

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**DİŞİ SIĞIRLARDA Q HUMMASININ MOLEKÜLER
(REAL-TIME PCR) VE SEROLOJİK (ELISA)
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

ZEHRA SEDA MAVİLİ

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. SERKAN İKİZ**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2015

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Programında Zehra Seda MAVİLİ tarafından hazırlanan Dişi Sığırlarda Q Hummasının Moleküler (Real-time PCR) ve Serolojik (ELISA) Yöntemlerle Araştırılması başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

02 / 07 / 2015

Tez Sınav Jürisi

- | <u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u> | <u>İmzası</u> |
|---|---|
| 1.Prof. Dr. Seyyal AK (İÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Abd.) |  |
| 2.Prof. Dr. Banur BOYNUKARA (Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Abd.) |  |
| 3.Prof. Dr. Şükrü KIRKAN (Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Abd.) |  |
| 4.Prof. Dr. M. Erman OR (İÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Abd.) |  |
| 5.Doç. Dr. Serkan İKİZ (İÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Abd.) |  |

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Zehra Seda MAVİLİ

İTHAF

Bu tez çalışmamı yetişmemde sonsuz emek ve özveri sahibi olan *Anneannem Emine YAZICI*'ya ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora tezim boyunca bana her türlü araştırma olanağını sağlayan, tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve önerileri ile bana yol gösteren saygı duyduğum, değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Serkan İKİZ'e

Doktora eğitimim süresince birçok konuda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Anabilim Dalı Başkanımız Sn Prof. Dr. Seyyal AK'a, Sn. Prof. Dr. N. Yakut ÖZGÜR'e, Prof. Dr. A. Funda BAĞCIGİL'e, doktora eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen Sn. Dr. Kemal METİNER, Sn. Dr. Beren BAŞARAN KAHRAMAN, Sn. Dr. Belgi Diren SİĞİRCİ, Sn. Dr. Baran ÇELİK, Sn. Araş. Gör. M. Cemal ADIGÜZEL ve teknisyenimiz Sn. Gülten KARAKUZ'a, İstatiksel analiz çalışmalarında yardımcı olan Zootekni Anabilim'dan Sn. Prof. Dr. Bülent EKİZ, örneklere ait tam kan sayımı parametrelerinin değerlendirmesinde yardımcı olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan Sn. Prof. Dr. Erman OR'a, doktora çalışmamda örnek toplamam da yardımcı olan Sn. Vet. Hek. Ersan DEMİRBAŞ, Sn. Vet. Hek. Mehmet SERBEST, Sn. Vet. Hek. Mustafa ATAÖĞLU'na,

Bana her zaman manevi destekleriyle hayatımın her aşamasında doğruya, başarıya nasıl ulaşacağımı gösteren canım aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 8341

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	X
ÖZET.....	Xİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hastalığın tanımı ve tarihçesi	3
2.2. Etken özellikleri	4
2.3. Epizootiyoloji	8
2.4. Patogenez	13
2.5. Klinik bulgular	14
2.6. Tanı.....	15
2.7. Tedavi.....	17
2.8. Korunma ve kontrol	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Gereç	20
3.1.1. Örnekler.....	20
3.1.2. ELISA.....	26
3.1.2.1. ELISA Kiti.....	26
3.1.2.2. ELISA Okuyucusu.....	26
3.1.2.3. Diğer Gereçler	27
3.1.3. Real- time PCR.....	27
3.1.3.1. Ekstraksiyon kiti	27
3.1.3.2. Amplifikasyon	28

3.1.3.3. Diğer gereçler	29
3.1.3.4. Tam kan sayımı	29
3.2. Yöntem	30
3.2.1. ELISA.....	30
3.2.2. Real- time PCR.....	31
3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu.....	31
3.2.2.2. DNA amplifikasyonu.....	33
3.2.3. Tam kan sayımı	34
3.2.4. İstatiksel analiz	34
4. BULGULAR	35
4.1. ELISA bulguları	35
4.2. Real-time PCR bulguları	37
4.3. Tam kan sayımı bulguları.....	41
5. TARTIŞMA	48
KAYNAKLAR	59
ETİK KURUL KARARI.....	75
ÖZGEÇMİŞ	77

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Örnek alınan hayvanlara ait kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığı bilgileri	21
Tablo 3-2: Örneklere ait DNA ekstraktlarının ölçümleri	32
Tablo 4-1: ELISA ile pozitiflik saptanan serum örneklerinin kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığına göre dağılımı	35
Tablo 4-2: Reproduktif durumuna göre sığırların seropozitiflik oranları	36
Tablo 4-3: Yaş duruma göre sığırların seropozitiflik oranları	36
Tablo 4-4: Kaynak duruma göre sığırların seropozitiflik oranları	36
Tablo 4-5: Mastit varlığına göre sığırların seropozitiflik oranları	37
Tablo 4-6: Kene varlığına göre sığırların seropozitiflik oranları	37
Tablo 4-7: Real-time PCR ile pozitiflik saptanan süt örneklerinin kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit varlığı, kene varlığı ve C _T değeri göre dağılımı	38
Tablo 4-8: ELISA ile saptanan 20 seropozitif hayvana ait kan ve süt örneklerin real-time PCR sonuçları dağılımı	40
Tablo 4-9: ELISA seropozitif olan sığırların kaynak, yaş, ırk ve tam kan sayımı değerleri	41
Tablo 4-10: ELISA seronegatif olan sığırların kaynak, yaş, ırk ve tam kan sayımı değerleri.....	41
Tablo 4-11: ELISA seropozitifliği ile sığırların tam kan sayımı parametreleri ortalama değerlerinin karşılaştırılması	46
Tablo 4-12: ELISA seropozitif olan sığırların reproduktif durumlarına göre tam kan sayımı parametrelerinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması.....	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4-1: Süt örneklerin Real-time PCR erime eğrisi sonuçları	38
Şekil 4-2: Süt örneklerin Real-time PCR erime yüksekliği sonuçları.....	39
Şekil 4-3: Süt örneklerin Real-time PCR amplifikasyon eğrisi sonuçları.....	39

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Amerika Birleşik Devletleri	ABD
Base-pare	bp
Celcius	C
Cyclethreshold değeri	C _T değeri
Deoksiribonükleik asit	DNA
Enzim linked immunosorbent floresan testi	ELIFA
Enzyme-linked immunosorbent assay	ELISA
Etilendiamin tetraasetik asit	EDTA
Gram	g
Hematokrit oranı	HCT
Hemoglobin miktarı	HGB
İmmunoglobulin A	IgA
İmmunoglobulin G	IgG
İmmunoglobulin M	IgM
İndirek fluoressan antikor	IFA
İnfektif doz	ID ₅₀
İnterferon- γ	INF- γ
Kilobase	kb
Komplement fiksasyon testi	KF
Large cell variant	LCV
Lipopolisakkarit	LPS
Megabase	Mb
Mikrometre	μ m
Nanometre	nm

Polymerase chain reaction	PCR
Query humması	Q humması
Radyasyon miktarı	rads
Radyoimmun assay	RIA
Ribosomal ribonükleik asit	rRNA
Small cell variant	SCV
Small dense cells	SDC
Total eritrosit sayısı	RBC
Total lökosit sayısı	WBC
Trombosit sayısı	PLT
Tümör nekrozis faktör- α	TNF- α
Yüksek sıcaklık pastörizasyon	UHT

ÖZET

MAVİLİ Z. S. (2015): Dişi Sığırlarda Q Hummasının Moleküler (Real-time PCR) ve Serolojik (ELISA) Yöntemlerle Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi. İstanbul.

Bu tez çalışmasında, İstanbul ili ve Trakya yöresinde yetiştirilen, farklı işletmelere ait süt sığırlarının kan ve süt örneklerinde *Coxiella burnetii*'nin varlığının real-time PCR tekniği ile moleküler düzeyde araştırılması ve aynı hayvanlara ait spesifik antikor titrelerinin ELISA ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırmada, ayrıca reproduktif problemlerin varlığı, kan sayımı, yaş, yetiştirildiği şehir, mastit varlığı ve kene enfestasyonu gibi etkenlerin istatistiksel önemlerinin saptanması amaçlanmıştır.

Bu amaçla, reproduktif problemleri olan (infertil, metrit, abort) ile bu problemlerin görülmediği hayvanlar seçilerek karşılaştırıldı. Çalışmada toplam 200 hayvanın 20 (%10)'si ELISA ile pozitif saptanırken, reproduktif problemi olan ineklerden alınan 100 serum örneğinin 11 (%11)'i ve reproduktif problemi olmayan ineklerden alınan 100 serum örneğinin 9 (%9)'u seropozitif bulundu. Toplam 12 adet abort yapmış ineğin 4 (%33)'ü seropozitif olarak belirlendi. Abort görülen hayvanlardaki seropozitiflik oranı diğer gruplara göre daha yüksek olarak saptanmış olup, fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). ELISA sonuçlarına göre, İstanbul'da %8,4, Tekirdağ'da %8,6, Kırklareli'nde %10,5, Edirne'de %17,9 oranında pozitiflik saptandı. En yüksek pozitiflik oranı Edirne ilinde yetiştirilen hayvanlarda görülmekle birlikte, illere göre fark istatistiksel olarak önemli saptanmadı. Ayrıca, seropozitif sığırların oranları yaşlarına, mastit ve kene varlığına göre karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı.

Hayvanların antikoagülanlı tüplere alınan venöz kan örneklerinden tam kan sayımı tayini yapılarak, ELISA seropozitif olan sığırların seronegatif olan sığırlara göre RBC, HCT ve HGB ortalama değerlerinin yüksek olduğu; WBC ve PLT ortalama değerlerinin ise düştüğü ancak bu farklılıkların hiçbirinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. ELISA seropozitif saptanan reproduktif sorunları olan sığırların; reproduktif sorunu olmayan sığırlara göre RBC, HCT, HGB ve PLT ortalama

değerlerinin yükseldiği; WBC ortalama değerlerinin ise düştüğü ancak bu farklılıklardan sadece HGB değerinin istatistiksel önemli olduğu saptandı ($p<0,05$).

Aynı hayvanların kan ve sütlerinden elde edilen genomik DNA ürünlerinden, IS1111 primerleri kullanılarak, 260 bp uzunluğundaki bölge amplifiye edildi ve SYBR Green hidrolizine bağlı floresan artışı görülen inceleme örnekleri *Coxiella burnetii* yönünden pozitif olarak saptandı. İncelenen 200 süt örneğinin 2 (%1)'inde *Coxiella burnetii* DNA'sı saptanırken, kan örneklerinde spesifik DNA saptanmadı. Reprodüktif problemi olan ineklerden alınan 100 süt örneğinin 1 (%1)'i ve reprodüktif problemi olmayan ineklerden alınan 100 süt örneğinin 1 (%1)'i PCR pozitif saptandı. Abort yapan toplam 12 hayvana ait süt örneklerinin 1 (%8,3)'i PCR pozitif olarak belirlendi.

