1’deki formüle göre değerlendirildi.

Tablo 3.1. ELISA Testinin Validasyon Ölçütleri

Parametre	Absorbance değeri
Substrate Blank	<0.100
Negatif Kontrol	<0.200 ve <Cut-off
Cut-off Kontrol	0.150-1.300
Pozitif Kontrol	>Cut-off

$$Sonuç = \frac{\text{Örnek absorbance} \times 10}{\text{Cut-off}} = (\text{Novatec Units} = \text{NTU})$$

Şekil 3.1. “Novatec Units, NTU” Hesaplanmasında Kullanılan Formül

Şekil 3.1’de verilen formül ile bulduğumuz sonuç Tablo 3.2 ile karşılaştırılarak üretici firmaya ait ünite cinsinden değerler yorumlandı.

Tablo 3.2. ELISA Test Sonuçlarının Yorumlanması

Parametre	NTU değerleri
Cut-off	10
Pozitif	>11
Şüpheli	9-11
Negatif	<9

3.5. MAT Analizi

Toplanan 200 adet insan ve 289 adet hayvan örneği Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde referans laboratuvar olan Spiroket Laboratuvarında standart suşlar Leptospirozis Referans Merkezi; Hollanda Kraliyet Tropikal Enstitüsü (KIT) / Academic Medical Centre (AMC)/Amsterdam UMC University Medical Centers'dan temin edilmiştir. Alınan standart suşlar Johnson veya EMJH besiyerinde 1:10 pasajlarla subkültürleri yapılır. Canlı leptospiraların sayısı Thoma lamı ile 10^8 /ml olacak şekilde ayarlanır. Şüpheli kan serumları mikropklarda PBS ile iki katlı sulandırılır. İnsan leptospirozu tanısı için 1/25, hayvan leptospirozu tanısı için 1/50 sulandırma hazırlanır. Sulandırılmış olan seruma antijenlerin her birinden eşit miktarda ilave edilir.

Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünün referans laboratuvarlarından Spiroket Hastalıkları Teşhis Laboratuvarında insan serumlarında aşağıda belirtilen sekiz adet serovarlara karşı antikor araştırıldı:

L.kirschneri serovar Dasdas strain Dadas I, *L. interrogans* serovar Bratislava strain Jez Bratislava, *L.interrogans* serovar Canicola strain Hond Utrecht IV, *L. interrogans* serovar Hardjo type Prajitno strain Hardjoprajitno, *L. interrogans* serovar Pomona strain Pomona hem insan hem da hayvanlarda görülen serovatlardır.

L. interrogans serovar Icterohaemorrhagiae strain Weijenberg, *L. interrogans* serovar Hebdomadis strain Hebdomadis, *L. biflexa* serovar Patoc strain Patoc I sadece insanlarda araştırılan serovarlardır.

Hayvanlarda ise ortak olanlar dışında farklı olarak *L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae strain RGA serovarlara karşı antikor araştırıldı.

Antijen ilavesi sonrası final serum sulandırması 2 katına çıkmış oldu. Kontrol için pozitif (antiserum) ve negatif serumlar konuldu. Mikropklardaki hafifçe çalkalandı ve etüvde 30°C'de ($\pm 1^\circ\text{C}$) 2-4 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonrasında etüvden

Çıkarılan mikropalaklardan pozitif kontrolden başlamak üzere serum-antijen karışımından lam üzerine otomatik mikropipet yardımıyla lam üzerine 5 µl konuldu ve 10x objektifile karanlık alan mikroskobunda lamel kapatılmadan incelendi. World Organization for Animal Healty (WOAH) kararları doğrultusunda hayvanlar için 1/100 ve üstü pozitif kabul edildi (Anonymous., 2012). İnsanlar için Sağlık Bakanlığı kablleri doğrultusunda 1/200 üstü pozitif kabul edildi (Anonim, 2019). Tablo 3.3 ve Tablo 3.4'te sığırlarda ve insanlarda MAT analizinde araştırılan türlere ait serovar ve suşların listeleri verilmiştir.

Tablo 3.3. Sığırlarda MAT Analizinde Kullanılan Antijen Paneli

Tr	Serovar	Strain
<i>L. kirschneri</i>	Dadas	Dadas I
<i>L. interrogans</i>	Bratislava	Jez Bratislava
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Hond Utrecht IV
<i>L. interrogans</i>	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	RGA

Tablo 3.4. İnsan MAT Analizinde Kullanılan Antijen Paneli

Tr	Serovar	Strain
<i>L. kirschneri</i>	Dadas	Dadas I
<i>L. interrogans</i>	Bratislava	Jez Bratislava
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Hond Utrecht IV
<i>L. interrogans</i>	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Weijinberg
<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis
<i>L. biflexa</i>	Patoc	Patoc I

3.6. DNA Ekstraksiyonu

Totalde 20 mg büyüklüğünde böbrek dokusundan 2 ml'lik steril vida kapaklı boncuklu tüplere alındı. Üzerine PBS eklendi. Doku ekstraksiyonunda “Indical Bioscience İndimag pathogen” kiti kullanıldı. Kitte magnetik-bead reagent teknolojisi ile silika yüzeyli magnetik partiküllere nükleik asit bağlanması esasına dayalı olarak çalışmaktadır. Örnekler seramik boncuklu tüplere alındıktan sonra Magna Lyser cihazında 6400 rpm devirde 60 saniye olacak şekilde homojen hale getirildi. Homojenize hale getirilen örnekler 6000 rpm'de 3 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonrası DNA ekstraksiyonu için süpernatanttan 200 µl alınarak kitte belirtilen prosedüre göre ekstraksiyon işlemi yapıldı. İndical Bioscience İndimag otomatik nükleik asit izolasyon cihazı kullanım talimatına göre kit içeriğinde bulunan materyaller yerleştirilerek kullanıldı. İzolasyon sonrası elde edilen total bakteriyel DNA içerisindeki çift iplikli DNA (dsDNA) konsantrasyonu ve kalitesi Qubit dsDNA BR assay kit kullanılarak Qubit fluorometer (Life Technology) ile belirlendi. Uygun kalitedeki ($OD_{260/280} = 1.8$, $OD_{260/230} = 2.02$) dsDNA örnekleri kullanılıncaya kadar $-20^{\circ}C$ 'de muhafaza edildi.

3.7. Real-Time PCR Analizi

Real-Time PCR, Wu ve arkadaşlarının (Wu ve ark., 2014) yöntemi modifiye edilerek uygulandı. Real-Time PCR yönteminde, 5' ve 3' uçlarından florokrom işaretli taqman probu kullanıldı. PCR analizlerinde LightCycler Taqman Master kiti (Roche Katolog no:04535286001), primerler ve taqman probu kullanılarak Tablo 3.5'te belirtilen PCR karışımı hazırlandı. Tablo 3.6.'da Real-Time PCR aşamaları ve Tablo 3.7'de PCR aşamasında yer alan primerler ve taqman probunun genel özellikleri verilmiştir. Amplifikasyonda *Leptospira spp.* genomundaki tekrarlı bölgelere karşılık gelen LipL32F ve LipL32R primerleri ve primerlere özgü taqman probu kullanıldı (Wu ve ark., 2014).

Örneklerdeki nükleik asitlerin amplifikasyonlarında Real–Time PCR cihazı (Roche LightCycler 480, Germany) kullanıldı. Real–Time PCR'nin tüm aşamalarında pozitif kontrol olarak Enstitümüzün Moleküler Teşhis ve Araştırma Laboratuvarında rutin *Leptospira spp.* analizinde kullanılan pozitif kontroller ve negatif kontrol olarak distile su kullanıldı. Pozitif DNA örneklerinin spektrofotometre (Nanodrop 1000) cihazı ile konsantrasyonu ölçülerek 50 ng olacak şekilde seyreltildi. Daha sonra 10 katlı dilüsyonlarını yapılarak PCR işleme gerçekleştirildi. *LipL32* gen bölgesi için; En düşük tespit limiti 1.0x10¹ sulandırmada Ct =35.89 En yüksek tespit limiti 1.0x10⁸ sulandırmada olarak 13,21 tespit edildi. Real time PCR çalışılan örneklerin değerlendirilmesi en düşük tespit limitinin altında olan değerler pozitif üstünde olan değerler negatif olarak değerlendirildi. Wu ve arkadaşlarının Dizayn Ettiği Primerler ve Taqman Probu ile yapılan Real–Time PCR işleminde kullanılan reaksiyon karışımının içeriği Tablo 3.5’de gösterilmiştir.

Tablo 3.5. Real–Time PCR’de Kullanılan Reaksiyon Karışımının İçeriği

Reaksiyon Karışımının İçeriği	Miktarı (µl)
H ₂ O (nükleaz içermeyen su)	9.0
<i>LipL32</i> - forward primer, 10µM	0.5
<i>LipL32</i> - reverse primer, 10µM	0.5
FastStart mix	4.0
Taqman probe, 4 µM	1.0
Örnek DNA	5.0
Toplam	20

Tablo 3.6.’da *LipL32* geni için Real–Time PCR işleminin aşamaları; Tablo 3.7.’de ise çalışmada kullandığımız primer-probların dizilimi görülmektedir. Real–Time PCR işleminde ilk olarak 95°C’ de 10 dakika ısıtma işlemine tabi tutuldu ve amplifikasyondan

önce ortamda bulunan bütün DNA’lar denature edildi ve tek iplikli hale gelmesi sağlandı. Sonra tek iplikli DNA’lar 95°C’ de 15 saniye ısıtılarak amplifikasyon işleminin denatürasyon basamağı tamamlandı. Daha sonra, kullanılan primerlerdeki guanin (G), sitozin (C), adenin (A) ve timin (T) baz miktarları dikkate alınarak $T_m = (G+C) \times 4 + (A+T) \times 2$ formülü (T_m =melting temperature=erime ısısı) ile ayarlanan sıcaklıktan 5°C aşağısı dikkate alınarak (60°C), 30 saniye ısıtılmak suretiyle primerlerin bağlanma aşaması tamamlanmıştır. Son olarak Taq DNA polimeraz enziminin çalışma sıcaklığı olan 72°C’de 1 saniye inkübasyonla spesifik bölgelere bağlanan primerlerin uzaması sağlanmıştır. Bu sıcaklıkta (72°C) Taq DNA polimeraz enzimi dNTP’leri kullanarak PCR amplifikasyonu toplam da 45 döngü olacak şekilde tamamlanmıştır.

Tablo 3.6. *LipL32* Geni İçin Real–Time PCR İşlemi

PCR aşamaları	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	95	10 dakika	1
PCR Amplifikasyonu (Toplam 45 döngü)			
Denatürasyon	95	15 saniye	
Bağlanma	60	30 saniye	
Uzama	72	1 saniye	

Tablo 3.7. Real–Time PCR’de Kullandığımız Primer-Probalar

Primer-Prob	Dizilim (5’-3’)	Kaynak
Primer	<i>LipL32F</i> 5’-GGA TCC GTG TAG AAA GAA	
	TGT CGG-3’	
(<i>LipL32</i> -101 bp)	<i>LipL32R</i> 5’-GTC ACC ATC ATC ATC ATC	(Wu ve ark., 2014)
	GTC C-3’	
Prob	Prob –FAM-5’-ATG CCT GAC CAA ATC GCC	
	AAA GCT GCG AAA-TAMRA3’	

Çalışmamızda kullanılan Real-Time PCR internal kontrol primer ve problemlerin özellikleri Tablo 3.8’de verilmiştir.

