

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANKARA BÖLGESİ KEDİLERİNDE  
BARTONELLA HENSELAE SEROPREVALANSI VE  
İZOLATLARIN PZR İLE BELİRLENMESİ**

Bekir ÇELEBİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof.Dr. Nejat AYDIN

**2007-ANKARA**

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa no
Kabul ve Onay	
İçindekiler	i
Önsöz	iii
Simgeler ve Kısaltmalar	iv
Şekiller ve Resimler	vi
Çizelgeler	vii
<b>1.GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Tarihçe	2
1.2. Etiyoloji	4
1.3. Epidemiyoloji	5
1.4. Patogenez	9
1.5. Semptomlar	10
1.6. Bartonella henselae'nın Zoonotik Önemi	13
1.7. Teşhis	16
1.7.1. Kültür	17
1.7.2. . Moleküler Yöntemler	18
1.7.2.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)	19
1.7.3. Seroloji	20
1.7.3.1 İndirekt Floresan Antikor Tekniği	20
1.8. Sağıltım	21
1.9. Koruma	22
1.10. Amaç	22
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	
2.1. GEREÇ	23
2.1.1. Örneklerin Seçimi ve Toplanması	23
2.1.2. Kullanılan Cihaz ve Gereç Listesi	25
2.1.3. Kullanılan Biyolojik ve Kimyasal Maddeler	26
2.1.4. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar	27
2.2. YÖNTEM	29

2.2.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışması	29
2.2.1.1. Kültür	29
2.2.1.2. Örneklerin İnokulasyonu	29
2.2.1.3. Kan Kültürlerinin Değerlendirilmesi	30
2.2.2. PZR Analizi ile İzolatların DNA'sının Belirlenmesi	30
2.2.2.1. DNA'nın Elde Edilmesi	30
2.2.2.2. PZR Karışımının Hazırlanması	31
2.2.2.3. DNA Amplifikasyonu	32
2.2.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi	33
2.2.2.4.1. Agaroz Jelin Hazırlanması	33
2.2.2.4.2. Elektroforez İşlemi	33
2.2.2.4.3. Boyama ve Görüntüleme İşlemi	33
2.2.3. Restriksiyon Endonükleaz Enzimleri İle RFLP Analizi	34
2.2.4. Seroloji	34
2.2.4.1. IFAT'ın Uygulanışı	35
2.2.4.2. Testin Okunması ve Değerlendirilmesi	35
2.2.5. İstatistik	36
<b>3. BULGULAR</b>	
3.1. Materyal Alınan Kedilerin Değerlendirmesi	37
3.2. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları	37
3.2.1. Kültür Bulguları	37
3.2.2. PZR Bulguları	40
3.2.3. RFLP Bulguları	41
3.2.4. Kültürel ve PZR Muayene sonuçları	43
3.2.5. Serolojik Bulgular	46
<b>4. TARTIŞMA</b>	50
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	56
<b>ÖZET</b>	58
<b>SUMMARY</b>	59
<b>KAYNAKLAR</b>	60
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	70

## ÖNSÖZ

İnsanoğlunun tarihsel süreci içerisinde ilk evcilleşen hayvanlardan biri de kedir. Son yıllara kadar kediler, kırsal ve betonlaşmayan şehirsal alanlarda kemiricilerle mücadelede etkili bir evcil hayvan olarak kullanılmışlardır. Günümüzde ise, şehirleşen ve birbirinden uzaklaşan toplumda insanların en yakın arkadaşı olmuşlardır. Bu samimi ve aynı yaşam ortamını paylaştıran yaklaşım, kedilerden insanlara taşınan toksoplazmozis, kriptosporidium ve kuduz gibi zoonotik hastalıkların insanlarda görülme riskini yükselten bir risk faktörü olarak dikkat çekmektedir. Bu riske bağlı olarak evcil hayvanlar düzenli olarak veteriner hekim kontrolünde olmalıdır.

1950’li yıllardan beri bilinen, fakat etkeni son yıllara kadar belirlenemeyen Kedi Tırmık Hastalığı, kedilerden insanlara taşınan zoonotik hastalıklar arasında yerini almıştır. Son 15 yılda yapılan araştırmalar Kedi Tırmık Hastalığının etkenini tanımlarken, halk sağlığı açısından önemini de ortaya koymuştur. Basit uygulamalar ve risk grubun temkinli yaklaşımı, bu hastalığın insanlara taşınmasını engelleyecek ve kedilerle insanlar arasındaki sıcak ve samimi bağın korunmasını sağlayacaktır.

Bu konuda ülkemizde yapılmış çalışmanın olmaması konuya yeterince ilgi gösterilmemesi veya klinik olarak uyumlu vakaların teşhiste atlanmasından kaynaklanabilir. Bu araştırmada ülkemizde hem beşeri hem de veteriner hekimlikte bu konu ile ilgili yapılacak çalışmalara öncülük etme ve klinik olarak uyumlu vakalarda dikkate alınması gerekliliği vurgulanarak konunun önemi belirtilmeye çalışılmıştır.

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında değerli katkılarında dolayı, danışmanım Prof. Dr. Nejat AYDIN’a, Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Müjgan İZGÜR’e , Prof. Dr. Serdar DİKER’e, Prof. Dr. Hakan YARDIMCI’ ya, Prof. Dr. Ömer ESENDAL’a, Prof. Dr. Jale PARACIKOĞLU’na, Prof. Dr. Mehmet AKAN’a, çalışmam süresince sorumlu olduğu laboratuvarın imkanlarını kullanmama izin veren RSHMB Tüberküloz Referans Lab. Şefi, Başkan yardımcısı Dr. İsmail CEYHAN’a, çalışmama destek olan Salgın Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı Müdürü Dr.Berrin ESEN’e, çalışmamın moleküler bölümünde deneyimlerini esirgemeyen Dr. Gülnur TARHAN’a, materyal sağlamamda gösterdikleri kolaylıklardan dolayı Büyükşehir Belediyesi Evcil Hayvan Kliniği çalışanlarına teşekkür ederim.

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>AIDS</b>	: Acquired Immunodeficiency Syndrome
<b>ATCC</b>	: American Type Culture Collection
<b>BA</b>	: Basiller Anjiomatozis
<b>bç</b>	: Baz çifti
<b>BHI</b>	: Brain Heart Infusion
<b>CFU</b>	: Colony Forming Unit
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>d ATP</b>	: Deoksiadenozin trifosfat
<b>d CTP</b>	: Deoksisitozin trifosfat
<b>d GTP</b>	: Deoksiguanozin trifosfat
<b>d NTP</b>	: Deoksinükleotid trifosfat
<b>d TTP</b>	: Deoksitimidin trifosfat
<b>dk</b>	: Dakika
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asid
<b>EDTA</b>	: Etilendiamintetraasetik asid
<b>ELISA</b>	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
<b>FITC</b>	: Fluorescein isothiocyanate
<b>FIV</b>	: Feline Immunodeficiency Virüs
<b>g</b>	: Gram
<b>HCl</b>	: Hidroklorik asit
<b>HIV</b>	: Human Immunodeficiency Virus
<b>IFAT</b>	: İndirekt fluoressan antikor testi
<b>IgG</b>	: İmmunglobulin G
<b>IgM</b>	: İmmunglobulin M
<b>İD</b>	: İnter Dermal
<b>İV</b>	: İnter Venöz
<b>KCl</b>	: Potasyum klorür
<b>KTH</b>	: Kedi Tırmık Hastalığı (Cat Scratch Disease)

<b>l</b>	: Litre
<b>mg</b>	: Miligram
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	:Magnezyum klorür
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>NaOH</b>	: Sodyum hidroksit
<b>PBS</b>	: Fosfat tampon solüsyonu
<b>pM</b>	: Pikomolar
<b>PZR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase chain reaction)
<b>RFLP</b>	: Restriction fragment length polymorphism
<b>TAE</b>	: Tris-asetik asit-EDTA
<b>Taq</b>	: Thermus aquaticus
<b>VEGF</b>	: Vasküler Endoteliyal Büyüme Faktörü

## ŞEKİLLER VE RESİMLER

	<b>Sayfa</b>
	<b>No</b>
<b>Şekil 1</b> : <i>Bartonella</i> türlerinin eritrosit parazitizm modeli	10
<b>Şekil 2</b> : Çalışmaya Katılan Kedilerin Ankara Genelinde Dağılımı	24
<b>Resim 1</b> : <i>B. henselae</i> 'nın ve <i>B. clarridgeiae</i> 'nin kanlı agarda koloni formasyonu	5
<b>Resim 2</b> : IFAT'ta <i>Bartonella henselae</i> seronegatif ve seropozitif görünüm	36
<b>Resim 3</b> : <i>Bartonella henselae</i> İzolatının Kanlı Agarda R Tipi Koloni Görünümü	38
<b>Resim 4</b> : <i>Bartonella henselae</i> İzolatının Kanlı Agarda Genel Görünümü	39
<b>Resim 5</b> : <i>Bartonella henselae</i> İzolatının Kanlı Agarda Genel Görünümü	39
<b>Resim 6</b> :Gram negatif <i>B. henselae</i> 'nin mikroskopik görünümü	40
<b>Resim 7</b> : <i>Bartonella</i> türlerinin sitrat sentez geninin PZR amplifikasyonu	41
<b>Resim 8</b> : <i>Bartonella spp.</i> İzolatların Taq I endonükleaz enzimi ile RFLP Analizi	42
<b>Resim 9</b> : <i>Bartonella spp.</i> İzolatların Hha I endonükleaz enzimi ile RFLP Analizi	42

## ÇİZELGELER

		Sayfa
		No
<b>Tablo 1</b>	: Kedilerde, <i>Bartonella henselae</i> Prevalansına İlişkin Diğer Ülkelerde Yapılan Epidemiyolojik Çalışma Sonuçları	7
<b>Tablo 2</b>	: Çalışmaya Katılan Kedilerin Yaş ve Barınma Durumuna Göre Dağılımları	37
<b>Tablo 3</b>	: <i>Bartonella</i> spp İzolatlarının Üreme Zamanları ve cfu/ml Değerleri	43
<b>Tablo 4</b>	: <i>Bartonella</i> spp. Yönünden Bakteriyemik Kedilerin Barınma Durumu ve Yaş Dağılımı	45
<b>Tablo 5</b>	: <i>Bartonella henselae</i> Yönünden Bakteriyemik ve Seropozitif Kedilerin Barınma Durumlarına Göre Dağılımı	45
<b>Tablo 6</b>	: <i>B.henselae</i> Yönünden Seropozitif Kedilerin Barınma Durumları ve Yaş Aralıklarına Göre Dağılımı	46
<b>Tablo 7</b>	: <i>B.henselae</i> Yönünden Seropozitif Kedilerde Pozitif Titre Dağılımı	47
<b>Tablo 8</b>	: <i>Bartonella</i> spp. Bakteriyemik Kedilerde <i>Anti-B.henselae</i> IgG Antikoru Titre Dağılımı	47
<b>Tablo 9</b>	: Evle Sınırlı Kedilerde <i>B. henselae</i> Bakteriyemisi ve Seropozitiflik dağılımı	48
<b>Tablo 10</b>	: Kedilerde <i>B.henselae</i> 'nın Cinsiyete Göre Pozitiflik Dağılımı	49



## 1.GİRİŞ

*Bartonella henselae*, kedilerde kronik, nükseden, asemptomatik intraeritrositik bakteriyemiye neden olan bir bakteridir (Zangwill ve ark., 1993; Koehler ve ark.,1994; Kordick ve Breitshwerdt, 1995a, Kordick ve ark.,1995b;, Chomel ve ark., 1995; Abbott ve ark., 1996; Rolain ve ark., 2001). Bu bakteri asıl önemini zoonoz karakterde olmasıyla ortaya koymaktadır. İmmun sistemi yetersiz (AIDS hastalarında) veya baskılanmış (doku transplantasyonu hastalarında) insanlarda, immün sistemi yeterli çocuk, genç erişkinlerde ve yaşlılarda kedi tırmık hastalığına (KTH), basiller anjiomatozise (BA) ve ateşe neden olmaktadır ( Regnery ve ark., 1992c; Welch ve ark., 1992; Zangwill ve ark., 1993; Dolan ve ark., 1993; Koehler ve Tappero,1993; Koehler ve ark., 1997; Tsukahara ve ark., 2000). Kediler, *B. henselae*'yı insanlara taşımada rezervuar konumundadır (Regnery ve ark., 1992b; Koehler ve ark., 1994; Chomel ve ark., 1995; Maruyama ve ark., 1996).

KTH tipik ve atipik form olmak üzere iki formda ortaya çıkar. Tipik formu tırmalama veya ısırma yerinde eritamatöz papül ve takibinde en yakın lenf düğümünde lenfadenopati ile karakterizedir (Dolan ve ark., 1993; Hamilton ve ark., 1995; Barr ve Qui, 2005). Atipik formu nöroretinitis (Breitshwerdt ve Kordick, 1995b; Ormerod ve ark., 1998; Kerkhoff ve ark., 1999; Herz ve Lahey, 2004; Gray ve ark., 2004), endokarditis (Handfield ve ark., 1993; Scola ve ark., 1999; Ghidoni , 2004), ensefalitis (Hamilton ve ark., 1995; Gerber ve ark., 2002), osteomyelitis (Keret ve ark., 1998; Hipp ve ark., 2005) ve hepatitis (Welch ve ark., 1992; Koehler ve Tappero, 1993; Koehler ve ark., 1997) ile karakterizedir.

*B. henselae* geç ve güç üreyen bir bakteri olduğu için izolasyon yöntemlerinde güçlüklerle karşılaşılmaktadır. Ayrıca, identifikasyonda kullanılan biyokimyasal testlerin *B. henselae*'nin identifikasyonuna yardımcı olamaması son yıllara kadar bu türün varlığının ortaya konulması ve üzerinde çalışmalar yapılmasını engellemiştir. Son yıllarda, moleküler tekniklerin gelişmesi birçok yeni Bartonella türlerinin ortaya konulmasına yardımcı olmuştur. Biyomoleküler yöntemlerin

devreye girmesi ile birlikte pratik önem kazanan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile enfeksiyon hastalıklarının tanısında direkt olarak enfeksiyon ajanına ait nükleik asitler gösterilebilmektedir. Aynı zamanda PZR ile çoğaltılan DNA'nın, Restriction fragment length polymorphism (RFLP) analizi ile genusa ait farklı türler de belirlenebilmektedir (Anderson ve Neuman, 1997; Windsor, 2001).

*B. henselae*'nin dünya genelinde kedilerde varlığı yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Ülkemizde *B. henselae*'nin kedilerde seroprevalansına, bakteriyemi prevalansına ilişkin yapılmış bir yayına rastlanılamamıştır, ayrıca beşeri hekimlikte de insanlarda KTH'nın bildirimine ilişkin çok az veriye rastlanılmıştır. Ülkemizde KTH'nın ilk bildiri Tükek ve ark. (2003) tarafından yapılırken, KTH'ni mikrobiyolojik olarak ülkemizde tanısı konulamayan ve dolayısı ile bildirilmeyen bir hastalık olarak tanımlamışlardır. Serolojik olarak tanısı konulan vakanın testi de yurt dışında yaptırılabilmiştir.

## 1.1. Tarihçe

KTH ilk defa 1950 yılında tanımlanmasına rağmen, 1980 li yılların sonuna kadar etiyolojik etkeni belirlenememiştir. 1988 yılında KTH şüpheli 10 hastanın lenf nodüllerinden bir bakteri izole etmişler ve bu bakteri KTH'nın etiyolojik etkeni kabul edilmiştir. KTH basili olarak bilinen etken 1991 yılında *Afipia felis* olarak adlandırılmıştır (Windsor, 2001). Sonraki çalışmalar KTH ile *Afipia felis* arasındaki güçlü bir bağlantıyı teyit etmekte başarısız olmuş ve *Afipia felis*'in KTH'na nadiren neden olabileceği ortaya konulmuştur (Regnery ve ark., 1992c; Bergmans ve ark., 1996 ; Demers ve ark., 1995; Amerein ve ark., 1996; Anderson ve Neuman, 1997; Giladi ve ark., 1998).

Slater ve ark. (1990) HIV pozitif ve uzun süreli ateşli bir hastanın kanından *Rochalimaea* benzeri bir organizmayı izole etmeyi başarmışlardır. Ardından başka hastaların kan ve lenf nodülünden aynı organizma izole edilmiş (Regnery ve ark., 1992a; Dolan ve ark., 1993) ve genetik analizinden sonra yeni bir tür ortaya

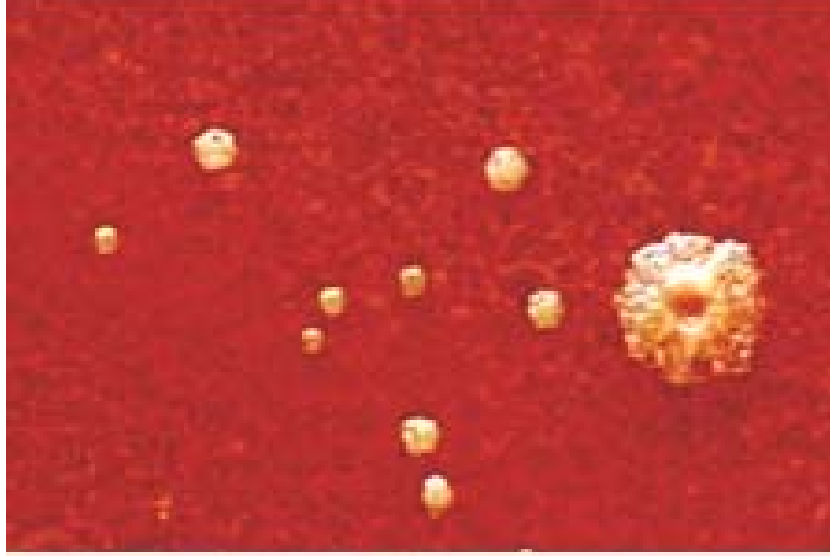
konulmuştur (Slater ve ark., 1990; Welch ve ark., 1991; Regnery ve ark., 1992a). Bu türe, ilk izolasyonunda yoğun çabalarından dolayı Mikrobiyolog Dr. Diane Hansel'in onuruna *Rochalimea henselae* ismi verilmiştir (Regnery ve ark., 1992a; Anderson ve Neuman, 1997). Yapılan yeni sınıflandırmada *Rochalimaea* genusu *Bartonella* genusu ile birleştirilmiş ve *Rochalimaea henselae*, yerine *Bartonella henselae* olarak isimlendirilmiştir (Breitschwerdt ve Kordick, 2000).

Regnery ve ark. (1992c) İndirekt Fluoresan Antikor Tekniği ile KTH'ından şüpheli hastaların serumunda *B. henselae* antijenine karşı antikor varlığını taramışlardır. Hastaların % 88'inde 1/64> titrede *B. henselae* antijenine karşı antikor varlığı belirlenmiştir. Sağlıklı kontrol grubunda ise % 3 gibi düşük oranda prevalans saptanmıştır. Daha ilginç serumlarda *Afipia felis*'e karşı antikor varlığı test edildiğinde pozitif kabul edilmeyen çok düşük titrelerde çok az sayıda serum örneğinde antikor varlığı ortaya konulmuştur. Regnery ve ark. (1992b) ilk defa asemptomatik iki kediden *B. henselae*'yı izole etmişler ve insanlar için evcil kedilerin rezervuar olabileceğini bildirmişlerdir. Zangwill ve ark. (1993) Kedi Tırmığı Hastalarının dahil olduğu çalışmada, hastaların çoğunun bir kedi yavrusuna sahip olduğu ve bunların kedi yavrusu tarafından tırmalandığı veya ısırıldığını belirlemişlerdir. Daha önemlisi hastaların kedilerinin % 81'inde, kontrol grubu kedilerin % 38'inde *B. henselae* antijenine karşı antikor varlığını saptamışlardır. Koehler ve ark. (1994) BA'lı 4 hastaya ait 7 kediden ve aynı zamanda evcil ve yakalanmış kedilerin % 41'inden *B. henselae*'yı izole etmişler ve aynı araştırmacılar insan *Bartonella* infeksiyonları için evcil kedilerin asemptomatik rezervuar olduğunu teyit etmişlerdir. Kordick ve ark. (1995b) KTH tanısı konan 14 hastaya ait 19 kedinin kan kültürünü yapmışlar ve 17(% 89) kedi *B. henselae* yönünden pozitif bulunmuştur. Kontrol grubu kedilerde ise pozitiflik % 28 olarak saptanmıştır. Bu çalışmalarla *B. henselae*'nın KTH etkeni olduğu ortaya konulmuştur.

## 1.2. Etiyoloji

*Bartonella henselae*, Proteobakteria sınıfının  $\alpha_2$  alt grubunda Bartonellaceae familyasının tek genusu olan *Bartonella* genusunda yer alan 22 türden biridir. Bu türlerden *Bartonella bacilliformis* ve *Bartonella quintana* insana özel türlerdir. *B. henselae*, *B. clarridgeiae* ve *B. koehlerae* kedilerde tespit edilen türler olmakla birlikte zoonotik karakterde türlerdir (Jacomio ve ark., 2002; Dehio ve Sander 2003, Paracıkoğlu, 2006).

*B. henselae*, 2 mikron uzunluğunda 0,5–0,6 mikron genişliğinde Gram negatif, kıvrık, pleomorfik, genellikle kokobasil, flagellasız, fakültatif intrasellüler, aerobik ortamı sevmeyen bir bakteridir. Agarda 37 °C de % 5 CO<sub>2</sub> li ortamda üremesinin yanında doku kültüründe ve fetal sıgır serumlu buyyonda da üreyebilir. Agarda üreme hemine bağımlıdır, bunun için agara, defibrinize tavşan, at veya koyun kanı katılmalıdır. Kanlı agarda üreme yavaştır ve hemoliz oluşturmaz, ilk izolasyonda üreme 5–15 günde görülebilir, fakat bazen 45 güne kadar da uzayabilir. Koloni morfolojisi ilk izolasyonda, beyazımsı, kuru, karnabahar görünümünde (Resim-1), agara gömülmüş, kaldırıldığında agarda izi kalan, R tipi koloni görünümü sergilerken, bazen de çiğ damlası gibi, yumuşak, agara gömülme, agar üzerinde kayan S tipli koloni görünümü de sergileyebilir, hatta bu iki form aynı anda aynı kültürde görülebilir. İlk izolasyonda üreme 5-15 günde görülürken sonraki pasajlarda üremenin gözlenmesi 3-5 güne düşmektedir ve koloni morfolojisi S tipi koloniye dönüşmektedir (Slater ve ark., 1990; Regnery ve ark., 1992a; Welch ve ark., 1992; Koneman ve ark., 1997; Zimmerman ve ark., 2002; Paracıkoğlu, 2006). Kanlı agarda *B. henselae* kültürleri karamel kokusuna benzer bir koku üretirler (Slater ve Welch, 2005). Bazı araştırmalarda, *B. henselae*'nin sıvı ortamda motilitesi gözlenmiştir (Slater ve ark., 1990; Welch ve ark., 1992; Welch ve ark., 1993; Kordick ve ark., 1995b). Motiliteyi, elektron mikroskopla görülebilen ince fimbriaların sağladığı düşünülmektedir (Slater ve Welch, 2005). Otoaglutinasyon özelliğinden dolayı bir araya toplanıp kümelenmeler oluşturmaktadırlar. Gram boyamada etken, kümeler halinde Gram negatif kokobasiller şeklinde görülmektedir (Slater ve ark., 1990; Welch ve ark., 1992; Regnery ve ark., 1992a,c).



**Resim-1,** *B. henselae*'nin(büyük) ve *B.clarridgeiae*'nin(küçük) kanlı agarda koloni formasyonu (Dehio ve Sander, 2003)

*B. henselae* izolatları, oksidaz, katalaz, üreaz, indol, dekarboksilaz ve nitrat redüktaz testlerinin de dahil olduğu biyokimyasal identifikasyon testlerinin çoğunda negatiftir (Regnery ve ark., 1992a; Kordick ve ark., 1995b; Koneman ve ark., 1997).

*B. henselae*'nin 16S rRNA gen sekansına göre iki genotipi vardır. *B. henselae* *Houston-I* suşu *B. henselae tip-I*, *B. henselae Marseille* suşu *B. henselae tip-II* olarak adlandırılmaktadır (Bergmans ve ark., 1996; Iredell ve ark., 2002). KTH hastalarından izole edilen suşların çoğu *B. henselae tip-I* olarak belirlenirken, kedilerden izole edilen suşlar değerlendirildiğinde, Avrupa ülkeleri kedilerinden tip-II, Asya ülkeleri kedilerinden tip-I daha çok izole edilmiştir (Heller ve ark., 1997; Maruyama ve ark., 2000; Sander ve ark., 1999; Maruyama ve ark., 2001; Dillon ve ark., 2002; Boulouis ve ark., 2005).

