

TULAREMİ: Epidemiyoloji ve Laboratuvar Tanı

Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

V. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu "Bölgede
Sorun Olan Zoonozlar", 24-25 Ekim 2014, Erzurum

TULAREMİ

- Francisella tularensis'in oluşturduğu kuzey yarım küreye özgü zoonotik bir hastalıktır.



- Yurdumuzda 1936 yılından beri küçük epidemiler oluşturarak veya sporadik olgular şeklinde görülmektedir.

TARİHÇE



- Hastalık ilk kez Japonya'da **Dr. Homma Soken** tarafından tanımlanmıştır.
- **Hachiro O'hara** eşinin eline enfekte tavşan dokusunu sürerek deneysel olarak hastalığı oluşturmuştur.
- Enfekte lenf dokusunda saptanan bakteriye "O'hara Haga's coccus" ismi verilmiştir.



TARİHÇE



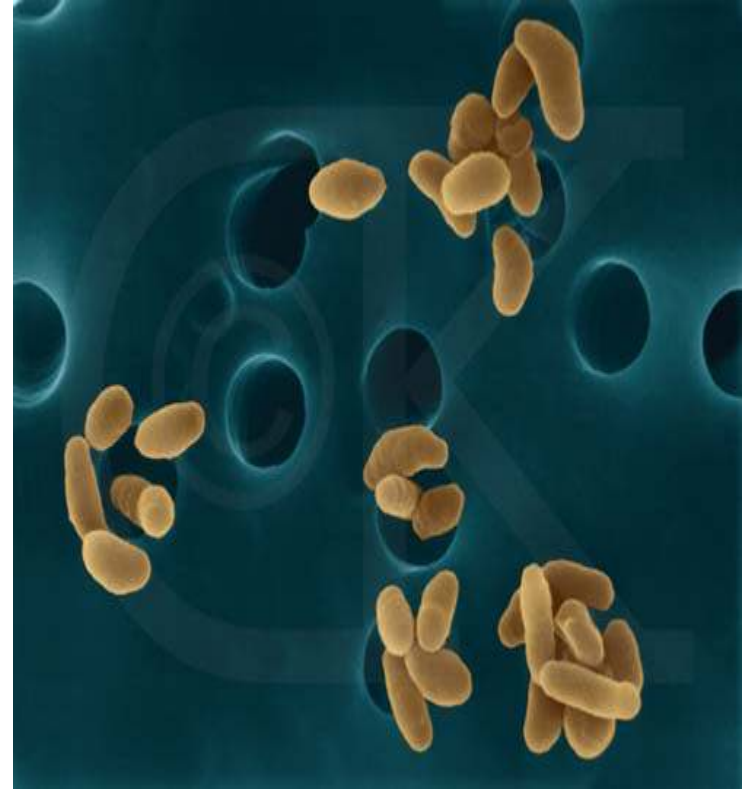
- **McCoy** Büyük San Francisco depreminden sonra sincaplarda veba benzeri bir hastalık tanımlamıştır.
- Tulare ilinde bakteriyi izole ederek "*Bacterium tularense*" adını vermiştir.
- **Edward Francis** benzer olgular ile ilgili bilgileri derleyerek hastalığa **TULAREMİ** adını vermiştir.
- Genus ismi (1959) **Francisella** olarak kabul edilmiştir.

Francisella Genusu

Tür	Alttür	Biyovar	Bölge
<i>F. tularensis</i>	<i>tularensis</i>	Tip A	Kuzey Amerika
	<i>holarctica</i>	Tip B	Avrupa, Türkiye, Rusya, Kuzey Amerika
	<i>holarctica</i>	<i>japonica</i>	Japonya
	<i>mediaasiatica</i>		Kazakistan, Özbekistan
	<i>novicida</i>		Kuzey Amerika
<i>F. philomiragia</i>	<i>philomiragia</i>		Kuzey Amerika
	<i>noatunensis</i>		Kuzey Amerika
<i>F. piscicida</i>			Kuzey Amerika
<i>F. hispaniensis</i>			İspanya-insan

Francisella tularensis Bakteriyolojik Özellikleri

- Küçük (0.2-0.5 x 0.7-1 μ m),
- Aerob, pleomorfik, hareketsiz,
- İnce bir kapsülü olan,
- Hücre içi ve hücre dışında yerleşebilen,
- Gram negatif bir kokobasildir.



F. tularensis
Gram boyalı preparat



ANTİJENİK YAPI

- Tek tip antijeni vardır.
- Brucella 09 serotipi ve
- Yersinia enterocolitica ile çapraz antijenik benzerlik gösterir.





VİRULANS FAKTÖRLERİ

- Genomunda virulansını belirleyen özellikli bir bölge saptanmamıştır.
- Kapsül, PNL içinde yaşamını sürdürmesi için gerekli değildir.
- LPS endotoksin aktivitesi yoktur.
- LPS makrofaj içinde yaşamına yardımcı???
- *F. tularensis* Schu S4 suşu ve canlı aşı suşunda (LVS) tip 4 pilus saptanmıştır.
- Belirlenmiş bir toksini veya invazini yoktur.

İMMÜNÖLOJİK ÖZELLİKLERİ

- “Makrofajların in vivo olarak zorunlu hücre içi patojenidir”.
- Makrofajlarda çoğaldıktan sonra hücrenin apoptozuna neden olur ve ardından yeni hücreleri enfekte eder.
- Apoptoz için hücre içi bakteri sayısının yeterli olması için geçen süre uzundur.
- Relaps ve kronik enfeksiyonları olabilir.



F. tularensis Dayanıklılık ve Ekoloji



- Konak dışında
- Düşük ısılarda
- Sulu ortamlarda



yaşamını sürdürür.

- Zaman ↑ canlılığı ↓

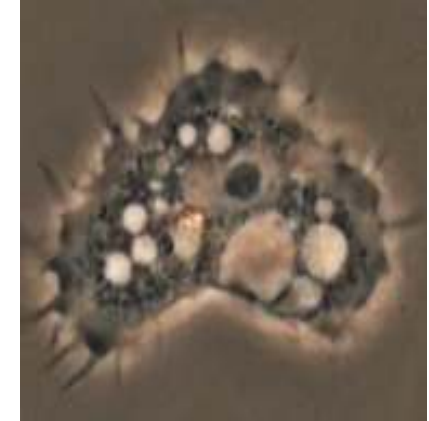
- Ciddi hastalık oluşturmadan bir süre toplum içinde canlılığını sürdürebilir.

F. tularensis

Dayanıklılık ve Ekoloji



- **Hücre içi patojen**
 - *Protozoonlar* dahil bir çok canlıda yaşayabilme
- **Doğa koşullarına dayanıklı**
 - Kenede ömür boyu (1-2 yıl),
 - Sineklerde 14 gün
 - Su, çamur ve leşlerde 3 ay,
 - Biçilmiş otlarda 6 ay,
 - Donmuş karkaslarda 3 yıl canlı kalabilme,
 - Aerosollerde daha kısa süre yaşama
- **Dezenfektan ve ısıya duyarlı ancak soğuğa dirençli**



F. tularensis

İklim, uygun konak, vektör, hayvan gruplarının yoğunluğu ekolojisini etkiler.



Kemiriciler ➤ soğuk, yağışlı



Kene vb ➤ yaz ayları

Aşırı yağışlar ➤ su kaynaklı bulaş

Ekolojik Döngüler

"Karasal" döngü, "Su" döngüsü

- *F. tularensis* spp. *tularensis* (tip A hastalık)
 - kuru çevrede: Kuzey Amerika
- *F. tularensis* spp. *holarctica* (tip B hastalık)
 - akarsu, havuz, göl ve ırmaklarla ilişki: Tüm dünyada yaygın

Rezervuarlar



- REZERVUAR: Bir patojenin sürekli idame edildiği ve hedef canlılara bulaştırılabildiği, epidemiyolojik olarak birbirine bağlı, populasyon veya çevrelerdir.
- Tularemi için 150 memeli, 25 kuş ve bazı sürüngen, kene ve sinek türleri rezervuar olarak belirtilmektedir.
- Ancak, bir çok zoonoz hastalıkta olduğu gibi, infeksiyonun asıl rezervuarı (barındırıcı (idame) konağı) hakkında yeterli bilgi yoktur.



Francisella tularensis'in konak çeşitliliği

Etkilenen türler

Tür sayısı

Memeliler

190



Vertebrasızlar

88



Kuşlar

23



Amfibiyanlar

3



Sürüngenler

Çok az



Balıklar

Çok az



Tavşanlar (Lagomorpha)

- Ana rezervuar ??



- ✓ Vektörler için
 - Ixodidae, Tabanidae vd.
- ✓ İnsan için
- ✓ Karnivor ve yırtıcılar için

- Enzootik odaklarla en ilişkili hayvan



Rodentia (kemiriciler)

- **Kara kemiricileri**

- Tip A ve B rezervuarı

- Rusya, İsveç ve Kosovo epidemileri ile ilgili



- **Su kemiricileri**

- Tip B rezervuarı

- Avrasya epidemileri ile bağlantılı

- ABD ve Kanada

- Türkiye?? (ratlar)



Sincaplar

- *F.t. tularensis* rezervuarı
- İlk izolasyon
- ABD'de önemli
- Avrasya'da ???