Tablo 3.8. Real-Time PCR İnternal Kontrol Primer-Problar

Primer-Prob	Dizilim (5’-3’)	Kaynak
Primer (<i>phyB</i> gen-147 bp)	<i>LipL32IACF</i> 5’-GGA TCC GTG TAG AAA GAA TGT CGG AAC TTG GCT TTA ATG GAC CTC CA-3’	(Wu ve ark., 2014)
	<i>LipL32IACR</i> 5’-GTC ACC ATC ATC ATC ATC GTC CAC ATT CAT CCT TAC ATG GCA CCA-3’)	
	(Hex)-5’-TGC ACA AGC TAT GGA ACA CCA CGT-3’	

3.9. İstatistiksel Analizler

Hasta bilgileri ve laboratuvar sonuçları Mac için Microsoft Excell (sürüm16.70) programına girilerek; tablo ve grafikler bu program kullanılarak oluşturulmuş; olguların yaşlarının ortalama değerleri ve standart sapmaları gibi tanımlayıcı analizleri bu programın analiz araçları üzerinden gerçekleştirilmiştir. Değişkenler arasındaki ilişki SPSS 25.0 programında χ^2 (Ki-Kare) testi ile araştırılmış ve $p < 0,05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda yaşları 1-23 arası tümü sağlıklı olan 289 sığırın yanı sıra risk grubunda çiftçi, kasap ve veteriner hekimlerden oluşan 100 ve bu meslekler dışında kalan 100 olgu leptospiroz serolojisi yönünden incelendi. Çalışmaya dâhil edilen sığır ve insanlara ait özellikler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Olguların Özellikleri

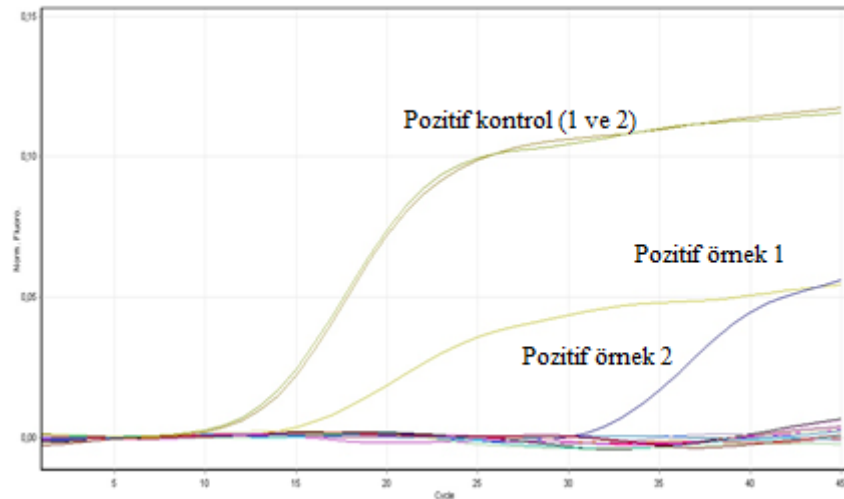
Özellikler	Temel veri
Sığırlar (n: 289)	
Yaş, Mean $\pm$ SD; (Range)	6.53 $\pm$ 4.4 (1-23)
Erkek: Dişi	57/232
Sığır çiftliği yerleşimi	Kentsel 127 Kırsal 162
Damızlık durumu	Evet 0 Hayır 289
Hastalık şüphesi	Var 4 Yok 285
İnsanlar (Risk grubu, n: 100)	
Yaş, Mean $\pm$ SD; (Range)	43.23 $\pm$ 13.16 (19-80)
Erkek: Kadın	84/16
Meslek	Çiftçi 58 Veteriner hekim 25 Kasap 17
İnsanlar (Kontrol grubu n: 100)	
Erkek: Kadın	43/57
Yaş, Mean $\pm$ SD; (Range)	45.35 $\pm$ 17.19 (18-82)
İnsanlar (Yaş grupları n: 200)	
18-44	115
45-64	58
65 ve üzeri	27

Erzurum ve ilçelerindeki çiftliklerde yetiştirilen 289 sığırdan elde edilen serum örneklerinde MAT ve böbrek örneklerinde PCR ile saptanan leptospira pozitifliği Tablo 4.2’de görülmektedir. MAT ve PCR birlikte pozitif bulunan sığır saptanamamıştır. MAT ve PCR pozitifliği sadece dışı sığırlardan elde edilmiştir.

Tablo 4.2. Sığırlarda MAT ve PCR sonuçları

Test	Pozitif		Negatif	
	n	%	n	%
MAT	13	4.5	276	95.5
PCR	2	0.7	287	99.3
Toplam	15	5.2	274	94.8

Şekil 4.1’de, çalışmamızda Real–Time PCR testinde böbrekte pozitiflik veren iki örneğin floresan değerlerinin geçtiği cycle threshold (Ct) eşik değerleri görülmektedir.



Şekil 4.1. Real–Time PCR’de Pozitif Örneklerin Ct Değerlerinin Görüntüsü.

Sığırlarda çeşitli titrelerde beş farklı Leptospira türüne özgü antikor pozitifliği tespit edilmiştir. Tanımlanan Leptospira türleri Tablo 4.3’te görülmektedir.

Tablo 4.3. Sığırlarda MAT Testi ile Tanımlanan Leptospira Serovarları

Tür	Sayı	%
<i>Leptospira interrogans</i> serovar Hardjo	6	46.2
<i>Leptospira kirschneri</i> serovar Dadas	3	23.1
<i>Leptospira interrogans</i> serovar Bratislava	2	15.4
<i>Leptospira interrogans</i> serovar Pomona	1	7.7
<i>Leptospira interrogans</i> serovar icterohaemorrhagiae	1	7.7
Toplam	13	100.0

İnsanlarda MAT ile tanımlanan leptospira türleri Tablo 4.4’de verilmiştir. İnsan ve sığırlarda MAT analizi ile Hardjo ve Icterohaemorrhagiae serovarlarının ortak olduğu görülmüştür.

Tablo 4.4. İnsanlarda MAT Testi ile Tanımlanan Leptospira Serovarları

Meslek	Cinsiyet	Yaş	Tür	Sayı
Çiftçi	Erkek	36	<i>Leptospira interrogans</i> serovar Hebdomadis	1
Çiftçi	Erkek	71	<i>Leptospira interrogans</i> serovar Icterohaemorrhagiae	2
			<i>Leptospira interrogans</i> serovar Hardjo	
Kontrol*	Kadın	41	<i>Leptospira interrogans</i> serovar Icterohaemorrhagiae	1
Kontrol	Erkek	54	<i>Leptospira kirschneri</i> serovar Dadas	1

* Bu hastada ELISA ile de pozitif sonuç alınmıştır.

PCR pozitifliği sadece güz dönemimde ve 2 sığırdan tespit edilmiştir. Nisan-Haziran 2022 tarihlerini kapsayan bahar dönemi içinde 151 ve Ekim-Aralık 2022 tarihlerini kapsayan güz dönemi içinde 138 sığırdan alınan kan serum örneklerinde MAT sonuçları Tablo 4.5’te verilmiştir. Örnek alım dönemlerine göre MAT pozitifliğinde güz dönemi lehine Yates doğrulamalı χ^2 testi ile istatistiksel olarak düşük düzeyde anlamlı sayılacak bir yükseklik görülmüştür.

Tablo 4.5. Sığırlarda Örnek Alım Dönemlerine Göre MAT Sonuçları

Dönem	n	Pozitif		Negatif		χ^2	P
		Sayı	%	Sayı	%		
Bahar Dönemi	151	3	2.0	148	98.0	3.5	0.0614
Güz Dönemi	138	10	7.2	128	92.8		
Toplam	289	13	4.5	276	95.5		

Çalışmaya dâhil edilen sığırların 162'si kırsal merkeze bağlı olmayan ilçe ve köylerden, 127'si Erzurum merkezine yakın kentsel alanlardaki çiftliklerden gelmekteydi. Sığır serum örneklerinin MAT analizinde kırsal kökenli ilçe ve köylerden %4.9, şehir merkezindeki ilçe ve köyler %3.9 oranlarında pozitiflik tespit edilmiş kırsal ve kentsel bölgedeki sığırlarda antikor pozitiflikleri arasında Yates χ^2 testi ile istatistiksel olarak fark göstermediği tespit edilmiştir. Tablo 4.6 sığırlarda MAT ile saptanan leptospira IgG antikor pozitifliğinin kırsal ve kentsel yerleşim bölgelerine göre dağılımını vermektedir.

Tablo 4.6. Sığır Çiftliği Yerleşim Bölgesine Göre MAT Sonuçları

Yerleşim bölgesi	n	Pozitif		Negatif		χ^2	P
		Sayı	%	Sayı	%		
Kırsal	162	8	4.9	154	95.1	0.015	0.903
Kentsel	127	5	3.9	122	96.1		
Toplam	289	13	4.5	276	95.5		

Risk ve kontrol grubunda ELISA ile elde edilen leptospira IgG antikor pozitifliğinin cinsiyetlere göre dağılımı Tablo 4.7'de görülmektedir. Leptospira IgG antikor pozitifliği, risk grubunu oluşturan olgular (14/100) ile kontrol olguları (18/100) ile karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Yates $\chi^2 = 0.335$,

P = 0.563). Risk grubundaki olgularda Leptospira antikor pozitifliğinin cinsiyetler arasındaki farkın da (erkekler için 10/84; kadınlar için 4/16) önemli olmadığı görülmüştür (Yates $\chi^2 = 0.981$, P = 0.322).

Tablo 4.7. Meslek Gruplarında ELISA-Leptospira IgG Antikor Pozitifliği

Gruplar	n	Erkek		Kadın		Toplam	
Risk grubu		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Çiftçi	58	6	10.3	4	6.9	10	17.2
Veteriner hekim	25	2	8.0	-	-	2	8.0
Kasap	17	2	11.8	-	-	2	11.8
Risk grubu toplam	100	10	8.0	4	4.0	14	14.0
Kontrol grubu	100	7	7.0	11	11.0	18	18.0

Risk grubu ve kontrol grubu dâhil insanlarda yaş gruplarına göre leptospira antikor pozitifliği Tablo 4.8’de verilmiştir. Leptospira antikor pozitifliği yaş grupları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($\chi^2 = 1.1325$, P =0.5677).