### 1.3. Epidemiyoloji

*B. henselae*'nin dünya genelinde kedilerde en yaygın bir tür olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Tablo-1). Birçok ülkede, kedilerde *B. henselae*'nin

epidemiolojisi üzerine yapılan çalışmalarda iklimsel etkilerin, barınma durumlarının, yaşın, cinsiyetin ve pire enfestasyonunun pozitifliğe etkileri üzerinde durulmuştur. Prevalans çalışmaları, kedilerde *B. henselae* seropozitifliği ve bakteriyemi pozitifliği oranının yaşlar arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır (Chomel ve ark., 1995; Sander ve ark., 1997; Cabassi ve ark., 2002; Guptill ve ark., 2004 ). Cinsiyet ele alındığında bazı araştırmalarda pozitiflik yönünden cinsiyetler arasında farklılıklar bildirilirken bazı araştırmalarda da cinsiyetler arasında farklılık bildirilmemiştir (Sander ve ark., 1997; Glaus ve ark., 1997; Maruyama ve ark., 1998). İklimsel farklılığın kedilerde *B. henselae* pozitifliği etkisine bakıldığında, ılıman ve nemli bölgelerde pozitiflik yüksekken soğuk ve kurak bölgelerde pozitifliğin düştüğü görülmektedir. Bunun nedeni olarak da vektör pirelerin iklimsel etkiler sonucu çoğalma kabiliyetlerinin etkilenmesi olarak açıklanmaktadır (Jameson ve ark., 1995; Chomel ve ark., 1999; Marston ve ark., 1999; Maruyama ve ark., 2000; Maruyama ve ark., 2001; Engvall ve ark., 2003). Kedilerin barınma ve yaşam tarzındaki farklılıklar vektör pire enfestasyonuna yakalanma olasılığını etkilediğinden, kedilerin barınma ve yaşam tarzına bağlı olarak pozitiflik oranlarında da önemli farklılıklar bildirilmektedir (Chomel ve ark., 1995; Heller ve ark., 1997; Arvarnd ve ark., 2001; Maruyama ve ark., 2003).

*B. henselae*'nın kediler arası taşınmasında kedi pireleri (*Cytenocephalides felis*) vektör konumundadır (Foil ve ark., 1998; Kelly, 2004; Shaw ve ark., 2004; Guptill ve ark., 2004). Zangwill ve ark. (1993), KTH'lığının epidemiyolojisi ve risk faktörleri üzerine yaptıkları çalışmada kedi pirelerinin kediler arasında *B. henselae*'yı taşıyabileceklerini bildirmişlerdir. Koehler ve ark. (1994), kedi pirelerinde *B. henselae*'nın DNA'sını belirlerken, Flexman ve ark. (1995) KTH'na yakalanan bir insanın kedisindeki pireden ve kedinin kanından *B. henselae*'yı izole etmişler, kedi tırmalaması ve ısırması hikâyesi olmayan bu hastada etkeni kedi pirelerinin taşıyabileceğini bildirmişlerdir. Higgins ve ark. (1996), *B. henselae*'yı kedi pirelerinin bağırsağında barındırdığını ve dışkısı ile yaydığını ortaya koymuşlar ve ardından Chomel ve ark. (1996), deneysel yapılan bir çalışma ile *B. henselae*'nın kediler arasında taşınmasında kedi pirelerinin vektörlüğünü saptamışlardır.

**Tablo-1, Kedilerde, *Bartonella henselae* Prevalansına İlişkin Diğer Ülkelerde Yapılan Epidemiyolojik Çalışma Sonuçları**

ÜLKE	KEDI POPULASYONU	BAKTERİYEMİ PREVALANSI %	SERO PREVALANS %	KAYNAKLAR
<b>Fransa</b>				
<i>Paris</i>	Ev kedileri	15,3	41,1	<i>Gurfield ve ark. (2001)</i>
<i>Nancy</i>	Sokak kedileri	37,2		<i>Heller ve ark. (1997)</i>
<b>Almanya</b>				
<i>Berlin</i>	Ev kedileri	1		<i>Arvand ve ark. (2001)</i>
	Sokak kedileri	18,7		
<i>Freiburg</i>	Ev kedileri	13		<i>Sander ve ark. (1997)</i>
<b>Hollanda</b>	Barınak kedileri	22	50	<i>Bergmans ve ark.</i>
	Ev kedileri		56	<i>(1997a)</i>
<b>Çek Cumhuriyeti</b>	Ev kedileri	0		<i>Melter ve ark. (2003)</i>
	Barınak kedileri	5		
	Sokak kedileri	66,6		
<b>Danimarka</b>	Ev kedileri	18,2		<i>Chomel ve ark. (2002)</i>
	Barınak kedileri	26,5		
<b>İngiltere</b>				
<i>Farklı bölgeler</i>	Ev Kedileri		40,6	<i>Barnes ve ark. (2002)</i>
	Sokak Kedileri		41,8	
<i>Liverpool</i>	Ev Kedileri	11,4		<i>Laycock ve ark. (2001)</i>
<i>Bristol</i>	Ev Kedileri	9,4		<i>Birtles ve ark. (2002)</i>
<b>Portekiz</b>	Ev Kedileri		6,7	<i>Childs ve ark. (1994)</i>
<b>İsveç</b>	Ev kedileri	2,2		<i>Engvall ve ark. (2003)</i>
<b>İsviçre</b>	Ev kedileri		8,3	<i>Glaus ve ark. (1997)</i>
<b>İtalya</b>	Sokak kedileri	18	38	<i>Fabbi ve ark. (2004a)</i>
<i>Kuzey İtalya</i>	Ev kedileri	9,7		<i>Cabassi ve ark. (2002)</i>

**Tablo-1- Devamı, Kedilerde, *Bartonella henselae* Prevalansına İlişkin Diğer Ülkelerde Yapılan Epidemiyolojik Çalışma Sonuçları**

ÜLKE	KEDİ POPULASYONU	BAKTERİYEMİ PREVALANSI %	SERO - PREVALANS %	KAYNAKLAR
<b>Japonya</b>	Ev Kedileri	9,1	9,1	<i>Maruyama ve ark.(1998)</i>
				<i>Maruyama ve ark.(1996)</i>
		6,5		<i>Maruyama ve ark.(2000)</i>
				<i>Maruyama ve ark.(2003)</i>
<b>Tayland</b>	Ev Kedileri	24,3		<i>Maruyama ve ark.(2001)</i>
<b>Y. Zelanda</b>	Ev Kedileri	17		<i>Joseph ve ark.(1997)</i>
<b>Endonezya</b>	Sokak kedileri	43	54	<i>Marston ve ark.(1999)</i>
<b>Filipinler</b>	Ev Kedileri	54,8	68	<i>Chomel ve ark.(1999)</i>
<b>Mısır</b>	Ev kedileri		12	<i>Childs ve ark.(1995)</i>
<b>İsrail</b>	Ev kedileri		39,5	<i>Baneth ve ark.(1996)</i>
<b>Ürdün</b>	Ev kedileri		36	<i>Boulouis ve ark.(2005)</i>
<b>A.B.D.</b>				
<i>Farklı bölgeler</i>	Ev Kedileri		28,2	<i>Childs ve ark.(1995)</i>
<i>California</i>	Ev kedileri	21,4		<i>Chomel ve ark.(1995)</i>
	Sokak Kedileri	61,3		
	Total	39,5	81	
<i>Kuzey Florida</i>			33,6	<i>Luria ve ark.(2004)</i>
<i>Kuzey Carolina</i>			40,4	<i>Baneth ve ark.(1996)</i>
<i>California</i>	Ev kedileri	28	62	<i>Guptill ve ark.(2004)</i>
<i>Florida</i>	Ev kedileri	33	67	<i>Guptill ve ark.(2004)</i>
<i>Chicago</i>	Ev kedileri	6	12	<i>Guptill ve ark.(2004)</i>
<i>Washington</i>	Ev kedileri	12	28	<i>Guptill ve ark.(2004)</i>
<b>Jamaika</b>	Ev Kedileri	19,3	60	<i>Messam ve ark.(2005)</i>

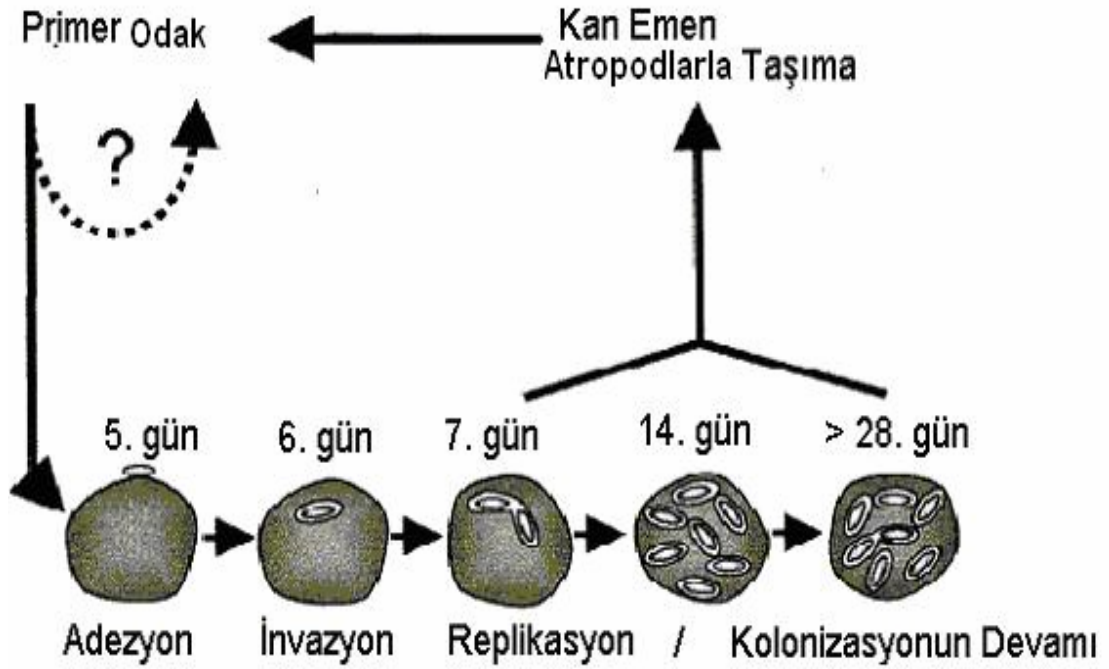


*B. henselae* ile enfekte kedi pirelerinin dışkıları deneysel olarak kedilere intradermal inoküle edildiğinde, kedilerde bakteriyeminin geliştiği gözlemlenmiş ve pire dışkılarının ağızdan verildiğinde de ne bakteriyemi geliştiği ne de serokonversiyon gözlemlendiği bildirilmiştir (Foil ve ark., 1998; O'reilly ve ark., 1999).

Pirelerin çoğalmalarını ve yaşamalarını etkileyen en önemli unsurlar rölatif nem ve sıcaklıktır. Bu doğrultuda rölatif nemin yüksek olduğu ılıman iklim şartlarında kedi pirelerinin yoğun enfestasyon oluşturduğu kedilerde *B. henselae* prevalansının da yüksek olduğu, çok sıcak ve çok soğuk bölgelerde de *B. henselae* prevalansının da düşük olduğu ortaya konulmuştur (Jameson ve ark., 1995; Maruyama ve ark., 2000). Kedi piresinin mekanik veya biyolojik vektör olduğunun açık olmadığı bildirilmektedir (Jacomino ve ark., 2002). Sanogo ve ark. (2003) İtalya'da, insanlardan topladıkları 271 keneden, *Ixodes ricinus* türü dört kenede *B. henselae*'nin DNA'sını belirlemişler ve *B. henselae*'nin taşınmasında kenelerin rolünün daha fazla araştırılması gerektiğini vurgulamışlardır.

#### **1.4. Patogenez**

*B. henselae*, kedilerde intraeritrositik yerleşim gösterir (Kordick ve Breitschwerdt, 1995a; Mehock ve ark., 1998; Rolain ve ark., 2001). İlk olarak Kordick ve Breitschwerdt (1995a), elektron mikroskop ile bakteriyemik kedilerin eritrositlerinde *B. henselae*'yi göstermişlerdir. Etkenin bir kedide eritrositlerin % 2,9'unda yerleşim gösterirken diğer bir kedide % 6,2'sinde yerleşim gösterdiğini ve kedilerde etkenin hem hücre çeperinde hem de hücre dışında gözlenemediğini bildirmişlerdir. Rolain ve ark. (2001), da direkt immunfluoresan metodu kullanarak kan sürme preparatında *B. henselae*'nin intraeritrositik lokalizasyonunu teyit etmişlerdir. Mehock ve ark. (1998) invitro olarak *B. henselae*'nin kedi eritrositlerine invazyonunu gösterirken, eritrositlerin % 1'inden azına etkenin yerleşimini belirlemişlerdir.



Şekil -1, Bartonella türlerinin eritrosit parazitizm modeli (Schüleın ve ark., 2001)

Schüleın ve ark. (2001), yaptıkları çalışma ile *Bartonella* türleri için bir eritrosit parazitizm modeli önermişlerdir (Şekil-1). Bu çalışmada, ratlara spesifik olan, yeşil floresan parıltı veren bir protein bulunduran, rekombinant *Bartonella tribocorum-gfp* kullanılmıştır. Bakterinin eritrositlere adezyonuna, invazyonuna ve eritrosit içinde replikasyonuna ilişkin bilgiler sunulmuştur.

### 1.5. Semptomlar

*B. henselae*, doğal enfekte kedilerde uzun süreli, asemptomatik (Zangwill ve ark., 1993; Koehler ve ark., 1994; Breitshwerdt ve Kordick, 1995b, Jameson ve ark., 1995; Kordick ve ark., 1995b; Childs ve ark., 1995; Chomel ve ark., 1995; Sander ve ark., 1997), nükseden (Abbott ve ark., 1996; Yamamoto ve ark., 2002) bakteriyemiye neden olduğu bildirilse de asemptomatik bakteriyemi konusunda bildirimler arasında tam bir uyumluluk bulunmamaktadır ve deneysel enfeksiyonlarda bazı semptomlar bildirilmiştir (Guptill ve ark., 1997; Kordick ve Breitshwerdt, 1997a, ).

İsviçre’de, sağlıklı ve hasta 728 kedinin dahil olduğu seroepidemiolojik çalışmada, sağlıklı kediler ile hasta kediler arasında seroprevalans yönünden önemli bir farklılık gözlenmemesine rağmen, stomatitis ve üriner sistem hastalıkları gözlenen kedilerde *B. henselae* seropozitifliği yönünden pozitif bir korelasyon bildirilmektedir (Glaus ve ark., 1997). Japonya’da 170 kedinin dahil olduğu seroepidemiolojik çalışmada kedilerde hem *feline immunodeficiency virüs (FIV)* hem de *B. henselae* antijenine karşı antikor varlığı test edilmiş, her iki etkenin serolojik bulguları ile kedilerde gingivitis ve lenfadenopati’nin insidensinde önemli bir artış gözlenmiştir. *FIV*’in  $CD4^+$  lenfositlerinde ileri derecede düşümlere sebep olması nedeniyle, immun yetmezliği olan kedilerde *B. henselae* ile oluşan koenfeksiyonlar, spesifik hastalık belirtilerini artırabilir görüşü ortaya konulmuştur (Breitesherdt ve Kordick, 2000).

İmmun sistemi yeterli olan anteriör uveitis tanılı bir kedinin göz kamarası sıvısında *B. henselae* antijenine karşı antikorun belirlenmesi ile *Bartonella* türlerinin kedilerde uveitis yapabileceği düşünülmüştür (Lappin ve Black, 1999). Ardından yapılan karşılaştırmalı deneysel çalışmada, 49 üveitisli kedinin yedisinin, deneysel enfekte 9 kedinin dördünün göz kamarası sıvısında oküler anti-*Bartonella* IgG üretimi belirlenirken, sağlıklı kedilerin hiçbirinde oküler anti-*Bartonella* IgG üretimi belirlenmemiştir (Lappin ve ark., 2000). Üveitis, konjunktivitis, korioretinis, keratit ve korneal ülser tanılı 1649 kedide yapılan serolojik çalışmada, *Bartonella* prevalansı % 53 bulunmuş ve *Bartonella* türlerinin kedi göz hastalıkları için etiyolojik etken olabileceği açıklanmıştır (Ketring ve ark., 2004).

Kan kültürü negatif, *Bartonella* antikor titresi yüksek bir kedinin öldükten sonra yangılı aort kapağında *B. henselae* DNA’sı belirlenerek, bir kedide ilk defa *B. henselae* endokarditis vakası bildirilmiş ve kedilerde uzun süreli *Bartonella* enfeksiyonunun kronik etkilerinin daha fazla araştırılması önerilmiştir (Chomel ve ark., 2003).

Kedilerde, *B. henselae* suşları ile yapılan deneysel çalışmalarda ise değişik klinik semptomlar gelişmiştir. Rapor edilen semptomlar ateş, lenfadenopati, durgunluk, uyuşukluk, inokülasyon bölgesinde eritamatöz şişlik, hassasiyet ve apseleşme, nörolojik fonksiyon bozukluğu, çevresel uyarılara karşı duyarsızlık,

titreme, kasılma ve reproduktif yetersizliktir (Guptill ve ark., 1997; Kordick ve Breitcshwerdt, 1997a, Guptill ve ark., 1998; Oreilly ve ark., 1999; Yamamoto ve ark., 2002). Kordick ve ark. (1999),’nın yaptıkları deneysel çalışmada kedilerde nekroskobik bulgu gözlenmezken, minimal klinik semptomların yanında, lenf nodüllerinde, karaciğerde, kalp ve böbrekte histopatolojik bulgular saptanmıştır. Guptill ve ark. (1997), ise bir kedide karaciğer apsesi gözlediklerini bildirmişlerdir.

Deneysel çalışmalarda farklı suşlar, farklı inokülasyon materyali ve yolları kullanılmıştır. Bu farklılıklara bağlı olarak bakteriyeminin gelişmesi ve devam süresi konusunda farklılıklar ortaya konulmuştur. Abbott ve ark. (1997), inokülasyon yolu olarak intradermal (İD) ve intravenöz (İV) yol kullanmışlar ve İD inokülasyon ile 8 kedinin 8’inde bakteriyemi gelişirken, İV inokülasyon ile 16 kediden 2’sinde bakteriyemi geliştiğini gözlemişlerdir. Bu kedilerde bakteriyemi süresi en fazla 8 ay gözlenirken, doğal infekte bir kedide 24 aylık bir bakteriyemi süresi gözlemişlerdir. Kedilerde gözlenen bakteriyemi süresine ilişkin 454 gün, 213 gün, 32 hafta, 7 hafta, 12 ay gibi zaman süreleri çalışmalarda bildirilmiş (Kordick ve ark., 1995b; Greene ve ark., 1996; Kordick ve Breitcshwerdt, 1997a; Guptill ve ark., 1997; Kordick ve ark., 1999), bu zaman sürelerinin farklılığının çalışmalarda kullanılan suşlara bağlı olduğunu Yamamoto ve ark. (2002), ortaya koymuş ve yaptıkları çalışmada kediden izole edilmiş *B. henselae tip I* suşu ile insandan izole edilmiş *B. henselae Houston I* suşunu kedilerde deneysel olarak karşılaştırılmıştır. *B. henselae tip I* kedi suşunun inokülasyonundan hemen sonra kedide ateş gözlendiği ve ortalama 237 gün süren ve nükseden bakteriyemi gelişirken, *B. henselae Houston I* suşunun inokülasyonundan sonra kedide ateş görülmediği ve ortalama 60 gün süren bakteriyemi geliştiği bildirilmiştir.

Bakteriyemik kedilerin kendiliğinden bakteriyemiden kurtulduğu, iyileşen kedilere tekrar etken inoküle edildiğinde direnç geliştiği ve bakteriyeminin oluşmadığı yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Kedilerde deneysel yapılan çalışmalarda, horizontal ve vertikal bulaşmanın olmadığı, pozitif annelerin yavrularında maternal antikoru 18 yavrunun 4’ünde belirlendiği ve 6 hafta sonra kaybolduğu bildirilmiştir ( Greene ve ark., 1996; Abbott ve ark., 1997; Guptill ve ark., 1998).

### 1.6. *Bartonella henselae*'nin Zoonotik Önemi

Kedilerde bulunan Bartonella türleri olan *B. henselae*, *B.clarridgeiae* ve *B.koehlerae* zoonotik karakterde türlerdir. *B. henselae*'nin insanlardan kültür yöntemi ile izolasyonu, serolojik yöntemlerle antikor varlığı ortaya konulurken, *B.clarridgeiae*'nin insanlarda izolasyonu henüz yapılamamış sadece KTH hastalarında antikor varlığı ortaya konulmuş ve KTH'nin muhtemel diğer bir etkeni olarak değerlendirilmiştir (Kordick ve ark.1997c). *B.koehlerae* ise endokarditisli bir hastada moleküler yöntemler ile belirlenmiştir (Avidor ve ark.2004).

Kediler, *B. henselae*'nin insanlara taşınmasında rezervuar konumundadır (Regnery ve ark., 1992b; Koehler ve ark., 1994; Chomel ve ark., 1995; Maruyama ve ark., 1996). Kedilerden insanlara *B. henselae*'nin taşınması, genellikle, kedi tırmalaması ve ısırması ile olurken muhtemelen kedi pireleri tarafından indirekt de olabilmektedir (Zangwill ve ark., 1993; Flexman ve ark., 1995; Koehler ve ark., 1997).

Kedi pireleri, *B. henselae*'yi bağırsaklarında barındırmakta ve dışkıları ile etkeni yaymaktadırlar ve kediler arasında enfeksiyonu taşımaktadırlar. Pire dışkısı ile kontamine tırnakların, tırmalama sırasında veya kedilerin kendilerini yalamaları sırasında pire dışkıları dış aralarına yerleşerek ısırma sırasında enfeksiyonu insanlara taşıma ihtimalini yükseltmektedir (Mehock ve ark., 1998). Sander ve ark. (1997), dişeti svaplarında etkeni belirleyemezken, Koehler ve ark. (1994), salyanın dış hastalıklarında, kanama sonucu kontamine olabileceğini de bildirmişlerdir.

*B. henselae* insanlarda, KTH'na (Regnery ve ark., 1992c; Zangwill ve ark., 1993; Dolan ve ark., 1993; Kordick ve ark., 1995b), basiller anjiomatozise (Welch ve ark., 1992; Koehler ve Tappero, 1993; Tappero ve ark., 1993; Tompkins ve Steigbigel, 1993; Tompkins 1996; Koehler ve ark., 1997) bakteriyemiye ve uzun süreli ateşe (Welch ve ark., 1992; Welch ve ark., 1993; Tsukahara ve ark., 2000; Tsujino ve ark., 2004) neden olmaktadır. KTH tipik ve atipik form olmak üzere iki formda ortaya çıkar. Tipik formu tırmalama veya ısırma yerinde eritamatoz papül ve en yakın lenf düğümünde lenfadenitle karakterizedir (Dolan ve ark., 1993; Hamilton ve ark., 1995; Barr ve Qui, 2005). Tırmalama veya ısırma yerinde 3–10 gün içinde

0,5–1 cm çapında ağrısız eritamatöz papül veya püstül gelişir, genellikle, papül veya püstül iz bırakmadan 2–3 hafta içinde iyileşir. Vakaların % 80'inden fazlasını bölgesel lenfadenit takip eder ve lenfadenitlerin % 10'u suppurativ karakterdedir. 1–7 hafta içinde en yakın lenf düğümü büyür, hassaslaşır ve lenfadenit gelişir. Lenfadenit 2–4 ay veya daha fazla devam eder (Windsor, 2001; Slater ve Welch, 2005). Konakçının immun sistemi yeterli ise kendiliğinden iyileşir fakat immun sistemi yetersizse ( AIDS hastaları gibi) generalize lenfadenopati gelişebilir (Peter ve ark., 1994).

