

SU KAYNAKLI KÜÇÜK BİR TULAREMİ SALGINI**A SMALL WATER-BORNE TULAREMIA OUTBREAK****Meliha MERİÇ¹, Murat SAYAN², Ayşe WILLKE¹, Suna GEDİKOĞLU³**

ÖZET: Bu çalışmada 22 Ocak – 8 Mart 2005 tarihleri arasında Kocaeli ili, Karamürsel ilçesi Pazarköy köyünde saptanan küçük bir tularemi salgının incelenmesi ve alınan kontrol önlemlerinin sunulması amaçlanmıştır. Aynı köyden gelen iki hastaya orofarınjyal tularemi tanısı konulmasının ardından, o bölgede saha taraması yapılmış, hastalar muayene edilmiş, hastalardan ve salgının kaynağı olabileceği düşünülen pınar sularından örnekler alınmıştır. Boğaz sürüntüsü, lenf nodu aspiratları ve filtre edilen su örneklerinden kültür yapılmış, hastaların serum örneklerinde mikroaglutinasyon (MA) testi ile *Francisella tularensis* antikorları taranmıştır. Filtre edilmiş su örneklerinde gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile *F.tularensis* DNA'sı araştırılmıştır. Klinik özellikleri ve MA test sonuçlarına ($\geq 1/80$) dayanarak toplam 17 hastaya tularemi tanısı konulmuş; hastaların 16'sı orofarınjyal, biri ülseroglandüler tularemi olarak tanımlanmıştır. Hastaların yaşları 27-80 yıl arasında değişmekte olup (ortalama yaş: 48 ± 17 yıl), 10'u (%59) kadındır. En yaygın saptanan semptomlar halsizlik (%100), boyunda şişlik (%94) ve boğaz ağrısı (%88), en sık belirlenen klinik bulgu ise servikal lenfadenopati (%94) olmuştur. Yapılan kültürlerin hiçbirisinde *F.tularensis* üretilmemiş, buna karşın pınar sularından alınan örneklerde gerçek zamanlı PCR ile *F.tularensis* DNA'sı gösterilmiştir. Hastalar streptomisin, doksisisiklin ya da siprofloksasin ile tedavi edilmiş ve tümünde iyileşme saptanmıştır. Pınar sularının toplandığı deponun temizlenmesi ve suların klorlanması ile salgın kontrol altına alınmıştır.

Anahtar sözcükler: Francisella tularensis, tularemi, salgın, real-time PCR.

ABSTRACT: The aim of this study was to investigate a small tularemia outbreak in a village of Karamürsel county of Kocaeli province (located in North-west part of Turkey), between 22 January – 8 March 2005 and to present the anti-epidemic measures implemented. Following diagnosis of oropharyngeal tularemia in two patients living in the same village, a field investigation was performed at this region. All patients have undergone physical examination. Blood samples and if possible throat swabs and lymph node aspirates were taken from the patients and water samples from the natural spring water suspected to be the source of the infection, were also taken. Cultures were performed from the clinical samples and filtrated water samples. *Francisella tularensis* antibodies were screened by microagglutination (MA) test in the serum samples of the patients. *F.tularensis* DNA was investigated in the filtrated water samples by real-time PCR assay. A total of 17 patients were diagnosed as tularemia with

¹ Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Kocaeli.

² Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Merkez Laboratuvarı, PCR Ünitesi, Kocaeli. (drmelihameri@gmail.com)

³ Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

their clinical features and MA test results ($\geq 1/80$). All the patients had oropharyngeal tularemia except one who had ulceroglandular form. The age range of the patients was 27-80 years (mean age: 48 ± 17 years), and 10 (59%) were female. Weakness (100%), swelling on the neck (94%) and sore throat (88%) were the most common symptoms, whereas cervical lymphadenopathy (94%) was the most frequently seen clinical finding. *F.tularensis* could not be grown in the cultures, however *F.tularensis* DNA was detected in the samples of the natural spring water by real time PCR. The patients were treated with streptomycin, ciprofloxacin, or doxycycline, and all the patients have recovered. The outbreak was taken under control after cleaning the spring water tank and chlorination of the water.

Key words: Francisella tularensis, tularemia, salgın, real-time PCR.