Tablo 4.8. İnsanlarda Yaş Gruplarına Göre Leptospira IgG Antikor Pozitifliği

Yaş grupları (yıl)	N	Pozitif	Negatif	χ^2	P değeri
		Sayı (%) *	Sayı (%) *		
18-44	115	21 (18.3)	94 (81.7)	1.1325	0.5677
45-64	58	7 (12.1)	51 (87.9)		
65 ve üzeri	27	4 (14.8)	23 (85.2)		
Toplam	200	32 (16.0)	168 (84.0)		

5. TARTIŞMA

Leptospira türünden spiroketler, çeşitli vahşi ve evcil hayvanların vektörlüğünü yaptığı bakteriler olup insanlar da bu bakterilerle enfekte olabilmektedir. Önemli zoonotik bakteriyel hastalıklardan biri olan leptospiroz, tüm dünyada yaygın görülmektedir. Bu enfeksiyon genellikle gelişmekte olan ülkelerde ve kaynakları kısıtlı topluluklarda önemli morbidite ve mortalite ile sonuçlanmaktadır. Leptospiroz en yaygın bakterilerin hayatta kalmasına yardımcı olduğu yağışlı ve sıcak özelliğe sahip tropik ve subtropik bölgelerde görüldüğü bilinmektedir. Yaklaşık 2000 rakımda kurulmuş büyük merkezlerden biri olan Erzurum yağışı bol olsa da soğuk ve sert karasal bir iklime sahiptir. Bu tez çalışması ile esas itibariyle Erzurum çiftliklerinde yetiştirilen ve “Foot and Mouth Disease Virus (FMDV)” tarafından oluşturulan şap; “Lumpy Skin Disease Virus (LSDV)” tarafından oluşturulan sığır çiçeği ve *Brucella abortus* için aşılı olan ancak leptospira dâhil diğer patojenlere karşı aşılı olmayan sığırlarda ve insanlarda leptospiroza neden olan leptospira serogrupları ve enfeksiyonlarının epidemiyolojisi hakkında ilk bilgiler elde edilmiş ve leptospiroz literatürüne katkıda bulunulmuştur.

Leptospiroz ateşli bir hastalık olduğundan ve birkaç tropikal hastalık erken evrelerinde ateşle kendini gösterdiğinden, daha fazla laboratuvar testi yapılmadıkça hastalığa yanlış tanı konulabilmekte, uygun tedavinin başlanmasında gecikmeye neden olabilmekte ve hastalığın gerçek insidansının belirlenmesinde zorluklar yaşanmaktadır. Bu nedenlerle leptospirozun gerçek durumunun belirlenmesinde veterinerlik ve tıp kökenli araştırmacıların iş birliğine ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (Thayaparan ve ark, 2013). Yaptığımız çalışmada hem sığırların kan ve böbrek numunelerinden hem de hayvan temaslı meslek gruplarından olan hayvan yetiştiricisi, veteriner hekim, kasaplardan alınan kan numunelerinden serolojik ve moleküler olarak leptospiraların yaygınlığı araştırılması amaçlandı. Leptospirozun tanısı, spesifik olmayan semptomları

ve hastalığın leptospiremi veya akut faz ve bağışıklık fazı olan iki farklı klinik fazdan oluşan doğası nedeniyle sorun olmaya devam etmektedir. Hem moleküler hem de serolojiyi içeren kapsamlı bir inceleme, leptospirozun erken ve doğru tanısı için hayati önem taşımaktadır (Philip ve ark, 2020).

Çalışmamızda sığırlarda leptospira serolojik tanısında WOAİ tarafından altın standart olarak kabul edilen MAT'ın yanı sıra moleküler tanısında PCR kullanılmıştır. PCR gibi moleküler genetik tekniklerin aktif ve kronik enfeksiyonların tanılanmasında kültür, ELISA veya MAT'tan daha duyarlı olduğu bilinmektedir. Yaptığımız çalışmada MAT ve PCR kombinasyonunun kullanılması ile MAT negatif iki sığırdaki PCR pozitif bulunmasına rağmen MAT pozitif olguların hiçbirinde PCR ile pozitif sonuç alınmamıştır. Bu sonuçlara göre Erzurum ve yöresindeki sığırların 13'ünün aktif enfeksiyon döneminde olabileceği, ikisinin ise kronik enfeksiyon döneminde ve saçılım yapma durumunun olabileceği ve toplamda 15 (%5.2)'inin leptospira ile karşılaştığını söylememiz mümkündür. Sığırlarda MAT ile *Leptospira interrogans* serovar Hardjo, *Leptospira kirschneri* serovar Dadas, *Leptospira interrogans* serovar Bratislava, *Leptospira interrogans* serovar Pomona ve *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae serovarları tespit edilmiştir. İnsanlarda ise MAT ile 2 çiftçide *Leptospira interrogans* serovar Hebdomadis ve *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae ve kontrol grubunda *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae ve *Leptospira kirschneri* serovar Dadaş suşları tespit edilmiştir. ELISA ile risk grubunda %14 ve kontrol grubunda %18 olguda antikor pozitifliği tespit edilmiş; risk grubu ile kontrol grubu ve kadın ve erkeklerdeki antikor pozitifliği karşılaştırıldığında anlamlı bir fark göstermediği görülmüştür.

İtalya'da yapılan bir çalışmada (Aliberti ve ark, 2022) Sicilya'da Nebrodi Parkı içindeki sığır çiftliklerinde esas olarak tam süreli kürtaajla karakterize edilen ve MAT ile

bir *Leptospira interrogans* serogroup *Pomona* salgını rapor edilmiştir. Bu çalışmada, *Icterohaemorrhagiae* ve *Ballum* serogruplarının başlıca kemirgenlerle, *Pomona* ve *Tarassovi* serogruplarının domuzlarla, Bratislava serogruplarının atlarla ve *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* (serogroup *Sejroe*) suşlarının sığır ve koyunlarla ilişkili olduğu, sığır leptospirozunun, çok çeşitli serovarlardan kaynaklanabileceği ve kritik bir mesleki zoonoz hastalığını temsil ettiği hatırlatılmakta ve son yıllarda, vahşi ve evcil hayvanlar arasında bazı serogrupların ortaya çıkması nedeniyle leptospiroz epidemiyolojisinde zaman içinde değişiklikler olabileceği bir serogrubun tesadüfi konakçılarda enfeksiyon yapabileceği bildirilmektedir. Çalışmamızda *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* dışında izole edilen diğer suşların primer olarak diğer hayvanlarda görüldüğü dikkate alındığında Aliberti ve arkadaşlarının iddiasını doğrular nitelikte bir sonuç aldığımızı söyleyebiliriz.

Dünya çapında sığır leptospirozunun yaygınlığı ile ilgili MAT analizlerine dayalı pek çok araştırma mevcut olup bunlardan Güney Büyük Okyanus'ta bir ada ülkesi olan Yeni Zelanda'da (Fang ve ark., 2015) %73, Afrika kıtasının doğu kesiminde yer alan Uganda'da (Alinaitwe ve ark., 2020) %27.8, Güneydoğu Asya ülkelerinden biri olan Malezya'da (Sabri Abdul Rahman ve ark., 2020) % 14.2, Asya'nın güneybatısında yer alan İran'da (Abdollahpour ve ark., 2009) %25.8 oranında seropozitiflik bildirilmiştir. Bir Güney Amerika ülkesi olan Kolombiya'da 1669 sığır serumu üzerinde MAT kullanılarak yapılan bir çalışmada (Orjuela ve ark, 2022) genel seropozitiflik %49.1, MAT kullanan 113 süt çiftliğindeki üç alt bölgede yürütülen ikinci çalışmada seroprevalansın genel olarak %25.8, And bölgesinde %14.4, Karayipler'de %38.2 ve Llanos Eteklerinde %24.8 olduğunu bildirmişlerdir. Türkiye'de sığırlarda yapılan seroprevalans çalışmalarında Bursa'da %4.7 (Kocabıyık 2002, s:88), Trakya bölgesinde %3.6 (İkiz ve Özgür, 2013), Doğu Anadolu'nun bazı illerinden (Kars, Erzurum,

Gümüşhane, Artvin) %17.8, (Bulu ve ark., 1990) seropozitiflik bildirilmiştir. Yukarıda bildirdiğimiz, ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılan çalışmaların sonuçları dikkate alındığında sığırlarda leptospiroz prevalansının %3.6-73.0 arasında ve oldukça farklı oranlarda olduğu görülmektedir. Sığır leptospirozunun ülkeden ülkeye ve bölgeden bölgeye değiştiği ve Erzurum için bulduğumuz total prevalans oranının (%5.2) dünya ortalamasının altında olduğu görülmüştür.

Diğer ülkelerde ve yurdumuzda yapılan çalışmalarda *L. interrogans* serovar Hardjo (serogroup *Sejroe*)’nun asıl konakçısının sığırlar olduğu kabul edilmiştir (Pyskun ve ark, 2019; İkiz ve Özgür, 2013; Guedes ve ark., 2019; Sağlam ve ark., 2008). ABD’de sığır leptospirozunun tipik olarak *L. borgpetersenii* ve *L. interrogans* ve enfekte hayvanların böbreklerinden ve idrarından izole edilen Hardjo, Pomona ve Grippotyphosa dâhil bir dizi serovar ile ilişkili olduğu; küresel olarak sığırların *L. borgpetersenii* serovar Hardjo için rezervuar konakçısı olduğunun kabul edildiği; Güney Amerika’da sığır leptospirozuna *L. santarosai* ve *L. noguchii* suşlarının da neden olduğu bildirilmiştir (Hamond ve ark., 2022). *L. interrogans* serovar Hardjo serovarın sığırların hem idrarında hem de genital yollarındaki akıntılarda bulunması bu patojen organizmanın sığırlar aracılığı ile çevreye yayılması söz konusu olmaktadır. *L. interrogans* serovar Hardjo enfeksiyonu Malezya, Arjantin, Şili, Hindistan ve Avrupa ülkeleri başta olmak üzere dünya çapında yaygın olarak görülmektedir (Pyskun ve ark., 2019; Salgado ve ark., 2015). Erzurum’da yaptığımız çalışmada da en yaygın leptospira olarak *L. interrogans* serovar Hardjo suşlarının tespit edilmiştir. Bu organizmanın yanı sıra MAT analizi ile Erzurum’da yetiştirilen sığırlarda diğer leptospira türlerinden *L. kirschneri* (%23.1), *L. bratislava* (%15.4), *L. pomona* (%7.7) ve *L. interrogans icterohaemorrhagiae* (%7.7) antikorları tespit edilmiştir. Bu çeşitliliğin ortaya çıkmasında Erzurum ve yöresinde mera hayvancılığı yapılması, kontamine hayvanların yüzey sularından içmeleri, hayvanların