KTH'nın atipik formu nöroretinitis (Ormerod ve ark., 1998; Herz ve Lahey, 2004; Gray ve ark., 2004; Kerkhoff ve ark., 1999; Breitschwerdt ve Kordick, 1995b), endokarditis (Handfield ve ark., 1993; Scola ve ark., 1999; Ghidoni , 2004), ensefalitis (Hamilton ve ark., 1995; Gerber ve ark., 2002), osteomyelitis (Keret ve ark., 1998; Hipp ve ark., 2005) ve hepatitis (Welch ve ark., 1992; Koehler ve Tappero, 1993; Koehler ve ark., 1997) ile karakterizedir. KTH'nın atipik formunun en yaygın şekillerinden biri, kedi ile temas sonrası gözlerin ovulması veya direk inokülasyonla gelişen oküler yerleşimdir. KTH hastalarının % 6'sında konjunktivitis tanımlanmıştır. Diğer oftalmik bildirimler panüveitis, subakut orbital apseler, korioiditis, optik sinir büyümesi, retinal arter tıkanması ve peripapiller anjiomadır. Son zamanlarda vakaların % 25'ni KTH'nın atipik formunun oluşturduğu bildirilmiştir (Windsor, 2001).

Hastaların yaklaşık % 30'unda keyifsizlik ve düşük ateş, % 5 inde, çoğunlukla çocuklarda isilik, hepatosplenomagali, kemik erime lezyonları ve derin lenfadenitis gibi komplikasyonlar görülebilir. KTH vakalarının % 1-2'sinde nöroretinitis ve % 1-7'sinde nörolojik semptomlar görülmekte ve hastalığın en sık nörolojik semptomunun da ensefelopati olduğu bildirilmektedir (Anderson ve Neuman, 1997; Jacomo ve ark., 2002).

KTH, klinik olarak lenfograduloma, lenf nodülü metastazlı lenfoparenşial kanser ve tüberküloz lenfadeniti ile karışabilmektedir. Hem immun sistemi yeterli hem de HIV infekte hastalarda sistemik KTH rapor edilmiştir (Windsor 2001).

Tsukahara ve ark. (2000), bir hastada uzun süreli nedeni bilinmeyen bir ateş varsa ve özellikle kedi ve köpek sahibi veya kedi ya da köpek teması var ise, lenfadenopatiye bakılmaksızın *B. henselae* enfeksiyonunun düşünülmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

BA, vasküler endotelial dokunun proliferasyonudur. Kedilerin tırmalaması ve ısırması ile insanlara geçen etken eritrositlere yerleşmeyip damar endotelial hücrelerine yerleşmektedir. Burada *B. henselae* bir anjiogenik faktör artırımına yol açmaktadır. *B. henselae* tarafından salınan bu faktörün bakteriyel invazyondan bağımsız olarak endotelial hücre proliferasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. *B. henselae* tarafından Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) üretildiği ve VEGF'nin *B. henselae* üremesini ve endotelial hücre üremesini stimüle ettiği gösterilmiştir. *B. henselae* yeni hücre formasyonunu teşvik etmekle kalmamakta hem de enfekte hücrelerin apoptozisini de önlemektedir (Greub ve Raoult, 2002, Dehio ve Sander, 2003).

Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir epidemiyolojik çalışmada yılda yaklaşık 24000 KTH vakası tespit edilmiştir. Bunların % 10'u hastanede tedavi gerektirmiş ve KTH'nin maliyetinin yılda yaklaşık 12 milyon dolar olduğu bildirilmiştir (Anderson ve Neuman, 1997). Bergmans ve ark. (1997a), Hollanda'da yılda yaklaşık 2000 KTH vakası olduğunu bildirmişlerdir.

KTH vakalarının yaş dağılımına bakıldığında, Sander ve ark. (1999), vakaların % 50'sinin 20 yaş altı, % 33'ünün 21–40 yaş arası % 17'sinin 41–84 yaş arasında olduğunu bildirirken, Hamilton ve ark. (1995), vakaların % 43'ünün 21 yaş üstü, % 57'sinin 21 yaş altı olduğu ve 21 yaş altı grupta da 10 yaş altı çocukların oranının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Reynolds ve ark. (2005), KTH'dan tedavi gören çocuklar arasında yaptıkları epidemiyolojik çalışmada; hastalığın yıl içerisinde dağılımında Temmuz ve Kasım ayları arasında yükseliş görüldüğünü ve Amerika Birleşik Devletleri'nde çocuklarda KTH'nin yıllık maliyetinin 3 milyon dolar olduğunu bildirmişlerdir.

Kedilerle ilişkili sağlıklı kan donörlerindeki seroprevalans aralığının ABD'de % 2–6 (Breitshwerdt ve Kordick, 2000), İsveç'te % 4 (Holmberg ve ark., 1999), Avustralya'da % 5 (Iredell ve ark., 2002) olduğu bildirilmiştir.

Güney Afrika'da bir AIDS kliniğine gelenlerin % 10'unun kanında *B. henselae* belirlenirken (Frean ve ark. 2002), HIV enfekte hastaların, Japonya'da % 9,6'sında, Bahreyn'de % 16'sında *B. henselae* IgG seropozitifliği bulunmuştur (Tsukahara ve ark., 1999).

Kikuchi ve ark. (2002) Japonya'da yaptıkları serolojik çalışmada KTH şüpheli hastalarda *B.henselae*'ya spesifik anti-*B.henselae* IgG pozitifliğini % 39,6, IgM pozitifliğini % 8,3, kalp-damar hastalarında IgG pozitifliğini % 3,1 ve veteriner fakültesi öğrencilerinde IgG pozitifliğini % 10,9, IgM pozitifliğini % 0,8 olarak bulmuşlardır. Veteriner hekimlerin, veteriner teknisyenlerinin ve veteriner kliniği çalışanlarının dahil olduğu iki seroprevalans çalışmasında *B. henselae* antijeni için seroprevalansın ABD'de % 7,1 (Naoh ve ark., 1997) ve Avrupa'da % 5,1 (Breitshwerdt ve Kordick, 2000) olduğu bildirilmiştir.

### 1.7. Teşhis

Doğal enfekte kediler genelde asemptomatik klinik seyir sergilediklerinden kedilerin pozitifliğinin belirlenmesi seroloji, kültür ve moleküler tekniklerle olmaktadır. Kedilerin enfeksiyonu geçirmesinden uzun süre sonra dahi serum antikor titreleri pozitif düzeyde kalabilmekte ve bu nedenle tek başına serolojik çalışma ile kedide antikor varlığının belirlenmesiyle kedinin etkeni taşıdığı anlamı çıkmayabilmektedir. Bakteriyemik bir kedide enfeksiyonun başlangıcında antikor yanıtı hemen gelişmediği gibi ayrıca kedide, bağışıklık sisteminin baskılanmasına neden olan bir enfeksiyonun olması immun yanıtı geciktirebilmekte ve/veya düşük yoğunlukta bakteriyemik olan kedilerde antikor yanıtı belirlenemeyecek seviyede kalabilmektedir. Buna bağlı olarak da her zaman, seronegatif olan kedinin de etkeni taşımadığı anlamı çıkmamaktadır (Chomel ve ark., 1995; Bergmans ve ark.1997a; Guptill ve ark., 2004).



Kedilerde nükseden bir bakteriyeminin gelişmesi, kültürü negatif olan serolojisi pozitif olan bir kedinin enfeksiyonu geçirmiş olduğu ve bundan sonra etkeni bulundurmayaacağı sonucuna şüphe ile yaklaşılmasını sağlamaktadır. Kedilerde pozitifliğin belirlenmesinde seroloji ve kültürün beraber çalışılmasının, sonucu güçlendirdiği ileri sürülmektedir (Abbott ve ark., 1996; Yamamoto ve ark., 2002).

Kedilerden izole edilen *Bartonella* şüpheli izolatların biyokimyasal testlerin çoğunda negatif sonuç vermesi, biyokimyasal testlerle tür tayini yapılmasını engellemekte ve sonucu olası *Bartonella spp.* düzeyinde bırakmaktadır. Bu nedenle tür tayini belirlenmesinin moleküler teknikler yardımı ile yapılması gerektiği ileri sürülmektedir (Koneman ve ark., 1997; Regnery ve ark., 1992a; Kordick ve ark., 1995b).

### 1.7.1. Kültür

*B. henselae*'nin spesifik konakçısında intraeritrositik olması, kedilerde kanı kültür materyali olarak ön plana çıkarmıştır. Bakterinin hemine bağımlı olması kullanılan agara % 5–7 tavşan kanı, koyun kanı veya at kanı eklenmesini gerektirmektedir. Besiyeri olarak Kalp İnfüzyon agar, Kolumbiya agar, Triptik Soy agar, Müller Hinton agar, çikolata agar kullanılabilir (Maruyama ve ark., 1996; Sander ve ark., 1997; Heller ve ark., 1997; Maruyama ve ark., 2001; Jacamo ve ark., 2002; Jonhson ve ark., 2003; Melter ve ark., 2003)

*B. henselae* kedilerin eritrosit ve lökositlerinin lizisini takiben kandan izole edilebilmektedir. Lizis solüsyonu içeren izolatör santrifüj tüpleri veya EDTA'lı kan örneklerinin  $-70^{\circ}\text{C}$  de 24 saat dondurulup çözülürldükten sonra bir kanlı agara inoküle edilmesi ile kandan *B. henselae*'ın izole edilmesi başarılmıştır (Chomel ve ark., 1995; Bergmans ve ark., 1997a; Maruyama ve ark., 2000; Cabassi ve ark., 2002). Brenner ve ark. (1997), ile Marston ve ark. (1999), kedi kanlarını hiçbir muameleye tutmadan da *B. henselae*'yı kedi kanından izole etmeyi başarmışlardır.

Besiyerleri, ekimler yapıldıktan sonra  $35^{\circ}\text{C}$  veya  $37^{\circ}\text{C}$  de % 5  $\text{CO}_2$  li ortamda inkübe edilmektedir. Koloniler 5–15 gün arasında görülmeye başlamakta 45 gün

inkübasyondan sonra üreme yok ise negatif kabul edilmektedir. Kültür süresinin uzun olması, etkenlerin zor üremesi ve bu süre zarfında saprofitik mantar kontaminasyonunun olması gibi olumsuzluklarla karşılaşılabilir. *B. henselae* insanlarda nadiren bakteriyemi yaptığı için insan kanından nadiren kültürle izole edilebilmektedir. Şekillenen kolonilerin gelişme zamanı, koloni morfolojisi, mikroskopik muayenesinde Gram negatif küçük çomaklar gözlenmesi ve biyokimyasal testlerden oksidaz ve katalazın negatif olması etkeni diğer Gram negatiflerden ayırmakta ve olası *Bartonella spp.* olarak belirlemeye yardımcı olmaktadır (Slater ve ark., 1990; Regnery ve ark., 1992a; Welch ve ark., 1992; Koneman ve ark., 1997; Anderson ve Neuman, 1997; Zimmermann ve ark., 2003 ).

### 1.7.2. Moleküler Yöntemler

*Bartonella* türlerinin ayırımında PZR amplifikasyonu ve değişik genlerin sekans analizi kullanılmaktadır. *Bartonella* türlerinin tiplendirilmesinde, filojenik özelliklerinin sınıflandırılmasında ve identifikasyonunda 16S/23S rRNA intergenik ara bölgesinin, sitrat sentez geni (gltA) ( Norman ve ark., 1995; Chomel ve ark., 2001; Margolis ve ark., 2003) riboflavin sentez geni (RibC) (Jonhson ve ark., 2003), ısı şok protein geni (groEL) ve pap31 geni (Zeaiter ve ark., 2002) dizilişleri birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır.

Kültür süresinin uzun olması, etkenlerin zor üremesi ve bu süre zarfında saprofitik mantar kontaminasyonunun olması gibi olumsuzluklar karşısında üreyen kolonilerden PZR ile tür tayini yerine direkt kandan etkenin DNA'sının PZR ile belirlenmesi yoluna da gidilmiştir (Bergmans ve ark., 1997a; Jensen ve ark., 2000; Cabassi ve ark., 2002; Mexas ve ark., 2002). Cabassi ve ark. (2002) ile Bergmans ve ark. (1997a), kedi kanından kültür ile *Bartonella* türlerinin belirlenmesinin, direkt kedi kanından PZR ile *Bartonella* DNA'sının belirlenmesinden daha başarılı olduğunu bildirirken, Jensen ve ark. (2000) mikroorganizmanın kandaki yoğunluğuna paralel olarak PZR'in duyarlılığının da değiştiğini bildirmişlerdir.

### 1.7.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR, 1980'li yılların ortalarında CETUS firması araştırmacıları tarafından tanımlanmış, in vitro DNA çoğaltma yöntemidir. Bu yöntem hücre içinde gerçekleşen doğal replikasyonunun bir tüp içinde taklit edilmesi esasına dayanmaktadır. PZR ile DNA'nın çoğaltılabilmesi için reaksiyon karışımında çoğaltılacak olan kalıp DNA; bu DNA'da çoğaltılması planlanan bölgenin iki ucundaki DNA dizisini özgül olarak tanıyıp, ona bağlanacak olan DNA primerleri; primerlere bağlanıp bunlara 3' ucundan nükleotidleri ekleyerek sentez yapacak olan DNA polimeraz; sentezde kullanılacak deoksिनükleotid trifosfatlar; polimerazın çalışması için gerekli tampon görevi yapacak maddeler ve tuzlar (genellikle tris ve KCl) ve enzimin çalışması için önemli bir kofaktör olan  $Mg^{++}$  iyonları gerekmektedir ( Arda, 2000; Arı, 1999).

PZR üç değişik sıcaklıkta çalışan basamakların bir döngü halinde tekrarlanması ile gerçekleşir. İlk basamak denatürasyondur. 94 °C'ye ısıtılan DNA'nın iki zinciri birbirinden ayrılır. İkinci basamak birleşmedir (annealing) . Sıcaklığın düşürülmesi ile primerler çoğaltılacak bölgenin uçlarında yer alan kendilerine özgül dizileri tanıyarak hidrojen bağları ile bağlanırlar. Primerlerin özgül olarak bağlanması için kullanılan sıcaklık, genellikle, 50 ile 70 °C arasında değişmektedir. Üçüncü basamak polimerizasyon veya sentez aşamasıdır. Karışım, DNA polimerazın çalıştığı optimum sıcaklık olan 72 °C'ye getirildiğinde, primerlere bağlanmış olan enzim molekülleri 3' ucuna kalıp DNA'ya uygun nükleotidleri ekleyerek DNA sentezi yaparlar. Bu üç basamak bir döngüyü oluşturur ve her tekrarlanışta iki primer arasında kalan özgül DNA parçasının birer kopyası çıkartılmış olur. Çoğaltılan DNA parçalarının gösterilmesi için en yaygın olarak kullanılan yöntem, agaroz veya poliakrilamid jel elektroforezidir. Elektroforez ile boylarına göre ayrıştırılan DNA zincirleri etidyum bromür ile boyanarak ultraviyole ışığı altında izlenir ( Arda, 2000; Arı, 1999).

Günümüzde PZR reaksiyonu ile çoğaltılan DNA dizileri spesifik enzimler aracılığı ile kesilerek bu etkene ait genotiplendirmeler yapmak mümkündür. Bu amaçla kullanılan Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) testi, yüksek

yinelenebilirlik özelliği ve kesin sonuçları ile genotiplendirmede sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir (Kocagöz, 1996).

### 1.7.3. Seroloji

Kedilerde anti *B. henselae* antikorunu belirlemede serolojik test olarak en çok IFAT (Childs ve ark., 1995; Baneth ve ark., 1996; Glaus ve ark., 1997; Maruyama ve ark., 1998; Marston ve ark., 1999; Maruyama ve ark., 2003; Luria ve ark., 2004) ve ELISA (Bergmans ve ark., 1997b; Barnes ve ark., 2000) kullanılmaktadır. Serolojide, 1992'ye kadar *Bartonella* türleri için kabul edilmiş diagnostik test olmadığı bildirilmiştir. *B. henselae* antikorunu belirlemek için IFAT ilk defa insanlarda bir serolojik çalışmada Regnery ve ark. (1992c) tarafından kullanılmıştır. Regnery ve ark. (1992c) antijen olarak kullanılan *B. henselae*'nin, otoaglutinasyon özelliğinden dolayı test alanına homojen olarak yayılmadığı gözlemler ve bireysel *B. henselae* bakterilerinin Vero hücrelerine bağlandığını ve girdiğini belirlemiştir. Kümelenmiş bakteri gruplarının uzaklaştırılması ile enfekte Vero hücrelerinin, test alanına homojen şekilde fikse edildiği bildirmişlerdir. Bu tarzda hazırladıkları antijeni kullanarak IFAT çalışmışlar ve 1/64 ve üzeri titreleri pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Bu çalışma temel alınarak birçok araştırmacı hem kedilerde hem de insanlarda serolojik test IFAT'ta antijen olarak *B. henselae* enfekte Vero hücreleri kullanmışlardır. (Zbinden ve ark., 1995; Breitschwerdt ve ark., 1995a; Childs ve ark., 1995; Glaus ve ark., 1997; Ives ve ark., 2000; Maurin ve ark., 2002; Luria ve ark., 2004).

#### 1.7.3.1. İndirekt Fluoresan Antikor Tekniği

İmmunfluoresan teknikleri, mikroorganizmaların çabuk identifikasyonu, kanda antikorların saptanması gibi pratik önem taşıyan birçok alanda başarı ile kullanılan antijen-antikor tanısına dayalı yöntemlerdendir. Sadece floresan mikroskoba ihtiyaç gösteren bu teknikler yüksek spesifiteye sahiptir. Testin temel prensibi, özel lamlarda fikse edilmiş enfekte hücreler veya etkene özgül saflaştırılmış antijenlerin, hasta serumunda bulunan antikorlarla birleştikten sonra ortama ilave edilen floresanlı

anti- immunglobulin ile bağlanarak fluoresan vermesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntemin başarısı alınan örneğin kalitesine, hazırlanan preparatın temizliğine, kullanılan antiserumun özgüllüğüne ve değerlendiren kişinin tecrübesine bağlıdır (Ustaçelebi 1992, İzgür 1994, Bilgehan 1996,). Sonuçların kısa sürede alınması nedeni ile tercih edilmektedir. Dezavantajları kültür tekniklerine göre daha az duyarlı olmasıdır.

### 1.8. Sağaltım

*B. henselae* ile enfekte kedilerde sağaltım ve koruma amaçlı antibiyotik uygulaması çoğunlukla tavsiye edilmemektedir. Antibiyotik uygulamalarının bakterinin kedi kanından elimine edilmesini sağlayamadığı ancak, bakteriyemi yoğunluğunu azalttığı bildirilmiştir. *Bartonella* türlerinin hücre içi etkenler olmalarından dolayı antibiyotiklerin etkinlikleri azalmaktadır (Chomel ve ark., 2004; Boulouis ve ark., 2005).

Kordick ve ark. (1997b), deneysel olarak enfekte ettikleri kedilerde doksisisiklin ve enrofloksasini tedavi amaçlı 14 ve 28 günlük uyguladıklarında kedilerin bazılarında bakterinin eliminasyonunun başarısız olduğunu gözlemişlerdir.

Greene ve ark. (1996)'nın yaptıkları çalışmada deneysel enfekte edilen 8 kedide bakteriyemi belirlenmiş ve 1 hafta doksisisiklin uygulanmış kedilerin 4'ünde bakteri elimine edilmiş, ardından kalan 4 kediye amoksisilin uygulanmış ve 3'ünde bakteri elimine edilmiş, kalan bir kedide ise klavulonate-amoksisilin kombinasyonu ile bakteriyemi ancak elimine edilebilmiştir.

Uzun süreli azitromsin, doksisisiklin ve rifampisin tedavileri ile etkenin kedilerde elimine edildiği bildirilse de, bu uzun süreli tedavilerin kusma, ishal gibi yan etkileri gözlenmiştir. Tedavi protokolünde azitromsinin oral olarak günde bir defa 10 mg/kg 21 gün, doksisisilin oral 12 saatte bir 10mg/kg 6 hafta ve rifampisin oral olarak günde bir defa 10mg/kg 21 gün uygulanabileceği bildirilmiştir( Ketring ve ark., 2004).

*Bartonella* türlerinin antibiyotiklere duyarlılığı değerlendirilmiş ve amino glikozidlere, makrolidlere (klindamisin hariç) tetrasiklinlere ve rifampisine çok duyarlı oldukları bulunmuştur (Koneman ve ark.1997).

### **1.9. Koruma**

Kediler arasında etkenin taşınmasında pireler önemli rol oynadığından, kedilerde pire mücadelesi kedilerin enfeksiyondan korunmasında temel öncelik olmaktadır. Kedilerin tırnaklarının kesilmesi etkenin özellikle pirelerle taşınmasından dolayı sınırlı etkilidir. Araştırmacılar, aşı geliştirme çalışmaları ile kedilerin enfeksiyondan korunmasını amaçlayan çalışmaların gerekliliğini vurgulamaktadırlar (Chomel ve ark., 2004; Boulouis ve ark., 2005).

### **1.10 Amaç**

Bu çalışma ile özellikle, çocuklarda, genç erişkinlerde, AIDS hastalarında ve doku transplantasyonu yapılan hastalarda başta KTH'na neden olan, *B. henselae*'nin Ankara bölgesindeki kedilerde seroprevalansını ve kedilerin kanında varlığını bakteriyolojik, serolojik ve moleküler testlerle belirleyerek, ülkemizde bu konuda çalışma yapacak araştırmacılara öncülük etmek amaçlanmıştır.

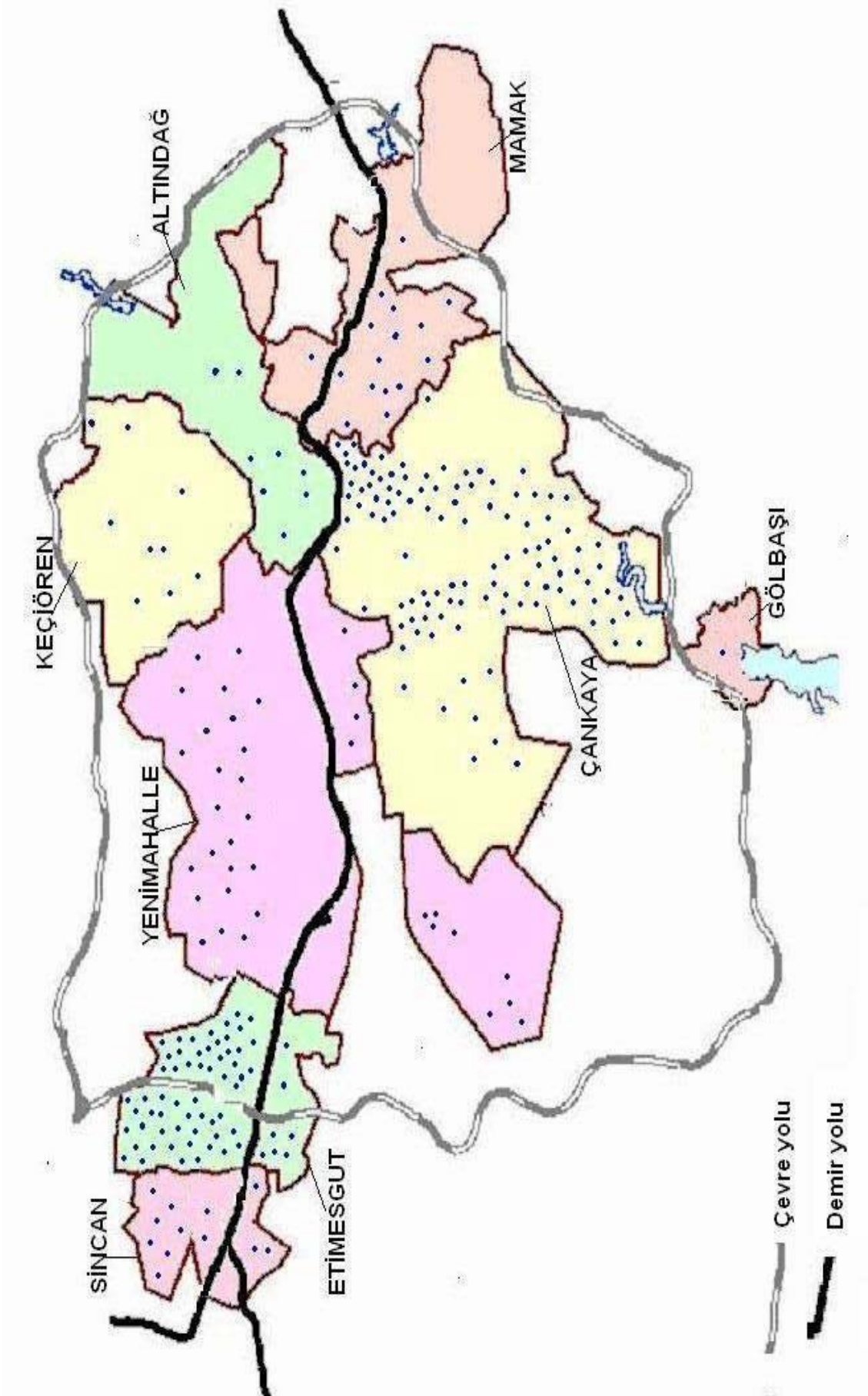
## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. GEREÇ

#### 2.1.1 Örneklerin Seçimi ve Toplanması

Bu çalışmada kullanılan kedi kanları, Şubat 2004 ile Şubat 2006 tarihleri arasında Ankara Büyük Şehir Belediyesi Küçük Hayvan Kliniğine (156), Eryaman Petplanet Veteriner Kliniğine (79) ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniğine (21) sağlık problemi, immunizasyon, kontrol ve kısırlaştırma amaçlı gelen toplam 256 kediden alınmıştır. Çalışmada kullanılan 256 kedi Ankara'nın değişik bölgelerinden 219 farklı birey tarafından kliniklere getirilmiştir. Örnek alınan kedilerin Ankara genelinde ilçelere göre dağılımı Şekil-2'te gösterilmiştir. Bu kedilere ait yaş ve yaşam koşullarına ilişkin bilgiler kedileri kliniğe getiren şahısların verdiği bilgilerdir. Yaşam koşullarına ilişkin gruplandırma ise barınma durumlarına göre evle sınırlı ev kedisi, sokakla ilişkili ev kedisi ve sokak kedisi olarak yapılmıştır. Orijinlerine göre gruplandırma ise evde doğmuş, sokaktan alınmış ve petshop'tan alınmış olarak yapılmıştır.