GİRİŞ

Tularemia, esas olarak başta kemiriciler olmak üzere hayvanların bir patojeni olan ancak bazen de insanlara bulaşarak değişik klinik tablolara yol açan *Francisella tularensis*'in etken olduğu zoonotik bir hastalıktır¹⁻⁴. Kuzey yarımküredeki çeşitli ülkelerde görülen ve ortaya çıktığı ülkelerde değişik isimlerle anılan tularemia, ülkemizde son yıllarda pınar suları ile ilişkilendirilen salgınlara yol açması, dünya genelinde ise biyolojik silah olma özelliği ile güncelleştirilmiştir²⁻⁸. Bakterinin giriş yolu, türü ve kişinin immün durumuna göre değişik klinik şekillerde seyreden tularemia hastalığının dünyada en sık görülen formu ülseroglandüler form olmakla birlikte, ülkemizde kontamine sularla ilişkilendirilen olgular genellikle orofarinjiyal formda görülmektedir^{1,2}. Bu çalışmada Kocaeli'nin Gölcük bölgesinde görülen yaklaşık 188 kişiyi kapsayan orofarinjiyal tularemia salgını⁹ ile hemen hemen aynı zamanda diliminde Karamürsel'in Pazarköy köyünde saptanan 17 olguyu kapsayan küçük bir tularemia salgınına ait veriler ve salgının kontrol çalışmaları sunulmuştur. Bu salgında bulaş kaynağı olduğu düşünülen su örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile *F.tularensis* DNA'sının saptanması, salgın kaynağının pınar sularının olduğunu doğrulaması açısından önem taşımaktadır.

GEREÇ ve YÖNTEM

İndeks olgular: 2005 yılı Mart ayının ilk haftasında aynı köyde yaşayan, ateş, boğaz ağrısı ve boyunda şişlik şikayeti olan ve iki haftalık beta-laktam antibiyotik tedavisi ile semptomları gerilemeyen iki hasta Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'ne başvurdu. Fizik muayenelerinde eksudatif tonsillit ve servikal lenfadenopati (LAP) saptanan hastalardan alınan boğaz kültürlerinde normal flora bakterileri üredi. Epstein-Barr virus, sitomegalovirus, *Toxoplasma* antikörleri ve ASO sonucu negatif olan iki hastanın da serum örneklerinde *F.tularensis* antijeni kullanılarak yapılan mikroaglutinasyon (MA) testi pozitif ($> 1/160$) bulundu.

Salgın incelemesi: İndeks olgulara orofarinjiyal tularemia tanısı konulduktan sonra aynı köyde benzer semptomlara sahip hastaların bulunduğu öğrenilmesi üzerine İl Sağlık Müdürlüğü ile temasa geçilerek bir saha taraması planlandı. Aynı hafta içerisinde enfeksiyon hastalıkları hekiminin de içinde

bulunduğu bir ekip oluşturuldu ve tularemi hastalarının tespit edildiği bölgeye gidildi. Bu bölgedeki sağlık kuruluşları ziyaret edilerek boğaz ağrısı, ateş ve/veya boyunda şişlik semptomları ile başvuran hasta kayıtları incelendi. Hastaların yaşadığı köye gidilerek hastalar ziyaret edildi. Muayeneleri yapılan hastalara olası bulaş yollarını sorgulayan anket formları dolduruldu. Kliniği tularemi ile uyumlu olan olgulardan kan örneği, uygun olgulardan ise boğaz sürüntüsü ve lenf nodu aspirasyon materyalleri alındı. Salgına sebep olabilecek çevresel faktörler incelendi. Şebeke suyu olarak pınar suyunun kullanıldığı ve şebekeye verilmeden önce bir depoda toplandığı öğrenildi. Ana su deposundan ve şebekeden PCR incelemesi ve kültür için 5'er litrelik su örnekleri alındı. Ayrıca su kaynaklarından mikrobiyolojik inceleme yapmak üzere steril koşullarda 500 cc'lik şişelere su örnekleri alınarak İl Sağlık Müdürlüğü bünyesinde bulunan Halk Sağlığı Laboratuvarı'na gönderildi.

Salgın kontrol önlemleri: Pınar suyunun biriktirildiği depo boşaltılıp temizlendi. Deponun onarılması ve suyun şebekeye verilmeden önce düzenli aralıklarla klorlanması sağlandı. Salgın bölgesinde yaşayan halk ve sağlık çalışanları tularemi hastalığı hakkında bilgilendirildi.

Hasta tanımları: Muhtemel olgu; "salgın bölgesinde oturan bir hastada; membranöz tonsillofarenjit ve/veya servikal LAP varlığı ya da ciltte ülsere lezyon ve/veya LAP saptanması, ve bu semptomların beta-laktam veya makrolid grubu antibiyotik tedavisine yanıtız olup *F.tularensis*'e etkili olan bir antibiyotik ile iyileşmesi" olarak, kesin olgu ise "muhtemel olgu kriterlerine uyan hastanın MA test sonucunun $\geq 1/80$ titrede pozitif olması" olarak kabul edildi.

