



Samsun, Çorum ve Sivas İllerinde Ortaya Çıkan Tularemi Salgınlarında Klinik ve Çevresel Örneklerden Kültür ve RT TaqMan PCR Yöntemleriyle *F. tularensis* Bakterisinin Tanımlanması

Hülya ŞİMŞEK, Müge TANER, **Aynur KARADENİZLİ**,
Mustafa ERTEK, Haluk VAHABOĞLU

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı, Ankara,
Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kocaeli



Türkiyede tularemi

- Türkiyede orofarengeal form tularemi sıklıkla görülür.
- Genellikle baş ve boyunda lokalize hastalık oluşturur.
- Epidemiyolojik çalışmalar, hastalığın kaynağını genellikle kontamine yiyecek ve su olarak göstermiştir.

Türkiyede tularemi





Çalışmanın amacı

- Tularemi Salgınlarında,
Klinik ve çevresel örneklerden kültür ve RT TaqMan PCR Yöntemleriyle *F. tularensis* tanısının konulması
- Salgın alanları
 - Samsun (Vezirköprü- Pazarcı köyü)
 - Çorum (Mecitözü Geykoca köyü)
 - Sivas



Çorumda Tulareminin ortaya çıktığı köy



Bir köy  e mesi, Çorum

Gereç ve Yöntem: Örnek toplanması

(Ocak 2009-Mart 2009)

Epidemi	Örnek adı		
	Boğaz	Yara	Su
Samsun	-	-	10
Çorum	2		7
Sivas	7	2	12
Toplam	9	2	29