Kedilerin vena jugularis veya vena cephalica antebraçhii'sinden mavi ve turuncu uçlu kelebek setler kullanılarak 3 ml kan alındı. Kanın 2 ml si kan kültürü çalışmasında kullanılmak için EDTA'lı tüplere, 1 ml'si serolojik çalışmada kullanılmak için serum ayırma amaçlı biyokimya tüplerine ayrıldı. Kan kültürü amaçlı kullanılacak EDTA lı kanlar çalışmada kullanılıncaya kadar  $-70^{\circ}\text{C}$ ' de saklandı. Biyokimya tüplerindeki kan 1500 devirde 5 dakika santrifüj edilerek serumu ayrıldı, serumlar 500  $\mu\text{l}$ 'lik ependorf tüplere konarak, kullanılıncaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.



Şekil-2. Çalışmaya katılan kademelerin Ankara Genelinde Dağılımı



### 2.1.2. Kullanılan Cihaz ve Gereçler

1. DNA Thermal Cyclers ( Mastercycler. Eppendorf, Almanya )
2. Elektroforez tankı ve güç kaynağı ( E714; Consort, Belçika )
3. UV transillüminatörlü bilgisayarlı jel dokümantasyon sistemi ( Biolap, Türkiye )
4. Santrifüj ( Labofuge 200 Heraeus, Almanya )
5. Soğutmalı santrifüj ( Sigma 4K15, Sigma 3K15, Almanya )
6. pH metre ( Metler toledo Mp 220, İsviçre)
7. Vortex ( Velp, İtalya)
8. Derin dondurucu ( -20 ve -70 °C )( MDF-U5410; Sanyo, Japonya )
9. Buzdolabı (+4 °C)( T 4042; Arçelik, Türkiye )
10. Manyetik karıştırıcı ( MK 103; Nüvemix, Türkiye )
11. Etüv- CO<sub>2</sub> li İnkübatör ( Sanyo MC175, Japonya)
12. Otoklav ( MLS 3020U; Sanyo, Japonya )
13. Hassas terazi ( Presica 220, Switzerland )
14. Floresan mikroskop ( CH40; Olympus, Japonya )
15. Steril laminar akımlı güvenlik kabini ( Clean Air, Waerden, The Netherlands)
16. Koloni Mikroskobu (S7-PT, Olympus, Japonya)
17. Otomatik pipet ( Transfer pipet ) 2 µl, 10 µl, 200 µl, 1000 µl( BIOHIT, Proline Isolab )
18. Steril pipet ucu 2 µl, 10 µl, 200 µl, 1000 µl ( Eppendorf Reference, Almanya )
19. Eppendorf tüp (1,5–0,6 ml) ( Eppendorf Reference, Almanya )
20. Steril PCR tüpü (0,2 ml) ince duvarlı, Rnase-Dnase free (Biozym )
21. Vacutainer serum ayırma tüpü (16 x 100 mm ) ( Hemo&Tube, Türkiye)
22. Vacutainer EDTA' lı tüp (12 x 75 mm ) (Hemo&Tube, Türkiye)
23. Mavi, turuncu ve yeşil uçlu kelebek set (Bıçakçılar, Türkiye)
24. Tek kullanımlık plastik steril petri ( Fıratmed, Türkiye )
25. Tek kullanımlık plastik öze (Loopplast, İtalya )
26. Donmaya dayanıklı 2ml lik Kriovial tüp (TPP, Almanya)

### 2.1.3. Kullanılan Biyolojik ve Kimyasal Maddeler

1. Bartonella henselae IFA slide (VIRCELL, Granada, İspanya)
2. Konjugat; keçi anti-kedi IgG, ( H+L, FITC ile işaretlenmiş) (Kirkegaard & Perry laboratories, Gaithersburg, MD - ABD)
3. Brain Heart İnfusyon besiyeri (MERK, Darmstadt, Almanya)
4. Bacto Agar (Difco, Detroit, ABD )
5. Defibrinize tavşan kanı – at kanı
6. Tetra metil fenilendiamin dihidroklorit (Merck, Darmstadt, Almanya)
7. 3–5% hidrojen peroksit (Merck, Darmstadt, Almanya)
8. Taq I Enzim (ER0671; Fermentas, Lithuania)
9. Hha I Enzim (ER1851; Fermentas, Lithuania)
10. Taq DNA Polimeraz ( Q82250N; Fermentas, Lithuania)
11. 10XPCR Buffer ( Q7260B; Fermentas, Lithuania)
12. 25 mM MgCl<sub>2</sub> ( FB4250; Fermentas, Lithuania)
13. Primer–1 (19 baz) Primer–2 (22 baz) (Thermo, Almanya )
14. 25 mM d NTP set (Fermentas, Lithuania)
15. DNA marker ,ΦX174DNA/ HinfI (SM0261; Fermentas, Lithuania)
16. Agarose (High resolution, Ultrapure grade) ( A8455; Sigma, ABD )
17. Etidyum bromür (E7637; Sigma, ABD )
18. Asetik asit (A6283; Sigma, ABD )
19. Etil alkol (Sigma, ABD )
20. İsopropil alkol ( I9516; Sigma, ABD )
21. Etilen diamin tetra asetik acit (EDTA),Titriplex III (E4884; Sigma, ABD )
22. Orange G (O3756; Sigma, ABD )
23. Sodyum hidroksit ( S8045; Sigma, ABD )
24. Trisma-base (T 1503; Sigma, ABD )
25. Gliserin ( Birpa, Ankara, Türkiye)
26. Kullanılan Bakteri Suşları

PZR reaksiyonu ve kültür için pozitif kontrol *Bartonella henselae* (ATCC-49793) suşu ve *Bartonella clarridgeiae* (Tel-Aviv sokak kedisi kaynaklı ) suş ve IFAT'da pozitif kontrol için pozitif serum Dr. Michael Gladi (İsrail) tarafından sağlandı.

IFAT'ta antijen olarak VIRCELL firmasından sağlanan *Bartonella henselae* Houston-1 (ATCC-49882) suşu kaplı lamlar kullanıldı.

#### 2.1.4. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar

##### 1. 0.5 M EDTA çözeltisi ( pH: 8 )

EDTA 186,1 g

NaOH 20 g

Distile su ile 1000 ml'ye tamamladı.

##### 2. 50 x TAE ( Tris - Asetik asit- EDTA çözeltisi )

Tris-baz 242 g

Asetik asit 57,1 ml

EDTA 0,5 M, pH= 8 100 ml

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

##### 3. 1x TAE

50 x TAE 10 ml

Distile su ile 500 ml ' ye tamamlandı.

##### 4. Yükleme tamponu

Gliserol 3ml

Orange G 25 mg

7 ml distile suda çözüldü.

### 5. Etidyum bromür stok çözeltisi

Etidyum Bromür 10 mg  
1 ml distile suda çözüldü.

### 6. Etidyum bromür jel boyama çözeltisi

Etidyum bromür stok çözeltisi ( 10 mg / ml ) 50µl  
Distile su 300ml

( Çözelti, kapaklı plastik kutuda hazırlanarak oda ısısında saklandı. En çok 10 jel boyamasında kullanıldıktan sonra yenilendi. )

### 7. Fosfat Tampon Solüsyonu (PBS) pH 7,2 ± 0,2 at 25°C

NaCl.....8gr  
KCl.....0.2gr  
Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.....1.15gr  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....0.2gr  
Distile su.....~1.000 ml

Gramajları belirtilen kimyasallar 1lt. lik şişeye kondu, üzerine 500 ml distile su eklendi ve iyice karıştırılarak maddelerin erimesi beklendi. Maddeler eridikten sonra karışım distile su 1 lt ye tamamlandı, iyice çalkalandı. Bir behere 10–20 ml alınarak pH metre ile pH sı ölçüldü. 1M *HCl* ve 1M *NaOH* kullanılarak pH 7,2 ye ayarlandı.

## 2.2. YÖNTEM

### 2.2.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmaları

#### 2.2.1.1.Kültür

*Bartonella henselae* yönünden bakteriyemik kedilerin tespit edilmesi amacıyla 256 kedinin kanları üç farklı besiyerine inokule edilerek inkübe edildi. Besiyeri olarak % 7 tavşan kanlı, % 7 at kanlı BHI agar ve at kanı ile hazırlanmış çikolata agar olmak üzere üç farklı besiyeri kullanıldı.

#### 2.2.1.2. Örneklerin İnokulasyonu

Kültür için iki farklı inokulasyon yöntemi uygulandı.

Birinci yöntem Marston ve ark (1999)'nın uyguladığı direkt inokulasyondur. Bunun için EDTA'lı tüplere alınan kandan, 120 µl kan hiçbir işleme başvurmadan hemen % 7 tavşan kanlı BHI agara inoküle edildi ve 35 °C'de % 5 CO<sub>2</sub> ·li etüvde 28 gün inkübe edildi.

İkinci yöntem Maruyama ve ark. (2000)'nin uyguladığı dondurup çözme işlemi ile eritrositlerin parçalanması, intraeritrositik olan *B. henselae*'nin eritrosit dışına çıkarılması ve santrifüj edilerek çoklaştırma yöntemidir. EDTA'lı tüplere alınan kan -70 °C de donduruldu ve kullanılacağı zaman oda ısısında çözülürdü. Çözülürken kanlar vortex ile iyice karıştırıldı. Kanlar 3800 rpm de 70 dk santrifüj edildi, böylece mevcut bakteriler var ise çöktürülerek çoklaştırıldı. Üstteki süpernatant dikkatlice döküldü. Pelet kısım süspanse edildi. Süspansiyon amaçlı Maruyama ve ark. (2000)'nin kullandığı Medium 199 yerine, Cabassi ve ark. (2002)'nin kullandığı BHI broth kullanıldı. Süspansiyon için tüplerdeki peletin üzerine 200 µl BHI broth eklendi ve vortex ile iyice karıştırıldı. Süspansiyon üç eşit miktarda % 7 tavşan kanlı BHI agara, % 7 at kanlı BHI agara ve Çikolata agara inoküle edildi. Besiyerlerine dökülen süspansiyon kendi akışkanlığı kullanılarak besiyeri üzerine yayıldı. Besiyerleri 35 °C'de %5 CO<sub>2</sub>'li etüvde 35 gün inkübe edildi.

Üç farklı besiyerinin, *B.henselae*'nin üremesi üzerine etkilerini değerlendirmek için üç farklı besiyerinde üreme zamanları ve cfu değerlerini belirleyebilmek için inokulasyonun 4. gününden itibaren gözlenen üremeler değerlendirildi ve koloni mikroskopunda sayılarak cfu değeri belirlendi.

### **2.2.1.3. Kan Kültürlerinin Değerlendirilmesi**

Besiyerleri gün aşırı düzenli olarak kontrol edildi. Şekillenen kolonilerin gelişme zamanı, koloni morfolojisi ve etkenlerin Gram boyanma özelliği değerlendirildi. İnokulasyonun 4. gününden sonra şekillenen, besiyerine hafif gömülmüş ve kaldırıldığında besiyerinde izi kalan, karnabahar görünümünde R tipli koloniler ve çığ damlası görünümünde S tipli koloniler Gram boyamaya alındı. Gram negatif, küçük kokobasil etkenler gözlenen kolonilere biyokimyasal test olarak oksidaz ve katalaz testi uygulandı. Gram negatif, katalaz ve oksidaz negatif izolatlar muhtemel *Bartonella* spp. olarak değerlendirildi ve pasajları yapıldı. Pasajlarda şekillenen koloniler % 20 gliserol içeren BHI buyyon içine alındı, krioviallerde  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Bir kısmı da 1ml distile su içeren ependorf tüplere alınarak PZR da kullanılmak üzere  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### **2.2.2.PZR Analizleri ile İzolatların DNA'sının Belirlenmesi**

#### **2.2.2.1. DNA'nın Elde Edilmesi**

DNA elde edilmesinde, ön çalışmada kaynatma yöntemi, fenol-kloroform-isoamil alkol ekstraksiyonu ve etanol presipitasyonu yöntemi ve bir ticari kit denendi ve standardizasyonda önemli bir farklılık gözlenmediğinden daha kolay ve daha ekonomik bir yöntem olan Chomel ve ark. (2002)'nin kullandığı kaynatma yöntemi seçildi. Bu amaçla

1. Besiyerinde şekillenen koloniler 1ml distile su içeren ependorf tüplerine alındı ve iyice karıştırıldı.

2. Tüpler 12 000xg'de 5 dk santrifüj edilerek bakterilerin dibe çökmesi sağlandı ve üstteki sıvı uzaklaştırıldı.
3. Bakteri çökeltisi üzerine 750 µl distile su eklenerek tekrar santrifüj edildi. Bu işlem 3 defa uygulanarak inhibitör maddelerin uzaklaştırılması sağlandı.
4. Son santrifüjden sonra üstteki sıvı uzaklaştırıldıktan sonra 500 µl distile su eklendi ve iyice karıştırıldı.
5. Hazırlanan örnekler 10–15 dk kaynatıldı. 12 000xg'de 5 dk santrifüj edildi ve üstteki sıvı steril bir ependorf tüpüne alınarak -20<sup>0</sup>C'de saklandı.

#### 2.2.2.2. PZR Karışımının Hazırlanması

Bu çalışmada Maruyama ve ark. (2000) ve Marston ve ark. (1999)'nın kullandığı *B. henselae*'nin sitrat sentez (gltA) gen sekansı için homolog iki oligonükleotit primer olarak kullanıldı. Bunlardan:

BhCS.781p : 5'-GGG GAC CAG CTC ATG GTG G-3'

BhCS.1137n :5'- AAT GCA AAA AGA ACA GTA AAC A- 3'

primer dizileri kullanıldı.

#### PZR karışımı, her bir örnek için;

- |                                 |         |                            |
|---------------------------------|---------|----------------------------|
| • Distile su                    | 30,8 µl |                            |
| • 10 x PZR tamponu              | 5 µl    |                            |
| • Mg Cl <sub>2</sub> ( 25 m M ) | 3 µl    |                            |
| • d NTP mix ( 10 mM )           | 5µl     |                            |
| • Primer I ( 50 p mol )         | 0,5 µl  |                            |
| • Primer II ( 50 p mol )        | 0,5 µl  |                            |
| • Taq DNA polimeraz (2,5 U/µl ) | 0,2 µl  | olacak şekilde hazırlandı. |

Bu ana karışımdan tüplere 45'er µl dağıtıldı ve her tüpe 5 µl örnek DNA'sı eklenerek toplam reaksiyon hacmi 50 µl' ye tamamlandı. Bu karışıma göre hazırlanan

örnekler çoğaltma için önceden programlanmış ısı döngü ( thermo cycler ) cihazına yerleştirildi.

PZR uygulamasının her aşamasında kontaminasyonun önlenmesi ve toksik maddelerden korunmak amacıyla eldiven kullanıldı. Tepkime tüplerinin DNA kontaminasyonundan korunması amacıyla; tepkime karışımlarının hazırlanması, örneklerin PZR için hazırlanması, amplifikasyon ve elektroforez aşamaları ayrı odalarda yapıldı. Odalar arasında araç gereç ve kimyasal çözelti alış verişi yapılmadı. Deney sırasında tek kullanımlık pipet uçları ve tüpler kullanıldı. Tepkime karışımlarının hazırlanması ve örneklerin PZR için hazırlanması aşamaları biyo güvenlik sınıf II kabinlerinde gerçekleştirildi. Çalışmadan önce kabinlerin içi ve kullanılan aletler en az yarım saat ultraviyole ile ışlandı, % 10'luk sodyum hipoklorit ve % 70'lik etil alkolle silindi.

Tepkime karışımlarının hazırlanması sırasındaki kontaminasyonları belirlemek için, her bir amplifikasyon setinde *Bartonella henselae* DNA pozitif ve ayrıca hiç DNA içermeyen negatif kontroller (tepkime karışımında kalıp DNA'nın bulunmaması ) kullanıldı.

### 2.2.2.3. DNA Amplifikasyonu

Amplifikasyon işlemi sırasında Maruyama ve ark. (2000),’nın uyguladığı amplifikasyon protokolü kullanıldı. Hedef DNA başlangıçta 95 °C'de 3 dk bekletilerek denatüre edildi. Bu aşamadan sonra;

95 °C' de 20 sn denatürasyon

56 °C' de 30 sn primerlerin bağlanması

72 °C ' de 1 dk. primerlerden yeni DNA zincirinin sentezlenmesi

olmak üzere toplam 30 döngü yapıldı. En son aşamada 72 °C'de 5 dk bekletilerek reaksiyon tamamlandı. Amplifikasyon sonrasında reaksiyon tüpleri değerlendirme aşamasına kadar +4 °C'de bekletildi.



Birinci amplifikasyondaki değerlendirme sonrasında, negatif sonuç alınan örnekler için aynı amplifikasyon işlemi yeniden tekrarlandı.

#### **2.2.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi**

##### **2.2.2.4.1. Agaroz Jelin Hazırlanması**

Amplifikasyondan sonra amplifiye ürünlerin değerlendirilmesi için % 2 lik agaroz jel hazırlandı. Agaroz jel elektroforezi sırasında yürütme tamponu olarak TAE tamponu kullanıldı. Agaroz bu tampon içerisinde eritildikten sonra, 60 °C'ye soğutularak hazırlanan yatay jel tablasına döküldü. 5 mm kalınlığında dökülen agaroz üzerine elektroforez tarağı takılarak, jelin tamamen katılaşması için 30 dakika beklenildi. Bu süre sonunda tarağın jele zarar vermeden çıkarılması sağlandı (Arı, 1999).

##### **2.2.2.4.2. Elektroforez İşlemi**

Jel, elektroforez tankına, delikli kısmı katoda gelecek biçimde yerleştirildi ve tampon solüsyonu TAE jelin en az 1 mm üstünde olacak Şekilde tankın içine eklendi. Elde edilen izolata ait DNA'ların yoğunluklarını arttırmak, boyamak ve jeldeki ilerleme hızını görmek amacı ile 10 l oğaltılmış DNA rneği, 5 l yükleme tamponu (orange G + gliserol ) ile karıştırılıp, 15 l alınarak jele yüklendi. Tankın kapağı kapatılarak, elektrotlara doğru akım veren güç kaynağı bağlandı ve hareketin anoda doğru olup olmadığı kontrol edildi. Amplifiye edilen DNA rnekleri 110 voltta 40 dk elektroforez işlemine tabii tutuldu (Arı, 1999).

##### **2.2.2.4.3. Boyama ve Görüntüleme İşlemi**

Boyama işleminde fluoresan boya olan etidyum bromür kullanıldı. Jel, 20 dk 0,5 mg / ml etidyum bromürlü boya çözeltisi içinde bekletildi. Boyama işleminde sonra jel, bilgisayarlı UV transillüminatör kutusu üzerine yerleştirildi ve jel içinde bulunan boyanmış DNA'lar bilgisayarlı jel dokümantasyon sistemi aracılığı ile görüntülendi (Arı, 1999).

### 2.2.3. Restriksiyon Endonükleaz Enzimleri İle RFLP Analizi

PCR reaksiyonu sonucu 24 *Bartonella* spp. pozitif örneğin agaroz jelde görünür bandlarında tiplendirme yapmak için, restriksiyon endonükleaz enzim analizi uygulandı. Her izolata ait amplifikasyon ürünü, Taq-I ve Hha I enzimi ile kesildi (Maruyama ve ark. 2000). Kesim işlemi için:

- |                         |        |
|-------------------------|--------|
| • Enzim ( Taq-I )       | 0,8 µl |
| • EnzimTamponu ( 10 x ) | 2,6 µl |
| • Amplifiye ürün        | 10 µl  |
| • Distile su            | 11,6µl |
|                         |        |
| • Enzim ( Hha-I )       | 0,8 µl |
| • EnzimTamponu ( 10 x ) | 2,6 µl |
| • Amplifiye ürün        | 10 µl  |
| • Distile su            | 11,6µl |

25 µl olacak şekilde hazırlanan reaksiyon karışımı, Taq-I enzimi için 65 °C'de 3 saat, Hha-I enzimi için 37 °C'de 16 saat inkübe edildi.

Kesim ürünleri için % 4'lük agaroz jel hazırlandı. 10 µl kesilmiş örnekler ve aynı izolata ait kesilmemiş örnekleri 5 µl yükleme tamponu ile beraber jeldeki kuyucuklara yüklendi. 110 voltta 40 dk yürütüldü. Jel etidyum bromür ile boyandıktan sonra UV - transillüminatör ile incelendi.

### 2.2.4. Seroloji

Serolojik çalışmada Regnery ve ark. (1992c), Chomel ve ark. (1995), Gurfield ve ark. (2001)' nin kullandığı Indirekt Fluoresan Antikor Tekniği ( IFAT) kullanıldı. IFAT'ta antijen olarak VIRCELL(Granada, Spain), firmasının ticari, lamlara

kapladığı *B. henselae* Houston-1 (ATCC 49882) suşu kullanıldı. Konjugat olarak keçi üretilmiş, fluorescein isothiocyanate (FITC) ile işaretlenmiş keçi anti- kedi IgG, ( H+L) (Kirkegaard & Perry laboratories, Gaithersburg, MD - USA) kullanıldı.