Hastalık (Doğal konaklar)

- **Lagomorpha (tavşanlar)**

- *Sylvagus* (Amerika),
- *Lepus* (Avrasya)

- **Kara kemiricileri**

- *Microtus*, *Lemmus*, Kokarca vb dağ ve tarla sıçanları, küçük fareler
- Sincaplar

- **Su kemiricileri**

- Kunduz, Misk sıçanı, Su sıçanı





Hastalık (Rastlantısal Konaklar)

- İnsan
- Koyun
- At
- Domuz
- Kedi
- Köpek
- Tilki vb. yabani memeliler
- Kuşlar ve sürüngenler
- Sığırlar dirençli





Vektörler



66 tür artropod





Keneler

ABD (Kayalık dağlar)

- *Dermacentor variabilis*
- *D. andersoni*
- *Amblyoma americanum*
- *Ixodes persulcatus*

Avrasya

- *D. reticulatus*
- *D. marginatus*
- *I. ricinus*
- *I. triangliceps*
- *Haemaphysalis punctata*

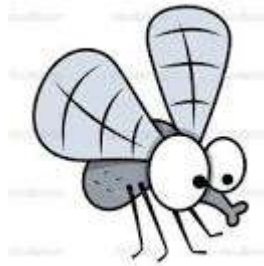
- 14 tür, tamamı 3 konaklı
- Enzootik odakların kalıcılığını sağlıyorlar
- ABD'de çok önemli, Avrasya'da önemsiz
- **Transovarial nakil** var
- Etken dışkı ile veriliyor ??
- keneler için alışılmadık yol!!-



Tüm insan olgularının % 9-57'sinden sorumlu tutuluyorlar.

Tabanidae ve Culicidae

- ABD (Güney)
 - *Crysops discalis*
 - *C. aestuans*
 - *C. relictus*
 - *Crysozona pluvialis*
- Avrupa (Kuzey)
 - *Aedescinerus*
 - *A. exrucians*
- Mekanik vektörlük
- ABD'de at (geyik) sinekleri
- Kuzey Avrasya'da sivrisinekler



Akarlar, pireler ve bitler



- *Androlaelaps sp.*
- *Laelaps sp.*
- *Europarasitus sp.*
- *Ctenophtalnus sp.*
- *Nasopsyllus sp.*
- *Megabothris sp.*
- Vs vs vs...

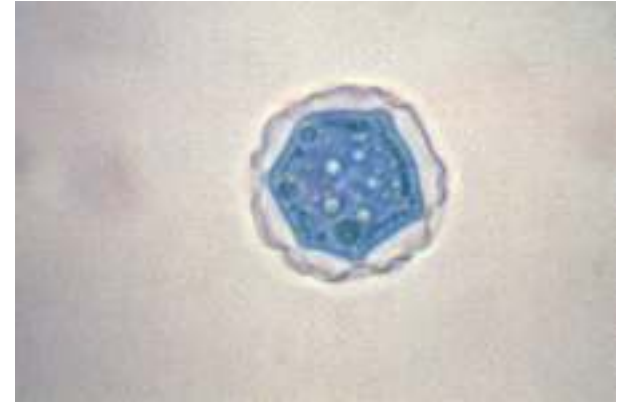
- Kemiricilerin en yaygın ektoparazitleri
- **Mekanik vektörlük**
- Avrupa'da önemli
- Etkin vektör ???



Tulareminin doğal seyirinde omurgasızların önemi

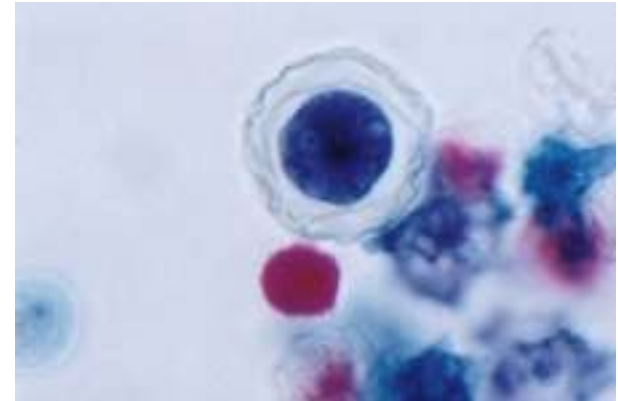
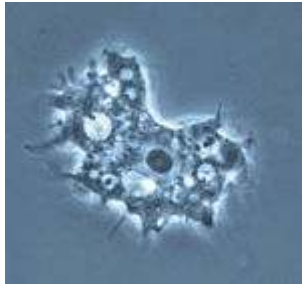
TÜR	BULAŞMADAKİ ROLÜ	
	Doğada	İnsanlarda
KENELER		
Sert keneler	Yüksek	Yüksek
Yumuşak keneler	Lokalizasyon düşük	Önemsiz
MAYTLAR	Lokalizasyon düşük	Önemsiz
SOKUCU SİNEKLER		
Geyik sineği Ahır sineği At sineği	Lokalizasyon yüksek	Lokalizasyon yüksek
Sivrisinekler	Lokalizasyon yüksek	Lokalizasyon yüksek
Tatarcık sinekleri	Lokalizasyon yüksek	Lokalizasyon düşük
Karasinekler	Bilinmiyor	Bilinmiyor
DİĞER		
Pireler	Lokalizasyon düşük	Önemsiz
Bitler	Düşük	Önemsiz
Tahtakurusu	Önemsiz	Önemsiz
Şayak (evcikli) sineği	Önemsiz	Önemsiz
Salyangoz	Önemsiz	Önemsiz

Protozoonlar



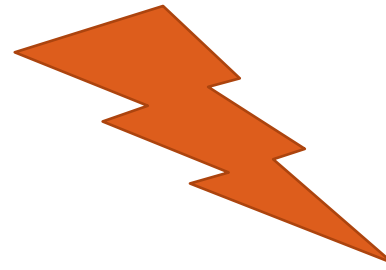
Acanthamoeba castellanii

- Bakteri için kısa süreli üreme ortamı
- Su kaynaklı epidemilerde göz önünde bulundurulmalı



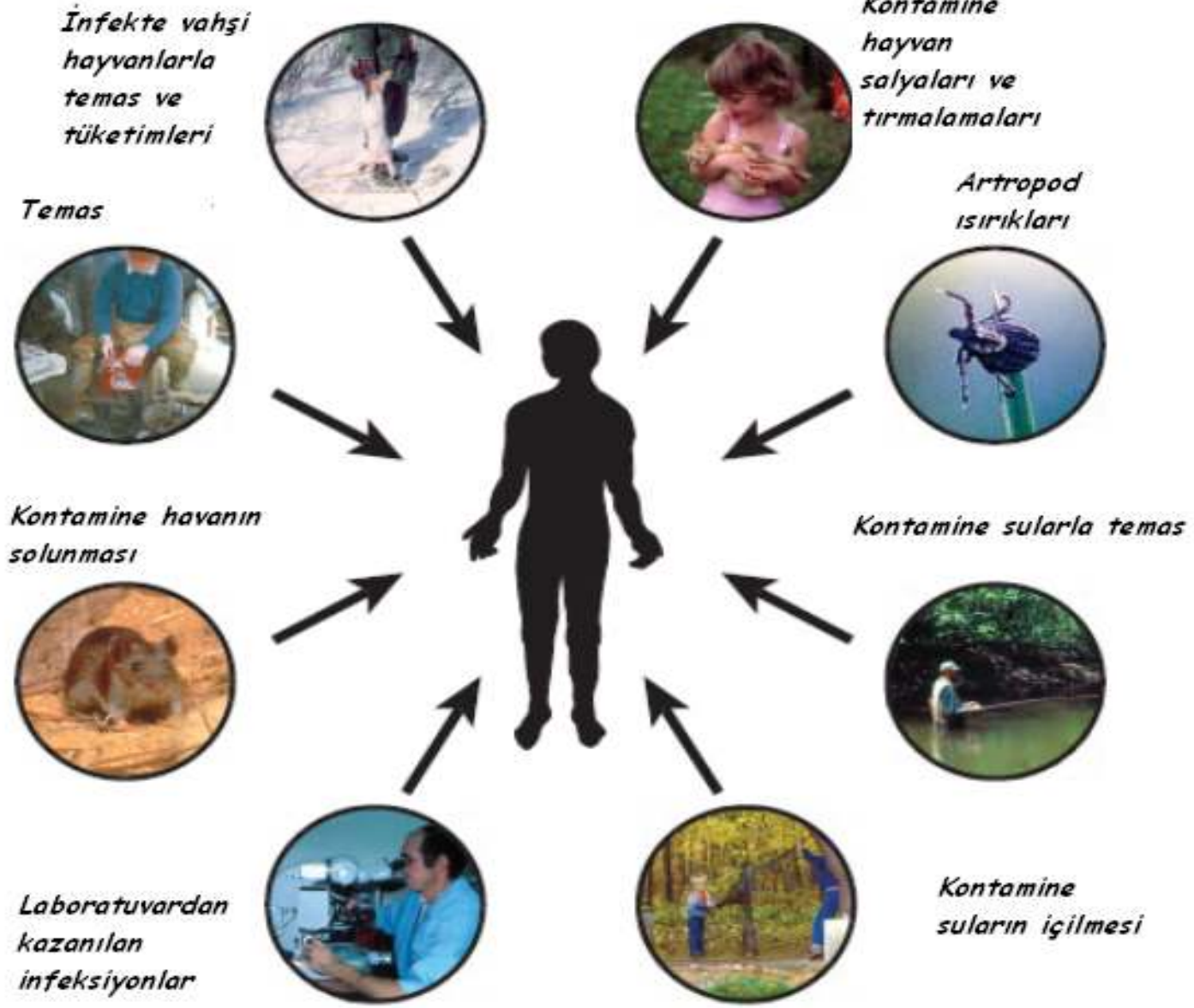
TULAREMİ BULAŞ

- Enfekte hayvanlarla doğrudan temas
(Kan, doku, idrar, dışkı ısırma)
- Kontamine gıda ve su
- Enfekte toz ve aerosol
- Artropodlar



rol oynar.