meralara ulaşmak için uzun mesafelerde yolculuk yapmaları, diğer taşıyıcı vahşi hayvanların enfeksiyonuna maruz kalmaları gibi riskler ve ayrıca at ve sığırların aynı işletmede olması, çoğu işletmelerde köpeklerin bakılmasının önemli bir rol oynadığını tahmin etmekteyiz. Daha önce leptospiralarla karşılaşma olasılığının yüksek olduğu yaşlı hayvanlar aracılığıyla kontamine alanlarda genç hayvanların da enfekte olması ihtimal dâhilindedir. Pomona serovarını doğal konakçısı domuzlar olmasından (Alibertli ve ark., 2022) dolayı kırsal alanlarda yabani domuzların sürü halinde mera alanlarında ve sığırların su içtikleri dereler, çay veya göletlerle teması olmasından dolayı bulaşma ihtimali olduğu düşünülmektedir. Yine aynı şekil Icterohaemorrhagiae serovarının da rezervuarının kemirgenler olabileceği düşünülmektedir. Kemirgenlerin yanı sıra doğada kemirgenlerle beslenen yaban hayatın üyesi olan özellikle bu bölge de yaşayan ve köylerin içine kadar giren kırmızı tilkilerin taşıyıcı olmaları durumunda sığır ve insanlar için bulaş kaynağı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, sığırlarda MAT pozitifliği bahar döneminde üç ve güz döneminde 10 olmak üzere toplam 13; PCR pozitifliği ise sadece güz döneminde 2(%0.07) sığırdan tespit edilmiştir. MAT pozitifliği güz döneminde bahar dönemine göre istatistiksel olarak düşük düzeyde anlamlı yükseklik göstermiştir. Ülkemizde leptospiroz ile ilgili olarak moleküler çalışmaların kısıtlı olduğu görülmüştür. Çalışmamızda sığırlarda PCR ile saptadığımız pozitiflik oranının diğer çalışmalara göre düşük olması leptospirozis şüpheli hayvanlarda olmaması ve kesimevine gelen sağlıklı hayvanlardan yapılmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Böbrekte pozitiflik saptanan hayvanların ikisinin yaşlı olması ve MAT analizinde negatif sonuç vermesi etkenin çalışılan suşlardan farklı olması ya da MAT analizi için standart suşlar paneli dışında yer alan başka suşlara ait olabileceğini düşündürmektedir. Lübnan'da yapılan çalışmada (Harran ve ark., 2023) çalışmamızda Real-Time PCR ile böbrekte pozitif bulduğumuz hayvanların MAT

sonuçlarının uyumlu olmamasına benzer bir sonuç alınmıştır. Harran ve ark., sığırlarında yaptığı PCR sonuçlarının ve MAT analizine düşük derece uyum göstermesinin kanda henüz antikor gelişiminin olmamasından dolayı MAT analizinin negatif olmasına bağlanmışlardır. Bizim sonuçlarımız için de aynı yorumu yapmamız mümkündür. Yine, benzer şekilde Brezilya’da yapılan bir çalışmada (Otaka ve ark., 2012) idrarda PCR pozitif buldukları hayvanların %50’sinin MAT analizinde negatif olarak bulduklarını rapor etmişlerdir. Büyük miktarda leptospira serovarı nedeniyle, MAT için standart paneller farklı ülkelerde değişiklik gösterir ve genellikle beş ila yedi serovar içerir (Pyskun ve ark., 2019). Bu durum, panellerde yer almayan serovarlar için negatif sonuçların alınmasına neden olmaktadır.

Çalışmamızda, sığır böbrek örneklerinde PCR ile yalnız biri 11.8 diğeri 9.3 yaşındaki 2(%0.7) sığırdaki leptospira-DNA’sı pozitif bulunmuştur. Çiftlik hayvanlarında böbrek aracılığıyla leptospira yayılımı üzerine yapılan moleküler çalışmalarda; Brezilya’da sığırların böbrek örneklerinde %5.8, idrarlarında %14.9 (Guedes ve ark., 2019), Yeni Zelanda’da sığırların idrarında %21(Fang ve ark., 2015) oranlarında pozitiflik bildirilmiş, Amerika Birleşik Devletlerinde sığırların %7.2’ünde (Putz ve ark., 2022) taşıyıcılık tespit edilmiştir. Türkiye’de Isparta ilindeki mezbaha da yapılan immunohistokimyasal incelemede %1.0 (Türker ve Tuzcu, 2021), Diyarbakır ilinde mezbahada kesime gelen hayvanlardan alınan idrar numunelerinde %9.4 (Yesilmen ve ark., 2012) oranında; başka bir çalışmada Diyarbakır, Elazığ, Malatya illerinde sığır idrarında yapılan PCR sonucunda %4.0 (Çetinkaya ve ark., 2000), Erzurum’da atık fetuslarda immunperoksidaz ile incelemede % 24.2 (Temur ve Sağlam, 2003) oranında pozitiflik bildirilmiştir. Yine aynı yöntemle Erzurum’da koyun abortlarından yapılan çalışmada %17.0 (Sağlam ve ark., 2008) oranında immunopozitiflik bildirilmiştir. Yukarıda verdiğimiz literatür verileri değerlendirildiğinde leptospira-DNA pozitifliğinin

lkeler ve yreler temelinde geniş bir oran değişkenliği gösterdiği görülmüştür. Erzurum ve çevresinde tespit edilen pozitifliğin diğer yörelere göre düşük olması sevindirici bir durum olarak değerlendirilmiştir. Ancak, aktif enfeksiyon etkeni olarak bakterinin varlığının tespit edilmiş olması leptospira enfeksiyonlarının dikkatle takip edilmesi gerektiği gerçeğini ortaya koymaktadır.

Leptospiroz yönünden en fazla hastalık yükünün çoğunlukla düşük ve orta gelirli ülkelerde olmak üzere, tropik bölgelerdeki kaynakları kısıtlı nüfuslar arasında görüldüğü; şiddetli yağış ve sel olaylarından sonra Guyana, Hindistan, Endonezya, İtalya, Filipinler ve Malezya da dâhil, dünyanın dört bir yanındaki kentsel alanlarda çeşitli salgınların rapor edildiği bildirilmektedir (Galan ve ark., 2021). Geleneksel kırsal hayvancılıkla karşılaştırıldığında, kentsel evre hayvancılığı, besi hayvanlarının yüksek sayıda insan topluluklarına yakın olması ve hayvansal gıdalar için büyük pazarlara erişimin kolay olması nedenleriyle zoonotik hastalıkların bulaşma riskini arttırmaktadır. Sığır leptospirozu insanlara en yaygın olarak, sağım esnasında enfekte sığırların idrarıyla doğrudan temas yoluyla veya kontamine su veya toprak aracılığı ile dolaylı olarak bulaşmaktadır. Ayrıca, sığır leptospirozunun enfekte ineklerin sütlerinin içilmesiyle bulaşma riskini vurgulayan çalışmalar mevcuttur (Rajala ve ark., 2017). Bu bilgiler dikkate alındığında hijyenik koşulların kentsel kesimlere göre daha uygunsuz olduğu kırsal bölgelerde leptospiroz sıklığının daha yüksek olması beklenir. Ayrıca, kırsal mülklerde sıklıkla bakıldığı bilinen köpeklerin, leptospiroz epidemiyolojisi ve sürü içindeki prevalansının üzerinde önemli bir arttırıcı faktör olarak rol oynayacağı kabul edilmektedir (Fvero ve ark, 2017).

Çalışmamızda 162'si kırsal, 127'si kentsel yerleşimli çiftliklerindeki sığırlarda MAT ile elde edilen Antikorpozitiflikleri arasında istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir. Her iki grup için alınan sonuçların kırsal ve kentsel çiftliklerdeki

hayvanların leptospiroz yönünden benzer risk altında olduklarını göstermektedir. Kırsaldaki sığır numunlerinin MAT analizinde pozitiflik durumu istatistiksel olarak bir anlam ifade etmese de görece olarak kentsel alandaki sığırlara oranla daha yüksek bulunmasının nedeni kırsaldaki hayvanların bu etkenle temasının kontamine durgun su veya kontamine meralar olabileceğini düşündürmektedir. Ülkemizde daha önce yapılan seroprevalans değerlerindeki farklılığı; çalışılan serogrup suşlarının sayısının nispeten az olması, kente göçlerin yoğunluğu gibi nedenlerle kırsaldaki hayvan varlığının azalması, iklim ve coğrafi yapı, işletme yapılarının sanitasyon koşullarına bağlı olduğu düşünülmektedir.

İnsanlarda, Mısır'da ELİSA ile yapılan çalışmada (Hegazy ve ark., 2021) sığırlarda %3.6 insanlarda ise %6.2 oranında seropozitiflik bildirmişlerdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde Virjin Ada'sında yapılan çalışmada (Artus ve ark., 2022) insanlarda leptospiroz seropozitifliği %4.0 olarak rapor edilmiştir. Türkiye'de yapılan seroprevalans çalışmalarında Zonguldak'ta kömür maden işçilerinde seropozitiflik saptanmamış (Yılmaz ve ark., 2019)¹⁷, Çorum'da mezbaha çalışanlarında (Çağlayık ve Güreser, 2019) %12 oranlarında seropozitiflik bildirilmiştir. Leptospiroz için hayvancılık dünya çapında önemli mesleki risk faktörüdür. Hayvancılıkla uğraşan ve teması olan meslek gruplarında leptospira IgG antikorlarının en yüksek pozitifliğini hayvancılıkla uğraşan çiftçilerde (%17.2) ardından kasaplarda (%11.8) ve veteriner hekimlerde (%8.0) tespit ettik. Leptospiroz kuşkusu bildirilmemiş kontrol grubu olgularında ise %18 oranında rakamsal olarak daha yüksek bir pozitiflik tespit edilmiştir. Ancak, leptospira antikor pozitifliği açısından risk grubunu oluşturan tüm olgular ile kontrol grubu olguları karşılaştırıldığında bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görülmüştür. Kontrol grubunda, tanıda altın standart olarak kabul edilen MAT testi ile

sadece iki olguda pozitiflik saptanmış, bu olguların birinde ise ELISA ile negatif sonuç alınmıştır.

Leptospiralar enfekte sığırların böbrek ve üreme yollarından izole edilebilmekte bu sığırların idrar, uterus akıntıları ve semenleriyle doğrudan diğer sığırlara bulaşabilmektedir. Leptospirozun insanlara bulaşması tipik olarak enfekte idrarla doğrudan temas yoluyla veya dolaylı olarak kontamine ortam yoluyla gerçekleşmekte; hayvancılık yapanlar, mezbaha çalışanları, kasaplar ve veteriner hekimler, sığırlardan kaynaklanan patojenik leptospira türlerine maruz kalma nedeniyle mesleki risk taşırlar (Hamond ve ark., 2022). Çalışmamızda risk grubunda yer alan çiftçilerde MAT testi ile *L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae ve *L. interrogans* serovar Hebdomadis; kontrol grubunda ise *L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae ve *Leptospira kirschneri* antikorları pozitif bulunmuştur. Bu sonuçlar toplumun her kesiminin leptospiroz yönünden birbirinden farklı olmayan bir risk altında olduğunu göstermektedir. Çiftçilerde hem ELİSA hem de MAT sonuçları diğer meslek gruplarına göre yüksek çıkması bu kişilerin aktif enfeksiyon döneminde olabileceğini ve enfeksiyon kaynağı olarak çevresinde bulunan ya da ilişkide olduğu insan ve hayvanlar için risk oluşturduğu ihtimalini düşündürmektedir. Veteriner Hekimlerin çiftçilere göre hem ELİSA hemde MAT analizlerinde düşük pozitiflik oranlarına sahip olmaları enfeksiyonlardan korunma konusunda bilinç düzeylerinin yüksek olması ve hayvanlara temas ederken eldiven kullanmaları gibi kişisel koruyucu önlemlere dikkat etmelerinden kaynaklı olduğunu söyleyebiliriz.