#### 2.2.4.1. IFAT'ın Uygulanışı

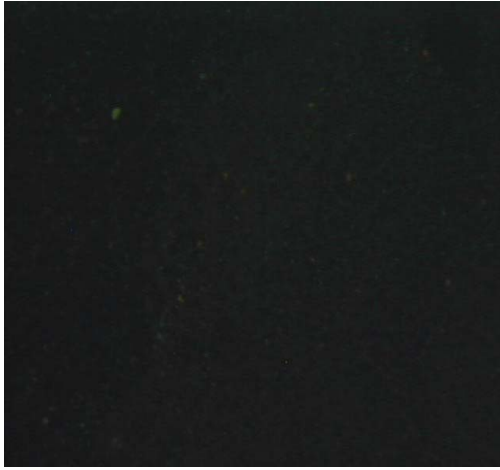
1. 20 °C'de saklanan kedi serumları oda ısısında çözdürüldü. Çözdürülen kedi serumları, laboratuarda hazırlanan PBS ( pH 7,2 ) ile 1/64 dilüe edildi.
2. Dilüe edilen serumdan 20 µl lamlardaki antijenle kaplı godelere konuldu.
3. Lamlar nem konsantrasyonu yüksek, 37 °C lik etüve kaldırıldı ve 20 dakika inkübe edildi, inkübasyon sırasında antijene spesifik antikor var ise antijene bağlanarak antijen-antikor kompleksi oluşturdu.
4. İnkübasyondan sonra nonspesifik antikorları uzaklaştırmak için lamlar PBS (pH 7,2) ile 5 dakika ara ile iki defa yıkandı. PBS ile yıkanan lamlar distile su ile yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Böylece nonspesifik antikorlar uzaklaştırılarak lamda sadece antijen-antikor kompleksi kalmış oldu.
5. Kuruyan lamlardaki godelere PBS ile 1/50 sulandırılmış kedi konjugatından 20 µl kondu ve lamlar nem konsantrasyonu yüksek, 37 °C lik etüve kaldırıldı ve 20 dakika inkübe edildi.
6. İnkübasyondan sonra lamlar PBS (pH 7,2) ile 5 dakika ara ile iki defa yıkandı. PBS ile yıkanan lamlar distile su ile yıkandı ve kurumaya bırakıldı.
7. Kuruyan lamların godelerine VIRCELL mounting medium damlatıldı, üzerlerine lamel kapatıldı ve fluoresan mikroskopta incelendi.
8. Her çalışmada pozitif kontrol ve negatif kontrol konarak çalışma değerlendirildi,

#### 2.2.4.2. Testin Okunması ve Değerlendirilmesi

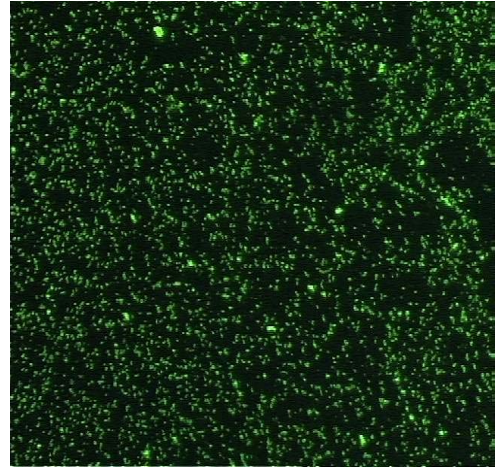
Karanlık odada fluoresan mikroskopta 40X büyütmede görüntülerin değerlendirilmesinde, fluoresan reaksiyonun yoğunluk derecesi temel alındı. Siyah zemin üzerinde yeşil-sarı fluoresan veren homojen bakteri dağılımı derecelendirildi (Resim-2):

Çok parlak	++++
Parlak	+++
Orta derecede parlak	++
Zayıf	+
Fluoresan renk göstermeyen	-

$\geq 1/64$  dilüsyonda ++ parlaklık veren örnekler pozitif olarak kabul edildi. Zayıf ve fluoresan renk göstermeyen örnekler negatif olarak değerlendirildi.



negatif



pozitif

**Resim- 2** IFAT'ta *Bartonella henselae* seronegatif ve seropozitif görünüm

### 2.2.5. İstatistik

Tüm istatistiksel değerlendirmeler “ **SPSS 11,5** ( statistical packages for social sciences) programı ile bilgisayarda yapıldı. Elde edilen sonuçlarının değerlendirilmesinde Pearson ki-kare ve Fisher kesin testleri kullanıldı.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Materyal Alınan Kedilerin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada Ankara’da 3 farklı bölgedeki veteriner kliniğine gelen 256 kedide tarama yapıldı. Kedilerin yaş aralığı 2 aylık ile 14 yaş arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 24 ay idi. Kedilerden 163 (% 63,7)’ü dişi, 93 (% 36,3)’ü erkekti. Bu kedilerin barınma durumlarına göre sınıflandırılmasında, kedilerden 70 (% 27,3)’i evle sınırlı ev kedisi, 84 (% 32,8)’ü sokakla ilişkili ev kedisi ve 102 (% 39,9)’si sokak kedisiydi. Kedilerin 88 (% 34,4)’i 0–11 aylık, 73 (% 28,5)’ü 12–23 aylık ve 95 (% 37,1)’i 24 aylıkta büyük kedilerdi (Tablo–2). Orijinlerine göre sınıflandırmada ise 207 (% 80,9) kedi sokaktan, 12 (% 4,7) kedi pet malzemesi satılan merkezlerden alınmış ve 37 (% 14,4) kedi evde doğmuş ve direkt sahiplendirilmiş idi

**Tablo–2, Çalışmaya Katılan Kedilerin Yaş ve Barınma Durumuna Göre Dağılımları**

Yaş	Sokak Kedileri	Sokakla İlişkili Ev Kedileri	Evle Sınırlı Ev Kedileri
2-11ay	41	19	28
12-23 ay	30	21	22
24 ay≥	31	44	20
TOPLAM	102	84	70

#### 3.2. İzolasyon ve İdentifikasyon Bulguları

##### 3.2.1. Kültür Bulguları

*Bartonella henselae* yönünden bakteriyemik kedilerin belirlenmesi amacıyla yapılan, 256 kediye ait kan iki farklı yöntemle kültür edildi. Kan kültürleri gün aşırı kontrol edildi, bazı kan örneklerine ait kültürlerde 4. günden başlayarak ilerleyen günlerde üremeler gözlemlendi. Şekillenen kolonilerin koloni morfolojisi değerlendirildiğinde,

genelde R tipli, karnabahar görünümünde, agara gömülmüş ve kaldırıldığında agarda izi kalan, serum fizyolojik içinde kolayca dağılmayan koloniler gözlemlendi (Resim-3,4,5). Bu kolonilerden sürekli pasajlar yapıldığında üreme süresinde kısalma ve S tipli koloni yapısına dönüş gözlemlendi. Bu kolonilerden Gram boyama yapıldığında Gram negatif, küçük kokobasil etkenler belirlendi (Resim-6). Gram negatif özellik gösteren izolatlar katalaz ve oksidaz testine alındı. Katalaz ve oksidaz negatif izolatlar olası *Bartonella* spp. olarak değerlendirildi.

İki farklı ekim yöntemi sonuçları değerlendirildiğinde, dondurarak eritrositlerin lizis edilmesi ve ardında santrifüjle mevcut etkenin çoklaştırma yöntemi ile 24 kedi kanında *Bartonella* spp. izole edildi. Direkt ekim yöntemi kullanıldığında ise çoklaştırma yönteminde izolasyon yapılan kedi kanlarından 19 kedi kanında da *Bartonella* spp. izole edilirken, çoklaştırma yöntemi ile izolasyon yapılamayan diğer kedilerin kanından direkt ekim ile de izolasyon yapılamadı.



**Resim- 3,** *Bartonella henselae* İzolatının Kanlı Agarda R Tipi Koloni Görünümü

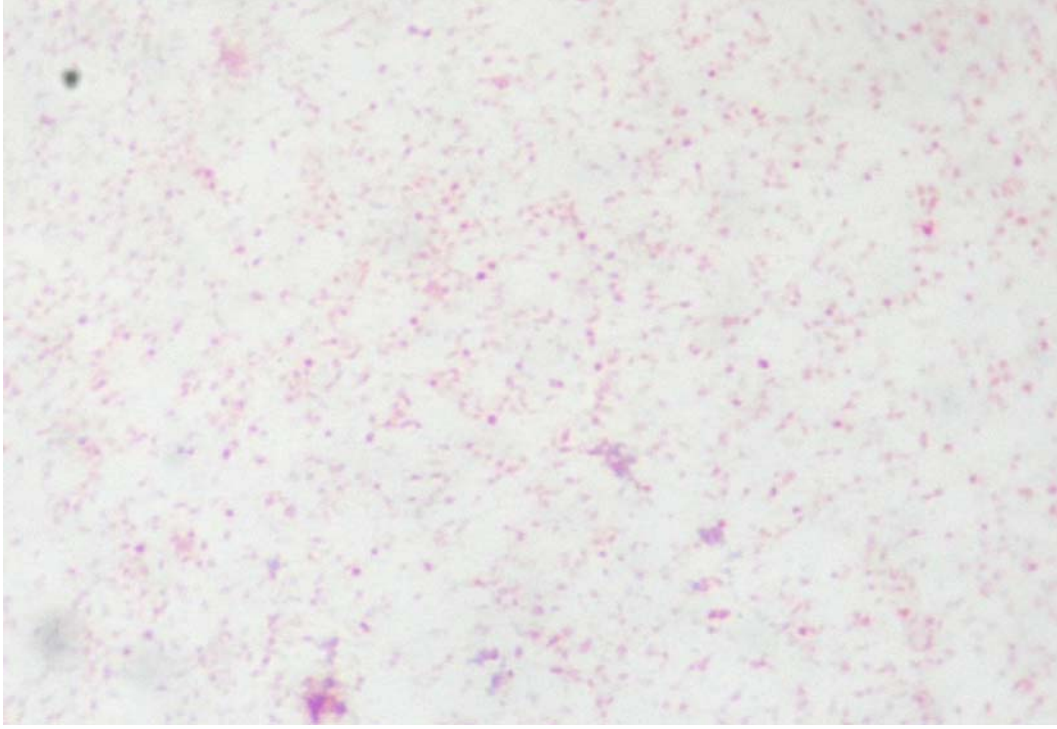


**Resim-4** *Bartonella henselae* İzolatının Kanlı Agarda Genel Görünümü



**Resim-5** *Bartonella henselae* İzolatının Kanlı Agarda Genel Görünümü



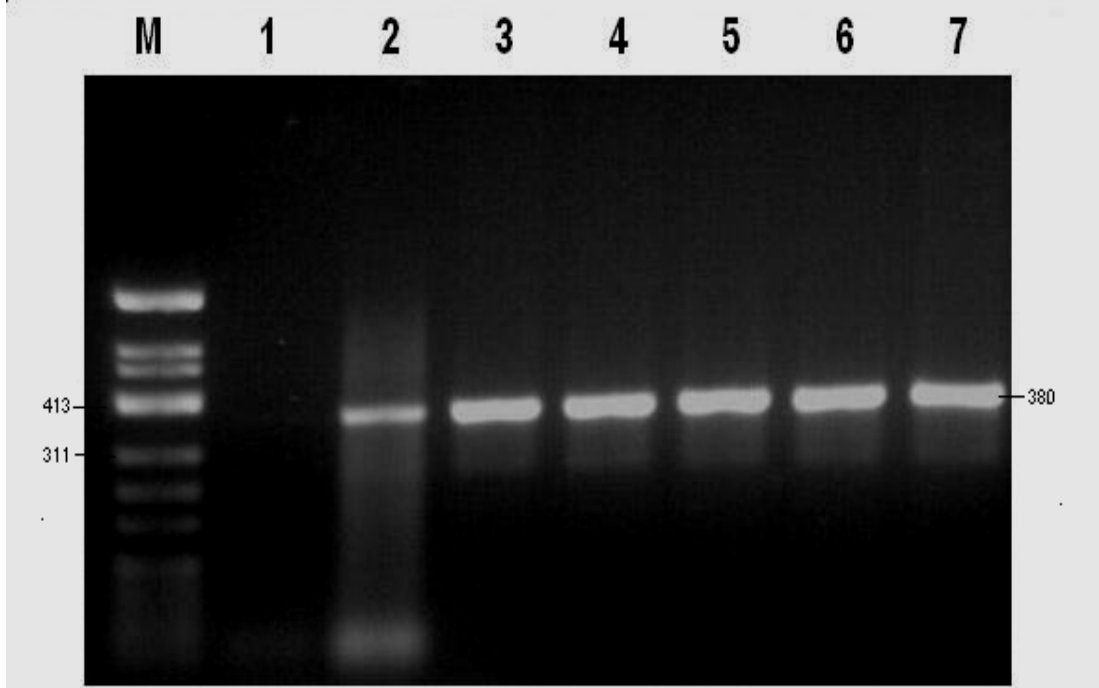


**Resim-6**, Gram boyamada *B. henselae*'nin mikroskopik görünümü (100X)

### **3.2.2. PZR Bulguları**

Üreme zamanı, koloni morfolojisi, Gram özelliği ve biyokimyasal özellikleri yönünden olası *Bartonella spp.* olarak değerlendirilen izolatlar, PZR ile *Bartonella spp.* DNA'sı belirlenerek teyit edildi. *Bartonella* türleri için spesifik, sitrat sentez geni sekansına homolog iki primer kullanıldı. Bu primerlerin kullanıldığı PZR amplifikasyonu ürünleri için % 2 lik agaroz jel elektroforezinde, 380 bç'lik bir bölgede bir bantın gözlenmesi *Bartonella spp.* PZR (+) , 380 bç'lik bölgede bir bantın görülmemesi PZR (-) olarak değerlendirildi (Resim-7). 24 olası *Bartonella spp.* izolat'ın hepsinin PZR ile *Bartonella spp.* olduğu belirlendi.

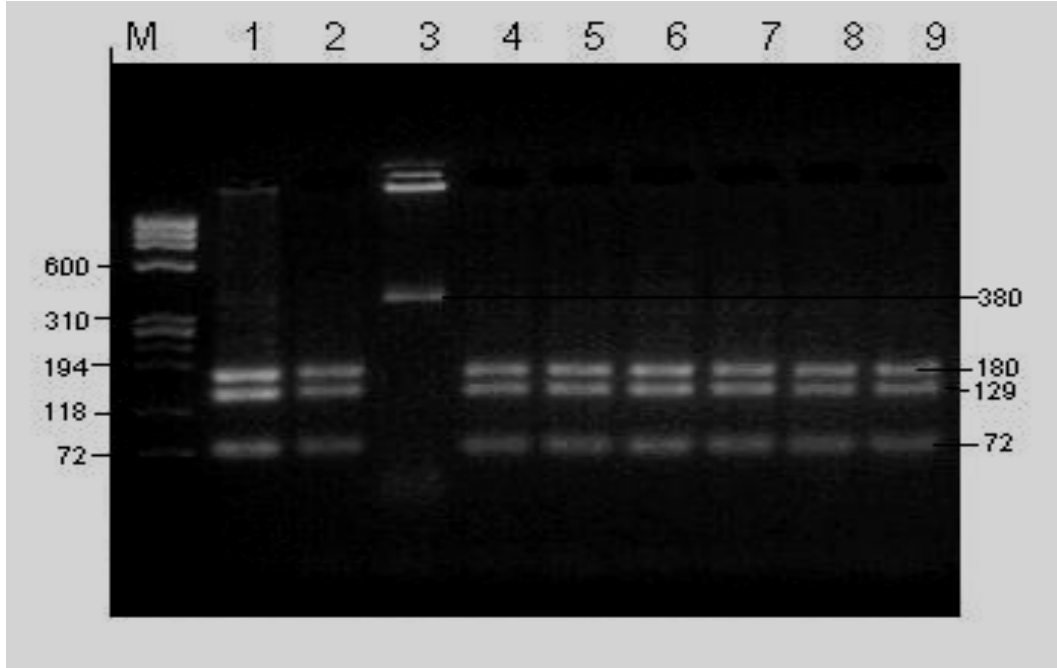




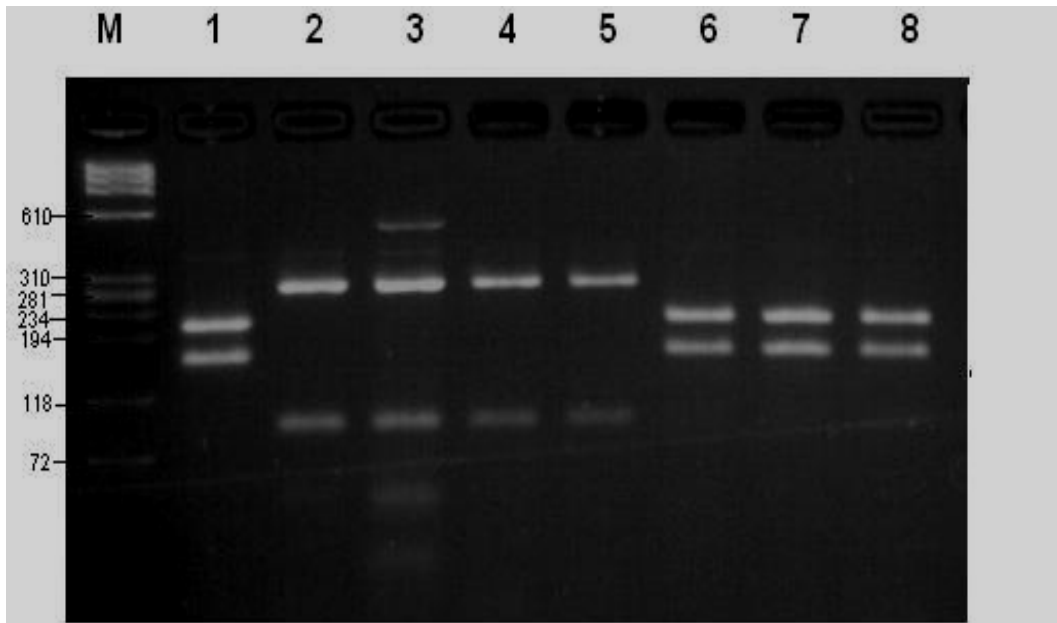
**Resim-7**, *Bartonella* türlerinin sitrat sentez geninin PZR amplifikasyonu,  
M: marker ( $\Phi$ X174DNA/ HinfI)  
1: Negatif kontrol,  
2: *B. henselae* (ATCC 49793),  
3-7:*Bartonella* spp. izolatlar.

### 3.2.3. RFLP Bulguları

PZR yöntemi ile *Bartonella* spp. (+) olarak belirlenen 24 örnekte RFLP analiz uygulanarak *B. henselae* türü belirlendi. *B. henselae*'nın sitrat sentez geninin 380 bç'lik bölgesinde spesifik kesim yeri olan *Taq I* restriksiyon endonükleaz enzimi kullanıldı. PZR (+) olan 24 örnek *Taq I* enzimi ile kesime tabi tutuldu. *Taq I* enzimi ile 21 *B. henselae* izolatının 380 bç'lik amplifikasyon ürünleri 180, 129 ve 72 bç'lik üç fragmana ayrılırken 3 izolat kesime uğramadı(Resim-8). Kesime uğramaya izolatların ve *B. henselae* izolatların amplifikasyon ürünleri *Hha I* enzim ile kesime tabi tutuldu. *B. henselae* ve *B.clarridgeiae* farklı büyüklüklerde iki fragmana ayrıldı (Resim-9). *Taq I* enzimi ile kesime uğramayan 3 izolatın, *Hha I* enzimi ile iki fragmana ayrıldığı ve *B.clarridgeiae* olduğu ortaya konuldu. RFLP yöntemi ile *Taq I* ve *Hha I* endonükleaz enzimleri kullanılarak, 24 izolatın 21'nin *B. henselae*, 3'nün *B.clarridgeiae* olduğu belirlendi.



**Resim-8** *Bartonella* spp. izolatların Taq I endonükleaz enzimi ile RFLP Analizi,  
 M; Marker ( $\Phi$ X174DNA/ BsuRI (HaeIII),  
 1- *Bartonella henselae* (ATCC 49793)  
 2,4,5,6,7,8,9-*Bartonella henselae* izolatlar,  
 3-Kesilmeyen izolat



**Resim-9** *Bartonella* spp. izolatların Hha I endonükleaz enzimi ile RFLP Analizi,  
 M; Marker ( $\Phi$ X174DNA/ BsuRI (HaeIII),  
 1- *B. henselae* (ATCC 49793)  
 2-*B.clarridgeiae* Tel-Aviv sokak kedisi suşu  
 3,4,5- *B.clarridgeiae* izolatları  
 6,7,8-*B. henselae* izolatları

### 3.2.4. Kültürel ve PZR Muayene Sonuçları

Ankara bölgesi genelinde kedilerin % 9,4'ü *Bartonella spp.* yönünden bakteriyemik olduğu, kedilerin % 8,2'si *B. henselae*, % 1,2'i *B.clarridgeiae* yönünden bakteriyemik olduğu belirlendi. Kültür amaçlı kullanılan üç farklı besiyerinde ve iki farklı yöntemle izole edilen *Bartonella spp* izolatlarının üreme zamanları ve cfu/ml değerleri Tablo-3'de verilmiştir. Tavşan kanlı BHI agar ile 24 örnekten izolasyon yapılırken, at kanlı BHI agar ile 21 örnekten, çikolata agar ile 19 örnekten izolasyon yapılmıştır. Direk ekimde kullanılan Tavşan kanlı BHI agar ile 19 örnekten izolasyon yapılmıştır.

**Tablo -3, *Bartonella spp* İzolatlarının Üreme Zamanları ve cfu/ml Değerleri (\**B.clarridgeiae*)**

Örnek no	ÇOKLAŞTIRMA YÖNTEMİ						DİREKT EKİM	
	Tavşan kanlı BHI agar		At kanlı BHI agar		Çikolata agar		Tavşan kanlı BHI agar	
	cfu/300µl	üreme süresi/gün	cfu/300µl	üreme süresi/gün	cfu/300µl	üreme süresi/gün	cfu/120µl	üreme süresi/gün
Ç-22	213	5	192	7	246	7	41	10
Ç-32	163	7	112	8	142	7	17	9
Ç-42	37	5	43	7	33	5	7	11
Ç-48	2	9	1	11	0	----	0	----
Ç-49	3	11	2	11	2	11	0	----
Ç-59*	109	5	98	8	87	6	11	9
Ç-75	763	4	513	7	696	5	187	7
Ç-76	812	6	651	6	568	6	320	7
Ç-81	307	8	250	8	330	7	160	10
Ç-84	10	6	1	8	6	6	1	11
Ç-97	2	8	1	10	0	----	0	----
Ç-105	82	5	69	5	61	5	16	7
Ç-109*	2	9	0	----	0	----	0	----
Ç-156*	3	10	0	----	0	----	1	10
Ç-157	3	8	2	8	1	8	1	9
E-34	1	7	0	----	0	----	0	----
E-63	716	4	693	6	655	4	219	7
E-64	581	5	521	7	557	7	186	7
E-72	671	6	460	6	528	6	225	8
E-81	733	7	655	7	756	7	338	9
E-56	248	6	231	8	197	8	67	11
E-85	1000>	5	1000>	6	1000>	5	513	8
D-10	92	7	87	7	83	7	19	10
O-6	376	8	301	9	397	8	35	12
<b>Ortalama</b>	<b>288</b>	<b>6,7</b>	<b>267</b>	<b>7,6</b>	<b>333</b>	<b>6,5</b>	<b>124</b>	<b>9</b>

Üreme zamanları değerlendirildiğinde, eritrositlerin lizisi ve ardından çoklaştırma yönteminde üreme zamanı Tavşan kanlı BHI agarda yaklaşık 7 gün, at kanlı BHI agarda yaklaşık 8 gün, çikolata agarda yaklaşık 7 gün olarak gözlenirken, direk ekim yönteminde kullanılan tavşan kanlı BHI agarda üreme zamanı yaklaşık 9 gün olarak bulundu.

*Bartonella spp.* yönünden bakteriyemik kedilerin barınma durumları ve yaş dağılımları değerlendirildi (Tablo-4). Barınma durumlarına göre sokak kedilerinin % 12,7'si *Bartonella spp.*, % 9,8'i *B. henselae*, % 2,9'u *B. clarridgeiae* yönünden bakteriyemik olduğu belirlendi. Ev kedileri *B. henselae* yönünden % 7,1 bakteriyemik bulunurken, sokakla ilişkilerine göre sınıflandırıldığında, sokakla ilişkili ev kedilerinin % 10,7'si, evle sınırlı ev kedilerinin % 2,9'i *B. henselae* yönünden bakteriyemik bulundu. Ev kedilerinde *B. clarridgeiae* tespit edilemedi. Sokak kedilerinin, sokakla ilişkili ev kedilerinin ve evle sınırlı ev kedilerinin *Bartonella spp* bakteriyemi pozitifliği yönünden aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Sokak kedilerinin ve sokakla ilişkili ev kedilerinin *Bartonella spp* bakteriyemi pozitifliği yönünden aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlemlendi, fakat sokak kedileri ve evle sınırlı ev kedilerinin *Bartonella spp* bakteriyemi pozitifliği yönünden aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ( $P<0,05$ ).

Bakteriyemi pozitifliğinde, yaş dağılımına göre en yüksek pozitiflik oranı sokak kedilerinde 12-23 aylık kedilerin % 16,6'sı, sokakla ilişkili ev kedilerinde 12-23 aylık kedilerin % 19'u, evle sınırlı ev kedilerinde 2-11 aylık kedilerin % 7,1'i pozitif bulundu. Kedilerin genelinde, 2-11 aylık kedilerin % 9,1'i, 12-23 aylık kedilerin % 12,3'ü, 24 aylıktan büyük kedilerin % 6,3'ü *Bartonella spp.* yönünden bakteriyemik bulundu. Kedilerin yaş dağılımına göre gruplar arasında *Bartonella spp.* bakteriyemi pozitifliği yönünden aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı.