- İnsanlar arasında bulaş kabul edilmemektedir.



İnsanlara tularemi değişik yollarla ve bir çok kaynaktan bulaşabilir.

ÜLKEMİZDE TULAREMİ'NİN EPIDEMİYOLOJİSİ



Ülkemizde Tularemi'nin Epidemiyolojisi

I. Dönem: İlk 18 yıl (1936-1953)

- Dört Salgın
- 1936: 150 olgu
- 1953: En büyük Salgın (>150 olgu)

1936-1953

1954-1988

II. Dönem: 17 yıl, Salgınlar...
Çoğunlukla Marmara ve Batı Karadeniz
Diğer Bölgelerde *sporadik* olgular şeklinde

1988-2004

2005-2009

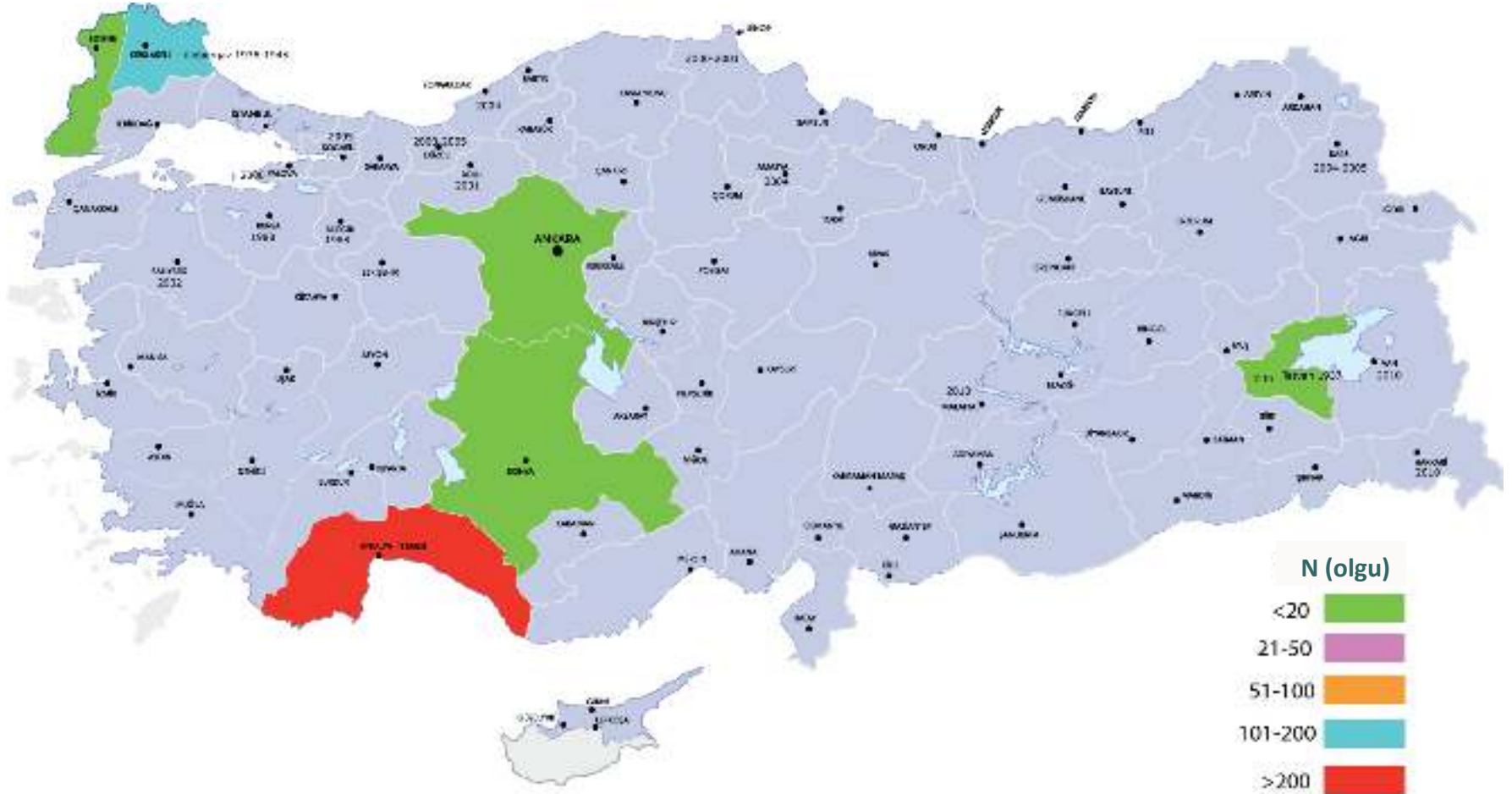
III. Dönem:

> 2005. *Bildirimi zorunlu...*

2005-2009: 1091 olgu

2010-2011: İç Anadolu Bölgesinde salgınlar

I. Dönem: 1936-1953



374 Olgu

Ankara, Konya, Antalya, Kırklareli, Edirne, Bitlis

Derin Sessizlik
1953-1988
Olgu YOK

II. Dönem: 1988-2004



1080 Olgu

III. Dönem: 2005-2009



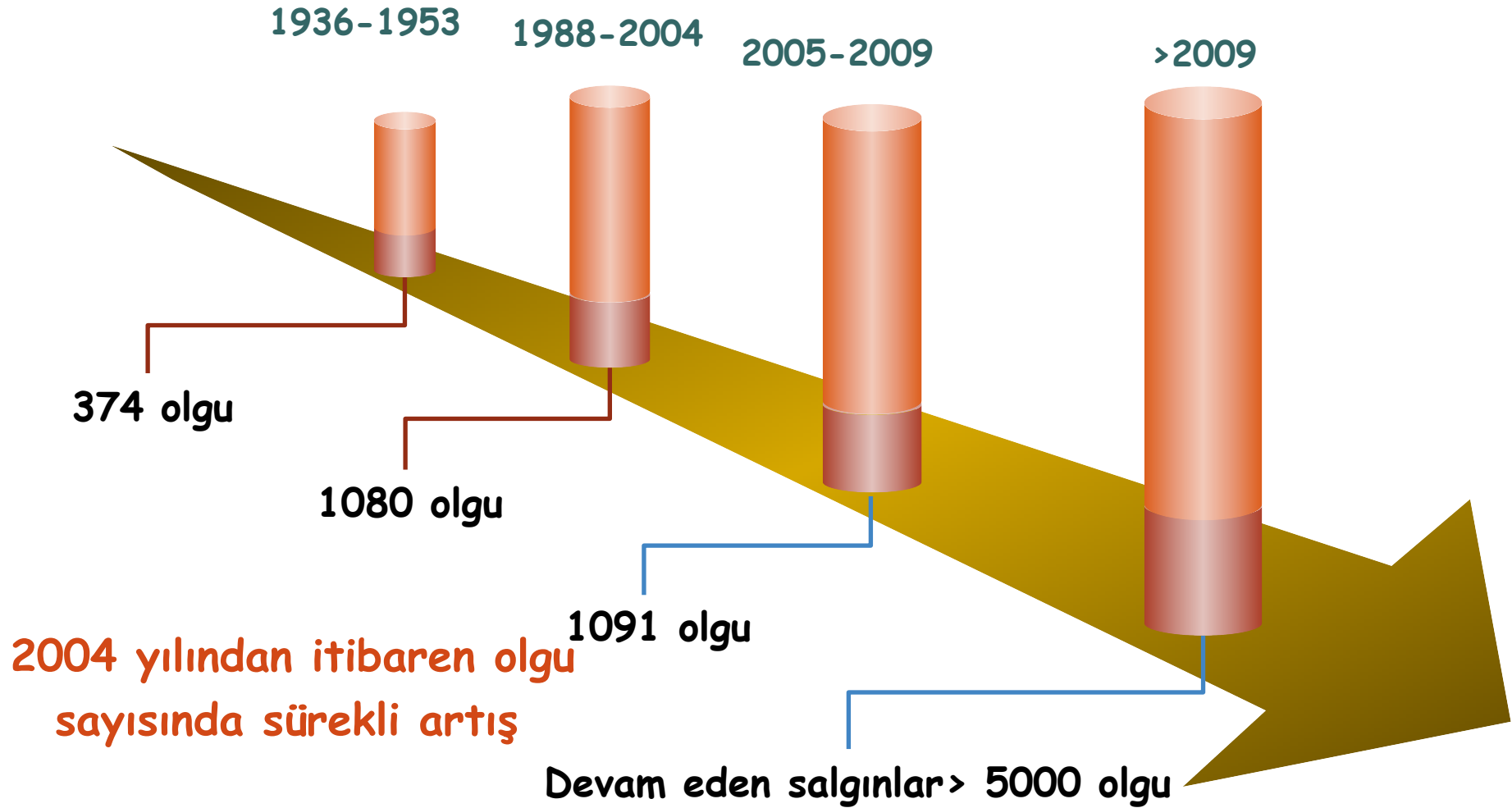
Toplam: 1091 Olgu

2010-2011

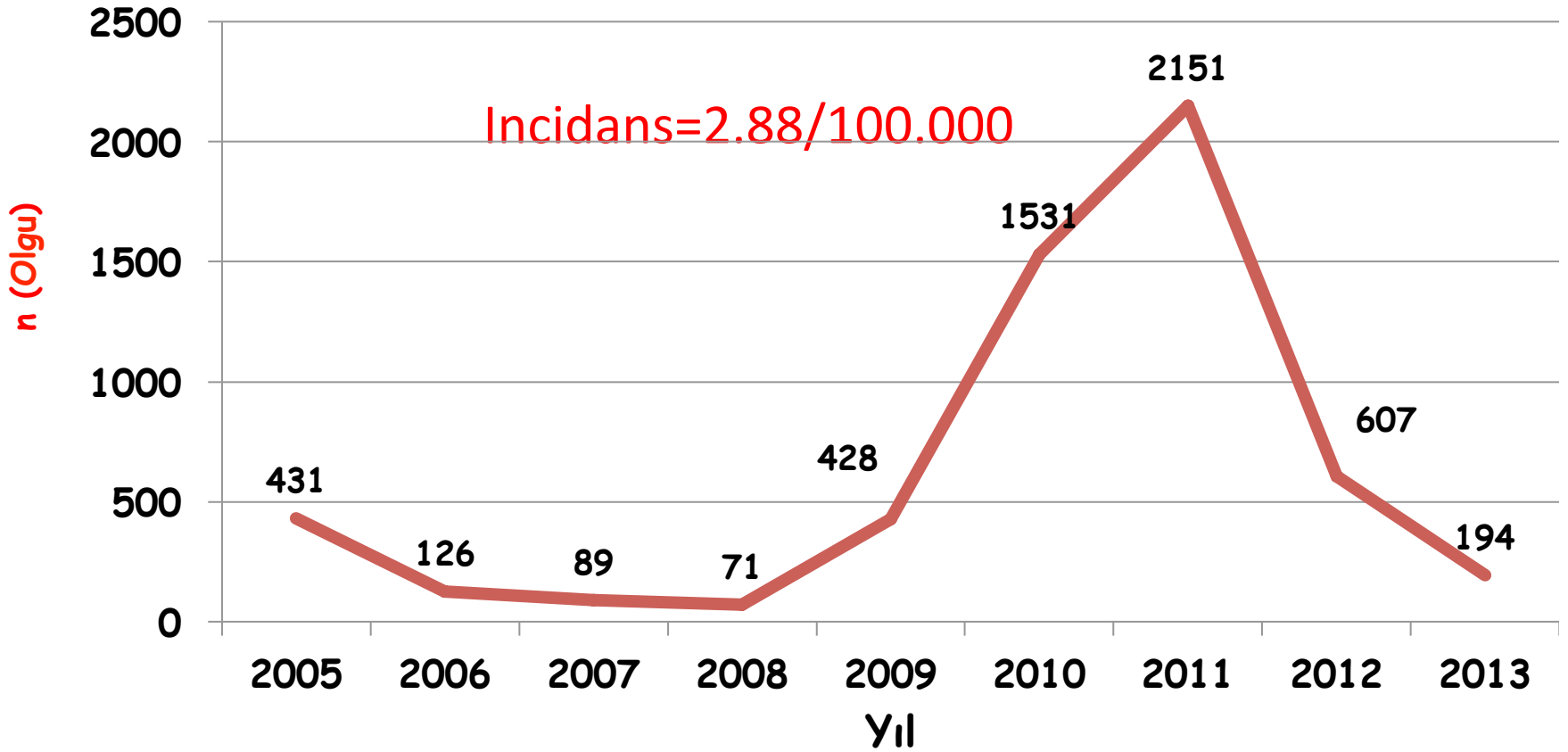


1936-2009: 35 il - 2010- 2011: Yeni 31 il

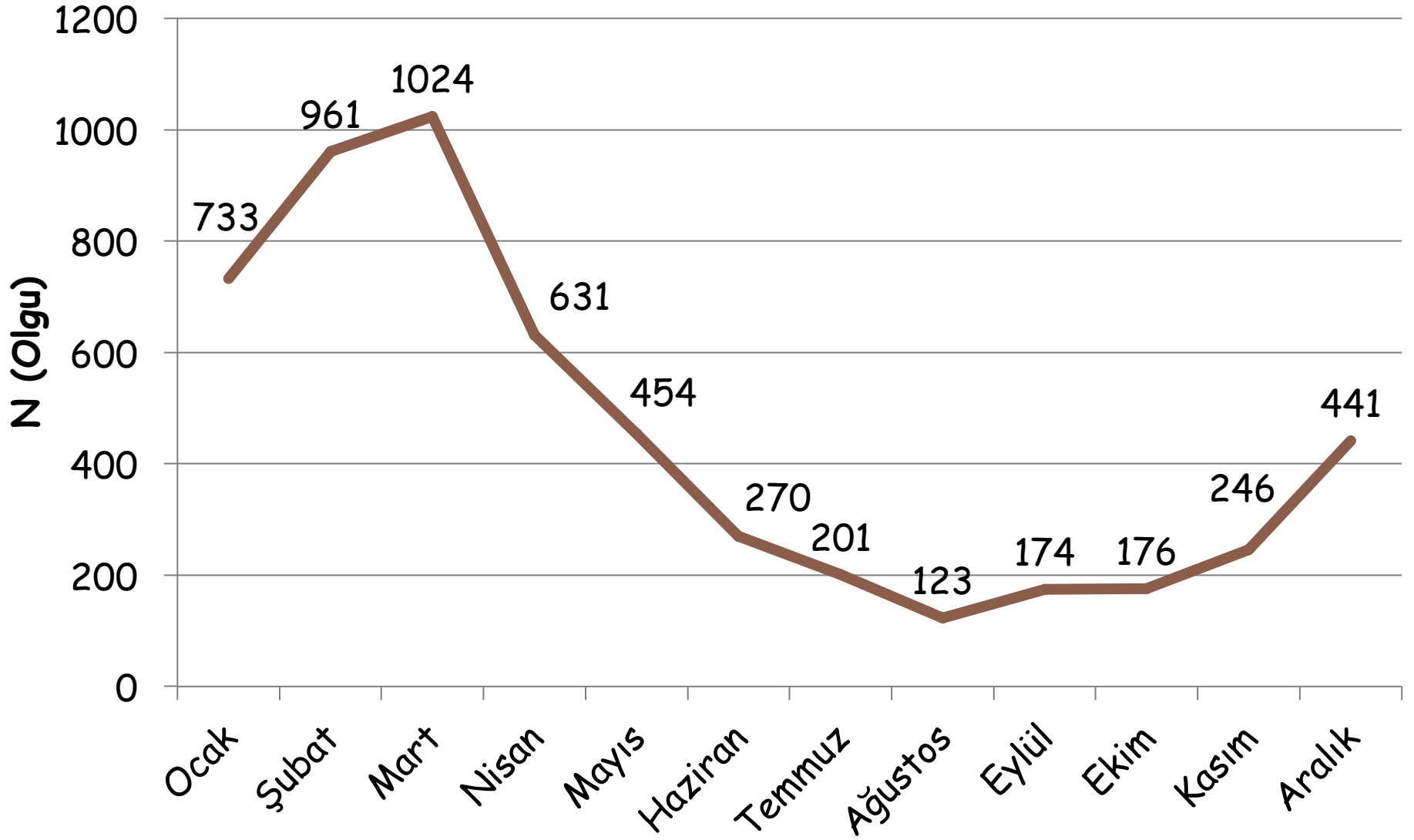
Tularemi Olguları (1936-2013)



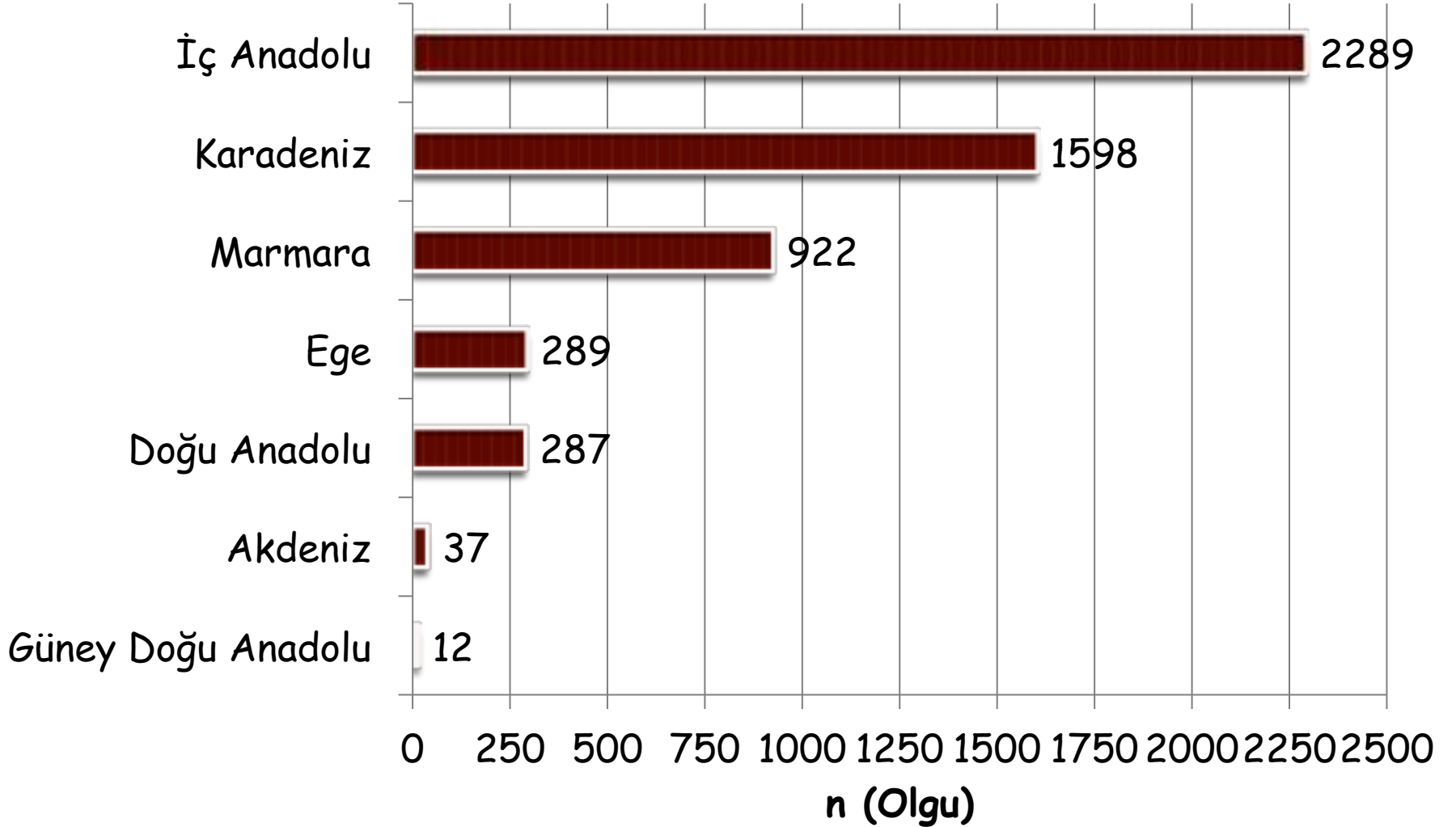
Tularemi Olgu sayıları (2005- 2014)