Risk grubu ve kontrol grubunda incelenen 18-82 yaşlarındaki 200 olgunun 18-44, 45-64 ve 65 ve üzeri olmak üzere sınıflandırdığımız yaş gruplarına göre leptospira antikor pozitifliğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Arnavutluk'ta yapılan bir çalışmada (Puca ve ark., 2018) en yüksek leptospira prevalansını 45-64 yaş

gruplarında ve erkeklerde gözlediklerini; hastalığın 45-65'li yaşlardaki kişilerde kümelenmesinin makul olduğunu, çünkü bu yaşlardaki insanların daha çok tarım ve hayvancılıkla uğraştığını ve ayrıca erkeklerde leptospirozun baskınlığının diğer çalışmalarda da bildirdiğini ifade etmişlerdir. Puca ve arkadaşlarının aksine Brezilya'da yapılan bir çalışmada (Lacerda ve ark., 2008) leptospira seropozitifliğini yaş ve cinsiyetle ilişkilendirilemediği rapor edilmiştir. Ülkemizde İstanbul'da yapılan bir çalışmada (Turhan ve ark., 2006) leptospirozlu olguların ortalama yaşının 35.6 olduğunu ve hastaların %86.4'ünü erkeklerin oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bu literatür bilgilerine göre yaş ve cinsiyetle ilişkili leptospira seropozitifliğinin bölgesel olarak değişiklik gösterdiği anlaşılmaktadır.

Yukarıda, akut ateşli hastalıklarla karıştırılabilen, tanısında sorunlar yaşanan, genellikle gözden kaçan bir zoonotik enfeksiyon olan leptospiroz üzerine yöremizde ilk kez sığır ve insanları kapsayan farklı yöntemler (PCR, MAT ve ELISA) ve örnekler (serum ve böbrek) kullanılarak yapılan prospektif bir çalışmanın sonuçları ve değerlendirilmesi sunulmuştur. Çalışmamızda herhangi klinik semptom göstermeyen ve leptospiroza karşı aşılanmamış olan sığırlarda bu hastalığın prevalansı belirlenmiştir. MAT ve PCR kombinasyonu çalışmamızda leptospirozu saptama şansını yükseltmiştir.

Bu çalışmanın en önemli sınırlaması incelenen sığırların kesime gönderilmeleri nedeniyle antikor pozitif saptananlarda sonraki haftalarda ikinci bir numunenin test edilmemesi ve hastalığı doğrulamak için serumlarda antikor titrelerinde artışın olup olmadığının gösterilememesidir.

Çalışmamızın en önemli bulgusu, sığır popülasyonundan MAT ve PCR kombinasyonu ile toplamda %5.2 oranında bir pozitifli in ve leptospiraların beş serovarının tespit edilmesi; Erzurum ili ve çevresinde geniş bir spektrumda leptospiroz etkeni ile karşılaşma oranının dikkat  ekeci boyutlarda olduğunun saptanmış olmasıdır.

Aynı zamanda insanlarda MAT ile dört olguda üç farklı serovarı tespit edilmiş ve ELISA ile leptospira IgG antikor seroprevalansı %16 olarak bulunmuştur. Erzurum’da sığırlarda PCR ile tespit edilen aktif enfeksiyon prevalansı düşük sayılacak bir oranda olsa da bu sonuç enfeksiyon riskinin varlığına işaret etmektedir. Çalışmamız, risk grubunda olmayanların leptospira enfeksiyonu yönünden risk grubundaki çiftçiler, kasaplar ve veteriner hekimler kadar risk altında olduğunu göstermiştir. Bu nedenle Erzurum’da leptospirozun dikkatle izlenmesi gereken bir hastalık olduğunu belirtmemiz gerekiyor.

Teknik ve bilimsel düzeyde, leptospirozun epidemiyolojik sürveyansı, klinik yönetimi, önlenmesi ve kontrolünde Erzurum ve yöresinde standart bir protokolün uygulanmamaktadır. Bu durum göz önüne alındığında leptospirozun Erzurum’da da ihmal edilmiş bir zoonotik hastalık olduğunu görmekteyiz. Leptospiraların çevreye kontaminasyonunu kolaylaştıran çok sayıda faktör bulunmaktadır. Bunların başında doğada serbest dolaşan taşıyıcı vahşi ve evcil hayvanların çeşitliliği gelmektedir. Vahşi ve evcil hayvanların salgı ve çıkartılarıyla direkt ya da dolaylı olarak temas halinde olan insanların da bu oldukça enfeksiyöz olan organizmalarla enfekte olması kolaylaşmaktadır. Bu enfeksiyondan korunmada dikkat edilmesi gereken hususların başında enfekte hayvanlarla elle temastan kaçınmak gelmektedir. Temasın zorunlu olduğu durumlarda eldiven giymek, maske kullanmak önemlidir. Şüpheli durumlarla karşılaşan kişiler hastaneye başvurmalı, bu kişilere leptospiroz tanı testleri yapılmalı ve hekimin önerdiği tedavinin alınması sağlanmalıdır. Bir diğer önemli husus ise sağlık kurumlarınca, leptospiroz enfeksiyonu, bulaş yolları, kontrolü konularında toplumun bilinçlendirilmesinde çalışmalar yapmasıdır.

Sonuç olarak, Türkiye’de leptospiroz epidemiyolojisi hakkında yapılan çalışmalar ne yazık ki sınırlı sayıdadır. Yaptığımız bu prospektif çalışmanın bu eksikliği gidermede katkı sunduğunu düşünüyoruz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Büyükbaş hayvan yetiştiriciliğinde ülkemizde önemli bir konuma sahip olan Erzurum ve ilçelerinde sağlıklı bireylerden oluşan sığırlarda ve çifti, veteriner hekim, kasapların yanı sıra bu meslek gruplarının dışındaki insanlarda leptospiroz enfeksiyonunun ve etkenlerinin prevalansı laboratuvar testleriyle prospektif olarak araştırılmıştır. MAT ve ELISA testleriyle leptospira IgG Ab, PCR ile leptospira-DNA araştırılmış aşağıdaki sonuçlar alınmıştır:

1. MAT ve PCR pozitifliği sadece dişi sığırlardan elde edilmiştir. Bu sonucun alınmasında erkek sığırların sayısının dişilere göre en az dört kat kadar daha az olmasının rol oynadığı düşüncesindeyiz.
2. Sığır böbrek örneklerinde %0.7 leptospira-DNA pozitif bulunmuştur. Bu sonuç, Erzurum ve yöresinde taşıyıcı durumuna geçmiş kronik leptospirozlu sığırların bulunduğunu enfeksiyon kaynağı olabileceğini göstermektedir.
3. Erzurum’da yetiştirilen sığırlarda en sık rastlanan leptospira türü *Leptospira interrogans* serovar hardjo’dur. Bu serovarı takiben ikinci sırada sıklıkta tespit edilen tür ise *Leptospira kirschneri*’dir.
4. Erzurumda beş farklı leptospira türüne ait suşlar izole edilmiştir. MAT testi ile sınırlı türlerin tespiti yapıldığından sığırlarda başka türlerin de bulunabileceği dolayısıyla bildirilen prevalans oranlarının leptospira çeşitliliğinin artabileceği kanaatindeyiz.
5. Aynı sonuç insanlar içinde geçerli olup, insanlarda saptanan seroprevalans ve tanımlanan tür sayısının bildirdiğimiz sayıların üzerinde olma olasılığı yüksektir.
6. Erzurum ve ilçelerinde yetiştirilen sığırlarda güz döneminde leptospiroz prevalansı bahar dönemine oranla kısmen yüksek olduğu görülmüştür.

7. Kentsel ve kırsal yörelerde bakılan sığırlarda seroprevalansın yerleşim bölgelerine göre anlamlı bir değişiklik göstermediği tespit edilmiştir.

8. Aynı şekilde leptospiroz riskinin yüksek olduğu düşünülen meslek gruplarından insanlar ile kontrol grubu olarak belirlediğimiz normal popülasyondaki bireylerin benzer oranlarda bir seroprevalansa sahip oldukları görülmüştür. Bu sonuç, tatlı sularda yüzme, bahçe işleriyle uğraşma, kedi ve köpek gibi evcil hayvanların bakılması, farelerin evleri istila etmesi, endemik bölgelere seyahatler gibi leptospiroz için risk oluşturan faktörler nedeniyle doğal bir sonuç olarak kabul edilmiştir.

9. Erzurum’da yaşayan insanlarda leptospiroz seroprevalansı ne cinsiyetler arasında ne de yaş grupları arasında farklılık göstermemiştir.

Günümüzde hem kırsal hem de kentsel yörelerde hem hayvan hem de insanlarda önemli bir enfeksiyon olarak küresel bir sorun olmaya devam eden leptospirozun kontrolü, sürveyansı ve geleceğe yönelik hastalık kontrol planlarının yapılması hayvan, insan ve çevre sağlığı profesyonellerinin iş birliği ile mümkündür. Erzurum ve yöresinde leptospiroz prevalansını düşürmek için kişisel tedbirlerin yanı sıra, belediyelerin çevre sanitasyonu ve altyapı hizmetlerinin ve sağlık birimlerinin toplumu bilinçlendirme çalışmalarının yeterli düzeyde sunmaları gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

Abdollahpour, G., Shafighi, T., & Sattari Tabrizi, S. (2009). Serodiagnosis of leptospirosis in cattle in north of Iran, Gilan. *International Journal of Veterinary Research*, 3(1), 7-10.

Ackermann, K., Kenngott, R., Settles, M., Gerhards, H., Maierl, J., & Wollanke, B. (2021). In Vivo Biofilm Formation of Pathogenic *Leptospira* spp. in the Vitreous Humor of Horses with Recurrent Uveitis. *Microorganisms*, 9(9), 1915.

Adler B. (2015). History of leptospirosis and leptospira. *Current topics in Microbiology and Immunology*, 387, 1–9.

Adler, B., & de la Peña Moctezuma, A. (2010). *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 287–296.

Al-orry, W., Arahou, M., Hassikou, R., Quasmaoui, A., Charof, R., & Mennane, Z. (2016). Leptospirosis: Transmission, Diagnosis and Prevention. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 15(3), 457-467.

Aliberti, A., Blanda, V., Di Marco Lo Presti, V., Macaluso, G., Galluzzo, P., Bertasio, C., Sciacca, C., Arcuri, F., D'Agostino, R., Ippolito, D., Pruiti Ciarello, F., Torina, A., & Grippi, F. (2022). *Leptospira interrogans* Serogroup Pomona in a Dairy Cattle Farm in a Multi-Host Zootechnical System. *Veterinary Sciences*, 9(2), 83.

Alinaitwe, L., Kankya, C., Namanya, D., Pithua, P., & Dreyfus, A. (2020). *Leptospira* Seroprevalence Among Ugandan Slaughter Cattle: Comparison of Sero-Status With Renal *Leptospira* Infection. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 106.

Almeida, D. S., Paz, L. N., de Oliveira, D. S., Silva, D. N., Ristow, P., Hamond, C., Costa, F., Portela, R. W., Estrela-Lima, A., & Pinna, M. H. (2019). Investigation of chronic infection by *Leptospira* spp. in asymptomatic sheep slaughtered in slaughterhouse. *PloS One*, 14(5), e0217391.

Alston, J. M., & Brown, H. C. (1937). The Epidemiology of Weil's Disease: (Section of Epidemiology and State Medicine). *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 30(6), 741–756.