**Tablo-4, *Bartonella spp.* Yönünden Bakteriyemik Kedilerin Barınma Durumu ve Yaş Dağılımı**

Yaş	Sokak Kedileri			Sokakla İlişkili Ev Kedileri			Evle Sınırlı Ev Kedileri		
	Pozitif	Negatif	%	Pozitif	Negatif	%	Pozitif	Negatif	%
2-11ay	5	36	<b>12</b>	2	17	<b>10,5</b>	2	26	<b>7,1</b>
12-23 ay	5	25	<b>16,6</b>	4	17	<b>19</b>	-	22	<b>0</b>
24 ay $\geq$	3	28	<b>9,7</b>	3	41	<b>6,8</b>	-	20	<b>0</b>
<b>TOPLAM</b>	13	89	<b>12,7*</b>	9	75	<b>10,7</b>	2	68	<b>2,9*</b>

\* (P<0,05)

**Tablo -5 *B.henselae* Yönünden Bakteriyemik ve Seropozitif Kedilerin Barınma Durumuna Göre Dağılımı**

	Sokak Kedileri	Ev Kedileri	
		Sokakla İlişkili Ev Kedileri	Evle Sınırlı Ev Kedileri
<b>Bakteriyemik %</b>	<b>9,8</b>	<b>10,7</b>	<b>2,9</b>
<b>Seropozitif %</b>	<b>27,5</b>	<b>14,3</b>	<b>11,4</b>

### 3.2.5. Serolojik Bulgular

IFAT ile yapılan serolojik çalışmada, *anti-B. henselae* IgG antikoruna yönünden seropozitif kediler belirlendi. Sokak kedilerinin % 27,5'i, ev kedilerinin % 12,9'u *anti-B. henselae* IgG antikoruna yönünden seropozitif bulundu. Ev kedilerinin sokakla ilişkilerine göre; sokakla ilişkili ev kedilerinin % 14,3'ü, evle sınırlı ev kedilerinin % 11,4'ü *anti-B. henselae* IgG antikoruna yönünden seropozitif bulundu. Ankara bölgesi genelinde kedilerinin % 18,8'si *anti-B. henselae* IgG antikoruna yönünden seropozitif bulundu. Sokak kedilerinin, sokakla ilişkili ev kedilerinin ve evle sınırlı ev kedilerinin *B. henselae* seropozitifliği yönünden aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu gözlemlendi ( $P < 0,05$ ).

Seropozitif bulunan 48 kedinin 27(% 56,2)'si 1/64 titrede, 14(% 29,1)'ü 1/128 titrede, 4(% 8,3)'ü 1/256 titrede, 3(% 6,2)'ü 1/512 titrede pozitif bulunmuştur(Tablo-7).

**Tablo-6, B. henselae Yönünden Seropozitif Kedilerin Barınma Durumları ve Yaş Aralıklarına Göre Dağılımı**

Yaş	Sokak Kedileri			Ev kedileri					
				Sokakla İlişkili Ev Kedileri			Evle Sınırlı Ev Kedileri		
	Pozitif	Negatif	%	Pozitif	Negatif	%	Pozitif	Negatif	%
2-11 ay	9	32	<b>21,9</b>	1	18	<b>5,2</b>	4	24	<b>14,3</b>
12-23 ay	8	22	<b>26,6</b>	4	17	<b>19</b>	1	21	<b>4,5</b>
24 ay ≥	11	20	<b>35,4</b>	7	37	<b>15,9</b>	3	17	<b>15</b>
<b>TOPLAM</b>	28	74	<b>27,5*</b>	12	72	<b>14,3*</b>	8	62	<b>11,4*</b>

\*( $P < 0,05$ )

**Tablo-7, *B. henselae* Yönünden Seropozitif Kedilerde Pozitif Titre Dağılımı**

BARINMA DURUMU	Pozitif (+)	1/64	1/128	1/256	1/512
Sokak Kedileri	28	17	8	2	1
Sokakla İlişkili Ev Kedileri	12	4	4	2	2
Evle Sınırlı Ev Kedileri	8	6	2	-	-
Toplam	48	27	14	4	3

*B. henselae* yönünden seropozitif olan 48 kedinin 17 (% 35,5)'i *B. henselae* yönünden bakteriyemik bulunurken, seronegatif olan 208 kedinin 4(% 1,9)'ü bakteriyemik bulundu. Serolojinin bakteriyemiye göre pozitif prediktivitesi % 35,5 negatif prediktivitesi % 98 olarak belirlendi. *B. henselae* yönünden bakteriyemik kedilerin antikor titre dağılımları Tablo-8'de verilmiştir. Bakteriyemik kedilerin % 52,9'u 1/64 titrede pozitif bulundu.

**Tablo-8, *B. henselae* Bakteriyemik Kedilerde *Anti-B. henselae* IgG Antikoru Titre Dağılımı**

	Negatif	1/64	1/128	1/256	1/512
Evle Sınırlı		2			
Ev-Sokak	4	1	3		
Sokak		6	4		1
Toplam	4	9	7		1

Evle sınırlı kediler orijinlerine göre değerlendirildi. Evle sınırlı kedilerin 26 (% 37)'si evde doğmuş, 12 (% 17)'si petshoptan alınmış, 32(% 45,7)'si sokaktan alınmıştır. *Bartonella spp.* bakteriyemisi yönünden değerlendirildiğinde evde doğmuş kedilerden etken izole edilemedi(% 0). Petsoptan alınmış 1 (% 8,3) kediden, sokaktan alınmış 1 (% 3,1) kediden *B. henselae* izole edildi.

Evle sınırlı kediler orijinlerine göre seropozitiflik yönünden değerlendirildiğinde evde doğmuş 1(% 3,8) kedi, pet malzemesi satan merkezden alınmış 2 (% 16,6) kedi, sokaktan alınmış 5 (% 15,6) kedi *anti-B. henselae* IgG antikoru yönünden seropozitif bulundu(Tablo-9).

**Tablo-9**, Evle Sınırlı Kedilerde *B. henselae* Bakteriyemisi ve Seropozitiflik dağılımı

Orijini	Sayısı	Bakteriyemi (yaş/aylık)	Seropozitif
Evde doğmuş	26 (% 37)	0	1
Petshop	12 (% 17)	1 <sub>(10 aylık)</sub>	2
Sokak	32 (% 46)	1 <sub>(9 aylık)</sub>	5

Kedilerde cinsiyete göre pozitiflik dağılımı Tablo-10'da verilmiştir. Dişilerin % 9,2'si, erkeklerin % 6,4'ü *Bartonella spp* yönünden bakteriyemik bulundu. Dişilerin % 20,8'si, erkeklerin % 15'i *anti-B. henselae* IgG antikoru yönünden seropozitif bulundu. Dişi ve erkekler arasındaki *Bartonella spp* bakteriyemisi ve *B. henselae* seropozitifliği yönünden fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Dişi ve erkeklerin barınma durumları dikkate alındığında, evle sınırlı kediler ve sokakla ilişkili kedilerde cinsiyetler arasındaki hem bakteriyemik hem de seropozitiflik yönünden fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Sokak kedilerinde dişilerde % 13,8 erkeklerde % 2,7 bakteriyemi belirlenirken, dişilerde % 35,3 erkeklerde % 13,5 *anti-B. henselae* IgG antikoru yönünden seropozitiflik belirlendi. Sokak kedilerinde



dişi ve erkekler arasında bakteriyemi yönünden fark önemli bulunmazken, seropozitiflik yönünden fark önemli bulundu( $P<0,05$ ). Dişi kedilerin barınma durumlarına göre seropozitiflikleri değerlendirildiğinde aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu( $P<0,05$ )

**Tablo-10, Kedilerde *B. henselae*'nin Cinsiyete Göre Pozitiflik Dağılımı**

BARINMA	DİŞİ			ERKEK		
	Sayı	<i>B. henselae</i> Bakteriyemi Pozitif	<i>B. henselae</i> IgG pozitif	Sayı	<i>B. henselae</i> Bakteriyemi Pozitif	<i>B. henselae</i> IgG pozitif
Evle Sınırlı	44	1 (% 2,4)	5 (% 11,3)*	26	1 (% 3,8)	3 (%11,5)
Sokakla İlişkili	54	5 (% 9,2)	6 (% 11,1)*	30	4 (%13,3)	6 (% 20)
Sokak	65	9 (% 13,8)	23 (% 35,3)*	37	1 (% 2,7)	5(%13,5)*
Toplam	163	15 (% 9,2)	34 (% 20,8)	93	6 (% 6,4)	14 (% 15)

\*( $P<0,05$ )

Kedilerde *B. henselae* bakteriyemisini belirlemede kan kültürü altın standart olarak kabul edilirse, serolojik yöntemde kullanılan IFAT'ın sensitivitesi (duyarlılık) ve spesifitesi(özgüllük) belirlenebilir. 256 kedinin 21 tanesi *B. henselae* yönünden bakteriyemik, bu kedilerin 17 tanesi seropozitif, 4 tanesi seronegatifdir. 235 kede *B. henselae* yönünden bakteriyemi belirlenememiştir. Bu kedilerden 31 tanesi seropozitif iken 204 tanesi seronegatifdir. IFAT'ın sensitivitesi % 80,9 ve spesifitesi % 86,8 olarak hesaplandı.

#### 4. TARTIŞMA

Seroepidemiyolojik ve bakteriyolojik çalışmalar *B. henselae*'nın kedilerde dünya genelinde yaygın olduğunu ortaya koymaktadır. Coğrafik lokalizasyon ve kedilerin yaşam koşullarına göre, kedilerde seroprevalans % 5-% 80 arasında, bakteriyemi prevalansı ise çok düşük oranlardan, kedi popülasyonunun yarısından fazlasında bulunacak oranda dalgalanmaktadır ( Boulouis ve ark., 2005).

Kedilerde seroprevalansı ve bakteriyemi prevalansını etkileyen en önemli faktör, kedi popülasyonundaki, *B.henselae*'yı kediler arasında taşımakta olan ana vektör kedi pirelerinin yaygınlığıdır. Pireler üreme ve gelişme açısından iklimsel özelliklerden önemli şekilde etkilenmektedir. Ilıman ve nemli iklim bölgeleri kedilerde pire enfestasyonunun yaygın olduğu bölgelerdir (Jameson ve ark.,1995). Bu sebepten dolayı ülkeler içindeki bölgeler arasındaki iklim farklılıkları dahi kedilerde *B. henselae* seroprevalansı ve bakteriyemi prevalansında farklılıklara neden olmaktadır(Jameson ve ark.,1995; Maruyama ve ark.,2000).

Akdeniz ülkelerindeki kedi popülasyonunda *B. henselae* prevalansına ilişkin çalışmalarda; Kuzey İtalya'da, Cabassi ve ark. (2002), ev kedilerinde *B. henselae* bakteriyemi prevalansını % 9,7, Fabbi ve ark. (2004a,b), bir çalışmada sokak kedilerinde bakteriyemi prevalansını % 23 seroprevalansı % 39, başka bir çalışmada sokak kedilerinde bakteriyemi prevalansını % 18 seroprevalansı % 38 olarak bildirmişlerdir. Fransa Paris'te Gurfield ve ark. (2001), ev kedilerinde *B. henselae* bakteriyemi prevelansını % 16,5 seroprevalansı % 41 bulurken, Fransa Nancy'de Heller ve ark. (1997), sokak kedilerinde Bakteriyemi prevelansını % 37,2 bildirmişlerdir. İsrail'de Baneth ve ark. (1996), ev kedilerinde seroprevalansı % 39,5 olarak bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada Ankara bölgesi kedilerinde *B. henselae* bakteriyemi prevalansı % 8,2, seroprevalansı % 18,8 olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın verilerinin bildirilen diğer ülke verilerine oranla daha düşük bir oranda olması, bu çalışmanın yapıldığı yer olan Ankara'da karasal iklimin hüküm sürmesini düşündürmektedir. Dolayısıyla ülkemizde akdeniz ikliminin etkisindeki, şehirleşmenin ve nüfus yoğunluğunun daha fazla olduğu kıyı bölgelerimizdeki kedi populasyonunda bu oranların daha yüksek olması beklenebilir.

Kedilerin yaşam koşulları ele alındığında sokak kedilerinin ev kedilerine oranla pozitiflik oranlarının daha fazla olduğu bildirilmiştir. Arvand ve ark. (2001), Berlin’de sokak kedilerinin % 18,7’sini bakteriyemik bulurken ev kedilerinin % 1’ni bakteriyemik bulmuştur. Chomel ve ark. (1995), ev kedilerinde % 24 sokak ve sahipsiz kedilerde % 61 bakteriyemi belirlemişlerdir. Childs ve ark. (1994), *B. henselae* seroprevalansını ev kedilerinde % 12, sokak kedilerinde % 44 bulmuşlardır. Barnes ve ark. (2000), *B. henselae* seroprevalansını ev kedilerinde % 40,6, sokak kedilerinde % 41,8 olarak belirlerken, sokak ve ev kedileri arasında pozitiflik yönünden önemli bir farklılığın olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, *B. henselae* bakteriyemi prevalansı sokak kedilerinde % 9,8, ev kedilerinde (sokakla ilişkili ev kedileri ve evle sınırlı ev kedileri) % 7,1 olarak belirlenirken, bakteriyemi yönünden sokak kedileri ve ev kedileri arasında önemli bir farklılık bulunamadı. *Bartonella henselae* seroprevalansı sokak kedilerinde % 27,4, ev kedilerinde % 12,9 olarak belirlenirken, seropozitiflik yönünden sokak kedileri ve ev kedileri arasında önemli bir farklılık bulundu. Bakteriyemik yönden sokak kedileri ve ev kedileri arasında önemli bir farkın olmamasının nedeni, bu çalışmada kullanılan kedilerin % 80’inin orijininin sokak kaynaklı olmasından kaynaklanabilir. Bakteriyemik yönden sokak kedileri % 12,7 evle sınırlı ev kedileri % 2,9 pozitif ve aralarında ki fark önemli bulundu.

Ev kedilerinin sokakla ilişkilerinin *B. henselae* pozitifliği üzerine etkisini Maruyama ve ark. (2003) araştırmış ve sokakla ilişkili kedilerde seroprevalansı % 14,5, evle sınırlı kedilerde ise seroprevalansı % 7 olarak belirlemişler ve aralarındaki fark önemli bulunmuşlardır. Bu çalışmada, ev kedilerinin sokakla ilişkilerine göre pozitiflikleri değerlendirildiğinde, sokakla ilişkili ev kedilerinde bakteriyemi prevalansı % 10,7 seroprevalans % 14,3 olarak bulunurken, evle sınırlı ev kedilerinde bakteriyemi prevalansı % 2,9 seroprevalans % 11,4 olarak bulundu.

Gurfield ve ark. (2001), ev kedisi orijinlerinin pozitiflik üzerine etkilerini incelemişler ve sokak orijinli olan ev kedilerinin % 25,8’inin *B. henselae* yönünden bakteriyemik, % 49,5’inin de seropozitif olduğunu açıklamışlar ve bir pet malzemesi satan merkezden, yetiştiriciden veya bir aileden alınan evde doğmuş kedilerin %

14,2'sinin *B. henselae* yönünden bakteriyemik , % 38,6'sını da seropozitif olduğunu belirlemişlerdir. Guptill ve ark. (2004) da sokak ve barınaktan alınan kedilerin seropozitifliklerinin evde doğan kedilere göre daha yüksek olduğunu ve evde doğan ve bakılan kedilerde *B. henselae* bakteriyemisine daha az rastlandığını bildirmişlerdir. Sokak kedilerinin ev kedilerine oranla, sokakla ilişkili ev kedilerinin evle sınırlı kedilere oranla pozitiflik oranlarının daha yüksek olması, sokak kedilerinin ve sokakla ilişkili ev kedilerinin vektör pire enfestasyonuna yakalanma olasılığının fazla olması ile açıklanmaktadır (Chomel ve ark.,1995; Heller ve ark.,1997; Arvard ve ark.,2001; Maruyama ve ark.,2003). Bu çalışmada, evle sınırlı kediler orijinlerine göre değerlendirildiğinde evde doğmuş 26 kedinin hiç birinde bakteriyemi belirlenemezken, 1(% 3,8) kedi seropozitif olarak belirlendi. Pet malzemesi satan merkezden alınmış 12 kedinin 1 (% 8,3)'inde *B. henselae* bakteriyemisi belirlenirken, 2 (% 16,6) kedide seropozitiflik belirlenmiştir. Sokaktan alınmış 32 kedinin 1 (% 3,1)'inde bakteriyemi belirlenirken, 5 (% 15,6) kedide seropozitiflik belirlenmiştir. Bakteriyemi belirlenen evle sınırlı kedilerin yaşları değerlendirildiğinde 9 ve 10 aylık kediler olması ve kedilerde uzun süreli bir bakteriyemi görülmesi kedilerin etkenleri sokaktan ve pet malzemesi satan merkezden aldıkları ihtimalini güçlendirmektedir.

Kedilerde *B. henselae* pozitifliğinde cinsiyet ele alındığında, Maruyama ve ark. (1998), Bergmans ve ark. (1997a), erkek kedilerde pozitiflik oranının daha yüksek, Sander ve ark. (1997), dişi kedilerde pozitifliğin daha yüksek, Maruyama ve ark. (2003), Foley ve ark. (1998), Glaus ve ark. (1997), erkek ve dişiler arasında önemli bir farklılık gözlenmediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada Ankara bölgesi kedilerinin genelinde hem bakteriyemi hem de seropozitivite yönünden dişilerde erkeklerden daha yüksek bir oran gözlenirken, dişi ve erkekler arasındaki önemli fark sokak kedilerinde gözlenmiştir. Sokak kedilerinde dişilerde % 13,8 erkeklerde % 2,7 *B. henselae* bakteriyemisi gözlenirken, dişilerde % 35,3 erkeklerde % 13,5 *anti-B. henselae* IgG antikorunu yönünden seropozitiflik gözlendi.

Kedilerin yaşının, *B. henselae* pozitifliği üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalarda bakteriyemi yönünden, Cabbasi ve ark. (2002), ve Chomel ve ark. (1995), 1 yaş altı kedilerde bakteriyemi oranının daha yüksek

olduğunu, Gurfield ve ark. (2001), 6 aydan küçük kedilerin % 25'inin, 6 aydan büyük kedilerin % 14,4'ünün bakteriyemik olduğunu, Sander ve ark. (1997), 2 yaş altı kedilerin % 18'inin, 2 yaş üstü kedilerin % 5'inin bakteriyemik olduğunu, Bergmans ve ark. (1997a), 1 yaş altı kedilerin % 30'unun, 1–4 yaş arası kedilerin % 22'sinin, 4 yaş üstü kedilerin % 16'sının bakteriyemik olduğunu bildirirken serolojik yönden Maruyama ve ark. (2003), 1 yaş altı kedilerin % 8,2'sinin, 1–2 yaş arası kedilerin % 11,5'inin ve 2 yaş üstü kedilerin % 10'unun seropozitif olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada, 0–11 aylık kedilerin % 9,1'i, 12–23 aylık kedilerin % 8,2'si, 24 aylıktan büyük kedilerin % 6,3'ü *B. henselae* yönünden bakteriyemik bulundu. 0–11 aylık kedilerin % 14,2'sinin, 12–23 aylık kedilerin % 17,8'i, 24 aylıktan büyük kedilerin % 22'si *anti-B. henselae* IgG yönünden seropozitif bulundu. Bu çalışmada istatistiksel olarak yaş grupları arasındaki fark önemli bulunmasa da oransal olarak genç kedilerin *B. henselae* yönünden bakteriyemik olma olasılığının daha yüksek olduğunu göstermektedir..

Chomel ve ark. (1995), *B. henselae* yönünden bakteriyemik olarak belirlenen kedilerin % 5'ini *anti-B. henselae* IgG yönünden seronegatif olarak belirlerken, Bergmans ve ark. (1997a), % 8'ini, Gurfield ve ark. (2001), % 9,7'sini, Guptill ve ark. (2004), % 14'nü, Messam ve ark. (2005), % 30'nu *anti-B. henselae* IgG yönünden seronegatif olarak belirlemişlerdir. Bakteriyemik kedilerde seronegatif durumun olması; enfeksiyonun erken döneminde antikor yanıtının gelişmemesi, immün sistemi baskılayan başka bir enfeksiyonla birlikte seyretmesi, düşük yoğunlukta bakteriyeminin antikor yanıtını uyarmaması ile açıklanmaktadır(Chomel ve ark.,1995). Chomel ve ark. (1995) bakteriyemik olup da seronegatif olarak belirledikleri 4 kedinin 3'ünde, 1 ml kandaki CFU'yu 16, 21, 260 olarak belirlerken düşük yoğunlukta bakteri yükünün antikor yanıtını oluşturamayabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, *B. henselae* yönünden bakteriyemik olarak belirlenen 21 kedinin 17(% 81)'si *anti-B. henselae* IgG yönünden seropozitifken, 4( % 19)'ü seronegatif bulundu. bakteriyemik olup da seronegatif olarak belirlenen Ç–48, Ç–49, E–34 ve Ç–32 kodlu 4 kedinin tavşan kanlı BHI agarda 1 ml kanda CFU değerleri 6 9 3 ve 489, at kanlı BHI agarda 3 6 0 ve 336, çikolata agarda 0 6 0 ve 426 olarak belirlenmiştir. İlk üç kedideki değerler, kedilerin ya enfeksiyonun başlangıç

döneminde olduğunu ya da bu yoğunluktaki bakteri yükünün antikor yanıtını oluşturamayacağını akla getirmektedir.

Kedilerde rastlanan *Bartonella* türleri olan *B. henselae*, *B.clarridgeiae* ve *B.koehlerae*'nin kedilerde yaygınlığı değerlendirildiğinde, kedilerden izole edilen *Bartonella* türlerinin çoğunluğunu *B. henselae* oluşturmaktadır. Bazı kedilerde hem *B. henselae* hem de *B.clarridgeiae* bakteriyemisi birlikte görülebilmektedir. *B.koehlerae* ise kedilerde nadiren bildirilmektedir. İsrail'de kedilerden izole edilen, 48 *Bartonella spp.*'nin 40(% 83)'inin *B. henselae*, 7(% 15)'sinin *B.clarridgeiae* ve 1(% 2)'nin *B.koehlerae* olduğu(Boulouis ve ark., 2005), Japonya'da kedilerden izole edilen, 50 *Bartonella spp.*'nin 45(% 90)'inin *B. henselae*, 4(% 8)'ünün *B.clarridgeiae* ve 1(% 2) kedinin de *B. henselae* ve *B.clarridgeiae* ile birlikte infekte olduğu( Maruyama ve ark.2000), Filipinlerde kedilerden izole edilen, 19 *Bartonella spp.*'nin 13(% 68,4)'nün *B. henselae*, 2(% 10,5)'sinin *B.clarridgeiae* ve 4(% 21) kedinin de *B. henselae* ve *B.clarridgeiae* ile birlikte infekte olduğu(Chomel ve ark., 1999), Tayland'da 76 *Bartonella spp.*'nin 63(% 83)'ünün *B. henselae*, 9(% 11,8)'ünün *B.clarridgeiae* ve 4(% 5,3) kedinin de *B. henselae* ve *B.clarridgeiae* ile birlikte infekte olduğu (Maruyama ve ark.2001), bildirilmektedir. Bu çalışmada, 256 kedinin 24'ünden *Bartonella spp.* izole edildi ve bu kedilerin 13'ü sokak kedisi (13/102), 11'i ev kedisiydi (11/154). Sokak kedilerinden izole edilen 13 *Bartonella spp.*'nin 10(% 77)'unun *B. henselae*, 3(% 23)'ünün *B.clarridgeiae*, ev kedilerinden izole edilen *Bartonella spp.*'nin 11(% 100)'ünün de *B. henselae* olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar kedilerde *B. henselae*'nin daha fazla rastlandığını göstermektedir.

Kullanılan iki farklı ekim yönteminde, Maruyama ve ark. (2000)'nin kullandığı, kedi kanlarının dondurup çözerek eritrositlerin lize edilmesi ve santirifüjle yoğunlaştırma yöntemi ile 24 kedinin bakteriyemik olduğu belirlenmiştir. Marston ve ark. (1999)'nin kullandığı, kedi kanlarına hiçbir işlem uygulamadan direkt hemen ekim yapılması ile 19 kedinin bakteriyemik olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar Maruyama ve ark. (2000)'ni kullandığı yöntemin, Marston ve ark. (1999)'nin kullandığı yöntemle göre daha başarılı ve daha kısa sürede izolasyon şansının olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada Maruyama ve ark. (2000)'nin

uyguladığı yöntemde üç farklı besiyeri kullanılmıştır. Tavşan kanlı BHI agar ile 24 kediden, at kanlı BHI agar ile 21 kediden ve Çikolata agar ile 19 kediden izolasyon yapılırken, tavşan kanlı BHI agarın *Bartonella spp.* için daha iyi bir besiyeri olduğu gözlenmiştir. Üreme zamanı değerlendirildiğinde ise çikolata agarda üremenin diğerlerine nazaran biraz daha kısa sürede olduğu belirlenmiştir.