Tedavi: Parenteral tedaviyi kabul eden hastalara 10 gün süreyle streptomisin (2x1gr) tedavisi uygulandı. Diğer hastalara ise doksisisiklin (2x100 mg oral) ya da siprofloksasin (2x500 mg oral) tedavisi başlandı ve tedavi 14 güne tamamlandı.

Mikroaglütinasyon (MA) testi: Hastaların MA testleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yapıldı. MA testi için daha önce bir tularemi salgınında Gedikoğlu ve arkadaşları⁹ tarafından izole edilmiş olan *F.tularensis* subsp. *holarctica* suşundan hazırlanan antijen kullanıldı.

Su örneklerinin kültür ve PCR için hazırlanması: Salgın kaynağı olabileceği düşünülerek alınan 5'er litrelik su örneklerinin tamamı bekletilmeden İl Sağlık Müdürlüğü'ne bağlı Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda 0.45 µm çapındaki filtrelerden (GN-6 Metricel Grid, Pall Corp.,USA) geçirildi. Filtreler steril petri kaplarına alınıp üzerine birer ml steril distile su eklendi. Petrilere toplanan örnekler 10 dk. 7500 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen dip çökeltisinden yine bekletilmeden kültür ve DNA ekstraksiyonu yapıldı.

Kültür: Hastalardan alınan klinik örnekler ve hazırlanan su örnekleri %2.5 oranında insan kanı içeren, antibiyotik içermeyen "cystein heart agar"a (SALIBRUS, İstanbul) ekildi. Bir gece 37°C'de inkübe edilen kültürlerdeki üremeler koloni morfolojileri ve Gram boyanma özellikleri ile incelendi.

PCR metodu: Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan su örneklerinden bakteri DNA'sı, QIAamp DNA mini kit® (QIAGEN, Hilden, Germany) kullanılarak ekstrakte edildi ve çalılıncaya kadar -20 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

F.tularensis'in hedef gen dizileri gerçek zamanlı PCR (iCycler IQ, v 3.0a - Bio Rad® Laboratories, Hercules CA, USA) tekniği kullanılarak arandı. Bu amaçla *F.tularensis*'in ISFtu2, 23kDa ve tul4' bölgelerine karşı "forward" ve "reverse" primerler dizayn edildi (İntek A.Ş. İstanbul) (Tablo I)¹⁰. PCR reaksiyonları, iTaq DNA polimeraz içerikli SYBR Green I supermix (Bio Rad® Laboratories) ile 25 µl final hacimde gerçekleştirildi. PCR reaksiyon koşulları; 50°C'de 2 dk., 95°C'de 8 dk., 45 siklus boyunca 95°C'de 15 sn ve 60°C'de 1 dk., finalde 45°C'de 5 dk. olarak belirlendi. Primerler 5 µM konsantrasyonda kullanıldı¹⁰. Tüm PCR test koşulları, her aşamada negatif kontrol olarak PCR saflığında steril distile su ve pozitif kontrol olarak da formalin fiksasyonlu *F.tularensis* subsp. *holarctica* kullanılarak denetlendi. Pozitif kontrol, erime ısı (Tm) analizinde ISFtu2 primeri ile 77°C±1, 23kDa primeri ile 80°C±1 ve tul4 primeri ile 74.5°C±1 olarak tanımlandı. ISFtu2, 23kDa ve tul4 pozitif saptanan örnekler *F.tularensis* yönünden pozitif olarak kabul edildi.

Tablo I. Gerçek Zamanlı PCR'da Kullanılan *F.tularensis* Primerleri

Hedef gen	Primer	Dizi (5'→3')	Ürün büyüklüğü (bp)
ISFtu2	ISFtu2 F ISFtu2 R	TTGGTAGATCAGTTGGTGGGATAAC TGAGTTTTACCTTCTGACAACAATATTTTC	97
23kDa	23kDa F 23kDa R	TGAGATGATAACAAGACAACAGGTAACA GGATGAGATCCTATACATGCAGTAGG	84
Tul4	Tul4 F Tul4 R	ATTACAATGGCAGGCTCCAGA TGCCCAAGTTTTATCGTTCTTCT	91

F: forward primer; R: reverse primer.

BULGULAR

Kocaeli ili, Karamürsel ilçesi Pazarköy Köyü'nde görülen tularemi salgınında 17 olgu saptanmış, olguların 16'sına orofarınjyal tularemi, 1'ine ise ülsiroglandüler tularemi tanısı konulmuştur. Olgu tanımlarına göre bu hastalardan 13'ü kesin, 4'ü muhtemel tularemi olgularıdır. Salgın 22 Ocak 2005 ile 8 Mart 2005 arasındaki dönemde görülmüştür.