Sonuç olarak, bu çalışmada, İstanbul ili ve Trakya yöresinde yetiştirilen, farklı işletmelere ait süt sığırlarında Q hummasının seroprevalansı % 10 olarak saptanmış olup abort olgularında mutlaka akla getirilmesinin önemli olduğu kanısına varılmıştır. Sütle saçıcılık real-time PCR tekniği % 1 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Coxiella burnetii*, ELISA, Real-time PCR, Sığır, Tam Kan Sayımı

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 8341

ABSTRACT

MAVILI Z. S. (2015): Investigation of Q fever in cattle by molecular (Real time PCR) and serological (ELISA) tests. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Microbiology. Istanbul.

In this study, presence of *Coxiella burnetii* in blood and milk samples of dairy cattle raised in Istanbul province and Trakia district by real-time PCR was aimed. And specific antibody titers of matching animals were also investigated by ELISA. Furthermore, statistical significances of obtained data such as presence of reproductive problems, total blood count, age, city, presence of mastitis and presence of tick infestation were studied.

For this purpose, cattle with and without reproductive problems (infertile, metritis and abortus) were chosen and compared. In total, 20 of 200 (10%) sera were found to be positive by ELISA. Eleven of 100 (11%) sera from cattle with reproductive problems were positive while 9 of 100 (9%) sera were positive from cattle without reproductive problems. Four of 12 (33%) sera of the aborted cattle were found to be positive. Seropositivity of aborted cattles rate was higher than the other groups and the difference was statistically significant ($p < 0.05$). Seropositivity rates were 8.4% in Istanbul, while 8.6% in Tekirdağ, 10.5% in Kırklareli and 17.9% in Edirne. The highest positivity rate was seen in cattle reared in Edirne, although there were no statistically significant difference according to the provinces. Also seropositive rates of cattle according to age, presence of mastitis and presence of ticks were examined and differences were not found statistically significant.

Complete blood counts were determined from the matching animals. RBC, HCT and HGB mean values in ELISA seropositive cattles were found to be higher than mean values in seronegative ones, while WBC and PLT mean values were lower. These differences were found to be statistically insignificant. RBC, HCT, HGB and PLT mean values in ELISA seropositive cattles with reproductive problems were found to be higher than mean values in ELISA seronegative ones, while WBC mean values were lower. Only HGB mean value difference was found to be statistically significant ($p < 0.05$).

Genomic DNAs extracted from milk and blood samples of the animals were amplified using with IS1111 primers (260 bp) and samples with fluorescence increase

due to SYBR Green dye were considered as *C. burnetii* DNA positive. In total, 2 of 200 (1%) milk samples were positive by real-time PCR (one with reproductive problems and one without). One of 12 (8.3%) milk samples of the aborted cattle were positive by PCR while none of the blood samples were found to be positive.

In conclusion, in this study, seroprevalence of Q fever in dairy cattle belonging to different farms in Istanbul and Thracia district is determined as 10% and the infection should be considered in abortion cases. Spreading of the agent by milk was found 1% by real-time PCR technique.

Key words: *Coxiella burnetii*, cattle, ELISA, Hemogram, Real-time PCR

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 8341

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Query (Q) humması zorunlu, hücre içi bir bakteri olan *Coxiella burnetii*'nin neden olduğu, bulaşıcı ve zoonoz bir infeksiyöz hastalıktır. İlk kez 1933 yılında Avustralya'da mezbahada çalışan işçilerde tanısı konulamayan ateşli bir salgın halinde ortaya çıkmıştır. Daha sonra gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda, insan ve hayvanlarda dünya çapında yaygın ve önemli bir hastalık olduğu bilinmektedir.

Coxiella cinsi mikroorganizmalar Gram negatif, pleomorfik ve hareketsizdirler. Etken mononükleer hücrelerin fagozomları içinde, plasenta ve embriyolu yumurtanın sarı kesesi gibi diğer hücrelerin intrasitoplazmik vakuollerinde ve hücre kültürlerinde ürerler. *Coxiella* cinsi Legionellales takımı, Coxiellaceae familyası içinde yer almaktadır. Tüm hayat siklusu bilinmemekle birlikte elektron mikroskopisi çalışmaları, doğada uzun süre canlı kalmasını sağlayan dirençli küçük hücre varyantı (SCV) ve konakçı hücrelerinde çoğalan büyük hücre varyantlarını (LCV) ortaya çıkarmıştır. Doğadaki küçük hücre varyantları, endospor benzeri yapıları sayesinde çevresel (ısı, basınç ve kimyasal değişiklikler) olumsuzluklara karşı oldukça dirençlidir.

Mikroorganizma doğal siklusunu kene ve rodentlerde geçirdikten sonra koyun, keçi, sığır, köpek, kedi gibi evcil hayvanlara ve yabani hayvanlara bulaşır. İnfeksiyonun kenelere bağlı olmayan siklusunun ise özellikle sığırları kapsayan evcil hayvan popülasyonları içinde geliştiği vurgulanmıştır. Etken, infekte hayvanların sütü, idrarı, dışkısı ve doğum/abort materyalleri ile saçılır. İnfeksiyonun hayvanlar arasında bulaşması solunum ve sindirim yolları başta olmak üzere vertikal ve veneral yollar ile gerçekleşir. İnsanlarda da infeksiyonun en önemli bulaşma şekli solunumdur. Mezbaha çalışanları ve kasaplar, hayvan bakıcıları ve çiftçiler, veteriner hekimler, laboratuvar çalışanları hastalık açısından risk grubunu oluşturmaktadır. Ancak, etken toz ve rüzgar ile taşınabildiğinden dolayı, hayvanlar ile direk teması bulunmayan insanlarda da infeksiyonlar görülmektedir.

Sığır, koyun ve keçiler infeksiyondan klinik olarak en fazla etkilenen türler olup özellikle insanlardaki infeksiyonların da en önemli kaynaklarıdır. Evcil hayvanlarda infeksiyon genellikle subklinik seyretmektedir. Ancak, evcil ruminantlarda abort, zayıf yada ölü doğum, metrit, infertilite gibi önemli reproduktif problemler görülmektedir. Hastalık, neden olduğu üreme bozuklukları ve mastitten dolayı büyük çapta ekonomik

kayıplara yol açmaktadır. İnsanlarda infeksiyon, asemptomatik, akut (grip benzeri tablodan yoğun bakım gerektirecek ciddi pneumoni, hepatit) veya kronik infeksiyon şeklinde geçirilebilmektedir.

İnfeksiyonun ruminantlarda bölgesel epidemiyolojisinin daha iyi anlaşılması, boyutlarının ortaya çıkarılması, korunma-kontrol stratejilerinin ortaya konması ve izlenebilmesi için iyi planlanmış ve doğru tekniklerin kullanıldığı prevalans çalışmalarının önemli olduğu bildirilmektedir. Tanısal ve araştırma amacıyla, etken izolasyonu için biyogüvenlik seviye 3 standartlarına gereksinim duyulmaktadır. Bu nedenle hayvanlarda *C. burnetii* infeksiyonunun tanısında komplement fikzasyon (KF), indirekt IFA (İndirek fluoresan antikor) ve ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) testlerini içeren serolojik metotlar sıklıkla kullanılmaktadır. Sürü taramalarında ELISA ve KF' nin tercih edildiği ancak, ELISA testinin KF ve diğer testlere nazaran daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda tanı ve araştırma amacıyla PCR testleri de etken DNA'sının saptanması için başarıyla uygulanmaktadır.

Ülkemizde araştırmacılar sığırlarda infeksiyonun prevalansına yönelik çeşitli çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Araştırılan bölge, hedeflenen popülasyon ve test tekniğine göre infeksiyonun seroprevalansının %5,8 ile %53,1 arasında değiştiği rapor edilmiştir.

Sığırlardan alınan kan örneklerinde PCR yöntemi ile *C. burnetii*'nin varlığını saptamak amacıyla yapılan bir çalışmada ise, %4,3 oranında pozitiflik saptanmıştır.

Literatür taraması sonucunda, Türkiye'nin en büyük şehri olan İstanbul ve kıtalararası kapı niteliğindeki Trakya yöresinde yetiştirilen sığırlarda Q humması üzerine moleküler teknikleri de içine alan kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu tez çalışmasında, İstanbul ili ve Trakya yöresinde yetiştirilen, farklı işletmelere ait reproduktif problemi olan ve olmayan süt sığırlarının kan ve süt örneklerinde *Coxiella burnetii*'nin varlığının real-time PCR tekniği ile moleküler düzeyde araştırılması ve aynı hayvanlara ait spesifik antikor titrelerinin ELISA ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırmada, ayrıca reproduktif problemlerin varlığı, tam kan sayımı bulguları, yaş, yetiştirildiği şehir, mastit varlığı ve kene enfestasyonu gibi faktörlerin istatistikî önemlerinin saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hastalığın tanımı ve tarihçesi

Query (Q) humması, dünyada yaygın olarak görülen, zorunlu hücre içi bir mikroorganizma olan *Coxiella burnetii*'nin neden olduğu bulaşıcı ve zoonoz bir enfeksiyöz hastalıktır (CFPSH 2007; OIE 2010).

Hastalık insanları, evcil ve yabani hayvanları etkilemektedir. İnsanlarda akut grip benzeri bir hastalıktan pneumoni, hepatit ve kronik endokardit'e kadar değişen skalada patolojilerin görüldüğü bildirilmiştir. Hayvanlarda ise yavru atma ve infertiliteye neden olabilir. Hayvanlardan insanlara bulaştığı için, halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Howe ve ark. 2009; OIE 2010).