Chomel ve ark. (1995), serolojinin(IFAT) bakteriyemiye göre pozitif prediktivitesini % 46,4 negatif prediktivitesini % 89,7 olarak, Gurfield ve ark. (2001), pozitif prediktivitesini % 36,3, negatif prediktivitesini % 97,3 olarak, Bergmans ve ark. (1997a), pozitif prediktivitesini % 39, negatif prediktivitesini % 96 olarak, Fabbi ve ark. (2004a), ise pozitif prediktivitesini % 31,8, negatif prediktivitesini % 84,7 olarak bildirmişlerdir. Bu veriler değerlendirildiğinde serolojinin bakteriyemiye göre negatif prediktivitesi oldukça yüksek bulunmaktadır. Bundan yapılacak çıkarım ise *anti-B. henselae* IgG yönünden serolojik olarak negatif olan bir kedinin bakteriyemik olma olasılığının düşük olduğudur. Chomel ve ark. (1995), bu veriler ışığında bağışıklık sistemi yetersiz veya zayıf insanların kedi sahiplenirken *anti-B. henselae* IgG yönünden seronegatif kedileri sahiplenmelerini önermektedirler. Bu çalışmada, serolojinin(IFAT) bakteriyemiye göre prediktiv değerlerine bakıldığında, serolojinin pozitif prediktivitesi % 35,4 iken, negatif prediktivitesi % 98 olarak bulunmuştur.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada bakteriyolojik, moleküler ve serolojik yöntemler kullanılarak insanlarda KTH etkeni *B. henselae*'nın Ankara Bölgesindeki kedilerde varlığı ortaya konuldu. 256 kedinin kan kültürü yapılarak 24 kediden *Bartonella spp.* izole edildi. Bu izolatlardan, *Bartonella spp.* DNA'sı PZR amplifikasyonu kullanılarak belirlendi. Amplifikasyon ürünlerine RFLP analizi uygulanarak izolatlar tiplendirildi ve 24 izolatın 21'inin *B. henselae*, 3'ünün *B. clarridgeiae* olduğu ortaya konuldu. Bu sonuçlar ile Ankara bölgesindeki kedilerde *B. henselae* bakteriyemi prevalansı % 8,2 olarak belirlendi.

Serolojik yöntem olarak IFAT kullanılarak Ankara bölgesindeki kedilerde *anti-B. henselae* IgG varlığı araştırıldı. 256 kedinin 48'i *anti-B. henselae* IgG yönünden seropozitif bulundu. Ankara bölgesindeki kedilerde *B. henselae* seroprevalansı % 18,8 olarak belirlendi.

İklimsel özelliklerin *Bartonella* prevalansı üzerine etkileri dikkate alındığında; Ülkemiz, yılın büyük bir bölümünü nemli ve ılıman bir iklim süren, nüfus yoğunluğunun yüksek olduğu kıyı bölgelerden, kışları soğuk ve yazları kurak iç bölgelerden ve yılın büyük bölümünü soğuk ve serin geçen doğu bölgelerinden oluşmaktadır. Bu iklimsel farklılıktan dolayı bölgeler arasında prevalans farklılığı görülmesi muhtemeldir. Yazları kurak, kışları soğuk olan karasal iklimin hüküm sürdüğü bir bölgede bulunan Ankara'da kedilerde *B. henselae* bakteriyemi prevalansı % 8,2 seroprevalans % 18,6 olarak belirlenirken, kıyı bölgelerde bu değerlerin daha da yüksek, doğu bölgelerinde daha düşük olması beklenebilir. Bu ihtimaller doğrultusunda ülke genelinde çok merkezli bir çalışma yapılarak ülkemiz kedilerinde *Bartonella* türlerinin yaygınlığını belirlemek faydalı olacaktır.

KTH tanısı konan hastalarda belirlenen *B. henselae* subtipinin çoğunlukla Tip I olduğu ve Avrupa ülkeleri kedilerinde izole edilen subtipin çoğunlukla Tip II, Asya ülkeleri kedilerinde izole edilen subtipin Tip I olduğu hatırlanırsa, ülkemizin konumu



gereği hangi subtipin ¼lkemiz kedilerinde yaygın olduğunun araştırılması faydalı olacaktır.

İmmun sistemi yetersiz veya zayıf olan insanların kedi sahibi olurken dikkat etmesi gereken öneriler ise şunlar olmalıdır. Seçilen kedi, yavru ise evde doğmuş ve evle sınırlı annelerin yavrusu olması, ergin ise 2–3 yaş üstü ve düzenli olarak ektoparazit kontrolü yapılmış kediler olması, serolojik test yaptırma imkânı var ise *B. henselae* yönünden seronegatif kediler seçilmelidir. Çocuklar, genç erişkinler ve immün sistemi zayıf olanlar kedilerle temaslarında ısırma ve tırmalamaya meydan verecek davranışlardan kaçınmalıdırlar. Kedilerin tırnak kesimleri ve ektoparazit mücadelesi düzenli olarak yapılmalıdır.

## ÖZET

### Ankara Bölgesi Kedilerinde *Bartonella henselae* Seroprevalansı ve İzolatların PZR ile Belirlenmesi

Bu çalışmada Ankara bölgesinde ki kedilerde *B. henselae*'nin varlığını ve bölge kedilerinde seroprevalansı belirlemek amaçlanmıştır. Ankara bölgesindeki 256 kediden aseptik şartlarda kan alındı. Bu kanın bir kısmı etkeni kedi kanından izole etmek için kan kültüründe, bir kısmı da serolojik çalışmada kullanıldı.

Kan kültürü için kedi kanları üç farklı besiyeri kullanılarak uzun süreli bir inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresince üremeler, koloni morfolojisi, üreme süresi, Gram negatif ve biyokimyasal özelliklerine göre değerlendirildi, 24 olası *Bartonella spp.* izolatı belirlendi. *Bartonella spp.* sitrat sentez genine homolog iki primer kullanılarak izolatların DNA'ları PZR ile amplifiye edildi ve 24 izolatın da *Bartonella spp.* olduğu belirlendi. 24 izolata ait amplifikasyon ürünleri, Taq-1 ve Hha-1 endonükleazları kullanılarak RFLP analizi uygulandı ve *Bartonella* türleri belirlendi. RFLP analizi ile 24 izolatın 21'inin *B. henselae* ve 3'ünün *B. clarridgeiae* olduğu belirlendi. Ankara bölgesindeki kedilerin % 8,2'sinin *B. henselae*, % 1,2'sinin *B. clarridgeiae* yönünden bakteriyemik olduğu ortaya konuldu.

Kedi serumları *anti-B. henselae* IgG yönünden IFAT ile tarandı. IFAT'ta 1/64 serum dilüsyonunda antikor varlığı pozitif olarak değerlendirildi ve 48 kedide *anti-B. henselae* IgG antikoru belirlendi. Ankara Bölgesi kedilerinde *B. henselae* seroprevalansı % 18,8 olarak ortaya konuldu.

Bu çalışma ile Ankara bölgesi kedilerinde *B. henselae* varlığı ortaya konuldu. Etkenin zoonotik öneminden dolayı, özellikle, çocukların ve immun sistemi yetersiz erişkinlerin kedilerle ilişkilerinde dikkatli davranarak ısırma ve tırmalamaya meydan verecek davranışlardan kaçınılmalıdır. Kedilerin ekto parazit kontrolleri ve mücadelesi düzenli olarak yapılması önem taşımaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** *Bartonella henselae*, IFAT, Kedi, PZR,

## SUMMARY

### **Seroprevalence of *Bartonella henselae* in Cats of Ankara Region and Determination of Isolates by PCR.**

In this research, determination of *B. henselae* seroprevalance and presence of *B. henselae* in Ankara region cats were aimed. Blood sample were taken in aseptical condition from 256 Ankara region cats. Some part of each these blood samples were used for blood culture to isolate agent in cat blood, other part of each blood were used for serological tests.

For blood culture, the cat blood samples were incubated in 3 different media for long period. During the incubation time, growths were appraised according to the colony morphology, growth time, Gram negative and biochemical properties. 24 presumptive *Bartonella* spp. isolates were isoleted. DNA of each isolates were amplified with PCR , using homolog two primers to citrate synthesis gen of *Bartonella* spp. and isolates were defined as *Bartonella* spp. The amplification products which belong to 24 isolates were analysed with RFLP by using Taq-I and Hha-I endonucleases and *Bartonella* species were defined. 24 isolates were determinated as *B. henselae* and 3 of 24 of them were determinated as *B.clarridgeiae* with RFLP analysis,. 8,2% of Ankara region cats were found bacteremic for *B. henselae* and 1,2% of them were found bacteremic for *B.clarridgeiae*.

Sera of the cats were tested for anti *B. henselae* IgG by IFA. With IFA test, at 1/64 sera dilution, presence of antibody was evaluated as positive and anti *B. henselae* IgG antibody was found in 48 cats. The seroprevalance of Ankara region cats was found 18,8% .

With this study, presence of *B. henselae* in Ankara region cats was found. Because of zoonotical importance of the agents, especially children and the adults who has immunocompromise situation, as they were with cats, they should avoid the situation like biting, sctatching. The cats should be controlled and struggled aganist ectoparasites regular.

**Key words :** *Bartonella henselae*, IFA, Cat, PCR

## KAYNAKLAR

- ABBOTT R.C., CHOMEL B.B., KASTEN R.W., FLOYD-HAWKINS K.A., KIKUCHI Y., KOEHLER J.E., PEDERSEN N.C.(1996) Experimental and Natural Infection with *Bartonella henselae* in Domestic Cats. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 20(1):41–51.
- AMEREIN M.P., DE BRIEL D., JAULHAC B., MEYER P. MONTEIL H., PIEMONT Y.(1996) Diagnostic Value of the Indirect Immunofluorescence Assay in Cat Scratch Disease with *Bartonella henselae* and *Apifia felis* Antigens. *Clin.Diagn.Lab.Immunol* 3(2):200-2004.
- ANDERSON B.E., NEUMAN M.A.(1997) *Bartonella* spp. as Emerging Human Pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.* 10 (2) : 203–219.
- ARDA M.(2000) Temel Mikrobiyoloji 2.Baskı S:483-491 Ankara: Medisan.
- ARI Ş.(1999) DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PCR) ile Çoğaltılması ‘*Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*’ Ed: TEMİZKAN G., ARDA N. Nobel Tıp Kitabevleri.
- ARVAND M., KLOSE A.J., PORSCHE D.S., HAHN H., WENDT C. (2001) Genetic Variability and Prevalence of *Bartonella henselae* in Cats in Berlin, Almanya and Analysis of Its Genetic Relatedness to a Strain from Berlin That Is Pathogenic for Humans. *J. Clin. Mikrobiol.* 39 (2) :743–746.
- AVIDOR B., GRAIDY M., EFRAT G., LEIBOWITZ C., SHAPIRA G., SCHATTNER A., ZIMHONY O., GILADI M.(2004) *Bartonella koehlerae*, a new cat-associated agent of culture-negative human endocarditis. *J.Clin. Microbiol.* 42(8):3462-3468.
- BANETH G., KORDICK D.L., HEGARTY B.C., BREITSCHWERDT E.B.(1996) Comparative seroreactivity to *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* among cats from Israel and North Carolina. *Vet. Microbiol.* 50: 95–103.
- BARNES A., BELL S.C., ISHERWOOD D.R., BENNETS M., CARTER S.D.(2000) Evidence of *Bartonella henselae* infection in cats and dogs in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 147:673–677.
- BARR Y.R., QUI S.(2005) A 16 Year-old Adolescent boy With Unilateral Cervical Lymphadenopathy Suspicious for Malignancy. *Arch. Pathol.Lab.Med.*129:1065-1066.
- BERGMANS A.M.C., DE JONG M.A., VAN AMERONGEN G., SCHOT C.S., SCHOOLS L.M. (1997a) Prevalence of *Bartonella* Species in Domestic Cats in The Netherlands. *J. Clin. Microbiol.* 35 (9) : 2256–2261.
- BERGMANS A.M.C., PEETERS M.F., SCHELLEKENS J.F.P., VOS M.C., (1997b) Pitfalls and Fallacies of Cat Scratch Disease Serology: Evaluation of *Bartonella henselae*- Based Indirect Fluorescence Assay and Enzyme-Linked Immunoassay. *J. Clin. Mikrobiol.* 35 (8) :1931–1937.
- BERGMANS A.M.C., SCHELLEKENS J.F.P., EMBDEN J.D.A., SCHOOLS L.M.(1996) Predominance of Two *Bartonella henselae* Variants among Cat-Scratch Disease Patients in The Netherlands. *J.Clin.Microbiol* 34(2): 254-260.

- BERGMANS A.M., GROOTHEDDE J.W., SCHELLEKENS J.F., VAN EMBDEN J.D., OSSEWAARDE J.M., SCHOULS L.M.(1995) Etiology of Cat Scratch Disease: Comparison of Polymerase Chain Reaction Detection of Bartonella (formerly Rochalimaea) and Afipia felis DNA with Serology and Skin Tests. *J Infect Dis.* 171(4):916-23.
- BIRTLES R.J., LAYCOCK G., KENNY M.J., SHAW S.E., DAY M.J.(2002) Prevalence of Bartonella species causing bacteremia in domesticated and companion animals in the United Kingdom. *Vet.Rec.* 151:225-229.
- BİLGEHAN, H.(1996): Fluoresanlı Antikor Deneyi, " *Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi* " ,8.Baskı., 445-446, Barış Yayınevleri Fakülteler Kitabevi, İzmir,Türkiye.
- BOULOUIS H.J., CHANG C.C., HENN J.B., KASTEN R.W., CHOMEL B.B.(2005) Factors associated with the rapid emergence of zoonotic Bartonella infections. *Vet.Res.* 36:383-410.
- BREITCSHWERDT E.B.,KORDICK D.L.,MALARKEY D.E., KEENE B., HANDFIELD T.L., WILSON K., (1995a) Endocarditis in a Dog Due to Infection with a Novel Bartonella Supspecies. *J.Clin.Microbiol.* 33(1):154-160.
- BREITSCHWERDT E.B., KORDICK D. (1995b) Bartonellosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 206(12) : 1928-1931.
- BREITSCHWERDT E.B., KORDICK D.L.(2000) Bartonella Infection in Animals: Carriership, Reservoir Potential, Pathogenicity, and Zoonotic Potential for Human Infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 13 (3) :428-438.
- BRENNER S.A., ROONEY J.A., MANZEWITSCH P., REGNERY R.L.(1997) Isolation of Bartonella henselae; Effects Methods of Blood Collection and Handlig. *J. Clin. Microbiol.* 35 (3) :544-547.
- CABASSI C.S., FARNETTI E., CASALI B. TADDEI S., DONOFRIO G., GALVANI G., CAVIRANI S.(2002) Isolation of Bartonella henselae from Domestic cars in a Italian Urban Area. *New Microbiol* 25(2) :253-257.
- CHILDS J.E., OLSON J.G., WOLF A., COHEN N., FAKILE Y., ROONEY J.A., BACELLAR F., REGNERY R.L.(1995) Prevalence of antibodies to Rochalimaea species ( cat scratch disease agent ) in cats. *Vet.Rec.* 136:519-520.
- CHILDS J.E., ROONEY J.A., COOPER J.L., OLSEN J.G., REGNERY R.L.(1994) Epidemiologic observations on infection with Rochalimaea species among cats living in Baltimore,Md. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204 (11) :1775-1778.
- CHOMEL B.B., ABBOTT R.C.,KASTEN R.W., FLOYD-HAWKINS K.A.(1995) Bartonella henselae Prevalence in Domestic cat in California: Risk Factors and Association between Bacteremia and Antibody Titers. *J. Clin. Microbiol.* 33 (9):2445-2450.
- CHOMEL B.B., BOULOUIS H.J., BREITSCHWERDT E.B.(2004). Cat scratch disease and other zoonotic Bartonella infections. *J.Am.Vet.Med.Asso.* 224(8):1270-1279.
- CHOMEL B.B., BOULOUIS H.J., PETERSEN H., KASTEN R.W., YAMAMOTO K., CHANG C.C., GANDOÏN C., BOUILLIN C., HEW C.M.(2002) Prevalence of Bartonella infections in domestic cats in Denmark. *Vet.Res.* 33: 205-213.

- CHOMEL B.B., CARLOS E.T., KASTEN R.W., YAMAMOTO K. CHANG C-C., CARLOS R.S., ABENES M.V., PAJARES C.M.(1999) Bartonella henselae and Bartonella clarridgeiae Infection in Domestic Cats from The Philippines. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 60(4) :593-597.
- CHOMEL B.B., KASTEN R.W., FLOYD-HAWKINS K.A., CHI B., YAMAMOTO K., ROBERT-WILSON J., GURFIELD N., ABBOTT R.C., PEDERSEN N.C., KOEHLER J.E.(1996) Experimental Transmission of Bartonella henselae by the Cat Flea. *J.Clin Microbiol.* 34(8):1952-1956.
- CHOMEL B.B., MAC DONALD K.A., KASTEN R.W., CHANG C.-C.(2001)Aortic Valve Endocarditis in a Dog Due to Bartonella clarridgeiae. *J. Clin. Mikrobiol.* 39 (10) : 3548-3554.
- CHOMEL B.B., WEY A.C., KASTEN R.W., STACYB.A., LABELLE P. (2003) Fatal Case of Endocarditis Associated with Bartonella henselae Type I Infection in a Domestic Cat. *J.Clin. Microbiol.* 41(11):5337-5339.
- DEHIO C., SANDER A.(2003) Emerging bartonellosis.*TODAY* 30 :168-169.
- DEMERS D.M., BASS J.W., VINCENT J.M., PERSON D.A., NOYES D.K., STAEGE C.M., SAMLASKA C.P., LOCKWOOD N.H., REGNERY R.L., ANDERSON B.E.(1995) Cat-scratch disease in Hawaii: etiology and seroepidemiology. *J Pediatr.* 127(1):23-6.
- DILLON B., VALENZUELA J., DON R., BLANCKENBERG D., WIGNEY D.I., MALIK R., MORRIS A.J., ROBSON M.J., IREDELL J.(2002) Limited Diversity among Human Isoletes of Bartonella henselae. *J.Clin.Microbiol.* 40(12) 4691-4699.
- DOLAN M.J., WONG M.T., REGNERY R.L., JORGENSEN J.H., GARCIA M. PETERS J., DREHNER D.(1993) Syndrome of Rochalimaea henselae Adenitis Suggesting Cat Scratch Disease. *Ann Intern Med.* 118(5):388-390.
- ENGVALL E.O., FASTH C., BRANDSTRÖM B., FERMER C., BLOMQVIST G., ENGLUND L.(2003) Prevalence of Bartonella henselae in young , healthy cats in Sweden. *Vet.Rec.* 152:366-369.
- FABBI M, DE GIULI L, TRANQUILLO M, BRAGONI R, CASIRAGHI M, GENCHI C.(2004a) Prevalence of Bartonella henselae in Italian stray cats: evaluation of serology to assess the risk of transmission of Bartonella to humans. *J Clin Microbiol.* ;42(1):264-268.
- FABBI M, VICARI N, TRANQUILLO M, POZZI C, PRATI P, DE MENEGHI D, BERTOLETTI I, LAUZI S, GUIISO P, GENCHI C.(2004b) Prevalence of Bartonella henselae in stray and domestic cats in different Italian areas: evaluation of the potential risk of transmission of Bartonella to humans.*Parassitologia.* 46(1-2):127-9.
- FLEXMAN J.P., LAVIS N.J., KAY I.D., WATSON M., METCALF C., PEARMAN J.W. (1995) Bartonella henselae is a causative agent of cat scratch disease in Australia *J Infect.* 31(3):241-5.
- FOIL L., ANDRESS E., FREELAND R.L., ROY A.F., RUTLEDGE R., TRICHE P.C., O'REILLY K.L.(1998) Experimental infection of domestic cats with Bartonella henselae by inoculation of Ctenocephalides felis (Siphonaptera: Pulicidae) feces.*J Med Entomol.* 35(5):625-628.abst

- FREAN J., ARNDT S., SPENCER D. (2002) High rate of Bartonella henselae infection in HIV-positive outpatients in Johannesburg, South Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 96(5):549-50.
- GERBER J.E, JOHNSON J.E., SCOTT M.A., MADHUSUDHAN K.T.(2002) Fatal Meningitis and Encephalitis Due to Bartonella henselae Bacteria. *J.Forensic Sci.*47(3):640-644.
- GHIDONI J.J.(2004) Role of Bartonella henselae Endocarditis in the Nucleation of Aortic Valvular Calcification. *Ann.Thorac.Surg.* 77:704-706.
- GILADI M., AVIDOR B., KLETTER Y., ABULAFIA S., SLATER L.N., WELCH D.F., BRENNER D.J., STEIGERWALT A.G., WHITHNEYA.M., EPHROS M.(1998) Cat Scratch Disease; the Rare Role of Afipia felis. *J.Clin.Microbiol.* 36(9):2499-2502.
- GLAUS T., HOFMANN-LEHMANN R., GREENE C., GLAUS B., WOLFENSBERGER C., LUTZ H.(1997) Seroprevalence of Bartonella henselae Infection and Correlation with Disease Status in Cats in Switzerland. *J. Clin. Mikrobiol.* 35 (11):2883-2885.
- GRAY A.V., MICHELS K.S., LAUER A.K., SAMPLES J.R.(2004) Bartonella henselae Infection Associated with Neuroretinitis, Central Retinal Artery and Vein Occlusion, Neovascular Glaucoma and Severe Vision Loss. *Am.J.Ophthalmol* 137(1):187-189.
- GREENE C.E., McDERMOTT M., JAMESON P.H., ATKINSC.L. MARKS A.M.(1996) Bartonella henselae Infection in Cats: Evaluation during Primary Infection. Treatment, and Rechallenge Infection. *J. Clin. Mikrobiol.* 34 (7) :1682-1685.
- GREUB G., RAOULT D.(2002) Bartonella: new explanations for old diseases. *J. Med. Microbiol.* 51 :915-923.
- GUPTILL L., SLATER L.N., WU C.C., LIN T.L., GLICKMAN L., WELCH D.F., TOBOLLSKI J., HOGENESCH H. (1997) Experimentally infection of Young Specific Pathogen- Free Cats with Bartonella henselae. *J.Infect.Dis.*176:206-216.
- GUPTILL L., SLATER L.N., WU C.C., LIN T.L., GLICKMAN L., WELCH D.F., TOBOLLSKI J., HOGENESCH H. (1998) Evidence of reproductive failure and lack of perinatal transmission of Bartonella henselae in experimentally infected cats. *Vet.Immunol Immunopathol.*65:177-189.
- GUPTILL L., WU C.C., HOGENESCH H., SLATER L.N., GLICKMAN N., DUNHAM A., SYME H., GLICKMAN L. (2004) Prevalance, Risk Factors, and Genetic Diversity of Bartonella henselae Infections in Pet Cats in Four Regions of the United States. *J. Clin. Microbiol.* 42(3): 652-659.
- GURFIELD A.N., BOULOUIS H.-J., CHOMEL B.B., KASTEN R.W., HELLER R., BOUILLIN C., GANDOIN C., THIBAUT D., CHANG C.C., BARRAT F., PIEMONT Y. (2001) Epidemiology of Bartonella Infections in Domestic Cats in France. *Vet. Microbiol* 80 :185-198.
- HAMILTON D.H., ZANGWILL K.M., HADLER J.L., CARTTER M.L.(1995) Cat-Scratch Disease -Connecticut, 1992-1993. *J.Infect.Dis.*172:570-573.
- HANDFIELD T.L., WARREN R., KASS M., BRUN E, LEVY C.(1993) Endocarditis Caused By Rochalimaea henselae. *Hum.Pathol.*24(10):1141-1142.