Hastaların 10'u kadın, 7'si erkek olup yaşları 27-80 yıl arasında (ortalama yaş: 48±17 yıl) değişmektedir. Meslek grupları incelendiğinde kadın hastaların tümünün ev hanımı, erkek hastaların ise büyük çoğunluğunun emekli olduğu gözlenmiştir (Tablo II). Hastaların semptomlarının başlangıcı ile tularemi tanısı arasında geçen süre (gecikme süresi) 5-42 gün arasında değişmektedir (ortalama 19±11 gün). Hastaların anamnezlerinden, büyük çoğunluğunun (%94) daha önce penisilin ve sefalosporin grubu antibiyotiklerden en az birini kullandığı ve fayda görmediği tespit edilmiştir.

Hastaların semptom ve bulgularının dağılımı Tablo III'de görülmektedir. En sık gözlenen semptom halsizlik iken en sık tespit edilen fizik muayene bulgusu servikal LAP'dir. Servikal LAP'lerin hepsinin tek taraflı olduğu gözlenmiştir

Tablo II. Tularemi Hastalarının Özellikleri, Tedavinin Gecikme Süresi ve Laboratuvar Sonuçları

Hasta No.	Yaş/Cins	Meslek	Tedavinin gecikme süresi*	MA titresi	Kültür sonuçları
1	28/K	Ev hanımı	30	1/320	Y**
2	36/K	Ev hanımı	3	0	Negatif (boğaz)
3	38/K	Ev hanımı	5	0	Negatif (boğaz)
4	41/K	Ev hanımı	13	1/80	Y
5	70/K	Ev hanımı	32	1/160	Negatif (lenf nodu)
6	46/K	Ev hanımı	26	1/160	Y
7	72/E	Emekli	42	1/320	Y
8***	52/K	Ev hanımı	48	1/320	Negatif (lenf nodu)
9	27/E	Garson	15	1/80	Y
10	80/K	Ev hanımı	18	1/160	Y
11	56/E	Emekli	12	1/80	Y
12	56/K	Ev hanımı	28	1/320	Y
13	28/E	Marangoz	40	1/80	Y
14	61/E	Emekli	21	1/320	Y
15	27/E	Marangoz	6	1/40	Negatif (boğaz)
16	50/K	Ev hanımı	14	1/160	Y
17	61/E	Emekli	12	1/40	Y

*Semptomların başlangıcı ile tularemi tedavisi arasında geçen süre.

**Yapılmadı.

***Ülseroglandüler formun tespit edildiği hasta.

Tablo III. Tularemi Hastalarının Semptom ve Bulguları (n=17)

	Hasta sayısı
Semptomlar	
Halsizlik	17
Boyunda şişlik	16
Boğaz ağrısı	15
Ateş	15
Öksürük	2
Döküntü	2
İshal	1
Kasıkta şişlik	1
Bacakta yara	1
Bulgular	
Servikal lenfadenopati	16
İnguinal lenfadenopati	1
Tonsillofarenjit	11
Ciltte ülsere lezyon	1
Eritema multiforme	2

(Şekil 1). Hastaların birinde bacağıın iç kısmında ülser lezyon ve inguinal bölgede süpüre LAP saptanmış, ayrıca hastaların ikisinde eritema multiforme benzeri deri döküntüleri gözlenmiştir.

Tularemi hastalarının MA titreleri 0-1/320 arasında değişmekte olup, MA titreleri Tablo II'de verilmiştir. Hastalardan alınan üç boğaz sürüntüsü ve iki lenf nodu aspirasyonu örneğinin kültürlerinde *F.tularensis* üretilenmiştir (Tablo II).

Tularemi salgını sırasında saptanan 17 hastanın 4'üne streptomisin, 5'ine doksisisiklin, 5'ine siprofloksasin tedavisi başlanırken, 3 hastanın daha önce başka bir hekim tarafından başlanmış olan streptomisin+doksisisiklin tedavisine devam edilmiştir. Hastalarında ölüm olmamıştır. Üç haftadan uzun süreli LAP'si olan 7 hastadan 2'sinin tedaviye başlanmadan önce, 3'ünün de tedavinin ilk haftasında lenf nodlarının süpüre olduğu gözlenmiş, diğer hastaların semptomları tularemi tedavisi ile tamamen gerilemiştir.