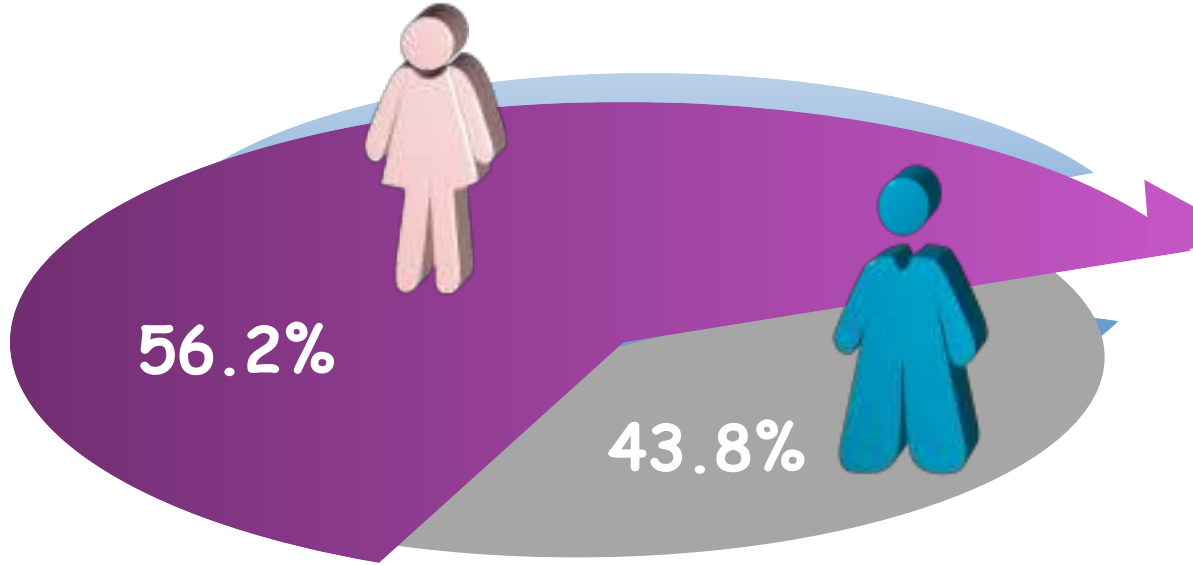
Mevsimsel Dağılım (2005-2012)



Olguların Coğrafi Bölgelere Göre Dağılımı (2005-2012)

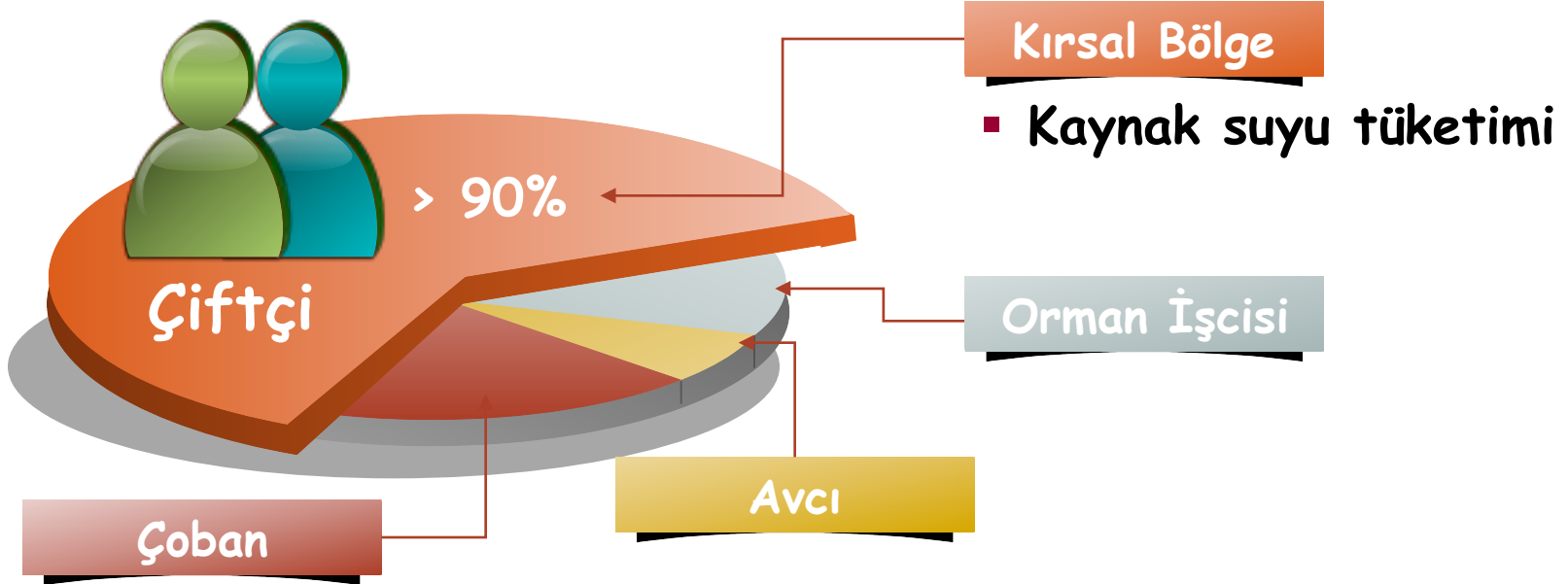


Tularemi Olgularının Cinsiyete Göre Dağılımı (2005-2012)

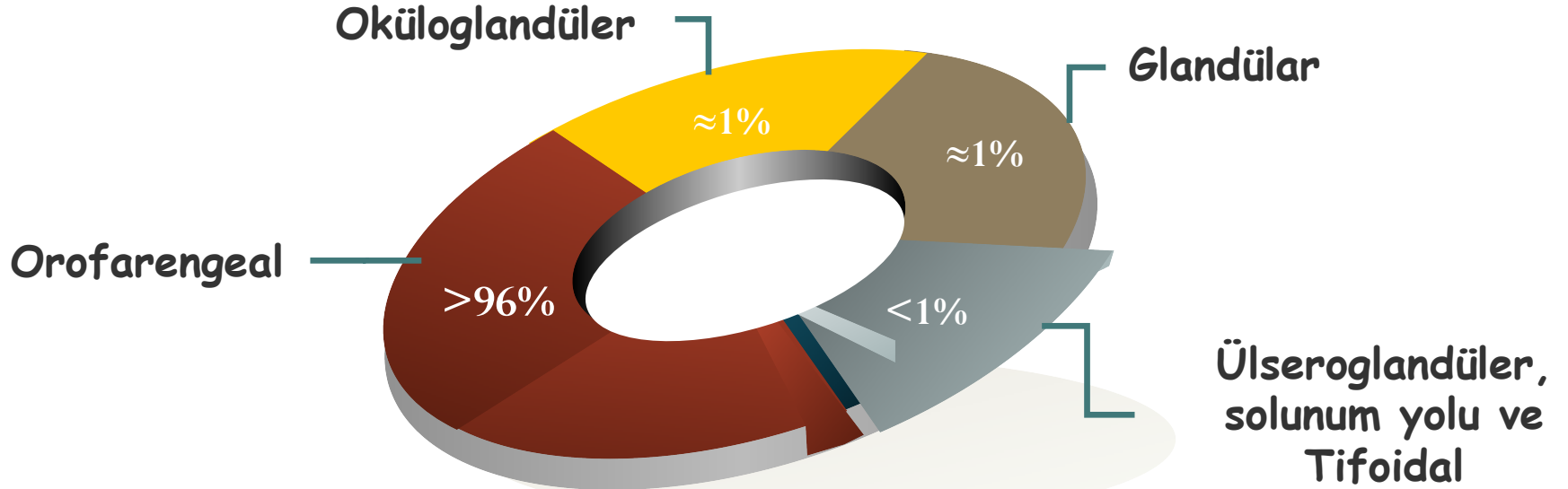


“Mesleki Dağılım”