Brisbane, Queensland'da (Avustralya), 1933 yılından itibaren giderek artan sayılarda mezbahada çalışan işçilerde tanısı konulamayan ateşli bir salgın ortaya çıkmış ve sağlık otoritelerinin dikkatini çekmeye başlamıştır. Bunun sonucunda, hastalık ilk kez Ağustos 1935 yılında, Sağlık Merkezi Direktörü Sir Raphael Cilento tarafından görevlendirilen, Queensland Sağlık Merkezi Mikrobiyoloji ve Patoloji Laboratuvar şefi olan Edward Holbrook Derrick'in incelemeleri sonucu tanımlanmış ve görülen bu hastalık Derrick tarafından "Q ya da Query fever" olarak isimlendirilmiştir. Derrick ilk önce klinik belirtileri tanımlayarak, 7-24 gün içinde sonuçlanan ateş, baş ağrısı, anoreksi ve miyalji ile hastalığın karakterize olduğunu bildirmiştir. Hastaların kan örneklerinden gerçekleştirilen kan kültürlerinde üreme gerçekleşmemiştir. İnfluenza, tifus, tifo, paratifo, leptospiroz ve diğer zoonoz hastalıklara yönelik yapılan serolojik incelemeler de negatif saptanmıştır. Araştırmacı, daha sonra ateşli bir hastaya ait materyali kobaya inokule etmiş ancak etkeni izole edememiştir. Derrick, Ekim 1936'da Frank MacFarlane Burnet'e (Melbourne, Avustralya) infekte kobayın karaciğerini emülsiyon halinde göndermiştir. Burnet ve çalışma arkadaşları, gönderilen emülsiyonu farklı hayvan modellerine (fare, maymun ve embriyonik yumurtanın korinoallantik membranı) inokule etmişlerdir. Araştırmacılar, inokule ettikleri farenin dalağından yapılan incelemelerde, hücre boyutunda oval alanlar görmüş; Castaneda metoduyla hazırladıkları preparatlarda ise, fazla sayıda riketsiyalara ait hücreler gördüklerini bildirmişlerdir (McDade 1990; Maurin ve Raoult 1999; Lederberg 2000).

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ilk önce Gordon Davis, Rocky Mountain Laboratuvarlarında Montana Nine Mile kıyılarında bulunan insanlarda

hastalığa neden olan *Dermacentor andersonii* türü keneler üzerinde yaptığı çalışmalarla etkeni tespit etmiş ancak *Rickettsia rickettsii* bakterisi olduğunu düşünmüştür. Araştırmacı, daha sonra yapılan deneysel çalışmalar sonrası, farklı bir etken olduğunu, 1936 yılında yapılan Amerikan Halk Sağlığı Kongresi'nde sunmuştur. Cox ile Davis bu yeni etkeni "Nine Mile etkeni" olarak bildirmişlerdir (McDade 1990; Maurin ve Raoult 1999).

Cox, ilk olarak virusler ile riketsiyaların bazı özelliklerini göstermesi ve filtrelerden geçebilmeleri nedeniyle bu etkene *Rickettsia diaporica* adını vermiştir. Diğer taraftan, Derrick tarafından, Dr. Burnet'e ithafen hastalığın etkeni *Rickettsia burnetii* olarak isimlendirilmiştir. Son olarak, Burnet ve Cox'un yapmış oldukları çalışmaları onurlandırmak için etkenin adı *Coxiella burnetii* olarak belirlenmiş olup günümüzde de kabul görmektedir (Philip 1948; McDade 1990; Marrie ve ark. 1996).

Hastalık, II. Dünya Savaşı sırasında Akdeniz çanağında yaptığı salgınlar sonucu askeri birliklerde epidemiler halinde dikkat çekmiştir. Özellikle Balkan gribi olarak isimlendirilen atipik pneumoni salgınları, 1943-44 kışında İtalya, Bulgaristan ve Yunanistan'da görülmüştür. 1946-1947 yılları arasında Amarillo ve Chicago (ABD)'daki et paketleme tesislerinde salgınlar tespit edilmiş ve Shepard'ın yaptığı epidemiyolojik çalışmalar sonucu hastalığın aerosol olarak bulaştığını ilk kez yayınlanmıştır (McDade 1990). Luton ve Huebner 1950 yılında ilk kez bir sığıra ait plasentada etkeni izole etmişler ve insan infeksiyonları için sığırların önemli bir kaynak olduğunu bildirmişlerdir (McDade 1990). Etkenin farklı antijenik faz varyantları ise, 1956 yılında Stoker ve Fiset tarafından tanımlanmıştır (Stoker ve Fiset 1956). İnsanlardaki salgınlar, II. Dünya savaşıdan sonra Balkan ülkelerinde rapor edilmeye devam edilmiş olup özellikle 1990'lı yılların başından itibaren olgu sayılarında artış tespit edilmiştir (Panaiotov ve ark. 2008). II. Dünya savaşıdan hemen sonra Almanya'da, 1956 yılında ise Hollanda'da ilk salgınların ortaya çıktığı bildirilmiştir (Westra ve ark. 1958).

2.2. Etken özellikleri

Coxiella cinsi Gammaproteobacteria sınıfında, Legionellales takımında, Coxiellaceae familyasına aittir. *Rickettsia* benzeri bir mikroorganizma olarak bilinmesine rağmen 16S rRNA gen dizilimi ve genom analizine dayanarak *Rickettsia* cinsinin yer aldığı Proteobacteria ailesinin alfa1 (α 1) alt grubunda değil, Proteobacteria

ailesinin gama (?) alt grubundaki Legionellales takımında sınıflandırılmıştır (Garrity ve ark. 2005). Coxiellaceae ailesindeki tek tür olarak yer alan, Gram negatif, küçük (0,2-0,5 µm genişliğinde ve 0,4-1,0 µm uzunluğunda), hareketsiz, çomak şeklinde, kokoid, diplokok veya sıklıkla pleomorfik mikroorganizmalardır (Fournier ve ark. 1998; Maurin ve Raoult 1999; OIE 2010). Hücre duvarı yapısı Gram negatif bakterilerde olduğu gibi peptidoglikan, protein ve lipopolisakkaritten (LPS) oluşmaktadır. Gram negatif bakterilere benzer dış membrana sahip olmalarına rağmen Gram boyama yöntemi ile boyanmazlar. Stamp, Gimenez, Macchiavello, Castaneda metoduyla Giemsa ve Modifiye Ziehl-Nielsen yöntemiyle boyanabilmektedir. LPS, etkenin virulansı için önemlidir ve ayrıca organizmada görülen antijenik faz değişikliğinden de sorumlu yapıdır. Hücre duvarı yapısı, her biri 6,5 nm kalınlığında olan iki membran ve bu katmanlar arasında elektron yoğun bir tabakadan oluşmaktadır (Stoker ve Fiset 1956; Moos ve Hackstadt 1987; Maurin ve Raoult 1999; Paracıkoğlu 2006).

Etken mononükleer hücrelerin fagolizozomları ve öncelikle makrofajların içinde, plasenta ve embriyolu yumurta sarı kesesi gibi diğer hücrelerin intrasitoplazmik vakuollerinde ve hücre kültürleri gibi sadece ökaryotik hücrelerde çoğalırlar. Ayrıca deneysel olarak infekte edilen fare ve kobayın dalağında çok sayıda bulunur. Üreme yavaş olur, jenerasyon süresi 8 saatten daha uzundur. Canlı hücrede lizozomal vakuollerin içerisinde yaşar ve ürerler. Gelişme siklusu içerisinde bakterilerin endospor formlarına benzer dayanıklı cisimcikler oluştururlar. Bu yapı endospor olarak tanımlansa da yapılan spor boyama sonucu hücrede, spor hücre duvarında bulunan dipikolinik asidin bulunmadığı tespit edilmiştir. Ancak vejetatif hücrede oluşan bu sporogenezi andıran görünüm mikroorganizmaya çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlere (sıcak, kuruma, dezenfektanlar) karşı önemli ölçüde dayanıklılık sağladığı düşünülmektedir (Arricau-Bouvery ve ark. 2006; ECDC 2010; EFSA 2010).

Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde, etkenin değişik varyasyonlar sonucu şekillenen bir hücre içi yaşam döngüsü olduğunu bildirmiştir. Bu döngü dayanıklı ve metabolik aktivite göstermeyen küçük hücre varyantları (SCV- small cell variants) ile kırılabilir ve metabolik aktif büyük hücre varyantları (LCV- large cell variants) arasında dönüşümlü bir bifazik gelişimsel özelliği ortaya çıkarmaktadır (Raghavan 2008). Küçük hücre varyantlarında, karışık bir zar yapısı ve büyük bir elektron yoğunluğu bulunur. Organizmanın bulaşma özelliği yüksek olan hücre dışı formudur ve metabolik olarak aktif değildir. Küçük hücre varyantları, lizis yada

ekzositoz yolu ile infekte hücreden ayrılır ve komşu konak hücrelerini infekte eder. Bu varyant, süt, idrar ve dışkı ile saçılır ve amniyotik sıvı ile plasentada da yüksek konsantrasyonda (10^9 ID 50/gr) bulunmuştur. Konak hücre membranına bağlanan küçük hücre varyantları hücre içine alınır ve metabolik olarak aktif olan büyük hücre varyantı formuna dönüşür. Bu varyant, geniş bir periplazmik aralığa ve hafif elektron yoğunluğuna sahip olup bu özelliği ile küçük hücre varyantından ayrılmaktadır (Fournier ve ark. 1998). Büyük hücre varyantları, monosit ve makrofajların asidik fagolizozomları içinde oksidatif stresten kendini korur ve canlılığını sürdürür (Lockhart 2010).

İmmunolojik ve sitokimyasal yöntemler ile *C. burnetii*'nin konağa bağlı iki ayrı fazı saptanmıştır. Faz I organizmaları, hasta insan/hayvanda bulunan virüent organizmalardır ve hücre duvarında uzun lipopolisakkarit (LPS) O zinciri bulunmaktadır (OIE 2010). Bu zincirin kısalması sonucu organizmalar avirulent faz II olurlar. Embriyolu yumurta sarı kesesine ve hücre kültürlerine devamlı pasajlar yapılarak faz I, avirulent faz II'ye dönüştürülebilir. Faz II halindeki etkenler ise deney hayvanlarına verilerek virulent faz I'e dönüştürülebilir. Ancak, kromozal delesyon sonucu gelişen mutasyona bağlı olarak kalıcı dönüşümde söz konusu olabilir (Hoover ve ark. 2002). Her iki faz arasında antijenik bileşenler, LPS'lerin karbonhidrat bileşimi, aglütine olma özelliği, boyalara afinitesi ve fagositoza dirençlilik açısından farklılıklar vardır (Arricau-Bouvery ve ark. 2006; EFSA 2010).

Bu iki faz arasındaki dönüşüm, etkenin özel bir stratejisi olup konağın immün yanıtından kaçmak için kullanılır. Faz varyasyonları akut ve kronik Q hummasının laboratuvar tanısında ve aşı üretiminde önemlidir (Fournier ve ark. 1998; Arricau-Bouvery ve Rodolakis 2005; Raoult ve ark. 2005). Akut Q hummasında faz I ve faz II antijenlere karşı IgM antikorları gelişirken, faz II antijenlere karşı sadece IgG antikorları oluşur ve hızlı bir şekilde yükselir. Kronik Q hummasında ise hem faz I hemde faz II antijenlerine karşı antikor yanıtı (IgG ve IgA) gelişir ancak faz I karşı gelişen antikor yanıtı antijenik stimülasyon nedeniyle daha yüksektir (Kováčová ve Kazár 2002; Woldehiwet 2004; Brouqui ve ark. 2007; Waag 2007b).