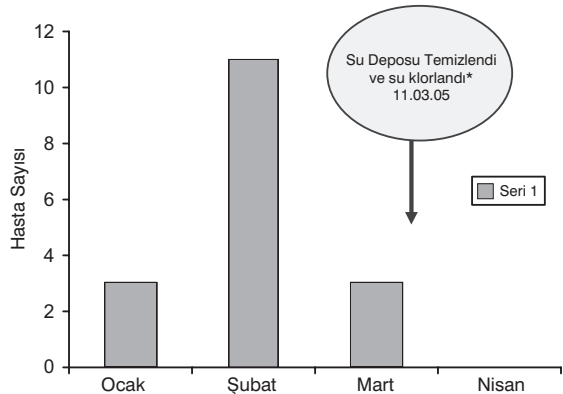
Tularemi salgınından etkilenen ilk olgunun 22 Ocak 2005, son olgunun ise 8 Mart 2005 tarihinde hastalandığı ve hastaların Şubat ayında pik yaptığı tespit edilmiştir (Şekil 2). Salgın kontrol önlemleri sonrasında bu bölgede başka tularemi olgusu saptanmamıştır.



Şekil 1. Orofarinjiyal tularemi hastasında tek taraflı lenfadenopati.

Şekil 2. Tularemi salgınından etkilenen hastaların aylara göre dağılımları.

* İlk olgu 22 Ocak 2005, son olgu 08 Mart 2005 tarihinde hastalanmış, su deposu temizlenip klorlandıktan sonra bu salgın bölgesinde yeni tularemi hastası gözlenmemiştir.



Tularemi salgınının yaşandığı köy, ilçe merkezine 3 km uzaklıkta dağlık arazide bulunan 362 nüfuslu bir yerleşim alanıdır. Hastaların bulaş kaynağını sorgulayan anket sorularına verdikleri cevaplar incelendiğinde, hastaların tümünün içme suyu olarak şebeke suyunu kullandıkları öğrenilmiştir (Tablo IV). Yapılan araştırmada şebeke suyunun pınar sularından geldiği, kaynağından çıktıktan sonra 1 km doğuda serbest ilerleyip daha sonra borularla bir depoda toplandığı gözlenmiştir. Deponun tavanında içerisine kemiricilerin girmesine izin verecek boyutlarda deliklerin olduğu ve deponun uzun zamandır temizlenmediği, suyun klorlanmasının da düzenli olarak yapılmadığı öğrenilmiştir. Suyun biriktirildiği depodan ve şebekeden alınan su örneklerinin koliform basille yüksek düzeyde kontamine olduğu tespit edilmiştir (depo ve şebeke suyundaki koliform basil sayısı sırasıyla; 200/100 ml ve 45/100 ml). Filtre edilen su örneklerinde gerçek zamanlı PCR ile *F.tularensis* DNA'sı gösterilmiş, ancak filtre edilen su örneklerinin kültürlerinde *F.tularensis* üretilmemiştir.

Tablo IV. Tularemi Hastalarının Bulaş Yolunu Sorgulayan Anket Sonuçları

Risk faktörleri	Hasta sayısı
Şebeke suyu içme	17
Av hayvanı yeme	–
Av hayvanı ile temas	–
Kemirici hayvanlarla temas	–
Kemirici hayvan atıkları ile temas	10
Yüzme	–
Böcek ısırığı	–
Çevreden yiyecek yeme	8
Doğada uğraş	11
Evde hayvan besleme	–
Bahçede hayvan besleme	11

TARTIŞMA

Tularemi, etkenin vücuda giriş bölgesine göre farklı klinik formlarla ortaya çıkabilmektedir¹. Ülkemizde 1936 yılından günümüze kadar birçok tularemi salgını gözlenmiştir. Bu salgınlarda orofarınjyal tularemi formu en baskın form olarak gözlenmiş olup salgınlar kontamine pınar suları ile ilişkilendirilmiştir^{5-9,11-15}. Bu çalışmada 22 Ocak-8 Mart 2005 tarihleri arasında Kocaeli'nin Karamürsel ilçesine bağlı bir köyde yaşanan, *F.tularensis* ile kontamine pınar suyundan kaynaklandığı gösterilen ve ülkemizdeki diğer salgınlar gibi orofarınjyal hastaların çoğunlukta olduğu bir tularemi salgını sunulmuştur.

Ülkemizde saptanan tularemi salgınları karakteristik olarak yağışlı bir sonbahar mevsimini takip eden aylarda gözlenmiştir^{5-9,11-15}. Benzer bir şekilde bu salgın da yağışlı bir dönemi takip eden aylarda patlak vermiştir. Türkiye'de gözlenen tüm salgınların benzer özellikte olması, bu salgınlara sebep olan su kaynaklarının yağışlar sırasında kontamine olmuş olabileceğini düşündürmektedir.