Anonim., 2019. T.C. Resmi Gazete, 4 Mayıs 2019, Sayı: 30764, <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2019/05/20190504.pdf> (28.04.2023)

Anonymous., 2021. Leptospirosis. OIE Terrestrial Manual 2021. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf (28.04.2023)

Arent Z, Pardyak L, Dubniewicz K, Płachno BJ, Kotula-Balak M. Leptospira taxonomy: then and now. *Medycyna Weterynaryjna*, 2022, 78 (10), 489-496.

Arrieta-Bechara, C. E., & Carrascal-Maldonado, A. Y. (2022). Ocular leptospirosis: a review of current state of art of a neglected disease. *Romanian Journal of Ophthalmology*, 66(4), 282–288.

Artus, A., Schafer, I. J., Cossaboom, C. M., Haberling, D. L., Galloway, R., Sutherland, G., Browne, A. S., Roth, J., Jr, France, V., Cranford, H. M., Kines, K. J., Pompey, J., Ellis, B. R., Walke, H., Ellis, E. M., & Leptospirosis Serosurvey Investigation Team (2022). Seroprevalence, distribution, and risk factors for human leptospirosis in the United States Virgin Islands. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 16(11), e0010880.

Azócar-Aedo L. (2023). Basic Aspects and Epidemiological Studies on Leptospirosis Carried Out in Animals in Chile: A Bibliographic Review. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(2), 97.

Bal, A. E., Gravekamp, C., Hartskeerl, R. A., De Meza-Brewster, J., Korver, H., & Terpstra, W. J. (1994). Detection of leptospires in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(8), 1894–1898.

Becirovic, A., Numanovic, F., Dzafic, F., & Piljic, D. (2020). Analysis of Clinical and Laboratory Characteristics of Patients with Leptospirosis in Five-year Period. *Materia Socio-Medica*, 32(1), 15–19.

Becirovic, A., Trnacevic, A., Dubinovic-Rekic, A., & Dzafic, F. (2022). Floods Associated with Environmental Factors and Leptospirosis: our Experience at Tuzla Canton, Bosnia and Herzegovina. *Materia Socio-Medica*, 34(3), 193–196.

Benavidez, K. M., Guerra, T., Torres, M., Rodriguez, D., Veech, J. A., Hahn, D., Miller, R. J., Soltero, F. V., Ramírez, A. E. P., Perez de León, A., & Castro-Arellano, I. (2019). The prevalence of *Leptospira* among invasive small mammals on Puerto Rican cattle farms. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(5), e0007236.

Bertasio, C., Papetti, A., Scaltriti, E., Tagliabue, S., D'Incau, M., & Boniotti, M. B. (2020). Serological Survey and Molecular Typing Reveal New *Leptospira* Serogroup Pomona Strains among Pigs of Northern Italy. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(5), 332.

Bharti, A. R., Nally, J. E., Ricaldi, J. N., Matthias, M. A., Diaz, M. M., Lovett, M. A., Levett, P. N., Gilman, R. H., Willig, M. R., Gotuzzo, E., Vinetz, J. M., & Peru-United States Leptospirosis Consortium (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet. Infectious Diseases*, 3(12), 757–771.

Bierque, E., Thibeaux, R., Girault, D., Soupé-Gilbert, M. E., & Goarant, C. (2020). A systematic review of *Leptospira* in water and soil environments. *PloS One*, 15(1), e0227055.

Biscornet, L., de Comarmond, J., Bibi, J., Mavingui, P., Dellagi, K., Tortosa, P., & Pagès, F. (2020). An Observational Study of Human Leptospirosis in Seychelles. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(3), 999–1008.

Boey, K., Shiokawa, K., & Rajeev, S. (2019). Leptospira infection in rats: A literature review of global prevalence and distribution. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(8), e0007499.

Boon Hinckley, M., Reynolds, C. M., Ribeiro, A. A., McGrath, S. C., Cotter, R. J., Lauw, F. N., Golenbock, D. T., & Raetz, C. R. (2005). A *Leptospira interrogans* enzyme with similarity to yeast Ste14p that methylates the 1-phosphate group of lipid A. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(34), 30214–30224.

Brightman C. (2018). Leptospirosis: a leisure and occupational hazard. *Trends in Urology & Men's Health*. 9(1), 29-31.

Budihal, S. V., & Perwez, K. (2014). Leptospirosis diagnosis: competency of various laboratory tests. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 8(1), 199–202.

Bulu, A. A., Dörterler, R., Özkan, Ö., & Hoştürk, F. (1990). Studies on the prevalence of leptospirosis in cattle and sheep in some provinces of eastern Anatolia (Kars, Artvin, Gümüşhane, Erzurum) and the serotypes involved. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 6(6), 49–60.

Çağlayık, D. Y., & Güreşer, A. S. (2019). Seroprevalance of Leptospirosis Among Slaughterhouse Workers in Çorum Province. *Journal of Ankara University Faculty of Medicine*, 72(3), 291.

Caimi, K., & Ruybal, P. (2020). *Leptospira spp.*, a genus in the stage of diversity and genomic data expansion. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 81, 104241.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Leptospirosis: Healthcare Workers. https://www.cdc.gov/leptospirosis/health_care_workers/index.html (10.04.2023).

Çetinkaya, B., Ertaş, H. B., Öngör, H., & Muz, A. (2000). Detection of *Leptospira* Species by Polymerase Chain Reaction (PCR) in Urine of Cattle. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 24(2), 123-130.

Chanchaoenthana, W., Leelahavanichkul, A., Schultz, M. J., & Dondorp, A. M. (2022). Going Micro in Leptospirosis Kidney Disease. *Cells*, 11(4), 698.

Constantinescu, R., Crivineanu, V., Goran, G., Daneş, D., Togoe, D., & Codreanu, M. D. (2015). Correlation between clinical signs and different laboratory investigations in dogs diagnosed with leptospirosis. *Scientific Works Series C Veterinary Medicine*, LXI(1), 187–191.

Costa, E., Lopes, A. A., Sacramento, E., Costa, Y. A., Matos, E. D., Lopes, M. B., & Bina, J. C. (2003). Penicillin at the late stage of leptospirosis: a randomized controlled trial. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 45(3), 141–145.

Cucchi, K., Liu, R., Collender, P. A., Cheng, Q., Li, C., Hoover, C. M., Chang, H. H., Liang, S., Yang, C., & Remais, J. V. (2019). Hydroclimatic drivers of highly seasonal leptospirosis incidence suggest prominent soil reservoir of pathogenic *Leptospira* spp. in rural western China. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(12), e0007968.

Daroz, B. B., Fernandes, L. G. V., Cavenague, M. F., Kochi, L. T., Passalia, F. J., Takahashi, M. B., Nascimento Filho, E. G., Teixeira, A. F., & Nascimento, A. L. T. O. (2021). A Review on Host-*Leptospira* Interactions: What We Know and Future Expectations. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 777709.

Desvars, A., Naze, F., Benneveau, A., Cardinale, E., & Michault, A. (2013). Endemicity of leptospirosis in domestic and wild animal species from Reunion Island (Indian Ocean). *Epidemiology and Infection*, 141(6), 1154–1165.

Ehelepola, N. D. B., Ariyaratne, K., & Dissanayake, W. P. (2019). The correlation between local weather and leptospirosis incidence in Kandy district, Sri Lanka from 2006 to 2015. *Global Health Action*, 12(1), 1553283.

Ellis W. A. (2015). Animal leptospirosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 387, 99–137.

Evangelista, K. V., & Coburn, J. (2010). *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiology*, 5(9), 1413–1425.

Fang, F., Collins-Emerson, J. M., Cullum, A., Heuer, C., Wilson, P. R., & Benschop, J. (2015). Shedding and seroprevalence of pathogenic *Leptospira* spp. in sheep and cattle at a New Zealand Abattoir. *Zoonoses and Public Health*, 62(4), 258–268.

Fann, R. J., Vidya, R. R., Chong, H. E., Indralingam, V., & Christopher Chan, W. S. (2020). Clinical presentations and predictors of mortality for leptospirosis - A study from suburban area in Malaysia. *The Medical Journal of Malaysia*, 75(1), 52–56.

Fávero, J. F., de Araújo, H. L., Lilenbaum, W., Machado, G., Tonin, A. A., Baldissera, M. D., Stefani, L. M., & Da Silva, A. S. (2017). Bovine leptospirosis: Prevalence, associated risk factors for infection and their cause-effect relation. *Microbial Pathogenesis*, 107, 149–154.

Felix, C. R., Siedler, B. S., Barbosa, L. N., Timm, G. R., McFadden, J., & McBride, A. J. A. (2020). An overview of human leptospirosis vaccine design and future perspectives. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 15(2), 179–188.

Felt, S. A., Wasfy, M. O., El-Tras, W. F., Samir, A., Rahaman, B. A., Boshra, M., Parker, T. M., Hatem, M. E., El-Bassiouny, A. A., Murray, C. K., & Pimentel, G. (2011). Cross-species surveillance of *Leptospira* in domestic and peri-domestic animals in

Mahalla City, Gharbeya Governorate, Egypt. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 84(3), 420–425.

Fernandes, L. G. V., Stone, N. E., Roe, C. C., Goris, M. G. A., van der Linden, H., Sahl, J. W., Wagner, D. M., & Nally, J. E. (2022). *Leptospira sanjuanensis* sp. nov., a pathogenic species of the genus *Leptospira* isolated from soil in Puerto Rico. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(10), 10.1099/ijsem.0.005560.

Fraga, T. R., Barbosa, A. S., & Isaac, L. (2011). Leptospirosis: aspects of innate immunity, immunopathogenesis and immune evasion from the complement system. *Scandinavian Journal of Immunology*, 73(5), 408–419.

Galan, D. I., Roess, A. A., Pereira, S. V. C., & Schneider, M. C. (2021). Epidemiology of human leptospirosis in urban and rural areas of Brazil, 2000-2015. *PloS One*, 16(3), e0247763.

Glaziou, P. Sampsiz © 2003-2005,
<http://sampsiz.sourceforge.net/iface/index.html>, (01.01.2022).

Guedes, I. B., Araújo, S. A. A., de Souza, G. O., de Souza Silva, S. O., Taniwaki, S. A., Cortez, A., Brandão, P. E., & Heinemann, M. B. (2019). Circulating *Leptospira* species identified in cattle of the Brazilian Amazon. *Acta Tropica*, 191, 212–216.

Guedes, I. B., Souza, G. O., Castro, J. F. P., Cavalini, M. B., Filho, A. F. S., Aizawa, J., Cortez, A., & Heinemann, M. B. (2022). Improvement of the enrichment used in the EMJH medium (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris) for the cultivation of *Leptospira* spp. *Revista Argentina de microbiologia*, 54(2), 95–99.

Guernier, V., Allan, K. J., & Goarant, C. (2018). Advances and challenges in barcoding pathogenic and environmental *Leptospira*. *Parasitology*, 145(5), 595–607.

Guglielmini, J., Bourhy, P., Schiettekatte, O., Zinini, F., Brisse, S., & Picardeau, M. (2019). Genus-wide *Leptospira* core genome multilocus sequence typing for strain taxonomy and global surveillance. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(4), e0007374.