C. burnetii fiziksel ve kimyasal ajanlara karşı dayanıklıdır. Etken çoğu zorunlu hücre içi patojenlerinin aksine, hücre dışı ortamda aylarca dayanabilir (Williams 1991). Kurumuş kraşede 30 güne kadar, tozda 120 gün, 15-20° C'deki hayvan yün ve postlarında 7-10 ay, infekte kobayın kurumuş idrarında 49 gün ve kene dışkısında en az

19 ay boyunca canlı kaldığı saptanmıştır. Soğuk ortamda (4-6° C)'daki sütte organizmaların 42 ay ve yünde 12 ile 16 ay, çeşme sularında ise 30-36 ay yaşayabildikleri belirlenmiştir. Embriyolu yumurta kültürlerinde ise en az sekiz yıl saklanabilmektedir. Tereyağında 41 günden sonra infeksiyon yeteneğini kaybettiği bildirilmiştir. Liyofilize suşlar en az 8 yıl infektivite özelliğini korumaktadır (Maurin ve Raoult 1999; Woldehiwet 2004; Madariaga ve ark. 2003; Arricau-Bouvery ve Rodolakis 2005; OIE 2010). Değişik oranlarda dezenfektanların (%5 Lizol, %2 Roccal, %5 formalin) etkene karşı 30 dakika içinde etkinliğini yitirdiğini saptanmamıştır. Yüzde 70 etil alkol ve %5 kloroformun organizmayı 30 dakika içinde inaktive ettiği bildirilmiştir. Ayrıca formaldehit gazı (ortamda %80 oranında nem varlığında)' da etkene karşı kullanılan etkili sterilizasyon yöntemlerinden biridir (Scott ve Williams 1990). Etken ultraviyole ışınlarına ise oldukça duyarlıdır. Gama ışınlarıyla sterilizasyon dozu $6,6 \times 10^5$ rads olarak ölçülmüştür (Scott ve Williams 1990; Waag 2007a). Yüksek sıcaklık pastörizasyonu (UHT) canlı organizmaları yok eder. Organizmanın 63° C'de 30 dakika veya 85-90° C'de birkaç saniyede inaktive olduğu bildirilmiştir (Garrity ve ark. 2005).

C. burnetii'nin genomu tek bir çembersel kromozom içermektedir. Pek çok izolat, gen bilgilerinin yaklaşık %2'sini taşıyan, 32-51 kb büyüklüğünde yeni tanımlanmış 5 plazmiden (QpH1, QpRS, QpDG, QpDV ve Çin izolatından elde edilerek henüz adlandırılmamış olan plasmid) birini ihtiva ederler (Ning ve ark. 1992; Thompson ve Suhan, 1996). İlk tespit edilmiş olan QpH1 (36kb) plazmidi *C. burnetii* Nine Mile RSA493 suşundan izole edilmiştir. QpRS (39kb) plazmidi ise aborte keçi fetusundan izole edilen *C. burnetii* Priscilla Q 177 suşundan izole edilmiştir. Rodentten elde edilen *C. burnetii* Dugway 5J108-111 izolatından ise QpDG (42kb) plazmidi izole edilmiştir ve ayrıca bu suş kobaylarda avirulent olarak saptanmıştır. Plazmid QpDV (33kb) ise *C. burnetii* Q 321 ve Q1140 suşlarından Rusya'da sırasıyla insandan ve inek sütünden izole edilmiştir (Mallavia 1991, Mallavia ve ark. 1991). Plazmide sahip olmayan suşlarda ise kromozoma integre 16 kb'lik plazmid benzeri gen dizisinin var olduğu saptanmıştır (Mertens ve ark. 2007; Angelakis ve Raoult 2010). Birçok araştırmacıya göre, QpRS kronik infeksiyonlarda bulunurken, QpDV hem akut hem de kronik infeksiyonlardan tespit edilmiştir (Howe ve ark. 2009; OIE 2010). *C. burnetii*'nin 6 farklı suşunun (CBuG Q212, CbuK Q154, Dugway 5J108-111, RSA331, RSA493, ve MSU Goat Q177) genomik dizi analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara

göre, *C. burnetii* genomu ortalama 2 Mb büyüklüğünde olup, yaklaşık %90 kodlama kapasitesine sahip genlerden oluşmaktadır (~ 2300 kodon) (Raoult ve ark. 2005). Bakterinin genlerinin %10'u intrasellüler hayata adaptasyonu sağlayan pseudogenlerden oluşmaktadır ve bu genlerin de %40'ının fonksiyonları bilinmemektedir (Beare ve ark. 2009). *C. burnetii* kromozomunda, %99'un üzerinde DNA homolojisi gösteren üç tane bozulmuş transpozon ve 29 IS elementi tanımlanmıştır. Etken 21 kopya tek tip IS 1111, 5 adet IS30 ve 3 tane ISAs1 ailesi elementini içermektedir (Seshandri ve ark. 2003; CFSPH 2007; The Merck Vet. Manual 2012). Etkenin günümüze kadar 2 filogenetik klad içine toplanmış 8 genomik gruba saptanmıştır (Raoult ve ark. 2005).

Hastalık oluşturacak infeksiyöz dozun araştırıldığı bir çalışmada, tek bir mikroorganizma infeksiyona yol açabildiği bildirilmiştir. Hava yoluyla bulaşması, düşük infeksiyöz dozu, pek çok kaynağının olması, çevresel direnci ve büyük insan gruplarında güçsüz düşürücü bir hastalığa neden olma kapasitesinden dolayı, *C. burnetii* biyoterörizm açısından potansiyel bir silah olarak (katagori B) düşünülmektedir (Cutler ve ark. 2002; McQuiston ve Childs 2002).

2.3. Epizootiyoloji

C. burnetii çiftlik hayvanları, diğer evcil hayvanlar, yaban hayvanları, keneler ve insanları içeren geniş bir konakçı spektrumuna sahiptir (Maurin ve Raoult 1999, Paracıkoğlu 2006; OIE 2010). Artropodlar, balıklar, kuşlar, rodentler, keseli hayvanlar ve çiftlik hayvanlarından *C. burnetii* izole edilmiştir. Ayrıca beş kıtada 40'dan fazla (12 farklı cins) kene türünde varlığı saptanmıştır. Etkenin bit, akar ve sinekleri de infekte ettiği belirlenmiştir (OIE 2010). Kersh ve ark. (2013), *C. burnetii* infeksiyonunun ABD'nin Pasifik sahillerinde deniz memelileri arasında yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Marrie ve ark. (1996), kirpi, maymun, fare, tavşan, sırtlan, kır faresi, kaz, kaplumbağa, sığır, koyun, keçi, köpek, kedi, domuz, deve, leopar, hindi, yaras ve kuşların da infekte olduğunu bildirmişlerdir.

Mikroorganizma, doğal siklusunu kene ve rodentlerde geçirdikten sonra koyun, keçi, sığır, köpek, kedi gibi evcil hayvanlara ve yabani hayvanlara bulaşır (Maurin ve ark. 1992). Etken, infekte hayvanların sütü, idrarı, dışkısı ve doğum/ abort materyalleri ile saçılır (Berri ve ark. 2002; Barlow ve ark. 2008). Dişi hayvanların doğumu veya

abortu izleyen haftalarda uzun süre canlı mikroorganizmaları saçtıkları bildirilmiştir (Maurin ve ark. 1992; Rodolakis ve ark. 2007; CDC 2013).

İnfeksiyonun hayvanlar arasında bulaşması başlıca solunum ve sindirim yolları ile gerçekleşir. Toz partiküllerinin yüksek derecede etken içerebilmesinden dolayı kuru hava, kuvvetli rüzgar ve tozla infeksiyonun yayılması arasında önemli bir bağlantı olduğu tespit edilmiştir. Kaynaktan itibaren infekte partiküllerin havayla yayılımı sonucunda 5 km yarıçaplı bir alanda, yüksek infeksiyon riskinin ortaya çıktığı saptanmıştır (Guatteo ve ark. 2011; Forland ve ark. 2014). Ayrıca, vertikal ve veneral bulaşmanın da şekillendiği bildirilmiştir (Angelakis ve Raoult 2010; OIE 2010).

İnsanlarda da infeksiyonun en önemli bulaşma şekli solunum yolu olup deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar kontamine aerosollerin önemini göstermiştir (Marrie ve ark. 1989). Gutzü ve ark. (1969) sindirim yolu ile bulaşmayı ilk defa tanımlamışlardır. *C.burnetii*'nin insandan insana bulaşması ender görülmekle birlikte, otopsi sırasında (Harman 1949; Gerth ve ark. 1982) ve infeksiyonu almış hastanın hastane personeline bulaştırmasıyla ilgili raporlar bulunmaktadır (Deutsch ve Peterson 1950). Ayrıca, insanlar arasında veneral bulaşmayı gösteren bir çalışma bulunmaktadır (Milazzo ve ark. 2001). Bununla birlikte parmaklar arasında bulunan bir kenenin parçalanması sonucu insana hastalığın bulaştığını belirten, bir olgu sunumu yayınlanmıştır (Eklund ve ark. 1947). Kan transfüzyonu ile bulaşmayı gösteren bir çalışma da mevcuttur (Harman 1949).

İnfeksiyon ile ilgili olarak 1999 ile 2004 yılları arasında 12 farklı ülkede 2 ile 289 insanı kapsayan 15 salgın rapor edilmiştir. Bunlardan 6 salgının infekte koyunlar; 3'ünün keçiler; 1'inin keçi gübresi; 1'inin koyun gübresi; 1'inin yaban hayvanlar; 1'inin ise kedi ve köpekler ile temas sonucu ve 2'sinin de bilinmeyen nedenlerle ortaya çıktığı bildirilmiştir (Arricau- Bouvery ve Rodolakis 2005).

Q humması, Türkiye'de ilk kez 1946 yılında Dr. Sabahtattin Payzın tarafından saptanmıştır. Payzın (1949), koyun süt serumunda *Coxiella burnetii* antikorunu saptamış olup günümüze kadar farklı hayvan türlerinde gerçekleştirilen araştırmalarda da etken ve spesifik antikorlar saptanmıştır.

Türkiye'de araştırmacılar sığırlar ve farklı hayvanlarda yaptıkları bir çok çalışmada hastalığın prevalansını araştırmışlardır. Sığırlarda yapılan çalışmalarda seroprevalans oranlarının bölge, test tekniği ve hayvanların semptom gösterip göstermemesine göre %5,8 ile %53,1 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Özyer ve ark.

1990; Özgür ve ark. 1996; Özgür ve ark. 1997; Cetinkaya ve ark. 2000; Berberoğlu ve ark. 2004; Büke ve ark. 2006; Seyitoğlu ve ark. 2006; Dogru ve ark. 2010; Gazyagcı ve ark. 2011; Parın ve Kaya 2012, Can ve ark. 2015).