F.tularensis, patojenitesi oldukça yüksek bir bakteri olup, 10 bakteri bile hastalığın oluşmasına sebep olabilmektedir²⁻³. Bu nedenle az miktarda bile olsa *F.tularensis* ile kontamine olan su kaynağı salgınlara yol açabilir. Su kaynaklı tularemi salgınlarında etkeni suda göstermek amacıyla incelenen suyun miktarı ve etkeni çoğaltmak için kullanılan teknikler etkenin izolasyonunda bu nedenle önem taşımaktadır. Kocaeli'nin Gölcük bölgesinde 2004 yılı sonlarında patlak veren orofarinjiyal tularemi salgınında, salgın kaynağı olabileceği düşünülen su örnekleri santrifüj edilerek konsantre edilmiş ve bu çalışmadaki ile aynı yöntem (gerçek zamanlı PCR) kullanılmasına rağmen, etken suda gösterilememiştir⁸. Gölcük salgınına takiben yaşanan bu salgında ise alınan beşer litrelik su örnekleri 0.45 µm çapındaki filtrelerden geçirilmiş ve filtrelerden elde edilen örnekler ile yapılan gerçek zamanlı PCR incelemesi ile etken suda gösterilebilmiştir. Gölcük ve Karamürsel salgınlarını takiben Adapazarı'nın Kocadöngel köyünde de küçük çaplı bir orofarinjiyal tularemi salgını yaşanmış, bu bölgedeki şüpheli pınar sularından alınan su örnekleri aynı filtrasyon metodu kullanılarak filtre edilmiş ve yine yöntem ile *F.tularensis* DNA'sı suda gösterilmiştir¹⁶. Kocaeli ve Adapazarı bölgesinde patlak veren bu üç orofarinjiyal tularemi salgınından edindiğimiz deneyimlerin ışığında, su ile ilişkilendirilen salgınlarda mümkün olduğunca fazla miktarda su örneğinin alınarak filtrasyon sonrası elde edilen örneklerin PCR için kullanılmasının, etkenin gösterilmesine katkıda bulunabileceği düşünülmüştür.

F.tularensis, kültürde üretilmesi zor bir bakteri olup, üreme için taze olarak hazırlanan sistenle zenginleştirilmiş kanlı ya da çikolatalı besiyerlerine gereksinim duymaktadır^{2-3,17}. Bununla birlikte uygun seçici besiyerlerinin kullanılmasına rağmen üreme oranları oldukça düşüktür. Evans ve arkadaşları¹⁸ yaptıkları kültürlerde *F.tularensis*'i olguların ancak %5.5'inde izole edebilmişlerdir. Benzer şekilde Helvacı ve arkadaşlarının⁶ çalışmasında değerlendirilen 205 hastanın klinik örneklerinden yapılan kültürlerde *F.tularensis*'in üretilme oranı %4.9 olarak bildirilmiştir. Bakterinin besiyerlerinde üremesi normal flora elemanları tarafından da baskılanabilmekte olup kültür vasatlarına penisilin, polimiksin B ve sikloheksimid ilavesi *F.tularensis*'in üremesini kolaylaştırmaktadır^{2,6}. Bizim çalışmamızda, klinik örneklerden ve su örneklerinden yapılan kültürlerin hiçbirinde *F.tularensis* üretilmemiştir. Bunun antibiyotik içermeyen hazır besiyerlerinin kullanılmış olmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Tulareminin kesin tanısı her ne kadar kültürde bakterinin üretilmesi ile konulmakta ise de, *F.tularensis*'in güç üreyen bir bakteri olması ve özel biyogüvenlik şartlarının sağlanma gerekliliği nedeniyle serolojik testler tanı için yaygın olarak tercih edilmektedir. Serolojik testler arasında en yaygın olarak kullanılan test aglütinasyon testidir^{2,3,17}. Standart tüp aglütinasyonu ile hasta serumunda $\geq 1/160$ titrede antikor pozitifliği klinik tanıyı doğrulamaktadır. MA testi ise standart tüp aglütinasyona göre daha duyarlı bir testtir ve $\geq 1/128$ titre klinikle birlikte tanıyı doğrulamakta önerilmektedir. Bunun yanında MA testinin *Brucella* ve *Yersinia* türleri ile çapraz reaksiyonları olabilmekte, ancak bu çapraz reaksiyonlar daha çok düşük titrelerde yalancı pozitifliklere sebep olmaktadır²⁻⁴. Bu nedenle MA testi ile tularemi tanısı için, akut ve konvelesan dönemde alınan