Guzmán Pérez, M., Blanch Sancho, J. J., Segura Luque, J. C., Mateos Rodriguez, F., Martínez Alfaro, E., & Solís García Del Pozo, J. (2021). Current Evidence on the Antimicrobial Treatment and Chemoprophylaxis of Human Leptospirosis: A Meta-Analysis. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(9), 1125.

Haake, D. A., & Levett, P. N. (2015). Leptospirosis in humans. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 387, 65–97.

Haake, D. A., & Zückert, W. R. (2015). The leptospiral outer membrane. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 387, 187–221.

Hamond, C., LeCount, K., Putz, E. J., Bayles, D. O., Camp, P., Goris, M. G. A., van der Linden, H., Stone, N. E., Schlater, L. K., Sahl, J. W., Wagner, D. M., & Nally, J. E. (2022). Bovine Leptospirosis Due to Persistent Renal Carriage of *Leptospira borgpetersenii* Serovar Tarassovi. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 848664.

Harran, E., Abi Rizk, A., Angellos-Pessey, S., Groud, K., Lattard, V., Hilan, C., & Ayral, F. (2023). Molecular and Serological Identification of Pathogenic *Leptospira* in Local and Imported Cattle from Lebanon. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2023.

Hegazy, Y., Elmonir, W., Oreiby, A. F., Eldesoukey, I. E., Fransis, M., & Al-Gaabary, M. H. (2021). Leptospirosis as a neglected burden at human-cattle interface in Mid-Delta of Egypt. *Journal Of Infection in Developing Countries*, 15(5), 704–709.

Hekimoğlu H. (1960). Türkiye'de bugüne kadar tesbit edilen leptospira tipleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(2), 87-97.

Horton, K. C., Wasfy, M., Samaha, H., Abdel-Rahman, B., Safwat, S., Abdel Fadeel, M., Mohareb, E., & Dueger, E. (2014). Serosurvey for zoonotic viral and bacterial

pathogens among slaughtered livestock in Egypt. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* (Larchmont, N.Y.), 14(9), 633–639.

Hu, W., Lin, X., & Yan, J. (2014). *Leptospira* and leptospirosis in China. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 27(5), 432–436.

Ido Y, Hoki R, Ito H, & Wani, H. (1917). The rat as a carrier of *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, the causative agent of weil's disease (spirochaetosis icterohaemorrhagica). *The Journal of Experimental Medicine*, 26(3), 341–353.

İkiz, S. & Özgür, N. (2013). Trakya yöresindeki sığırlarda *Leptospira interrogans* antikorlarının ELISA ve mikroskopik aglutinasyon testi (MAT) ile belirlenmesi ve kesime gönderilen sığırlarda leptospirozis üzerine bakteriyolojik çalışmalar. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 30 (1), 99–111.

Kader, N. A., Hazarika, R. A., Bora, D. P., Das, S., Abedin, S. N., Lahkar, D., & Arif S.A. (2021). A brief review on seroprevalence of bovine leptospirosis in India. *Indian Journal of Animal Health*, 60(2), 160-171.

Karande, S., Satam, N., Kulkarni, M., Bharadwaj, R., & Pol, S. (2005). Leptospiral pneumonia. *Indian Journal of Pediatrics*, 72(1), 86.

Karpagam, K. B., & Ganesh, B. (2020). Leptospirosis: a neglected tropical zoonotic infection of public health importance-an updated review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 39(5), 835–846.

Kayacan, S. M., Vatansever, S., Karadağ, A., Erk, O., Kılıç, L., Bal, H., Akkaya, V., & Güler, K. (2009). A case of leptospirosis presenting with nephrotic syndrome, acute renal failure and thrombocytopenia. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 72, 25-28.

Kocabıyık, A. L. (2002). Sığır Serumlarında Mikroskopik Aglutinasyon Testi (MAT) ve ELISA ile *Leptospira interrogans* serovar hardjo antikorlarının Saptanması.

Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji (Veterinerlik) Ana Bilim Dalı, Bursa: Uludağ Üniversitesi.

Kucerova, P., & Cermakova, Z. (2013). Leptospirosis: a neglected zoonosis of global distribution. *Reviews in Medical Microbiology*, 24(3), 63-69.

Lacerda, H. G., Monteiro, G. R., Oliveira, C. C., Suassuna, F. B., Queiroz, J. W., Barbosa, J. D., Martins, D. R., Reis, M. G., Ko, A. I., & Jeronimo, S. M. (2008). Leptospirosis in a subsistence farming community in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(12), 1233–1238.

Lambert, A., Picardeau, M., Haake, D. A., Sermswan, R. W., Srikram, A., Adler, B., & Murray, G. A. (2012). FlaA proteins in *Leptospira interrogans* are essential for motility and virulence but are not required for formation of the flagellum sheath. *Infection and Immunity*, 80(6), 2019–2025.

Landolt, N. Y., Chiani, Y. T., Pujato, N., Jacob, P., Schmeling, M. F., García Efron, G., & Vanasco, N. B. (2022). Utility evaluation of two molecular methods for *Leptospira* spp. typing in human serum samples. *Heliyon*, 9(2), e12564.

Le Turnier, P., & Epelboin, L. (2019). Mise au point sur la leptospirose [Update on leptospirosis]. *La Revue de Medecine Interne*, 40(5), 306–312.

Lee, H. S., Khong, N. V., Xuan, H. N., Nghia, V. B., Nguyen-Viet, H., & Grace, D. (2017). Sero-prevalence of specific *Leptospira* serovars in fattening pigs from 5 provinces in Vietnam. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 125.

Levett P. N. (2001). Leptospirosis. *Clinical microbiology reviews*, 14(2), 296–326.

Levett, P. N., Branch, S. L., Whittington, C. U., Edwards, C. N., & Paxton, H. (2001). Two methods for rapid serological diagnosis of acute leptospirosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8(2), 349–351.

Llanos Salinas, S. P., Castillo Sánchez, L. O., Castañeda Miranda, G., Rodríguez Reyes, E. A., Ordoñez López, L., Mena Bañuelos, R., Alcaraz Sosa, L. E., Núñez Carrera, M. G., José Manuel, R. O., Carmona Gasca, C. A., Matsunaga, J., Haake, D. A., Candanosa Aranda, I. E., & de la Peña-Moctezuma, A. (2020). GspD, The Type II Secretion System Secretin of *Leptospira*, Protects Hamsters against Lethal Infection with a Virulent *L. interrogans* Isolate. *Vaccines*, 8(4), 759.

Loureiro, A. P., & Lilenbaum, W. (2020). Genital bovine leptospirosis: A new look for an old disease. *Theriogenology*, 141, 41–47.

Makini, G. K., Tagopa-Dudoit, F., Guerrero, A. P., & Hishinuma, E. S. (2020). Native Hawaiian Practices for Leptospirosis Prevention and Risk Mitigation. *Journal of Health Care for The Poor and Underserved*, 31(3), 1323–1330.

Manyullei, S., Amqam, H., & Rahmadanti, S. I. (2021). Identification of *Leptospira* Serovar in Leptospirosis Suspect Serum in Manggala Subdistrict, Makassar City. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9, 407-410.

Mohamad Safiee, A. W., Ali, M. R. M., Fauzi, M. H., Besari, A. M., Yean, C. Y., Neela, V. K., & Ismail, N. (2020). Leptospiral Culture without 5'-Fluorouracil Revealed Improved *Leptospira* Isolation from Febrile Patients in North-Eastern Malaysia. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), 1307.

Mohd Radi, M. F., Hashim, J. H., Jaafar, M. H., Hod, R., Ahmad, N., Mohammed Nawi, A., Baloch, G. M., Ismail, R., & Farakhin Ayub, N. I. (2018). Leptospirosis Outbreak After the 2014 Major Flooding Event in Kelantan, Malaysia: A Spatial-Temporal Analysis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 98(5), 1281–1295.

Na, Y. S., Kim, H. L., Kim, C. M., Yun, N. R., & Kim, D. M. (2020). Usefulness of Nested Polymerase Chain Reaction with Clinical Specimens for Diagnosis of

Leptospirosis: a Case Series and a Review of Literature. *Journal of Korean Medical Science*, 35(36), e301.

Nagraik, R., Kaushal, A., Gupta, S., & Kumar, D. (2020). PCR based genetic marker for the detection of *Leptospira interrogans* causing leptospirosis. *Vegetos*, 33, 21–25.

Natarajaseenivasan, K., Vijayachari, P., Sugunan, A. P., Sharma, S., & Sehgal, S. C. (2004). Leptospiral proteins expressed during acute & convalescent phases of human leptospirosis. *The Indian Journal of Medical Research*, 120(3), 151–159.

Orjuela, A. G., Parra-Arango, J. L., & Sarmiento-Rubiano, L. A. (2022). Bovine leptospirosis: effects on reproduction and an approach to research in Colombia. *Tropical Animal Health and Production*, 54(5), 251.

Otaka, D. Y., Martins, G., Hamond, C., Penna, B., Medeiros, M. A., & Lilenbaum, W. (2012). Serology and PCR for bovine leptospirosis: herd and individual approaches. *Veterinary Record-English Edition*, 170(13), 338.

Oyamada, Y., Ozuru, R., Masuzawa, T., Miyahara, S., Nikaido, Y., Obata, F., Saito, M., Villanueva, S. Y. A. M., & Fujii, J. (2021). A machine learning model of microscopic agglutination test for diagnosis of leptospirosis. *PloS One*, 16(11), e0259907.

Philip, N., Affendy, N. B., Masri, S. N., Yuhana, M. Y., Than, L. T. L., Sekawi, Z., & Neela, V. K. (2020). Combined PCR and MAT improves the early diagnosis of the biphasic illness leptospirosis. *PloS One*, 15(9), e0239069.

Picardeau M. (2013). Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 43(1), 1–9.

Piredda, I., Ponti, M. N., Piras, A., Palmas, B., Pintore, P., Pedditzi, A., & Chisu, V. (2021). New Insights on *Leptospira* Infections in a Canine Population from North Sardinia, Italy: A Sero-Epidemiological Study. *Biology*, 10(6), 507.

Podgoršek, D., Ružić-Sabljić, E., Logar, M., Pavlović, A., Remec, T., Baklan, Z., Pal, E., & Cerar, T. (2020). Evaluation of real-time PCR targeting the lipL32 gene for diagnosis of *Leptospira* infection. *BMC Microbiology*, 20(1), 59.

Puca, E., Pipero, P., Harxhi, A., Abazaj, E., Gega, A., Puca, E., & Akshija, I. (2018). The role of gender in the prevalence of human leptospirosis in Albania. *Journal of Infection in Developing Countries*, 12(3), 150–155.

Putz, E. J., Bayles, D. O., Alt, D. P., & Nally, J. E. (2022). Complete Genome Sequence of Four Strains of *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo isolated from Cattle in the Central United States. *Journal of Genomics*, 10, 45–48.

Pyskun, A., Ukhovskyi, V., Pyskun, O., Nedosekov, V., Kovalenko, V., Nychyk, S., Sytiuk, M., & Iwaniak, W. (2019). Presence of Antibodies Against *Leptospira interrogans* Serovar hardjo in Serum Samples from Cattle in Ukraine. *Polish Journal of Microbiology*, 68(3), 295–302.