Özyer ve ark. (1990), Çukurova bölgesinde abort yapmış sürülerden alınan kan serumlarını KF ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda 1/8 titrede %44,5, 1/32 titrede ise %22,8 oranında pozitiflik saptadıklarını açıklamışlardır.

Özgür ve ark. (1997), Trakya yöresinde ELISA ile inceledikleri sığır serumlarından infertilite sorunu olan 92 sığırın %36,45'inde, sağlıklı süt sığırlarının ise %7,6'sında antikor saptadıklarını bildirmişlerdir.

Türkiye'nin doğusunu kapsayan bir çalışmada, tesadüfi örnekleme ile 48 sürüden toplam 416 sığır serumunun IFA ile incelenmesi sonucu, 17 sürüden 24 sığırdan (%5,8) pozitiflik saptanmıştır (Cetinkaya ve ark. 2000).

Seyitoğlu ve ark. (2006)'nın, Erzurum'da gerçekleştirdikleri çalışmada ise ELISA ile incelenen 230 sığır serumunun %9,5'inin pozitif olduğu bildirilmiştir.

Konya ilinde gerçekleştirilen bir çalışmada araştırmacılar, süt işletmelerinden toplam 322 adet Holstein ırkı süt sığırından alınan serum örneğini IFA yöntemiyle incelemişler ve 40 sığırdan (%12,4) pozitiflik saptadıklarını bildirmişlerdir (Gazyagcı ve ark. 2011).

Aydın ilinde, sığırlardan alınan kan örneklerinde PCR yöntemi ile, *C. burnetii*'nin varlığını saptamak amacıyla yapılan bir çalışmada, %4,3 oranında pozitiflik saptanmıştır (Kırkan ve ark. 2008).

Elazığ ve komşu illerdeki koyunlarda *C. burnetii* enfeksiyonunun yaygınlığını ortaya koymak amacıyla yapılan bir çalışmada, yavru atmış koyunlarda %38,59 ve yavru atmamış koyunlarda ise %11,01 oranında seropozitiflik bulunmuştur (Kalender ve ark. 2001). Aynı araştırmacı Elazığ'da %20, Malatya'da %20, Bingöl'de %27,95 ve Muş'ta %27,27 oranlarında seropozitiflik saptamıştır. Elazığ'daki koyunlardan alınan sütlerde immunomagnetik separasyon-PCR yöntemi ile *C. burnetii* yönünden %3,5 oranında pozitiflik bulunmuştur (Öngör ve ark. 2004). Elazığ ili ve ilçelerinden sığır, koyun ve insanlardan toplanan serum örneklerinden gerçekleştirilen bir Q humması seroprevalans çalışmasında, sırasıyla %5,8, %10,5 ve %8 oranında seropozitiflik tespit edildiği bildirilmiştir (Cetinkaya ve ark. 2000). İç Anadolu bölgesi sokak kedilerinde *C. burnetii*'nin seroprevalansını saptamak amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada,

Ankara’da %1,37, Kayseri’de %8,3 ve Niğde’de %7,4 oranında seropozitiflik saptanmıştır (Kılıç ve ark. 2008).

Ceylan ve ark. (2009) Türkiye'nin doğusunda gerçekleştirdikleri çalışmada, sığır ve koyunlarda hastalığın seroprevalansını ELISA tekniği ile sırasıyla %16.3 ve %5.4 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir.

Kırıkkale ilinde IFA tekniği kullanarak yapılan bir çalışmada, *C. burnetii* spesifik antikorları çiftlik sahipleri, koyun ve sığırlarda sırasıyla %90, %63,6 ve %53,1 oranında tespit edilmiştir (Dogru ve ark 2010).

Konya ilinde gerçekleştirilen bir araştırmada süt sığırlarında IFA ile %12.4 oranında seropozitiflik saptanmıştır. Araştırmacılar reproduktif bozukluklar ve kene varlığı arasında istatistiki olarak bir öneme rastlamadıklarını bildirmişlerdir (Gazyagci ve ark. 2011).

Parın ve Kaya (2012), Aydın ili ve çevresinde bulunan farklı çiftliklerden sığır, koyun ve keçilere ait toplam 600 adet kan örneğini infeksiyonun varlığını serolojik (ELISA ve IFA) ve moleküler (PCR) olarak incelemişlerdir. Araştırmacılar, sığırlarda ELISA ile %20, IFA %22; koyunlarda ELISA ile %29, IFA %29; keçiler ELISA ile %21, IFA %23 oranında antikor varlığını tespit etmişlerdir. PCR ile amplifiye edilen sığır, koyun ve keçi serum örneklerinde ise sırasıyla %48, %36 ve %23 oranında pozitiflik saptanmışlardır.

Klasik bilgilere göre, hastalık Yeni Zelanda haricinde dünya çapında görülmektedir. Bununla birlikte, infeksiyonun varlığına ait kanıtlar Yeni Zelanda’dan da bildirilmiştir. Serolojik çalışmalar, ılıman iklimlere göre tropikal iklime sahip ülke ve bölgelerde infeksiyonun hem insan hem de hayvanlarda daha sık görüldüğünü ortaya çıkarmıştır (Greenslade ve ark. 2003).

Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) 2007 yılında süt toplama tanklarında *C. burnetii*’nin varlığının PCR ile araştırıldığı bir çalışmada, küçük ünitelerde %69,8 büyük ünitelerde ise %98,9 oranında pozitiflik saptanmıştır. Genel olarak test edilen toplama tankı sütlerinin %76,9 oranında pozitif olduğu saptanmıştır (APHIS, 2011). ABD’de bulunan 24 Veteriner Fakültesine ait araştırma çiftliklerinde bulunan süt toplama tanklarında etkenin varlığı IFA ile araştırılmıştır. İncelenen süt örnekleri, 1/16 sulandırılmasında %92’si, 1/256 sulandırılmasında %38’inde, faz I antikorları yönünde

pozitiflik saptanmış olup araştırcılar ABD’de sütçü sığırlarda, infeksiyonun yaygın olduğunu bildirilmişlerdir (McQuiston ve Childs 2002).

Capuano ve ark. (2004), İtalya’da gerçekleştirdiği bir çalışmada, IFA ile test edilen 1188 sığıra ait kan örneklerinin %14,4 oranında pozitif olduğu saptanmıştır. Natale ve ark. (2012), çeşitli nedenlerden dolayı rutin tanı amacıyla incelenen bireysel veya sürülere ait 9635 sığır kan serumunu incelemişler, ELISA ile %16,92 KF testi ile %4,73’ünü pozitif saptadıklarını bildirmişlerdir. Araştırcılar ayrıca incelenen 390 hayvana ait süt örneğinin 64’ünü (%16,4) etken DNA’sı yönünden PCR ile pozitif saptamışlardır.

Federal Almanya Cumhuriyeti’ne ait 13 farklı eyalette gerçekleştirilen araştırmalar sonucunda farklı metotlarla test edilen 21191 sığırın %7,8’inin, 1346 koyunun %1,3’ünün, 278 keçinin de %2,5’inin pozitif saptandığı bildirilmiştir (Hellenbrand ve ark. 2001).

Slovakya’da gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda faz-II *C. burnetii* antikorları, araştırılan sığırların %11’inde, koyun ve keçilerin %3’ünde tespit edilmiştir (Serbezov ve ark. 1999).

Guatteo ve ark. (2011), evcil ruminantlarda *C. burnetii*’nin prevalansına ait dünya çapında gerçekleştirilen çalışmalar üzerine derleme yapmışlardır. Araştırcılara göre, evcil ruminantlarda *C. burnetii* infeksiyonunun prevalansını belirlemek için yapılan az sayıda iyi çalışma mevcuttur. Bu derlemede, *C. burnetii* infeksiyonunun dünya çapında genellikle 3 farklı türde (sığır, koyun, ve keçi) çalışıldığı belirlenmiştir. Pek çok ülkede türlerden bağımsız olarak bireysel ve sürü seviyesindeki infeksiyonun seroprevalansı en az %15-20 oranlarında bulunmuş olup sığırlardaki prevalansın (bireysel ve sürü seviyesindeki bağlı olan prevalans sırasıyla %20- 37,7), koyunlardakine (koyun ve keçilerde bireysel ve sürü seviyesindeki bağlı olan prevalans sırasıyla %15-25) göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Araştırcılara ve veteriner hekimlere olduğu gibi çiftçi organizasyonlarına ve resmi otoritelere yardım etmek için iyi dizayn edilmiş ve yayınlanmış olan prevalans (hem seropozitif hem de saçıcı) çalışmalarına hali hazırda ihtiyaç duyulduğu sonucuna varmışlardır.

2.4. Patogenez

C. burnetii infeksiyonunun kontrolünde hem humoral ve hem de hücresel bağışıklık rol oynadığı halde, etkenler nihai olarak hücresel yanıt ile elimine edilirler. Akut hastalıkta, T lenfosit bağımlı immun yanıt çok etkilidir; kronik formda ise hücresel yanıtın etkinliği azalır. Akut infeksiyondan hemen sonra faz II'ye karşı IgM antikorları daha sonra da IgA ve IgG tipi antikorlar oluşmaktadır. *C. burnetii* infeksiyonu T hücre cevabı ile kontrol edilmektedir. Farklı sitokinler etkenlerin temizlemesi sürecine dâhil olurken bazıları da tam tersi etki eder, örneğin interleukin 10 monositlerin içinde *C. burnetii*'nin replikasyonunu arttırırken; interferon gama ve tümör nekroz faktör etkenlerin öldürülmesi sağlar (Dellacasagrande ve ark. 1999,2002).

C. burnetii faz I'e karşı şekillenen antikorlar, akut formda bakteriyemiye karşı aktif rol oynarken, kronik aşamada yararlı değildir. Hatta, kronik formda gelişen yüksek titredeki bu antikorların dolaşımında bulunması immunkomplekslerin artışına neden olduğu gibi glomerulonefrit ve lökositoklastik lezyonlar gibi patolojik lezyonların artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Raoult 1990).

Hastalığın gelişimi konakçının bağışıklığına ve pek çok diğer koşula bağlıdır. Monosit ve makrofajlar insan ve hayvanlarda tek bilinen hedef hücrelerdir ve *C. burnetii*'nin vücutta yayılmasından sorumludurlar. Q hummasında, riketsiyal infeksiyonlarda görülen primer infeksiyöz odak ve vasküler endotel invazyon oluşmadan infeksiyon gelişir. Bakterinin konağa giriş yoluna bağlı olmaksızın hematojen yolla karaciğer, dalak, akciğer, kemik iliği ve genital organlara yayılır. Kan ile yayılma sonrasında, etken dişi üreme kanalı ve meme bezlerinde lokalize ve replike olur. Endokardit, vasküler hasar bölgesinde infekte monositlerin toplanması sonucu kalp kapağı defekti bulunan bireylerde meydana gelir (Maurin ve Raoult 1999).