serum örneklerinde dört kat titre artışı ya da özellikle salgınlar sırasında tek bir serum örneğinde $\geq 1/80$ antikor titreleri yeterli görülmektedir. Bununla birlikte literatürde $1/20$ titrenin bile kliniği uyumlu hastalarda tanı koydurucu olabileceği de vurgulanmıştır^{6,19}. Bu çalışmamızda, salgın bölgesinde yaşayan ve tularemi kliniği olanlarda tanıyı doğrulayıcı MA titresi $\geq 1/80$ olarak kabul edilmiştir.

Bu çalışmadaki hasta verileri incelendiğinde kadın hastaların tümünün ev hanımı, erkeklerin ise büyük çoğunluğunun emekli olduğu gözlenmiştir. Bu sonucun, bu hasta grubunun salgının yaşandığı bölgede daha fazla vakit geçirdikleri ve bu nedenle de salgına sebep olan su kaynağı ile daha fazla temas halinde olmaları ile açıklanabileceği düşüncesindeyiz. Ancak bu konunun daha ileri epidemiyolojik çalışmalarla açıklığa kavuşturulması gerektiği kanısındayız.

Orofarinjiyal tularemi, membranlı tonsillofarenjit ve servikal LAP ile karakterize bir tablodur. Uygun tedavinin gecikmesi durumunda lenf nodları kendiliğinden süpüre olabilmektedir¹. Ülkemizde 205 tularemi hastasının incelendiği bir çalışmada, hastaların %42'sinde lenf nodu süpürasyonu geliştiği bildirilmiş ve bu sonuç tedavinin geç başlamış olması ile ilişkilendirilmiştir¹³. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da tedavisi üç haftadan fazla geciken beş hastada süpürasyon gözlenmiştir.

Günümüzde tularemi tedavisinde streptomisin ve gentamisin gibi aminoglikozidler halen ilk tercih edilen ilaçlardır^{2,3}. Tetrasiklin grubu antibiyotikler de tularemi tedavisinde kullanılmakta, ancak bakteriyostatik olmaları nedeniyle aminoglikozidlere alternatif olarak yer almaktadırlar. Son yıllarda yapılan in vitro çalışmalarda kinolonların *F.tularensis*'e etkili olduğu tespit edilmiş ve klinik çalışmalarda da tularemi tedavisinde iyi bir alternatif tedavi olduğu bildirilmiştir²⁰⁻²⁶. Bizim çalışmamızda beş hastaya siprofloksasin tedavisi uygulanmış ve hastaların tümünde klinik düzelmeye gözlenmiştir.