- HELLER R., ARTOIS M., XEMAR V., DE BRIEL D., GEHIN H., JAULHAC B., MONTEIL H., PIEMONT Y. (1997) Prevalence of Bartonella henselae and Bartonella clarridgeiae in Stray Cats. *J. Clin. Mikrobiol.* 35 (6) :1327-1331.
- HERZ A.M., LAHEY J.M., (2004) Optic Neuritis Due to Bartonella henselae Infection. *N.Engl.J.Med.* 350:2.
- HIGGINS J.A., RADULOVIC S., JAWORSKI D.C., AZAD A.F..(1996) Acquisition of the cat scratch disease agent Bartonella henselae by cat fleas (Siphonaptera:Pulicidae) . *J Med Entomol.* 33(3):490-5.
- HIPP S.J., O'SHIELD A., FORDHAM L.A., BLATT J., HAMRICK H.J., HENDERSON F.W. (2005) Multifocal Bone Marrow Involvement in Cat-Scratch Disease. *Ped.Infect.Dis.J.* 24(5): 472-474.
- HOLMBERG M., MCGILL S., EHRENBORG C., WESSLEN L., HJELM E., DARELID J.,BLAD L., ENGSTRAND L., REGNERY R., FRIMAN G. (1999) Evaluation of Human Seroreaktivty to Bartonella Species in Sweden. *J. Clin. Mikrobiol.* 37 (5) : 1381-1384.
- IREDELL J., MCHATTAN J., KYME P., DILLON B., BLANCKENBERG D.(2002) Antigenic and Genotypic Relationship between Bartonella henselae Strains. *J.Clin.Mikrobiol* 40(11):4397-4398.
- IREDELL J, BLANCKENBERG D, ARVAND M, GRAULING S, FEİL EJ, BIRTLES RJ. (2003) Characterization of the natural population of Bartonella henselae by multilocus sequence typing. *J Clin Microbiol.* 41(11):5071-9
- IVES T.J., MARSTON E.L., REGNERY R.L., BUTTS J.D., MAJERUST.C. (2000) In vitro susceptibilities of Rickettsia and Bartonella spp. to 14-hydroxycyclarithromycin as determined by immunofluorescent antibody analysis of infected Vero cell monolayers. *J.Antimicrobial Chemotherapy* 45:305-310.
- İZGÜR, M. ( 1994 ): İmmunofluoresans, "*İmmünoloji* ", 1. baskı., ( ARDA, M., MİNBAŞ, A., AYDIN, N., AKAY, Ö., İZGÜR, M., DİKER, K.S., ) 368-370, Medisan Yayınevi, Ankara, Türkiye .
- JACOMO V., KELLY P.J., RAOULT D.(2002)Natural History of Bartonella Infections ( an Exception to Koch's Postulate).*Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9 (1) :108-118.
- JAMESON P., GREENE C., REGNERY R., DRYDEN M., MARKS A., BROWN J., COOPER J., GLAUS B., GREENE R.(1995) Prevalence of Bartonella henselae Antibodies in Pet Cats throughout Regions of North America. *J. Infect. Dis.* 172:1145-1149.
- JENSEN W., FALL M.Z., ROONEY J., KORDICK D.L., BREITSCHWERDT E.B.(2000) Rapid Identification and Differentiation of Bartonella species Using a Single-Step PCR Assay. *J. Clin. Mikrobiol.* 38 (5) :1717-1722.
- JONHSON G., AYERS M., MCCLURE S.C.C., RICHARDSON S.E.,TELLIER R. (2003) Detection and Identification of Bartonella Species Pathogenic for Humans by PCR Amplification Targeting the Riboflavin Synthase Gene (ribC). *J. Clin. Mikrobiol.* 41 (3) :1069-1072.
- JOSEPH A.K., WOOD C.W., ROBSON J.M., PAUL S.L., MORRIS A.J.(1997) Bartonella henselae bacteremia in domestic cats from Aucland. *N.Zealand Vet.J.* 45:185-187.



- KELLY P.J. (2004) A review of bacterial pathogens in ctenocephalides felis in New Zealand. *N.Zealand Vet. J.* 52(6):352-357.
- KERET D., GILADI M., KLETTER Y., WIENTROUB S.(1998) Cat-scratch Disease osteomyelitis from a dog scratch. *J.Bone Joint surg.* 80-B:766-767.
- KERKHOFF F.T., OSSEWAARDE J.M., LOOS W.S., ROTHOVA A. (1999) Presumed Ocular Bartonellosis. *Br.J.Ophthalmol* 83:270-275.
- KETRING K.L., ZUCKERMAN E.E., HARDY W.D.(2004) Bartonella: A New Etiological Agent of Feline Ocular Disease. *J.Am.An.Hosp.Assoc.* 40:6-12.
- KIKUCHI, E., MARUYAMA, S., SAKAI, T., TANAKA, S., YAMAGUCHI, F., HAGIWARA, T., KATSUBE, Y., MIKAMI, T.(2002) Serological Investigation of Bartonella henselae Infections in Clinically Cat-Scratch Disease Suspected Patients, Patients with Cardiovascular Diseases, and Healthy Veterinary Students in Japonya. *Microbiol. Immunol.*, 46(5): 313-316.
- KOCAGÖZ T.(1996) Polimeraz zincirleme tepkimesi. *Medical Biyoteknoloji ve Moleküler Tıp Dergisi* 1 (3) : 112-118.
- KOEHLER J.E., GLASER C.A., TAPPERO J.W.(1994) Rochalimaea henselae Infection A New Zoonosis With the Domestic Cat as Reservoir. *JAMA* 271(7): 531-535.
- KOEHLER J.E., SANCHEZ M.A., GARRIDO C.S., WHITEFELD M.J., CHEN F.M., BERGER T.G., BARRADAS M.C.R., LEBOIT P.E., TAPPERO J.W.(1997) Molecular Epidemiology of Bartonella Infections in Patients with Bacillary Angiomatosis-Peliosis. *N.Engl.J.Med.* 337:1876-1883.
- KOEHLER J.E., TAPPERO J.W.(1993) Bacillary Angiomatosis and Bacillary Peliosis in Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Clin.Infect.Dis.* 17:612-624 .
- KONEMAN E.W., ALLEN S.D., JANDA W.M., WIN W.C.(1997) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology ", 5th ed ., P:440-447, Washington C.Winn, Jr, USA.
- KORDICK D.L., BREITCSHWERDT E.B.(1995a) Intraerythrocytic Presence of Bartonella henselae. *J.Clin.Microbiol.* 33(6): 1655-1656.
- KORDICK D.L., BREITCSHWERDT E.B.(1997a) Relapsing bacteremia after blood transmission of Bartonellae henselae to cats. *Am.J.Vet. Res.* 58(5): 492-497.
- KORDICK D.L., BROWN T.T., SHIN K., BREITCSHWERDT E.B.(1999) Clinical and Pathologic Evaluation of Chronic Bartonella henselae or Bartonella clarridgeiae Infection in Cats. *J.Clin. Microbiol.* 37(5): 1536-1547.
- KORDICK D.L., PAPICH M.G., BREITCSHWERDT E.B.(1997b) Efficacy of Enrofloxacin or Doxycycline for Treatment of Bartonella henselae or Bartonella clarridgeiae Infection in Cats. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy* 41(11): 2448-2455.
- KORDICK D.L., WILSON K., SEXTON D.J., HANDFIELD T.L., BERKHOFF H.A., BREITCSHWERDT E.B.(1995b) Prolonged Bartonella Bacteremia in Cats Associated with Cat-Scratch Disease Patients. *J.Clin.Microbiol.* 33(12):3245-3251.
- KORDICK D.L., HILYARD E.J., HADFIELD T.L., WILSON K.H., STEIGERWALT A.G., BRENNER D.J., BREITSCHWERDT E.B.(1997c) Bartonella clarridgeiae, a newly

- recognized zoonotic pathogen causing inoculation papules, fever, and lymphadenopathy (cat scratch disease) *J. Clin. Microbiol.* 35(7):1813-1818.
- LAPPIN M.R., BLACK J.C.(1999) Bartonella spp. infection as a possible cause of uveitis in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214 (8) :1205-1207.
- LAPPIN M.R., KORDICK D.L., BREITCSHWERDT E.B.(2000) Bartonella spp antibodies and DNA in aqueous humour of cats. *J.fel.Med.Surg* 2:61-68.
- LAYCOCK G.M., DAY M.J., BIRTLES R.J., (2001) Prevalence of Bartonella henselae in cats in the UK. *Vet.Rec.*148(7):219.
- LURIA B.J., LEVY J.K., LAPPIN M.R., BREITSCHWERDT E.B., LEGENDREA.M., HERNANDEZ J.A., GORMAN S.P., LEE I.T.(2004) Prevalence of infectious disases in feral cats in Northern Florida. *J.Fel.Med.Surg.* 6:287-296.
- MARGOLIS B., KUZU I., HERMANN M., RAIBLE M., ALKAN S.(2003) Rapid Polmerase Chain Reaction- Based Confirmation of Cat scratch Disease and Bartonella henselae Infection. *Arch.Pathol Lab.Med.* 127:706-710.
- MARSTON E.L., FINKEL B., REGNERY R.L., WINOTO I.L., GRAHAM R.R., WIGNAL S., SIMANJUNTAK G., OLSON J.G.(1999) Prevalence of Bartonella henselae and Bartonella clarridgeiae in an Urban Indonesian Cat Population. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 6(1):41-44.
- MARUYAMA S., HIRAGA S., YOKOYAMA E., NAOI M., TSURUOKA Y., OGURA Y., TAMURA K., NAMBA S., KAMEYAMA Y., NAKAMURA S., KATSUBE Y.(1998) Seroprevalence of Bartonella henselae and Toxoplasma gondii Infections among Pet Cats in Kanagawa and Saitama Prefectures. *J.Vet.Med.Sci.* 60(9): 997-1000.
- MARUYAMA S., KABEYA H., NAKAO R., TANAKA S., SAKAI T., XUAN X., KATSUBE Y., MIKAMI T., (2003) Seroprevalence of Bartonella henselae, Toxoplasma gondii, FIV and FeLV Infections in Domestic Cats in Japonya. *Microbiol. Immunol.* 47(2):147-153.
- MARUYAMA S., NAKAMURA Y., KABEYA H., TANAKA S., SAKAI T., KATSUBE Y. (2000) Prevalence of Bartonella henselae, Bartonella clarridgeiae and the 16S rRNA Gene Types of Bartonella henselae among Pet Cats in Japonya. *J.Vet. Med. Sci.* 62(3):273-279.
- MARUYAMA S., NOGAMI S. INOUE I., NAMBA S.(1996) Isolation of Bartonella henselae from Domestic Cats in Japonya. *J.Vet.Med.Sci.*58(1);81-83.
- MARUYAMA S., SAKAI T., MORITA Y., TANAKA S., KABEYA H., BOONMAR S., POAPOLATHEP A., CHALARMCHAIKIT T., CHANG C.C., KASTEN R.W., CHOMEL B.B., KATSUBE Y. (2001) Prevalence of Bartonella species and 16S rRNA Gene Types of Bartonella henselae from Domestic Cats in Thailand. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 65(6) :783-787.
- MAURIN M., ROLAIN J.M, RAOULT D. (2002) Comparison of In-House and Commercial Slides for Detection by Imunofluorescence of Immunoglobulins G and M aganist Bartonella henselae and Bartonella quintana. *Clin.Diagn.Lab.Immunol.* 9(5):1004-1009.
- MEHOCK J.R., GREENE C.E., GHERARDINI F.C., HAHN T.W., KRAUSE D.C. (1998) Bartonella henselae Invasion of Feline Erythrocytes In Vitro. *Infect.Immun.* 66(7):3462-3466.

- MELTER O., HERCIK K., WEYANT R.S., JANECEK J. NEMEC A., MECERA J., GONZOROVA L., BRANNY P.(2003) Detection and characterization of feline Bartonella henselae in the Czech Republic. *Vet. Microbiol.* 93 :261-273.
- MESSAM L.L.M., KASTEN R.W., RITCHIE M., CHOMEL B.B.(2005) Bartonella henselae and Domestic Cats , Jamaica. *Emerg.Infect.Dis.* 11(7):1146-1147.
- MEXAS A.M., HANCOCK S.I., BREITSCHWERDT E.B.(2002) Bartonella henselae and Bartonella elizabethae as Potential Canine Pathogens. *J. Clin. Mikrobiol.* 40 (12) :4670-4674.
- NAOH D.L., KRAMER C.M., VERBSKY M.P., ROONEY J.A., SMITH K.A., CHILDS J.E. (1997) Survey of vetreinary professionals and other veterinary conference attendees for antibodies to Bartonella henselae and Bartonella quintana.*J.Am.Vet.Med.Assoc.* 210(3):342-344.
- NORMAN A.F., REGNERY R., JAMESON P., GREENE C., KRAUSE D.C.(1995) Differentiation of Bartonella-Like Isolation at the Species Level by PCR-Restriction Fragment Length polymorphism in the Citrate Synthase Gene. *J.Clin.Microbiol* 33(7):1797-1803.
- O'REILLY K.L., BAUER R.W., FREELAND R.L., FOIL L.D., HUGHES K.J.(1999) Acute Clinical Disease in Cats following Infection with a Pathogenic Strain of Bartonella henselae(LSU16). *Infect Immun.* 67 (6) : 3066-3072.
- ORMEROD L.D., SKOLNICK K.A., MONESKY M.M., PAVAN P.R., PON D.M.(1998) Retinal and Choroidal Manifestations of Cat-scratch Disease. *Ophthalmology* 105:1024-1031.
- PARACIKOĞLU,J.(2006) Bartonella İnfeksiyonları "*Veteriner Mikrobiyoloji*" 1.baskı (Ed: AYDIN, N., PARACIKOĞLU, J.)167-172 İlke Emek Yayınları Ankara, Türkiye.
- PETER J.B., BOYLE M., PATNAIK M., HANDFIELD T.L., BARKA N.E., SCHWARTZMAN W.A., PENNY R.(1994)Persistent Generalize Lymphadenopathy and Non-Hodgkin's Lymphoma in AIDS: Associantion with Rochalimaea henselae *Infection. Clin.Diagn. Lab.Imm.* 1(1):115-116.
- REGNERY R.L., ANDERSON B.E., CLARRIDGE J.E., BARRADAS M.C.R., JONES D.C., CARR J.H.(1992a) Characterization of a Novel Rochalimaea Species, R.henselae sp. nov., Isolated from Blood of a Febrile, Human Immunodeficiency Virus-Positive Patient. *J.Clin. Microbiol* 30(2): 265-274.
- REGNERY R.L., MARTIN M., OLSON J.(1992b) Naturally occurring "Rochalimaea henselae" infection in domestic cat.*The Lancet* 340:557.
- REGNERY R.L., OLSON J.G., PERKINS B.A., BIBB W.(1992c)Serological response to "Rochalimaea henselae" antigen in suspected cat-scratch disease. *The Lancet* 339 :1443-1446.
- REYNOLDS M.G., HOLMAN R.C., CURNS A.T., O'REILLY M., McQUISTON J.H., STEINER C.A. (2005). Epidemiology of Cat-Scratch Disease Hospitalizations Among Children in the United States. *Pediatr Infect Dis J* 24:700-7004.

- ROLAIN J.M., LA SCOLA B., LIANG Z., DAVOUST B., RAOULT D.(2001) Immunofluorescent Detection of Intraerythrocytic Bartonella henselae in Naturally Infected Cats. *J.Clin.Microbiol.* 39(8):2978-2980.
- SANDER A., BUHLER C., PELZ K., CRAM E.V., BREDT W.(1997) Detection and Identification of Bartonella henselae Variants in Domestic Cats in Almanya. *J. Clin. Microbiol.* 35 (3) :584-587.
- SANDER A., POSSELT M., BOHM N., MICHAEL R., ALTWEGG M.(1999) Detection of Bartonella henselae DNA by Two Different PCR Assay and Determination of the Genotypes of Strains Involved in Histologically Defined Cat Scratch Disease. *J.Clin.Microbiol.* 37(4): 993-997.
- SANOGO Y.O., ZEAITER Z., CARUSO G., MEROLA F., SHPYNOV S., BROUQUI P., RAOULT D.(2003) Bartonella henselae in Ixodes ricinus Ticks Removed from Humans, Belluno Province, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 9(3) :329-332.
- SCHULEIN R., SEUBERT A., GILLE C., LANZ C., HANSMANN Y., DEHIO C.(2001) Invasion and Persistent Intracellular Colonization of Erythrocytes: A Unique Parasitic Strategy of the Emerging Pathogen Bartonella. *J. Exp. Med.* 193 (9) :1077-1086.
- SCOLA B.L., RAOULT D.(1999) Culture of Bartonella quintana and Bartonella henselae from Human Samples: a 5-Year Experience(1993 to1998). *J. Clin. Microbiol.* 37 (6) :1899-1905.
- SHAW S.E., KENNY M.J., TASKER S., BIRTLES R.J.(2004) Pathogen carriage by the cat flea Ctenocephalide felis (Bouche) in the United Kingdom. *Vet.Microbiol.* 102:183-188.
- SLATER L.N., WELCH D.F., HENSEL D., COODY D.W.(1990) A Newly Recognized Fastidious Gram-Negative Pathogen as a Cause of Fever and Bacteremia. *N.Engl.J.Med.* 323(23): 1587-1593.
- SLATER L.N., WELCH D.F.(2005) Bartonella, Including Cat-Scratch Disease in "Mandel, Douglas, and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases" 6.ed (Ed: MANDELL G.L., BENNETT J.E., DOLIN R.). Volume 2 2733-2748, Elsevier Inc. USA.
- TAPPERO J.W., KOEHLER J.E., BERGER T.G., COCKERELL C.J., LEE T.H., BUSCH M.P., STITES D.P., BOETANI J.M., REINGOLD A.L., LEBOIT P.E. (1993) Bacillary Angiomatosis and Bacillary Splenitis in Immunocompetent Adults. *Annals of Internal Medicine* 118(5):363-365.
- TOMPKINS D.C., STEIGBIGEL R.T.(1993) Rochalimaea's Role in Cat Scratch Disease and Bacillary Angiomatosis. *Annals Internal Medicine* 118(5):388-390.
- TOMPKINS L.S., (1996) Bartonella Species Infections, Including Cat-Scratch Disease, Trench Fever, and Bacillary Angiomatosis. What Molecular Techniques Have Revealed. *WJM* 164(1):39-41.
- TSUJINO K., TSUKAHARA M., TSUNEOKA H., ICHIHARA K., FURUYA T., KAWAUCHI S., OGA A., SASAKI K.(2004) Clinical implication of prolonged fever in children with cat scratch disease. *J.Infect.Chemother* 10:227-233.
- TSUKAHARA M., TSUNEOKA H., GOTO M., IWAMOTO A.(1999) Seroprevalence of Bartonella henselae among HIV-1 Infected Patients in Japonya. *Kansenshogaku Zasshi.* 73(12):1241-1242.

- TSUKAHARA M., TSUNEOKA H., IINO H., MURANO I., TAKAHASHI H., UCHIDA M. (2000) Bartonella henselae Infection as a Cause of Fever of Unknown Origin. *J.Clin.Microbiol* 38(5): 1990-1991.
- TÜKEK S.S., İSLİM F., TÜKEK T., AĞAN M.(2003) Malign Lenfoma Kliniğini Taklit Eden Granüloamatöz Lenfadenit Vakası: Ayırıcı Tanıda Kedi Tırmığı Hastalığı. *İst. Tıp Fak. Mecmuası* 66:4.
- USTAÇELEBİ, Ş.(1992) : Immunofluoresan Tekniği, " Genel Viroloji ", 1.Baskı.,141-143, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti, Ankara,Türkiye.
- WELCH D.F., HENSEL D.M., PICKETT D.A., JOAQUIN V.H.S., ROBINSON A., SLATER L.N, (1993) Bacteremia Due to Rochalimae henselae in a Child: Practical Identification of Isolates in the Clinical Laboratory. *J.Clin. Microbiol.* 31(9):2381-2386.
- WELCH D.F., PICKETT D.A., SLATER L.N., STEIGERWALT A.G., BRENNER D.J. (1992) Rochalimaea henselae sp. nov., Cause of Septicemia, Basillary Angiomatosis, and Parenchymal Bacillary Peliosis. *J.Clin.Microbiol* 30(2):275-280.
- WINDSOR J.(2001) Cat-scratch disease: epidemiology, aetiology and treatment. *Br. J. Biomed. Sci.* 58:101-110.
- YAMAMOTO K., CHOMEL.B.B., KASTEN R.W., HEW C.M., WEBER D.K., LEE W.I. (2002) Experimental infection on spesific pathogen free(SPF) cats with two different strains of Bartonella henselae type I:A comparative study. *Vet.Res.* 33:669-684.
- ZANGWILL K.M., HAMILTON D.H., PERKINS B.A., REGNERY R.L., PLIKAYTIS B.D., HADLER J.L., CARTER M.L., WENGER J.D.(1993) Cat Scratch Disease in Connecticut: Epidemiology, Risk Factors, and Evaluation of a New Diagnostic Test. *N.Eng.J.Med.* 329:8-13.
- ZBINDEN R., HOCHLI M., NADAL D.(1995) Intracellular Location of Bartonella henselae Cocultivated with Vero Cells Used for an Indirect Fluorescent-Antibody Test. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2(6) : 693-695.
- ZEAITER Z., FOURNIER P.E., RAOULT D.(2002) Genomic Variation of Bartonella henselae Strains Detected in Lymph nodes of Patients with Cat Scratch Disease. *J.Clin.Microbiol.* 40(3):1023-1030.
- ZIMMERMANN R., KEMPF V.A.J., SCHILTZ E., OBERLE K., SANDER A.(2003) Hemin Binding, Functional Expression, and Complementation Analysis of Pap 31 from Bartonella henselae. *J. Bacteriol.* 185 (5) :1739-1744.

## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı: Bekir

Soyadı: ÇELEBİ

Doğum yeri ve tarihi: Hacıbektaş-1973

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Evli

Askerlik durumu: 1997-1998 255. Dönem Vet. Hekim Atğm. Diyarbakır

İletişim Adresi ve telefonu: Dildevrimi cad. Kayaevleri sitesi B-19 Blok

No:28/35 Eryaman /Ankara 0312 2838520- 05355866949

### II- Eğitimi

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi (1991-1996)

Konya Atatürk Sağlık Meslek Lisesi (1987-1991)

Yabancı dili: İngilizce

### III- Ünvanları

Sağlık Memuru

Veteriner Hekim

### IV- Mesleki Deneyimleri

Ankara Onkoloji Hastanesi

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı

—Serum üretimi ve deney hayvanları araştırma şefliği, at yetiştirme ünitesi sorumlusu

—Biyolojik ürünler kontrol ve araştırma şefliği, kuduz aşısı kontrol ve araştırma laboratuvarı

—Biyolojik ürünler kontrol ve araştırma şefliği, deneme hayvanları yetiştirme ünitesi sorumlusu

—Salgın hastalıklar araştırma müdürlüğü, paraziter ve bakteriyel zoonotik hastalıklar araştırma laboratuvarı

**V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar,**

Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Derneği

Ankara Mikrobiyoloji Derneği

Veteriner Hekimler Derneği

**VI- Bilimsel İlgi Alanları**

Makale

- Özkan ve ark. (2004) Heterolog Anti-Kuduz İmmun Serumu Üretimi. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi. 15 (1-2): 49-54

Sözlü sunum

- Aydın ve ark. (2006) Ankara Bölgesi Kedilerinde Bartonella Spp. Varlığını Araştırılması . VII. Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi. Antalya

Poster

- Çelebi ve ark. (2005) Ankara Yöresi Kedilerinde Sabin Feldmen Dye Test ve İndirekt Fluoresan Antikor Testi İle *Anti-Toxoplasma gondii* Antikorlarının Belirlenmesi. XIV. Ulusal Parazitoloji Kongresi, İzmir.
- Kılıç ve ark. (2005) İntestinal Amebiasis Tanısında , *Entamoeba histolytica* Spesifik ELİSA ve Mikroskopinin Karşılaştırılması. IV. Ulusal İnfeksiyöz Gastrointestinal hastalıklar Sempozyumu. Adana
- Kılıç ve ark. (2006) Veteriner Hekimlerde Kistik Ekinokokkozis Seroprevalansının Araştırılması. 3. Ulusal Hidatidoloji Kongresi. Samsun
- Kılıç ve ark. (2006) Aydın İlinde Çiftlik Çalışanları Ve Veteriner Fakültesi Personelinde *Coxiella burnetii*, *Brucella Spp.*, *Listeria monocytogenes* Ve *Toxoplasma gondii* Seroprevalansının Araştırılması. VII. Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi. Antalya
- Kılıç ve ark. (2006)Hatay İlinde Mezbaha Çalışanları Ve Veteriner Fakültesi Personelinde *Coxiella Burnetii*, *Brucella Spp* Ve *Toxoplasma Gondii* Seroprevalansının Araştırılması. VII. Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi. Antalya

- Aydın ve ark. (2006) İç Anadolu Bölgesi Sokak Kedilerinde *Coxiella burnetii* Seroprevalansının Araştırılması. VII. Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi. Antalya

## **VII- Bilimsel Etkinlikleri**

### Seminerler

- Tavşanların Önemli Hastalıları
- Bartonella Türlerinin Epidemiyolojisi
- Trişineloz

## **VIII- Diğer Bilgiler**

Eğitim programı haricinde aldığı kurs ve katıldığı eğitim seminerleri

- Enfeksiyon ve Mikrobiyoloji Eğitim Semineri, 14-17 Haziran 2005 Ankara
- 14.Ulusal Parazitoloji Kongresi, 18-25 Eylül 2005 İzmir.
- Moleküler Tanı Yöntemleri Kursu ,24-25 Nisan 2006 Ankara.
- 4. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, 25-28 Nisan 2006 Ankara
- Su ve Fekal Örneklerden Giardia ve Criptosporidium'un moleküler tanısı çalıştayı 10-12 Temmuz 2006 İzmir.
- VII. Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi.2006 Antalya