Konakçı hücrelerinde oluşan etkili invazyon ve replikasyon, etken için önemli bir virülens faktördür. Etkenlerin infeksiyöz faz I formu lökosit yanıt integrini ve integrinle ilgili protein kompleksi ile monosit ve makrofajlara bağlanır. Fagositozu takiben erken fagolizozomlar geniş vakuoller oluşturacak şekilde füzyona devam ederler. *C. burnetii* fagolizozomlardaki düşük pH'ya dayanıklıdır, hatta bakteriyel metabolizma ve üreme asidik ortamda daha da artar. Protein sekresyonu asit pH'ya maruz kaldıktan birkaç saat sonra da devam eder (Maurin ve ark. 1992).

C. burnetii, infeksiyonun geç dönemlerinde makrofajlarda TNF- α ilişkili apoptozise neden olur ve TNF- γ yanıtı da benzer rol oynayabilir. İnfekte makrofajların

apoptozisi konakçının enfeksiyonu sınırladığı mekanizmayı meydana getirir (Dellacassagrande ve ark. 1999, 2000; Ghigo ve ark. 2001; Honstettre ve ark. 2003; Raoult ve ark. 2005; Waag 2007a).

C. burnetii'nin monosit ve makrofajlardaki fagolizomlarda canlılığını sürdürebilmesi en önemli virulans faktörüdür. Hücre duvarındaki farklılıkları (faz I ve faz II) ve endospor benzeri yapı da patogenezi ve virulans da rol oynamaktadır. (Dellacassagrande ve ark. 2000; Kováčová ve Kazár 2002; Woldehiwet, 2004; Raoult ve ark. 2005; Miller ve ark. 2006). Ayrıca hücre içi canlılığın devamında rol oynayan üç enzim bulunmaktadır. Bunlar; makrofaj içerisinde canlı kalmayı sağlayan makrofaj inflamatuvar protein (MIP), determinantların bağlanması sağlayan Com-1 ve solunum patlamasını bloke eden asit fosfataz enzimidir (Maurin ve Raoult 1999; Woldehiwet 2004; Raoult ve ark. 2005; Miller ve ark. 2006).

2.5. Klinik bulgular

Evcil hayvanlarda, enfeksiyon genellikle subklinik seyretmektedir. Bununla birlikte koyun, keçi, sığır ve kedilerde abortlar tanımlanmıştır. Organizma dışı üreme sisteminde özellikle uterus ve meme bezlerinde ürer. Ruminantlarda ve köpeklerde aborta, premature veya ölü doğuma, metrit ve infertilite gibi çok önemli reproduktif bozukluklara ve mastite yol açabilmektedir (CFSPH 2007; Angelakis ve Raoult 2010; OIE 2010). Ayrıca, düşük doğum ağırlığına sahip yavru görülebileceği bildirilmiştir (Marrie ve ark. 1996). Bununla birlikte, koyun, keçi ve sığırların solunum yollarında etkenin izole edildiğine dair çalışmalar mevcuttur (Aitken 1989). Son yapılan çalışmalar, enfeksiyonun kedilerde komplikasyonlu gebeliğe (anne ölümü, yavru ölümü, erken doğum, düşük doğum ağırlığı) neden olabileceği ortaya çıkarmıştır (Cairns ve ark. 2007).

İnsanlarda ise Q humması, özellikle risk altındaki gruplarda (veteriner hekimler, kasaplar, hayvan terbiyecileri, et denetleyicileri, bahçıvan, kırkımçılar, ahır çalışanları ve laboratuvar çalışanları) görülür. İnfeksiyon, akut hastalık (grip benzeri tablodan yoğun bakım gerektirecek ciddi pnemoni, hepatit) veya kronik enfeksiyon şeklinde klinik tablolar gösterebilmektedir (Rauch ve ark. 1987).

Hastalığın en sık görülen klinik belirtisi yüksek ateştir. Q humması olan hastalarda, ateş 2-4 gün içinde 42° C'ye ulaşır. Pik yaptıktan sonra, 5-14 gün içinde

normale döner. Tedavi edilmeyen hastalarda ateş 57 güne kadar uzayabilir. Bu sebepten akut Q humması sebebi bilinmeyen ateş olgularında akla getirilmesi gereken önemli bir nedendir (Levy ve ark. 1999).

Hastalık çoğunlukla asemptomatik veya kendiliğinden iyileşen bir seyir gösterirken, hastaların %2'sinde hastaneye yatış gerektiren tabloların da olduğu bilinmektedir. Gebelik, immun yetmezlik, kalp kapağı lezyonları ve vasküler anomaliler gibi bazı durumlar kronik Q hummasına zemin hazırlayabilmektedir. Kronik form, ilk enfeksiyonu takiben aylar hatta yıllar sonra ortaya çıkabilir. Kronik formun en sık ve en fazla üzerinde durulan şekli endokardittir. Ayrıca vasküler enfeksiyon, osteoartiküler enfeksiyon, kronik hepatit, akciğer ve dalakta pseudotümörler, ventrikuloperitoneal kanal enfeksiyonları şekillenebilir (Maurin ve ark. 1992; Fenollar ve Raoult 2004; Rodolakis 2009; Angelakis ve Raoult 2010; CDC 2013). Leone ve ark. (2004) gerçekleştirdikleri bir araştırmada, hastalık erkek bireylerde, dişi bireylere nazaran daha fazla görülmüştür. Araştırmacılar östradiol 17- β 'nin etkisinin, cinsiyet farklılığı açısından önemli olduğunu, CB6BL/6 farelerin erkek bireylerin de granülomların daha fazla görüldüğü bildirilmiştir.

2.6. Tanı

Sığır, koyun, keçi ve köpeklerde plasentit, fötusta granülamatöz hepatit, miyokardit ve interstitial pneumoni lezyonlarına rastlanmaktadır. Kobay ve farelerde; insanlarda olduğu gibi, vasküler sistem, akciğer ve karaciğer lezyonları görülmektedir. Lezyonlar patognomik değildir. Q hummasının yangı ve granülamatöz lezyonları içeren mikroskobik bulgular akciğerler, karaciğer ve kalpte gözlenir. İnterstitial pneumoni, hepatit ve miyokardit lezyonları yaygındır. Plasentit, fötal pneumoni ve hepatit aborte fetuslarda sık görülmektedir (Maurin ve ark. 1992; CDC 2013).

Q hummasının semptomları ve otopsi bulguları hastalığa spesifik değildir ve uygun laboratuvar testleri olmadan doğru tanı zordur. Günümüzde, tanı örneklerin direkt sitolojik incelenmesi, mikroorganizmanın üretilmesi ve uyumlu mikroskobik lezyonların görülmesi, seroloji ve moleküler metotlar ile mikroorganizmanın saptanması gibi yöntemlerin bir kombinasyonu ile konulmaktadır (CFSPH 2007; Howe ve ark. 2009; OIE 2010).

Plasental dokudan (kotelidonlar), vajinal akıntılardan veya aborte fetusa ait karaciğer, akciğer ve abomasal içerikten hazırlanan sürme preparatların Stamp, Gimenez, Macchiavello, Castaneda metoduyla Giemsa veya Modifiye Ziehl-Nielsen yöntemiyle boyanması kırmızı pembe kokobasillerin küçük kümelerini açığa çıkarır. İlk üç tekniğin en iyi sonucu vermediği bildirilmiştir. Stamp metodu veteriner laboratuvarlarında kullanılırken, Gimenez metodu ise daha çok araştırma laboratuvarında infekte kültür hücrelerini kontrol etmek için kullanılır. Ayrıca, görüntüleme parafinli dokuların immunoperoksidaz yöntemiyle boyanmasından da yararlanır. İmmunfloresan yöntemlerine dayalı tekniklerin plasental sürüntülerde *C. burnetii*'nin saptanmasında kullanılabileceği bildirilmiştir (Gimenez 1964; Samuel ve Hendrix 2009; OIE 2010; Quinn ve ark. 2011). Elektron mikroskopisi de etkilenmiş plasental dokularda mikroorganizmanın saptanması için kullanılabilir (Quinn ve ark. 2011).

Pek çok laboratuvar kaynaklı infeksiyon tanımlanmıştır ve etkenin kolaylıkla bulaşabilmesi *C. burnetii* izolasyonu çalışmalarının biyogüvenlik seviye 3 şartlarında gerçekleştirilmesini gerektirir. Etkenin üretilmesi için makrofaj benzeri tümör hücreleri, fare embriyonu fibroblast hücreleri, Vero ve human embriyonic lung (HEL) fibroblast gibi hücre kültürleri ile kene doku kültürleri kullanılır. Ayrıca 10-12 günlük embriyolu tavuk yumurtasının korinoallantoik membranı, sarı kese membranı ve amniyotik sıvılar etkenin üretilmesi için kullanılırken, laboratuvar hayvanlarında etken izolasyonu için en uygun organ dalaktır (Raoult ve ark. 1990; Lockhart ve ark. 2013).

Kesin tanı, laboratuvarlarda sıklıkla seroloji ile gerçekleştirilir. İki-dört hafta arayla alınan serumlar komplement fiksasyon (KF), radioimmunoassay, indirek hemoliz testi, ELIFA (enzim linked immunosorbent floresan testi), dot immunoblotting, Western blotting, mikroaglutinasyon, IFA, ve ELISA gibi referans metotlarıyla incelenir (Özbey ve ark. 2009; Vranakis ve ark. 2012). *C. burnetii*'nin antijenik varyasyonu akut ile kronik hastalığın ayrılmasında yararlı olabilir. Akut Q hummasında, faz II antijenlerine karşı antikor titresi genellikle faz I antijenlerinden daha yüksektir (genellikle birkaç kat) ve ilk olarak hastalığın ikinci haftasında saptanır. Kronik Q hummasında ise tersi geçerlidir ki, sonraki örneklerde faz I antikorlarının yüksek seviyesi değişmeyen ya da düşen faz II antikor titreleri ve yangısal hastalığın diğer belirtileri ile birlikte kronik hastalığa delalet eder. Faz I ve II antijenlerine karşı antikorlar ilk infeksiyondan sonra aylar hatta yıllar boyunca persiste kalabilir (Waag 2007a).

IgG izotipleri dışında IgA ve IgM antikor titrelerinin saptanması tanının kesinliğini arttırır. Artmış IgM titreleri yeni infeksiyonu gösterir; akut Q hummasında, hastalar faz II antijenlerine karşı IgG antikorlarına ve hem faz I hem de faz II IgM antikorlarına sahip olurlar. Faz I antijenlerine karşı IgG ve IgA titrelerinde artma genellikle Q humması endokarditine işaret eder (Fries ve ark. 1993).