Rajala, E. L., Sattarov, N., Boqvist, S., & Magnusson, U. (2017). Bovine leptospirosis in urban and peri-urban dairy farming in low-income countries: a "One Health" issue?. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 59(1), 83.

Rajapakse S. (2022). Leptospirosis: clinical aspects. *Clinical Medicine (London, England)*, 22(1), 14–17.

Rathinam S. R. (2002). Ocular leptospirosis. *Current Opinion In Ophthalmology*, 13(6), 381–386.

Sabri Abdul Rahman, M., Khairani Bejo, S., Zakaria, Z., Hassan, L., & Azri Roslan, M. (2020). Seroprevalence and Distribution of Leptospiral Serovars in Livestock (cattle, Goats, and Sheep) in Flood-prone Kelantan, Malaysia. *Journal of Veterinary Research*, 65(1), 53–58.

Saengjaruk, P., Chaicumpa, W., Watt, G., Bunyaraksyotin, G., Wuthiekanun, V., Tapchaisri, P., Sittinont, C., Panaphut, T., Tomanakan, K., Sakolvaree, Y., Chongsanguan, M., Mahakunkijcharoen, Y., Kalambaheti, T., Naigowit, P., Wambangco, M. A., Kurazono, H., & Hayashi, H. (2002). Diagnosis of human leptospirosis by monoclonal antibody-based antigen detection in urine. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(2), 480–489.

Safiullah, S. A., Abu Saleh, A., & Munwar, S. (2009). Laboratory Methods for Diagnosing Leptospirosis: A Review. *Bangladesh Journal of Medical Microbiology*, 03(01), 39-43.

Saglam, Y. S., Yener, Z., Temur, A., & Yalcin, E. (2008). Immunohistochemical detection of leptospiral antigens in cases of naturally occurring abortions in sheep. *Small Ruminant Research*, 74(1-3), 119–122.

Salgado, M., Otto, B., Moroni, M., Sandoval, E., Reinhardt, G., Boqvist, S., Encina, C., & Muñoz-Zanzi, C. (2015). Isolation of *Leptospira interrogans* serovar Hardjoprajitno from a calf with clinical leptospirosis in Chile. *BMC Veterinary Research*, 11, 66.

Samrot, A. V., Sean, T. C., Bhavya, K. S., Sahithya, C. S., Chan-Drasekaran, S., Palanisamy, R., Robinson, E. R., Subbiah, S. K., & Mok, P. L. (2021). Leptospiral Infection, Pathogenesis and Its Diagnosis-A Review. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(2), 145.

Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database: *The Journal of Biological Databases and Curation*, 2020, baaa062.

Schuller, S., Francey, T., Hartmann, K., Hugonnard, M., Kohn, B., Nally, J. E., & Sykes, J. (2015). European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *The Journal of Small Animal Practice*, 56(3), 159–179.

Scialfa, E., Rivero, M., Moreno, S., Ortiz, M., & Bongiorno, F. (2020). Microscopic agglutination test: Variables that affect the time of serological confirmation of human leptospirosis cases. *Revista Argentina de Microbiologia*, 52(4), 278–282.

Sellman, J., & Bender, J. (2002). Zoonotic infections in travelers to the tropics. *Primary Care*, 29(4), 907–929.

Shukla, S., Mittal, V., Singh, P., & Singh, A. (2021). Evaluation of TaqMan based real-time PCR assay targeting LipL32 gene for leptospirosis in serologically positive human urine samples from north India. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 39(1), 11–14.

Soo, Z. M. P., Khan, N. A., & Siddiqui, R. (2020). Leptospirosis: Increasing importance in developing countries. *Acta Tropica*, 201, 105183.

Sugunan, A. P. (2007). Epidemiology of Leptospirosis. In: *Leptospirosis, Laboratory Manual*. World Health Organization. Country Office for India, New Delhi, 2007, p: 13-21.

Takahashi, M. B., Teixeira, A. F., & Nascimento, A. (2021). The leptospiral LipL21 and LipL41 proteins exhibit a broad spectrum of interactions with host cell components. *Virulence*, 12(1), 2798–2813.

Temur, A., & Sağlam, Y. S. (2003). Immunoperoxidase studies on leptospirosis in bovine abortion. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 27(4), 917–921.

Thayaparan, S., Robertson, I. D., Fairuz, A., Suut, L., & Abdullah, M. T. (2013). Leptospirosis, an emerging zoonotic disease in Malaysia. *The Malaysian Journal of Pathology*, 35(2), 123–132.

Thibeaux, R., Girault, D., Bierque, E., Soupé-Gilbert, M. E., Rettinger, A., Douyère, A., Meyer, M., Iraola, G., Picardeau, M., & Goarant, C. (2018). Biodiversity of Environmental *Leptospira*: Improving Identification and Revisiting the Diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, 9, 816.

Toyokawa, T., Ohnishi, M., & Koizumi, N. (2011). Diagnosis of acute leptospirosis. Expert review of anti-infective therapy, 9(1), 111–121.

Turhan, V., Hatipoğlu, M. (2012). Leptospiroz: “Yeni fark edilen eski bir enfeksiyon hastalığı” *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 29, S163-S168.

Turhan, V., Polat, E., Murat Atasoyu, E., Ozmen, N., Kucukardali, Y., & Cavuslu, S. (2006). Leptospirosis in Istanbul, Turkey: a wide spectrum in clinical course and complications. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 38(10), 845–852.

Türker, F. & Tuzcu, M. (2021). Mezbahada Kesime Sevk Edilen İkteruslu Sığırlarda Leptospirozun Varlığı ve Patolojik Bulguların Değerlendirilmesi. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 11 (2), 164–171.

Umei, N., & Ichiba, S. (2017). A Case of Leptospirosis-Associated Severe Pulmonary Hemorrhagic Syndrome Successfully Treated with Venovenous Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Case Reports in Critical Care*, 2017, 5369267.

Ünal Ç. (2004). Erzurum’un hayvancılık potansiyeli. *Doğu Coğrafya Dergisi*, 9(12), 257-274.

Urbanskas, E., Karveliëne, B., & Radzijeuskaja, J. (2022). Leptospirosis: classification, epidemiology, and methods of detection. A review. *Biologija*. 68(2), 129–136.

Vanithamani, S., Akino Mercy, C. S., Kanagavel, M., Sumaiya, K., Bothammal, P., Saranya, P., Prasad, M., Ponmurugan, K., Muralitharan, G., Al-Dhabi, N. A., Verma, A., Vijayachari, P., & Natarajaseenivasan, K. (2021). Biochemical analysis of leptospiral

LPS explained the difference between pathogenic and non-pathogenic serogroups. *Microbial Pathogenesis*, 152, 104738.

Vincent, A. T., Schiettekatte, O., Goarant, C., Neela, V. K., Bernet, E., Thibeaux, R., Ismail, N., Mohd Khalid, M. K. N., Amran, F., Masuzawa, T., Nakao, R., Amara Korba, A., Bourhy, P., Veyrier, F. J., & Picardeau, M. (2019). Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(5), e0007270.

Vlasova, A. N., & Saif, L. J. (2021). Bovine Immunology: Implications for Dairy Cattle. *Frontiers in Immunology*, 12, 643206.

Wilkinson, D. A., Edwards, M., Benschop, J., & Nisa, S. (2021). Identification of pathogenic *Leptospira* species and serovars in New Zealand using metabarcoding. *PloS One*, 16(9), e0257971.

Wu, Q., Prager, K. C., Goldstein, T., Alt, D. P., Galloway, R. L., Zuerner, R. L., Lloyd-Smith, J. O., & Schwacke, L. (2014). Development of a real-time PCR for the detection of pathogenic *Leptospira* spp. in California sea lions. *Diseases of Aquatic Organisms*, 110(3), 165–172.

Yaakob, Y., Rodrigues, K. F., Opook, F., William, T., & John, D. V. (2017). Recombinant LipL32 Protein Developed Using a Synthetic Gene Detects *Leptospira*-specific Antibodies in Human Serum Samples. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: MJMS*, 24(5), 44–51.

Yang C. W. (2018). Leptospirosis Renal Disease: Emerging Culprit of Chronic Kidney Disease Unknown Etiology. *Nephron*, 138(2), 129–136.

Yesilmen, S., Arserim, N. B., Isik, N., & Icen, H. (2012). Determination of prevalence of pathogenic *leptospira* spp. By Real-Time PCR in cattle in Diyarbakir. *YYU Veteriner Fakultesi Dergisi*, 23(3), 137–139

Yılmaz, Ö., Çelebi, G., Atabek, E., Köktürk, F., Atakent, Ş. D., Pişkin, N., & Aydemir, H. (2019). Zonguldak Bölgesinde kömür madeni işçilerinde leptospiroz seroprevalansı. *Klimik Dergisi*, 32(2), 174-177.

Yücel Koçak, S., Kudu, A., Kayalar, A., Yılmaz, M., & Apaydin, S. (2018). Leptospirosis With Acute Renal Failure and Vasculitis: A Case Report. *Archives of Rheumatology*, 34(2), 229–232.

Zhao, X., Guo, J., Jia, X., Yang, Y., Liu, L., Nie, W., & Fang, Z. (2022). Internalization of *Leptospira interrogans* via diverse endocytosis mechanisms in human macrophages and vascular endothelial cells. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 16(9), e0010778.

EKLER

EK-1. ETİK BİLDİRİM ve İNTİHAL BEYAN FORMU

	SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Graduate School of Health Sciences	
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU'		
Öğrencinin Adı ve Soyadı	Perihan Bağatur Şerifoğlu	
Öğrencinin Numarası		
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Mikrobiyoloji	
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora	
Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.		
Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 0	% 15
II. Genel Bilgiler	% 3	% 35
III. Materyal ve Metod	% 21	% 35
IV. Bulgular	% 5	% 15
V. Tartışma	% 2	% 20
<i>Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.</i>		
Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı	

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/490
Konu : Etik Kurul Kararı

05.11.2020

Sayın:Prof. Dr. Osman AKTAŞ
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz
"Sığırlarda ve Risk Grubundaki İnsanlarda Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle
Leptospira Enfeksiyonlarının Araştırılması" isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul
Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Prof. Dr. Osman AKTAŞ
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		Sığırlarda ve Risk Grubundaki İnsanlarda Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Leptospira Enfeksiyonlarının Araştırılması
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 09 Karar No: 59	Tarih: 05.11.2020
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

EK-3. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL ONAY FORMU

T.C.
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI
Erzurum Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

ERZURUM

Sayı : 13067196/56

Konu: KASIM Ayı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Toplantı Karar Tutanağı

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 09.11.2020 tarihinde toplanmış olup, aşağıda belirtilen kararlar alınmıştır.

1-Veteriner Hekim Perihan ŞERİFOĞLU BAĞATIR'ın yürütücüsü olduğu " Sığırlarda ve Risk grubundaki İnsanlarda Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Leptospira Enfeksiyonlarının Araştırılması" isimli Doktora tez projesi ; Erzurum Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 09.11.2020 tarih ve 56 sayılı yazısı ile görüşülmüş olup; Projede yer alan Sığırlardan kan alınması ve mezbahadan alınacak nekropsi materyali ile yapılacak çalışmaların Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi Madde 6 (k) bendi gereği , HADYEK iznine tabi olmadığına Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.