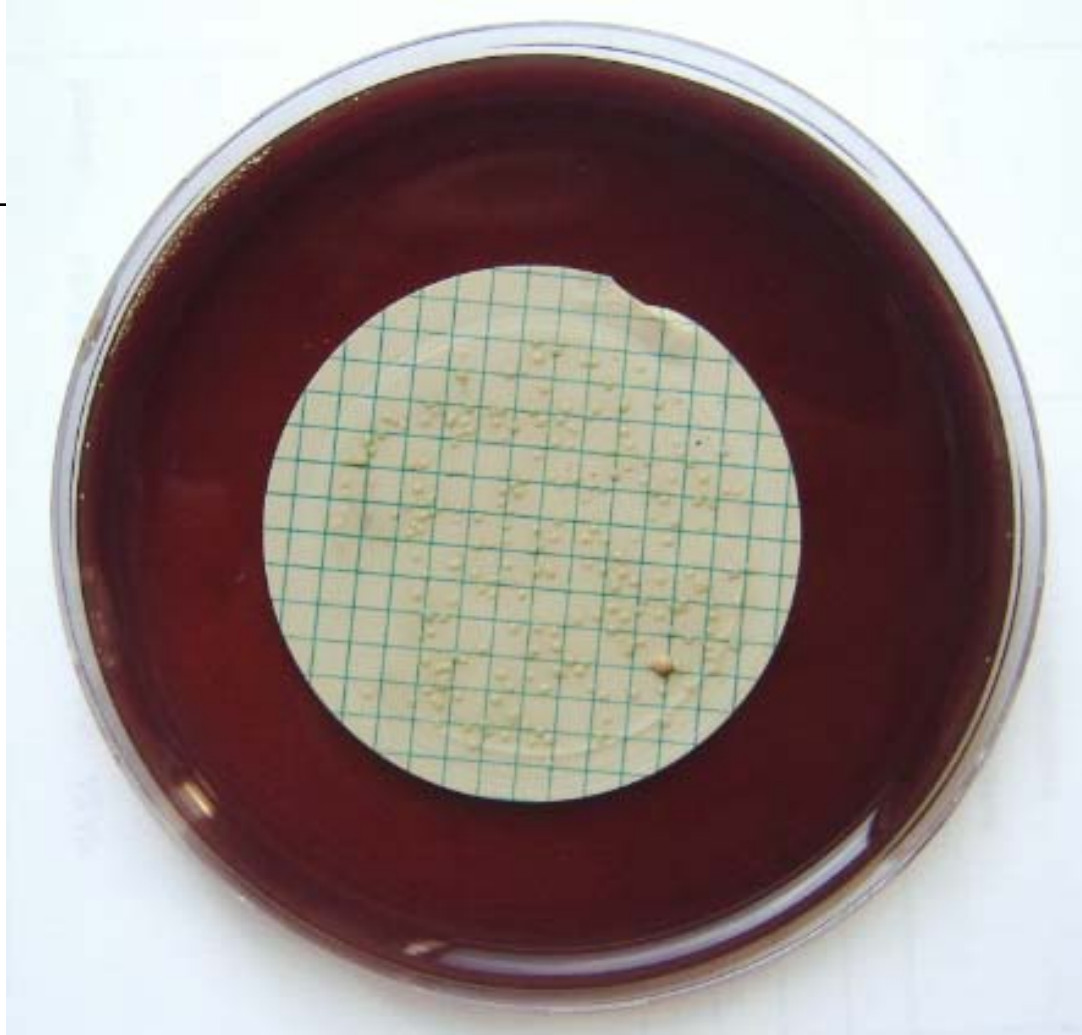
Gereç ve Yöntem: Boğaz ve yara kültürü

- Örnekler Charcoal'lı Amies Agar içerisinde taşındı.
- Besiyeri olarak Francis medium kullanıldı. İçerik;
 - Brain Heart infusion agar,
 - Glukoz (%1)
 - L-Cystein (%0.1)
 - Koyun kanı (%8-9)
 - Antibiyotikler

Gereç ve Yöntem: Su kültürü

- Toplanan su örnekleri (0.3-1.5 L) 0,20µm çaplı selüloz asetat membran filtreden geçirildikten sonra kirli yüzeyi yukarı bakacak şekilde antibiyotikli (Oxoid SR147) Francis besiyerine ekildi.
 - Tüm kültürler; 37°C'de 5% CO₂'li ortamda, 4-10 gün inkube edildi.





Su kültüründe üremiş *Francisella tularensis*

Gereç ve yöntem: Real Time TaqMan PCR

- Filtrelerin yüzeyi steril distile su 15 dakika bir çalkalayıcı su banyosunda yıkandı.
- Elde edilen örnekten DNA izole edildi.
- Çalışmada IS*Ftu2* genine yönelik primer ve prob seti kullanıldı.
 - Sense Primer 5'-ACAAGAAGTCATGCTTGATTCAAC-3'
Anti-sense Primer 5'-GGATTACCTAAAGCATCAGTCATAGC-3'
Probe Sequence ATAGCAAGAGCACAT (Dye 6-FAM)
 - Pozitif kontrol olarak *F.tularensis* subsp.*holarctica* (LVS suşu) DNA'sı kullanıldı (Prof. Sjoested, Umea Universitesi)
 - Negatif kontrol: Brusella DNA

Bulgular

Epidemi	Kültür sonucu		
	Boğaz	Yara	Su
Samsun	-	-	1
Çorum	-		1
Sivas	1	-	1
Toplam	1	-	3

Kültür ve Real Time TaqMan PCR sonuçları

Sonuçlar	Salgın (n: Örnek sayısı)		
	Çorum (n:9)	Sivas (n:21)	Samsun (n:10)
RT TaqMan PCR pozitif	1	2	2
Kültür pozitif	1	1	1



Sonuçlar

- Toplam 4 suş tularemi salgını sırasında hasta ve çevre örneklerinden izole edildi.
- İzolatların tanımlanmasında anti serumla (Becton Dickinson) aglütinasyon testi ve RT TaqMan PCR yöntemleri kullanıldı.



Sonuçlar

- Birer adet Sivas ve Samsun örneği Real Time TaqMan PCR yöntemiyle pozitif bulunduğu halde kültürde üretilemedi.
- Nedenleri;
 - Örnekte ölü bakteri DNA'sı saptanmış olabilir.
 - Bakteri sayısı az olabilir...

Sonuç

- Bu çalışmada, salgın kaynağı olarak şüphelenilen doğal su kaynaklarından:

F. tularensis hem kültür hem de RT TaqMan PCR ile Türkiyede ilk kez tanımlandı.



**Not: Bu posterin bir bölümü;
“13-16 Eylül 2009 tarihleri arasında 6th
International Conference on Tularemia (Berlin, Almanya)”
toplantısında sözlü olarak sunuldu.**