Hastalığın tanısı amacıyla PCR testleri gibi moleküler genetik tekniklerden de yararlanılmaktadır. PCR hem klinik materyalde hem de hücre kültürlerinde *C. burnetii* DNA'sını saptayabilmektedir ve standart kültür tekniklerinden çok daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Tekrarlı, transpozon benzeri elementin amplifiye edildiği PCR'ın (Trans-PCR) spesifik ve sensitivitesi yüksek olduğu fakat süttten DNA ekstraksiyonun çok fazla efor gerektirdiği ve hazırlama aşamasında yüksek kontaminasyon riski olduğu saptanmıştır (Lorenz ve ark. 1998). Son yıllarda hem insanlarda hem de hayvanlarda hastalığın tanısı amacıyla yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olan konvensiyonal ve real-time PCR kullanımı artmıştır (Alsaleh ve ark. 2011; Jones ve ark. 2011). Birçok farklı çalışmada çeşitli real-time PCR metotları, farklı genleri hedef alarak etkeni saptayabilmektedir. Bununla birlikte, yapılan karşılaştırmalı çalışmalar sonucu, *C. burnetii* genomunun içinde bulunan çok tekrarlı IS1111 geni real-time PCR'da en çok kullanılan hedef gen olmuştur. Ayrıca bazı laboratuvarlar, real-time PCR'da tek kopya genleri de (COM1 veya ICD) kullanmaktadır (Berri ve ark. 2000; Fournier ve Raoult 2003; Jones ve ark. 2011).

2.7. Tedavi

İnsanlarda, klinik tabloya göre antibakteriyel ilaç seçimi ve tedavi süresi değişim göstermektedir. Akut Q humması tedavisinde doksisisiklin tercih edilmektedir. Hastalığın ilk 3 gününde başlayıp daha sonra 3 haftaya kadar devam edildiğinde en yüksek etkiyi gösterdiği gibi nüks durumunda devam etmesi gerektiği bildirilmiştir (Raoult 1993; Dumler 2002). Diğer etkin tedaviler florokinolonlardır. Kronik Q humması endokarditinin etkili tedavisi için kombinasyon halinde doksisisiklin ile rifampisin, siprofloksasin veya hidrosiklorokin kullanılır (Walker ve ark. 2012). Bazı araştırmacılar ise endokardite neden olmasından dolayı, yaşam boyu antibiyotik tedavisi önermişlerdir (Morguet ve ark. 2007). Daha yeni antibiyotik alternatifleri olarak ise tigesiklin ve klaritromisininin etkisi araştırılmaktadır (Spyridaki ve ark. 2009; Phase 2014). Sadece

hepatit varlığında ise iki haftalık antibiyotik tedavisinin yeterli olduğu bildiren araştırmacılar vardır (Yeaman ve ark. 1987; Dupont ve ark 1992).

Hayvanlarda, özellikle koyunlarda veya keçilerde antibiyotik tedavisi ile bakteri saçılmasının önlenemediği gösterilmiştir (Blain 2007; Astobiza ve ark. 2010). Ruminantlarda tedavi amacıyla oral tetrasiklinlerin 2-4 hafta uygulanabileceği, infekte olduğu bilinen sürülerde salgınlarının kontrolü ve profilaktif olarak içme sularına katılmasının fayda sağlayabileceği belirtilmiştir. Ancak bu uygulamalar tam olarak hayvanların etkeni saçması engellemektedir (Worswick ve Marmion 1985; Parker ve ark. 2006; The Merck Manual 2012)

2.8. Korunma ve kontrol

Hastalık sıklıkla kontamine hayvan ürünleriyle temas veya kontamine partiküllerin aerosolizasyonu ile bulaştığı için korunma ve kontrol işlemleri için hastalık kaynaklarının önlenmesine odaklanılmasının önemi belirtilmektedir. Hayvanlar için uygulanan korunma ve kontrol yöntemlerinin insanlarda da insidensin düşürülmesinde ve bireysel infeksiyonların önüne geçilmesindeki önemi belirtilmiştir (EFSA 2010).

C. burnetii'nin insanlara bulaşmasını önlemek için, çiftliklerin insanların yerleşim yerlerinden uzak mesafede kurulması gerektiği vurgulanmıştır. Ruminantların ve muhtemel rezervuarların düzenli olarak serolojik yöntemlerle incelenmesi, hayvanat bahçeleri gibi yerlerde bulunan koyunlar ile diğer hayvanların kontrol edilmesi, ve pozitif hayvanların itlafi, sütün pastörizasyonu ve çiğ süt tüketilmemesi de önerilmektedir (Fishbein ve Raoult 1992; Beaudeau ve ark. 2006).

İnsanlara, özellikle Q hummasının endemik olduğu bölgelerde mesleki olarak yüksek risk taşıyanlara veya biyoterörizm tehdidi altında olan topluma ve askeri gruplara, aşı uygulanması önerilmektedir (Madariaga ve ark. 2003; Miller ve ark. 2006; Waag 2007b) Bugüne kadar uygulanmak üzere canlı-atenüe M-44 ve 1/m-44 aşısı, formalinde inaktive edilmiş tam hücre *C.burnetii* faz I aşısı (Q-Vax; Commonwealth Serum Laboratories), kloroform-metanolda işlem görmüş *C.burnetii* faz I subünitini içeren aşı (CMR) ve faz I hücrelerinin triklor asetik asit ile muamelesiyle elde edilmiş çözünebilir subünit aşısı (kemovaccine) olmak üzere dört tip Q humması aşısı geliştirilmiştir (Izzo ve ark. 1998; Kovacova ve Kazar 1999; Waag 2007b). Hem humoral hem de hücreyel immün yanıtta başarılı olduğu düşünülen Q humması aşısı (Q-

Vax) Avustralya'da 1989 yılından itibaren risk gruplarına uygulanmaktadır (Moos ve Hackstadt 1987; Marmion ve ark. 1990; Chiu ve Durrheim 2007).

Çiftlik hayvanlarında mücadele amacıyla, seropozitif hayvanların olduğu çiftlik ve ahırlara mutlaka dezenfeksiyon (örn. %5 kuaternal amonyum bileşiği, 30 dakika temas süresi) uygulaması yapılmalıdır. Sürüye alınacak yeni hayvanların yalnızca *Coxiella*-negatif sürülerden alınması gerekliliği vurgulanmaktadır (Maurin ve Raoult 1999; Africau-Bouvery ve ark. 2005). Doğum atıklarının yok edilerek kedi ve köpekler tarafından yenmesinin önüne geçilmesi, çiftlik hayvanların vahşi hayvanlar ile temasının engellenmesi gibi nonspesifik önlemlerin de hastalıkla mücadele açısından önemi bildirilmiştir. Evcil hayvanlarda kene kaynaklı bulaşmayı önlemek için repellet ajanlar kullanılması tavsiye edilmektedir (Raoult ve ark. 2001; Kovacova ve Kazar 2002; Woldehiwet 2004).

Hayvanlarda Q hummasına karşı çeşitli aşılar geliştirilmiştir ve çalışmalar devam etmektedir. Araştırmalar faz I aşılardan, faz II aşılara göre daha yüksek koruyucu antikor üretimini sağladığını ortaya çıkarmıştır (Gajdosova ve ark. 1994). Cournoul ve arkadaşları (2011), hayvanlarda, en etkili aşının inaktive edilmiş faz I *C.burnetii* aşısı olduğunu ve buzağılarda infeksiyonların önlenemediği bildirmiştir. Slovakya'da sığırlarda inaktif faz I aşısı kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar uygulanan diğer kontrol mekanizmaları ve sığırların yaygın olarak aşılınmalarının insan ve hayvan Q hummasını insidensinin düşmesini sağladığı ortaya koymuştur (Serbezov ve ark. 1999; Guatteo ve ark. 2008). Fransa'da gerçekleştirilen deneysel bir çalışmada aynı aşı keçilerde denenmiş ve dışkıdan saçılımı azalttığı saptanmıştır (Arricau- Bouvery ve ark. 2005) Aşıların infekte hayvanlarda mümkün olabilecek yan etkilerinden dolayı pek çok araştırmacı, seronegatif sürü veya hayvanların aşılınması gerektiğini ve genç hayvanlarda aşılamanın rapellerinin yapılması gerektiğine vurgulamaktadır (Parker ve ark. 2006; OIE 2010; CDC 2013).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Örnekler

Çalışmada, Temmuz 2011 ile Temmuz 2012 tarihleri arasında İstanbul ili ve Trakya yöresinde (Edirne, Kırklareli, Tekirdağ) yetiştirilen farklı işletmelere ait 100 adet reproduktif problemler (metrit, abort ve infertilite) görülen dişi sığır ve 100 adet bu problemlerin (fertil) görülmediği dişi sığır tesadüfi örnekleme ile seçilerek, toplam 200 hayvandan kan ve süt örnekleri toplandı. Kan örnekleri, hayvanların kuyruk venalarından tam kan sayımı ve real-time PCR için EDTA içeren steril 5 ml'lik vakumlu tüplere, ELISA için 5 ml'lik antikoagulantsız vakumlu steril tüplere alındı. Aynı hayvanlara ait süt örnekleri, her meme lobundan 5 ml olmak üzere toplam 20 ml steril falkon tüplerine alındı. Tüm örnekler soğuk zincir altında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirildi. Örnek alınan hayvanlara ait kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığı bilgileri Tablo 3-1'de gösterilmiştir.

Tam kan sayımı amacıyla alınan kan örnekleri aynı gün içinde çalışıldı. Real-time PCR için alınan kan örnekleri +4⁰ C'de, süt örnekleri ise -20⁰ C'de kullanılıncaya kadar saklandı. ELISA için alınan kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve çalışma yapılana kadar -20⁰ C'de saklandı.