Olguların tamamına yakını kırsal bölgeden ve tarım-hayvancılıkla uğraşanlar

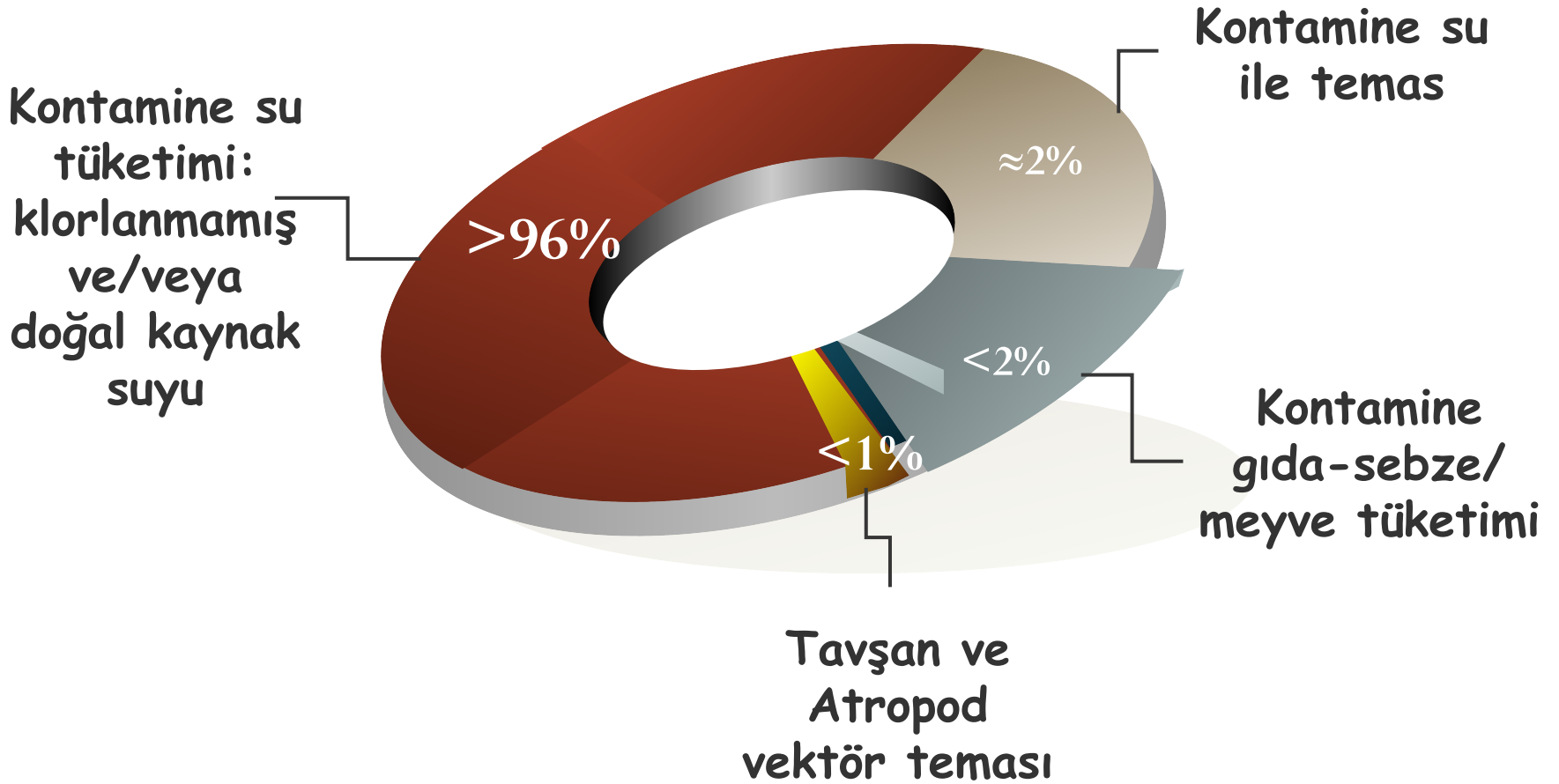


Klinik Formlar (2009-2012)



Glanduler	Ülseroglandüler	Respiratuar
Hastada geçikme → sadece servikal LAP	ÜÇ kene kaynaklı tularemi	İKİ doğrulanmış ve bir olası vaka
	 	(Kocagoz et al. Isolation of <i>Francisella tularensis</i> subsp. <i>holarctica</i> biovar II from Blood. New Microbiol 2013)

>2000 olguda Bulaş Yolu...



Seroprevalans: Risk Grubu

Trakya
2.6%

Yozgat
Avcılar
6.25%

Erzurum
2.1%

Dedeođlu et al. Mikrobiyol Bul 2004
Yeşilyurt et al. Mikrobiyol Bul 2011
Yazgı et al. Mikrobiyol Bul 2010

Sonuçlar...

Salgınlar

- Salgınların tamamına yakını **su kaynaklı**,
- **Orofarengeal** form ağırlıklı ve hastalık hafif ve orta şiddetli bir seyir göstermekte.

Yayılm

- Hastalık kuzey batı Anadolu'dan doğu ve güneye doğru endemik olmayan bölgelere **yayılmakta**

Neden?

- **İklim koşullarındaki değişiklikler**, yaşam alanlarının daralması



Yabani hayat ve vektör popülasyonundaki yerel ve bölgesel değişimlere.



Laboratuvar Tanısı



Laboratuvar Tanı Yöntemleri

F. tularensis'in tanımlanmasında;

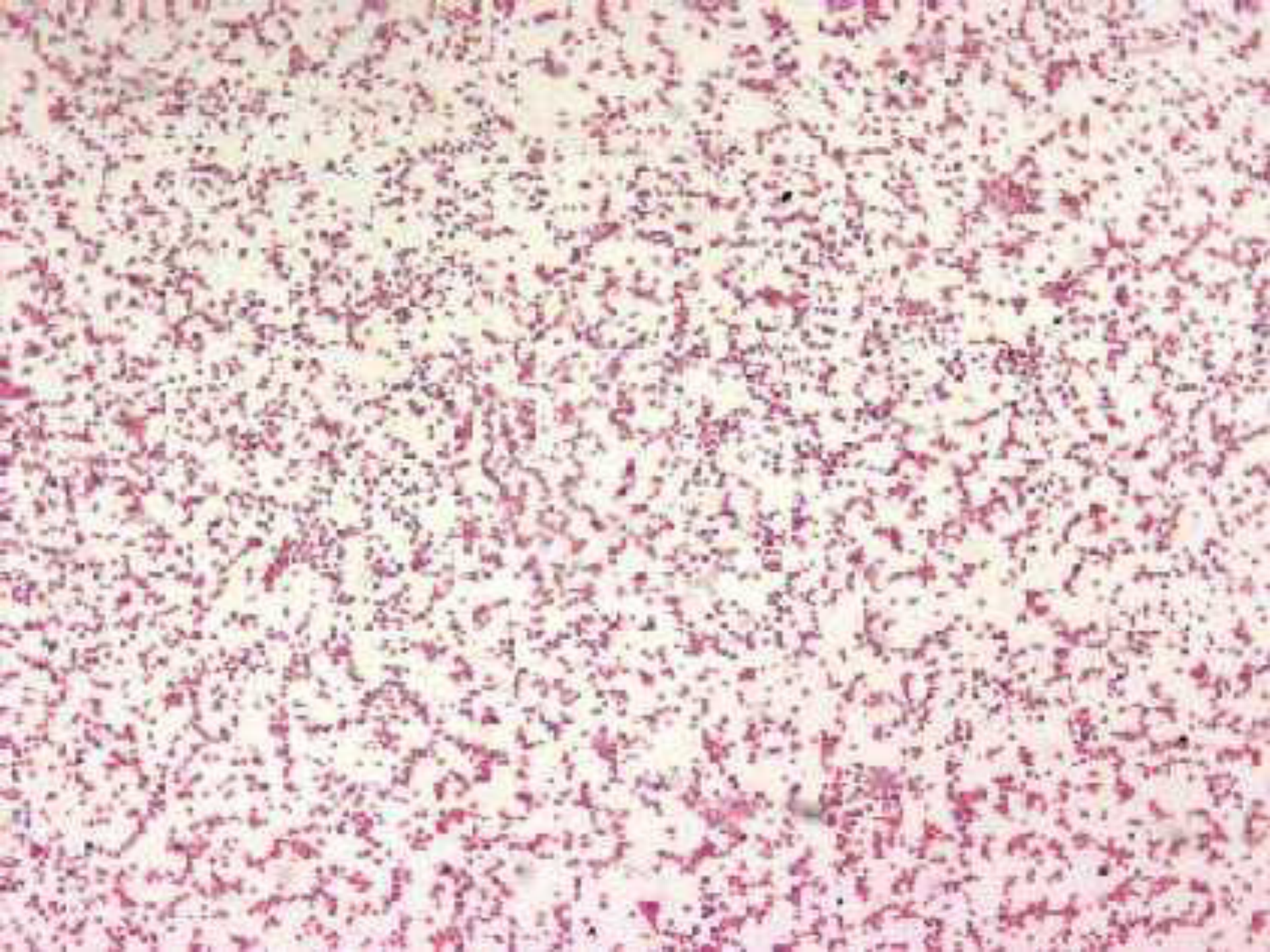
- Direk mikroskopik inceleme
- Bakterinin izolasyonu
- Seroloji
- Moleküler yöntemler kullanılır.

Direk mikroskopik inceleme

Gram boyama



- *Francisella tularensis* Gram'la çok zayıf boyanır.
- İnce, pleomorfik, zayıf boyanan, çoğunlukla tek tek, gram negatif bakteri şeklinde görülür.
- Tahmini tanı için hızlı bir yöntemdir.
- Tanı değeri çok düşüktür.