Sonuç olarak, tulareminin endemik olduğu yörelerde bakteriyel anjin tedavisine yanıt vermeyen membranlı tonsillit ve LAP'si olan hastalarda tularemi mutlaka akla gelmelidir. Ülkemizdeki tularemi salgınlarının çoğu su ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada bulaş kaynağının pınar suları olduğu PCR pozitifliği ile kanıtlanmış ve pınar suyunun klorlanarak kullanılması sonrasında salgın kontrol altına alınmıştır. Suların hijyenik koşullarda depolanması ve düzenli aralıklarla klorlanması ile benzer salgınların önlenilebileceği düşünülmüştür. *F.tularensis* açısından şüpheli su kaynaklarında, fazla miktarda (örn. 5 L) su örneğinin filtreden geçirildikten sonra gerçek zamanlı PCR ile bakteri DNA'sının saptanmasının mümkün olabileceği görülmüştür. Tularemi olgularının tedavisinde siprofloksasin kullanımı, hem bu çalışmadaki beş olguda, hem de daha önceki çalışmamızdaki 33 olguda klasik tedavi alternatifleri kadar iyi sonuç vermiştir. Literatür bilgilerinin benzer sonuçlarının da desteği ile erişkin orofarinjiyal tularemi olgularında siprofloksasin oral kullanılabilen bir seçenek olarak tarafımızdan önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Salgın sırasında birlikte çalıştığımız Kocaeli İl Sağlık Müdürlüğü Bulaşıcı Hastalıklar Bölümü'nden Dr. Mustafa Kara, Dr. Mehmet Yılmaz ve diğer bölüm çalışanlarına ve işbirliği için Karamürsel İlçe Sağlık Müdürlüğü'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Tärnvik A, Berlund L. Tularemia. Eur Respir J 2003; 21: 361-73.
2. Penn RL. *Francisella tularensis* (Tularemia), pp: 2674-85. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2005, 6th ed. Elsevier-Churchill Livingstone, Philadelphia.
3. Dennis DT. Tularemia, pp: 1446-51. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds), Infectious Diseases. 2004, 3rd Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
4. Ellis J, Oyston PCF, Green M, Titball W. Tularemia. Clin Microbiol Rev 2002; 15: 631-46.
5. Erbay A, Dokuzoğuz B, Baykam N, Güvener E, Diker S, Yıldırım T. Ankara yöresinde tularemi. Turk J Infection 2000; 14: 453-8.
6. Helvacı S, Gedikoğlu S, Akalın H, Oral HB. Tularemia in Bursa, Turkey: 205 cases in ten years. Eur J Epidemiol 2000; 16: 271-6.
7. Gürcan S, Tatman-Otkun M, Otkun M, Arikan OK, Ozer B. An outbreak of tularemia in western Black Sea region of Turkey. Yonsei Med J 2004; 45: 17-22.
8. Willke A, Meriç M, Grunow R, et al. Kocaeli'ndeki tularemi salgını: vaka-kontrol çalışması ve salgın kontrolü. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi. Klimik Dergisi Özel Sayısı 2005; 18: 210.
9. Gedikoğlu S, Göral G, Helvacı S. Bursa'daki tularemi epidemisinin özellikleri. Turk J Infection 1990; 4: 9-15.
10. Versage JL, Severin DD, Chu MC, Petersen JM. Development of a multitarget real-time TaqMan PCR assay for enhanced detection of *Francisella tularensis* in complex specimens. J Clin Microbiol 2003; 41: 5492-9.
11. Gotschlich E, Berkin T. 1936 yılında Trakya'da tularemiye ait yapılan epidemiyolojik ve bakteriyolojik çalışmalar. Tr Hij Tec Biol Derg 1938; 1: 115-22.
12. Dirik K. Van Gölü havzasında tularemi. Tr Hij Tec Biol Derg 1939; 2: 193-4.
13. Golem SB. Lüleburgaz'da yeni bir tularemi epidemisi. Tr Hij Tec Biol Derg 1945; 5: 28.
14. Utku IE. Antalya'da tularemi epidemisi ve hususiyetleri. Tr Hij Tec Biol Derg 1954; 2: 288-91.
15. Kılıçtırgay K, Gökırmak F, Gedikoğlu S, Helvacı S, Töre O, Tolunay S. Bursa'da tularemi epidemisi. Turk J Infection 1989; 3: 149-56.
16. Meric M, Sayan M, Dündar D, Willke A. Oropharyngeal tularemia outbreak in Adapazarı, Turkey. 46th ICAAC 2006. Abstract Book, p. 171 (Abstract no: D-1848).
17. Steward SJ. Tularemia, pp: 949-54. In: Collier L, Balows A, Susman M (eds), Microbiology and Microbial Infections. 1998. Oxford University Press, UK.
18. Evans ME, Gregory DW, Schaffner W, McGee ZA. Tularemia: a 30-year experience with 88 cases. Medicine 1985; 64: 251-69.
19. Sato T, Fujita H, Ohara Y, Homma M. Microagglutination test for early and specific serodiagnosis of tularemia. J Clin Microbiol 1990; 28: 2372-4.
20. Syrjälä H, Schildt R, Räisänen S. In vitro susceptibility of *Francisella tularensis* to fluoroquinolones and treatment of tularemia with norfloxacin and ciprofloxacin. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1991; 10: 68-70.
21. Scheel O, Hoel T, Sandvik T, Berdal BP. Susceptibility pattern of Scandinavian *Francisella tularensis* isolates with regard to oral and parenteral antimicrobial agents. APMIS 1993; 101: 33-6.
22. Ikeäheimo I, Syrjälä H, Karhukorpi J, Schildt R, Koskela M. In vitro antibiotic susceptibility of *Francisella tularensis* isolated from humans and animals. J Antimicrob Chemother 2000; 46: 287-90.

23. Limaye AP, Hooper CJ. Treatment of tularemia with fluoroquinolones: two cases and review. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 922-4.
24. Johansson A, Berglund L, Gothefors L, Sjöstedt A, Tärnvik A. Ciprofloxacin for treatment of tularemia in children. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19: 449-53.
25. Johansson A, Berglund L, Sjöstedt A, Tärnvik A. Ciprofloxacin for treatment of tularemia. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 267-8.
26. Chocarro A, Gonzalez A, Garcia I. Treatment of tularemia with ciprofloxacin. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 623.