Bakterinin izolasyonu



- Bakterinin kültürü altın standarttır.
- Enfeksiyonun kesin tanısının konulmasını sağlar.
- Antibiyotik duyarlılığı belirlenebilir.
- Moleküler epidemiyolojinin kaynağını oluşturur.
- Yeni türlerin/alt türlerin keşfini sağlar.



Kültür

- Sıvı besiyerlerinde üretme
- Katı besiyerlerinde üretme
- Achantomoeba kültürü
- Fareye inokülasyon

Kültür

- 35-37°C'de 2-5 günlük inkübasyon sonrası koloni oluştururlar.
- Artmış CO₂ konsantrasyonu bakterinin üremesini stimüle eder.
- *F. tularensis* alt tür *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* için sülfidril bileşiklerine ihtiyaç duyar.
- *F. tularensis* subsp. *novicida* ve *F. philomiragia* daha kolay üreyen bakteriler olup koyun kanlı agar gibi genel üretim besiyerlerinde üretilebilirler.

Kültür



F. tularensis'in;



- Primer ülserlerden,
- Lenf nodu aspiratları ve biyopsilerinden,
- Balgam,
- Kemik iliği ve karaciğer, dalak gibi doku biyopsilerinden üretilmesi mümkündür.



Kültür

- Örnekler işlenene kadar 4-8°C'de saklanabilir.
- Transport için aktif kömürlü Amies taşıma besiyeri önerilmektedir.
- -80°C'de dondurularak transfer bakterinin kültürde üretilme şansını artırmaktadır.



F. tularensis'in Sıvı Besiyerlerinde Üretilmesi

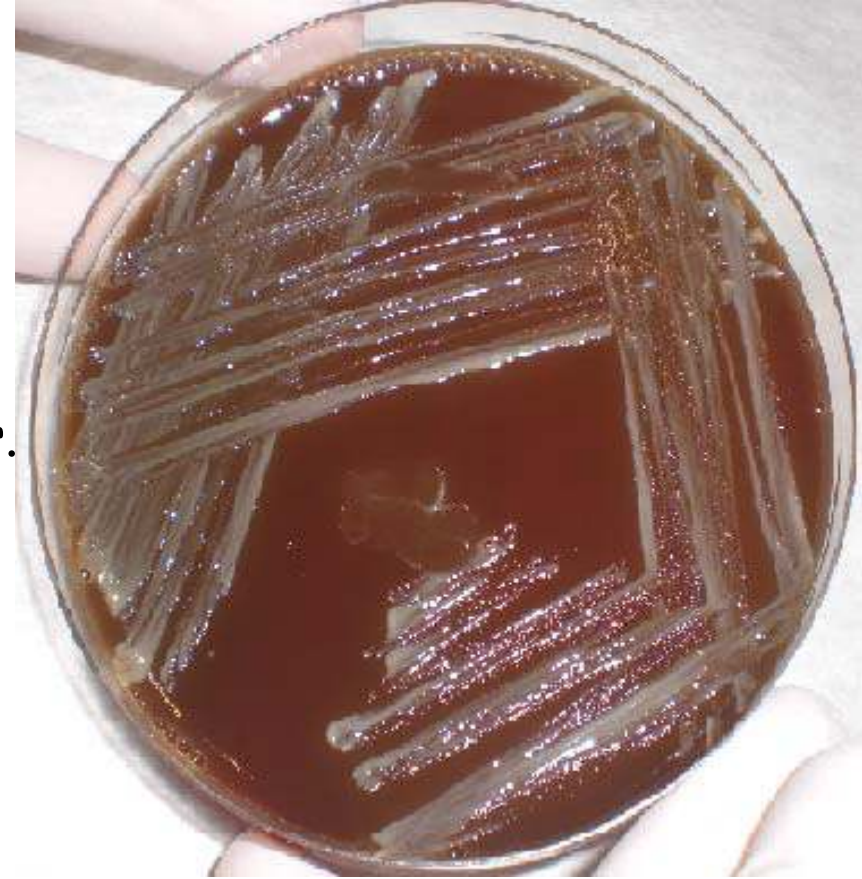
- *F. tularensis* üretilmesinde sıvı besiyerleri optimum üreme ortamları olarak kullanılmaz.
- Sıvı besiyeri olarak;
 - Brain heart infusion (**BHI**)
 - Trypticase soy broth (**TSB**)
 - **Tiyoglukolat** sıvı besiyerleri kullanılabilir.
- Sistein gibi sülfat bakımından zengin kaynakların ilave edilmesi gerekmektedir.

F. tularensis'in Katı Besiyerlerinde Üretilmesi

- Geleneksel olarak sistein-glukoz kanlı agar (**Francis besiyeri**) kullanılır.
- %9 ısıtılmış koyun kanı ilaveli cystein heart agar (**CHAB**)
- Sistein ilaveli zenginleştirilmiş çukulatamsı agar (**ÇA**),
- Buffered charcoal yeast extract (**BCYE**)
- %1 hemoglobin, %1 IsoVitaleX ilaveli **GC agarbase II**
- Thioglycollate-glucose blood agar (**TGBA**) gibi besiyerleri de izolasyon için kullanılmaktadır .

F. tularensis'in Katı Besiyerlerinde Üretilmesi

- CHAB en sık kullanılan besiyerlerinden biridir.
- Floral bölgeden alınan örneklerin antibiyotikli CHAB (CHAB-A) besiyerine ekilmesi önerilmektedir.
 - 7.5 µg/ml kolistin,
 - 2.5 µg/ml amfoterisin,
 - 0.5 µg/ml linkomisin,
 - 4.0 µg/ml trimetoprim,
 - 10 µg/ml ampisilin



Antibiyotik Duyarlılık Testleri

E-test

- Mikroorganizmanın antibiyotiklere karşı duyarlılığı MİK düzeyini saptayacak şekilde belirlenir.
- Besiyeri olarak,
 - Sistinli kalp agar + %10 kan veya + %2 hemoglobin;
 - Glukoz-sistin kanlı agar
 - GC II agar + %1 hemoglobin ve %1 IsoVitaleX besiyerlerinden birisi kullanılır.
- İnokulum için çukulatamsı agardan alınan koloniler broth içinde **McFarland 1** standardında süspansiyon edilir.
- 37°C 'de %5 CO₂ veya normal atmosferde 48 saat inkübe edilir.



F. tularensis için CLSI MIC deęerleri (mg/L)

Antibiyotik Adı	Duyarlı
Ciprofloxacin	≤ 0.5
Chloramphenicol	≤ 8.0
Doxycycline	≤ 4.0
Gentamicin	≤ 4.0
Levofloxacin	≤ 0.5
Streptomycin	≤ 8.0
Tetracycline	≤ 4.0

Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Agar yada broth dilüsyon testleri

- Standardize edilmiş ve DSÖ'ü tarafından önerilen bir besiyeri olmamasına rağmen birçok literatürlerde MİK düzeyini belirlemek için farklı ortamlar kullanılmıştır.
- Modifiye Mueller-Hinton (katyon ayarlı, %0,1 glukoz ve %2 IsoVitale X ilaveli) sıvı besiyeri,
- %2 hemoglobin ilaveli CHAB besiyeri,
- %10 koyun kanı ilaveli CHAB besiyeri,
- %1 hemoglobin %1 Iso Vitale X ilaveli GC II agar,
- İnsan kanlı-sistein-glukoz agar besiyerleri kullanılabilir.

F. tularensis'in Çevresel Örneklerden Üretilmesi

Çevresel örnekler;

- Su
- Toprak
- Çamur
- Hayvan dışkıları veya leşleri

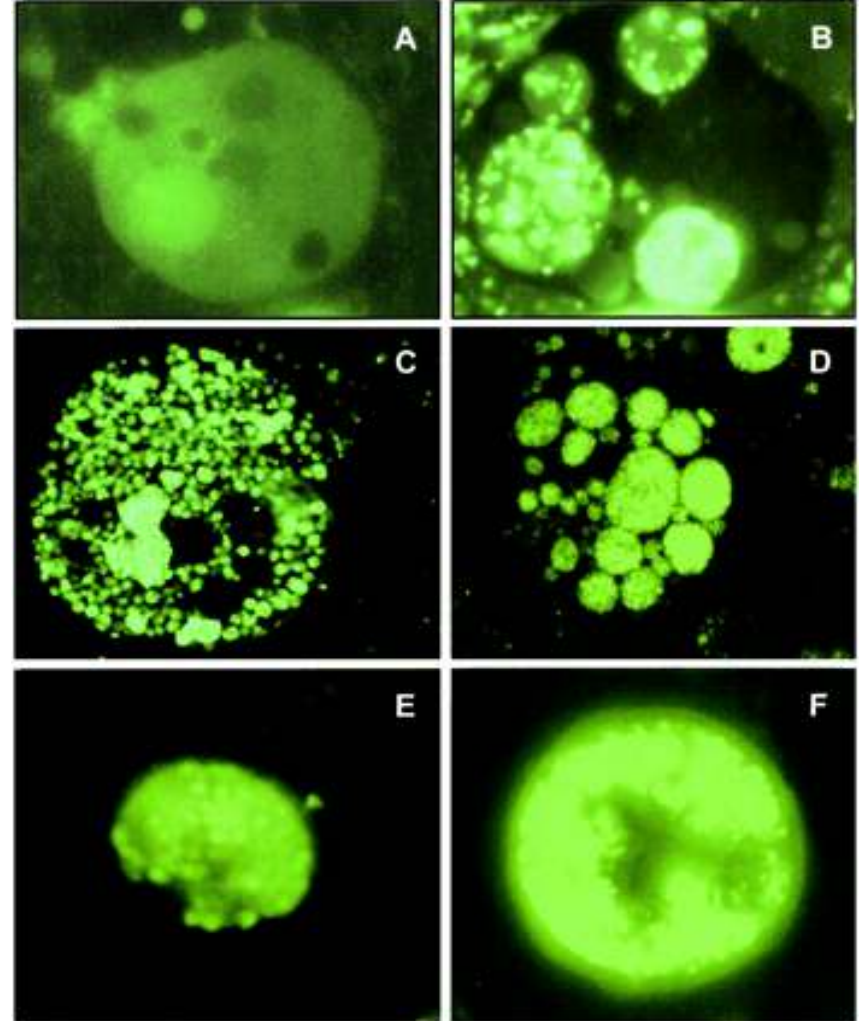
F. tularensis'in Çevresel Örneklerden Üretilmesi

- Su örnekleri por çapı 0.20 µm olan sellüloz asetat membranlardan filtre edilir.
- Membranlar antibiyotikli sistein kalp agara membran ekimi yapılır.
- 37°C, %5 CO₂, 4-10 gün inkube edilir.



Achantamoeba kültürü

- *Achantamoeba castellani* serbest yařayan bir amiptir.
- *F. tularensis* amip içerisinde üreyebilmektedir.



Fare inokulasyonu



- Kontamine örneklerden /kontamine kültürlerden bakterinin izolasyonunda ve saflaştırılmasında kullanılan metotlardan biridir.
- Örnekler serum fizyolojik içinde sulandırılarak fareye 0.1-0.5 ml alt abdomenden subkutan olarak uygulanır.

Fare inokulasyonu



- Fareler 2-3 günden sonra hastalanırlar
- Ölmeden hemen önce kesilerek, karaciğer, dalak gibi dokuları çıkarılır ve besiyerlerine ekilir.



Seroloji

- Serolojik testler tularemi tanısında 50 yıldan beri sürekli ve en sık kullanılan metotlardır.
- Antikor/antijen aranabilir.

Antikor Aranmasına Yönelik Testler

- Antikor yanıtı, enfeksiyonun başlangıcından **iki hafta sonra** oluşmaktadır (%89-95.4).
- Antikorlar 10 yıldan uzun bir süre kalabilirler ve **IgA, IgM** ve **IgG** tipi antikorlar belirlenebilir.
- Antijen olarak ; FopA, LPS, dış membran karbonhidrat-protein fraksiyonu veya inaktive edilmiş tam hücre kullanılır.

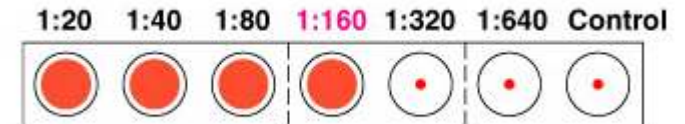
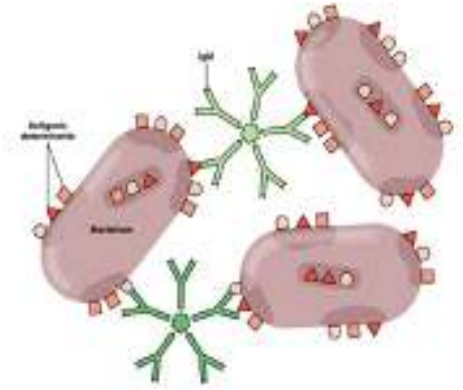
Aglütinasyon yöntemleri

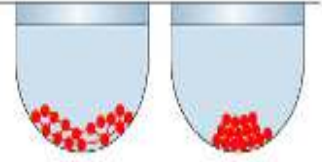
- Tüp aglütinasyon veya mikroaglütinasyon yöntemi kullanılabilir.
- Mikroaglütinasyon testi en sık kullanılan yöntemdir.
- Antijen hazır olarak temin edilebildiği gibi ülkelerin kendi şuşlarından hazırladıkları antijenler de kullanılabilir.

Aglütinasyon yöntemleri

Hastalığı tanımlama kriteri;

- Tek testte $\geq 1:160$ serum titresi veya
- Akut ve konvelesan dönemde alınan örneklerde serum titresinin dört kat artışı
- Mikroagglütinasyon testinde $\geq 1:128$ titre de pozitif olarak kabul edilebilmektedir.
- Seroprevalans çalışmalarında $\geq 1:20$ titre pozitif olarak değerlendirilmektedir.





Mikroaglutinasyon (MA) Testi

Uygun *epidemiyolojik* ve klinik belirti ve bulguların varlığında

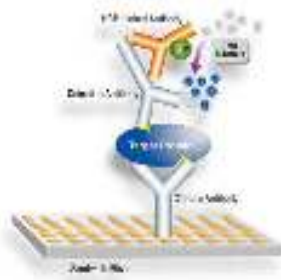
Tek serum örneğinde

- Tüp Aglutinasyon ile $\geq 1:160$
- MA $\geq 1:128$

Akut ve konvelasan örneklerde ≥ 4 kat titre artışı *kesin* tanı kriteri

Antikor yanıtı antibiyotik tedavisinden **etkilenmez...**
Tedaviden sonra **yıllarca** düşük titrelerde (1/20-1/80 gibi) Antikor varlığı saptanır.

ELISA



- Aglütinasyon testlerine göre duyarlılığı ve özgüllüğü daha yüksektir.
- Özellikle epidemiyolojik çalışmalarda ELISA testinin Western blot ile kombine edilmesi önerilmektedir.
- Antijen olarak, LPS özütü kullanılır.

Serolojik testlerin avantajı;

- Uygulamasının kolay olması,
- Semptomların başlangıcından sonra yalancı negatifliğin nadir olmasıdır.

Serolojik testlerin dezavantajları;

- Enfeksiyonun erken fazında yalancı negatif sonuç verebilir.
- Nadir de olsa çapraz-reaksiyon nedeniyle yalancı pozitiflik verebilir (Özellikle *Brucella* sp.).
- Ayrıca daha önce geçirilmiş tularemi enfeksiyonuna bağlı olarak yalancı pozitif sonuçlar olabilir.

Antijen Aranmasına Yönelik Testler

Klinik örneklerde bakterinin direkt tanısında veya üremiş kültürlerde bakterinin teyit edilmesinde kullanılır.

DFA testi

- İnaktive edilmiş tam hücre antiijenlerine karşı oluşmuş ve FITC-işaretlenmiş tavşan poliklonal antikorları kullanılır.
- Örneklerden yada kültürden ince bir preparat hazırlanır. Kurutulur ve üzerini kaplayacak kadar konjugat eklenir.
- DFA testi hızlı ve özgün bir testtir.



Capture ELISA (cELISA)

- Solid bir faz üzerine monoklonal antikolar kaplanır.
- Antijen (*F. tularensis* LPS'i ya da tüm hücre) ile bağlanır.
- Bağlı antijenin peroksidaz ile işaretli antikorun kullanılarak saptanması işlemidir.
- Bu işlem şüpheli kültürlerin ve hayvan dokularında etken varlığının araştırılmasında kullanılır.

- **Lam aglütinasyonu** da izolatların teyidi için hızlı bir tekniktir.
- Formalinle fikse edilmiş dokularda da **İmmunhistokimyasal yöntemle** antijen aranabilir.



- Serolojik yöntemler *F. tularensis*'in her iki alt türünü (tip A ve tip B) saptayabilir.

Moleküler Yöntemler

- *F. tularensis*'in belirlenmesinde çeşitli PCR yöntemleri geliştirilmiştir.
 - Klasik PCR
 - Real Time-PCR
- Bakterinin tanımlanmasında
 - **tul4** (17kD'luk dış membran proteinini kodlar),
 - **fopA** (Dış membran proteinlerini kodlar),
 - **ISFtu2** (Çok sayıda bulunan insersiyon element benzeri bir sekans),
 - **23 kDa gen** (Makrofaj infeksiyonunda eksprese edilen bir proteini kodlar),
 - **16S rRNA gen** bölgeleri hedef olarak seçilmiştir.

Moleküler Yöntemler

- Üç farklı genomik lokusu (ISFtu2, 23 kDa, tul4) hedefleyen **multitarget TaqMan assay** sayesinde bir adet *F. tularensis*'i dahi saptamak mümkündür.
- RT TaqMan-PCR yöntemi ile;
 - Klinik örneklerden (boğaz sürüntüsü, ülseratif lezyonlar, püy, lenf nodu aspiratları gibi) ve
 - Çevresel örneklerden (su, çamur, kene gibi) bakteriyi belirlemek mümkün olmaktadır.

Diğer metotlar

İmmunkromotografik metod

- *F. tularensis* live vaccine strain'e (LVS) ait LPS'e spesifik oluşturulan MAb'lar nitroselüloz membrana aktarılır.
- Üzerine 200 mikrolitre antijen ilave edilir.
- Üzerine anti-*F. tularansis* tavşan serumu eklenir.
- 10^{6-7} bakteri/ml belirleyebilmektedir.

Diğer metotlar

Son çalışmalarda ise ;

- Ülseroglandular tularemili hastalarda Afimetriks mikro dizgeleri ile 14.500 gen araştırılmış,
- Tularemi'nin erken fazında yedi genin belirleyici özelliğinin olduğu tanımlanmıştır.
- Fakat bu konuda çok daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği bildirilmektedir.

SABRINIZ İÇİN ÇOK TEŞEKKÜRLER