Tablo 3-1: Örnek alınan hayvanlara ait kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığı bilgileri

No.	Kaynak	Yaş	İrk	Reproduktif Durumu	Mastit	Kene Varlığı
1	Avcılar/İstanbul	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
2	Avcılar/İstanbul	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
3	Avcılar/İstanbul	3	Esmer	Sağlıklı	Yok	Yok
4	Avcılar/İstanbul	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
5	Avcılar/İstanbul	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
6	Avcılar/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
7	Avcılar/İstanbul	4	Esmer	Sağlıklı	Yok	Yok
8	Avcılar/İstanbul	2	Esmer	Sağlıklı	Yok	Var
9	Avcılar/İstanbul	2	Esmer	Sağlıklı	Yok	Var
10	Avcılar/İstanbul	5	Esmer	Sağlıklı	Yok	Var
11	Çatalca/İstanbul	4	Siyah Alaca	Abort	Var	Var
12	Çatalca/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
13	Çatalca/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
14	Çatalca/İstanbul	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
15	Çatalca/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
16	Çatalca/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
17	Çatalca/İstanbul	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
18	İpsala/Edirne	6	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
19	İpsala/Edirne	5	Siyah Alaca	Abort	Var	Yok
20	İpsala/Edirne	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
21	İpsala/Edirne	7	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Var
22	İpsala/Edirne	5	Siyah Alaca	Abort	Var	Var
23	İpsala/Edirne	6	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
24	İpsala/Edirne	8	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
25	İpsala/Edirne	5	Siyah Alaca	Abort	Var	Yok
26	Saray/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	Metrit	Var	Yok
27	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Metrit	Yok	Yok
28	Saray/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	Metrit	Var	Yok
29	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Metrit	Var	Yok
30	Saray/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	Metrit	Yok	Yok
31	Saray/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
32	Saray/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
33	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
34	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
35	Saray/Tekirdağ	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
36	Saray/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok

Tablo 3-1 (devam): Örnek alınan hayvanlara ait kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığı bilgileri

37	Çorlu/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
38	Çorlu/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
39	Çorlu/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
40	Çorlu/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
41	Çorlu/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
42	Çorlu/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
43	Çorlu/Tekirdağ	9	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
44	Çorlu/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
45	Çorlu/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
46	Çorlu/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
47	Beykoz/İstanbul	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
48	Beykoz/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
49	Beykoz/İstanbul	5	Esmer	Sağlıklı	Yok	Yok
50	Beykoz/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
51	Beykoz/İstanbul	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
52	Beykoz/İstanbul	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
53	Beykoz/İstanbul	7	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
54	Beykoz/İstanbul	5	Esmer	Sağlıklı	Yok	Yok
55	Beykoz/İstanbul	5	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
56	Beykoz/İstanbul	4	Siyah Alaca	Abort	Yok	Yok
57	Beykoz/İstanbul	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
58	Beykoz/İstanbul	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
59	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Abort	Yok	Yok
60	Saray/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
61	Saray/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
62	Saray/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
63	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
64	Saray/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
65	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
66	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
67	Saray/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
68	Saray/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
69	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
70	Saray/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
71	Saray/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
72	Saray/Tekirdağ	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
73	Saray/Tekirdağ	6	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
74	Saray/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
75	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok

Tablo 3-1 (devam): Örnek alınan hayvanlara ait kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığı bilgileri

76	Saray/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
77	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
78	Saray/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
79	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
80	Saray/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
81	Saray/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
82	Saray/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
83	Saray/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
84	Merkez/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
85	Merkez/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
86	Merkez/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
87	Merkez/Tekirdağ	8	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Var
88	Merkez/Tekirdağ	6	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
89	Merkez/Tekirdağ	3	Simmental	Sağlıklı	Yok	Var
90	Merkez/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
91	Merkez/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
92	Merkez/Tekirdağ	6	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
93	Merkez/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
94	Merkez/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
95	Merkez/Tekirdağ	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
96	Merkez/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
97	Merkez/Tekirdağ	6	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
98	Merkez/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
99	Merkez/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
100	Merkez/Tekirdağ	6	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
101	Merkez/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Var
102	Merkez/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
103	Merkez/Tekirdağ	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
104	Merkez/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Var
105	Merkez/Tekirdağ	7	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
106	Merkez/Tekirdağ	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
107	Merkez/Tekirdağ	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
108	Babaeski/Kırklareli	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
109	Babaeski/Kırklareli	7	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
110	Babaeski/Kırklareli	6	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
111	Babaeski/Kırklareli	7	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
112	Babaeski/Kırklareli	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
113	Babaeski/Kırklareli	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
114	Babaeski/Kırklareli	7	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var

Tablo 3-1 (devam): Örnek alınan hayvanlara ait kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığı bilgileri

115	Babaeski/Kırklareli	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
116	Babaeski/Kırklareli	7	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
117	Babaeski/Kırklareli	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
118	Babaeski/Kırklareli	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
119	Babaeski/Kırklareli	3	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
120	Babaeski/Kırklareli	4	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
121	Babaeski/Kırklareli	6	Siyah Alaca	Abort	Var	Yok
122	Babaeski/Kırklareli	7	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
123	Babaeski/Kırklareli	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
124	Babaeski/Kırklareli	8	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
125	Babaeski/Kırklareli	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
126	Babaeski/Kırklareli	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
127	Uzunköprü/Edirne	6	Siyah Alaca	Abort	Yok	Var
128	Uzunköprü/Edirne	3	Siyah Alaca	Abort	Yok	Yok
129	Uzunköprü/Edirne	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
130	Uzunköprü/Edirne	6	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
131	Uzunköprü/Edirne	4	Montofon	Sağlıklı	Var	Yok
132	Uzunköprü/Edirne	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
133	Uzunköprü/Edirne	9	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Var
134	Uzunköprü/Edirne	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
135	Uzunköprü/Edirne	3	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
136	Uzunköprü/Edirne	8	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
137	Uzunköprü/Edirne	2	Siyah Alaca	Abort	Var	Var
138	Uzunköprü/Edirne	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
139	Uzunköprü/Edirne	7	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
140	Uzunköprü/Edirne	6	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Var
141	Uzunköprü/Edirne	5	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
142	Uzunköprü/Edirne	7	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
143	Uzunköprü/Edirne	6	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
144	Uzunköprü/Edirne	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
145	Uzunköprü/Edirne	6	Siyah Alaca	İnfertilite	Yok	Yok
146	Uzunköprü/Edirne	7	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
147	Çatalca/İstanbul	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
148	Çatalca/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
149	Çatalca/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
150	Çatalca/İstanbul	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
151	Çatalca/İstanbul	6	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
152	Çatalca/İstanbul	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
153	Çatalca/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var

Tablo 3-1 (devam): Örnek alınan hayvanlara ait kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığı bilgileri

154	Çatalca/İstanbul	6	Siyah Alaca	Metrit	Yok	Yok
155	Çatalca/İstanbul	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
156	Çatalca/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
157	Çatalca/İstanbul	2	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
158	Çatalca/İstanbul	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
159	Çatalca/İstanbul	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
160	Çatalca/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
161	Çatalca/İstanbul	6	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
162	Çatalca/İstanbul	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
163	Çatalca/İstanbul	6	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
164	Çatalca/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
165	Çatalca/İstanbul	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
166	Çatalca/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
167	Başakşehir/İstanbul	5	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Var
168	Başakşehir/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Var
169	Başakşehir/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
170	Başakşehir/İstanbul	2	Siyah Alaca	Metrit	Yok	Var
171	Başakşehir/İstanbul	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
172	Başakşehir/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
173	Başakşehir/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
174	Başakşehir/İstanbul	2	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
175	Başakşehir/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
176	Başakşehir/İstanbul	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
177	Başakşehir/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
178	Başakşehir/İstanbul	2	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Var
179	Başakşehir/İstanbul	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
180	Başakşehir/İstanbul	6	Jersey	İnfertil	Yok	Var
181	Başakşehir/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Var
182	Başakşehir/İstanbul	6	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Var
183	Başakşehir/İstanbul	7	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
184	Başakşehir/İstanbul	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
185	Başakşehir/İstanbul	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
186	Başakşehir/İstanbul	6	Siyah Alaca	Abort	Var	Yok
187	Başakşehir/İstanbul	5	Siyah Alaca	Abort	Var	Yok
188	Başakşehir/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
189	Başakşehir/İstanbul	6	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
190	Başakşehir/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
191	Başakşehir/İstanbul	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
192	Başakşehir/İstanbul	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var

Tablo 3-1 (devam): Örnek alınan hayvanlara ait kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığı bilgileri

193	Başakşehir/İstanbul	7	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
194	Başakşehir/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
195	Başakşehir/İstanbul	6	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
196	Başakşehir/İstanbul	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
197	Başakşehir/İstanbul	5	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
198	Başakşehir/İstanbul	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
199	Başakşehir/İstanbul	8	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
200	Başakşehir/İstanbul	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var

3.1.2. ELISA

3.1.2.1. ELISA Kiti

Süt sığırlarından kan serumlarının *Coxiella burnetii*'ye karşı oluşan antikorların saptanmasında Q-fever Antibody Test Kit (CHEKIT Q-fever) (product no: BGAF-B-101) kullanıldı.

ELISA kitinin içeriği:

- Q- fever inaktif antijen ile kaplı mikroplakalar
- Anti-ruminant IgG horseradish peroksidaz monoklonal konjugat
- Q-fever pozitif kontrol serumu
- Q-fever negatif kontrol serumu
- 10x konsantre yıkama çözeltisi
- TMB substrat çözeltisi
- Stop çözeltisi TMB

3.1.2.2. ELISA Okuyucusu

ELISA sonuçları Organon Teknika Microwell System Reader 230 optik okuyucu ile 450 nm dalga boyunda değerlendirildi.

3.1.2.3. Diğer Gereçler

- Etüv (NÜVE)
- Mikroplaka yıkayıcısı (IDEXX)
- Mikrosantrifüj (Hettich)
- Vorteks mikser (Biosan)
- Sekiz kanallı pipet (300 µl, Biohit).
- Pipetler (0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl otomatik pipetler, Ependorf)
- 1,5 ml ve 2 ml kapaklı mikrosantrifüj tüpleri (Axygen)
- 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl pipet ucu (Axygen)

3.1.3. Real- time PCR

Kan ve süt örneklerinden *Coxiella burnetii*'ye spesifik DNA bölgelerinin amplifikasyonu için kullanıldı.

3.1.3.1. Ekstraksiyon kiti

Real-time PCR'da hedef olarak kullanmak üzere kan ve süt örneklerinde bulunan DNA'nın ekstrakte edilmesi ve saflaştırılması amacıyla High Pure PCR template preparation kiti (ROCHE, Cat. No. 11 796 828 001) kullanıldı.

Ekstraksiyon kitinin içeriği:

- Doku lizis tampon çözeltisi
- Bağlanma tampon çözeltisi
- İnhibitör uzaklaştırıcı tampon çözeltisi
- Yıkama tampon çözeltisi
- Elüsyon tampon çözeltisi
- Proteinaz K
- Filtreli tüpler (spin kolon)
- Toplama tüpleri

Proteinaz K sulandırılması:

Proteinaz K, 4,5 ml steril bidistile edilmiş su ile çözündürüldü

3.1.3.2. Amplifikasyon

Amplifikasyon amacıyla, LightCycler FastStart Master SYBR Green I kiti (kat no. 03003230001) kullanıldı.

Kitin içeriği:

- LightCycler FastStart Enzim
- LightCycler FastStart Reaksiyon karışımı SYBR Green I (10X)
(içeriği: FastStart Taq DNA polymeraz, reaksiyon tamponu, dNTP karışımı, SYBR Green I boyası ve 10 mM MgCl₂)
- MgCl₂ (25 mM)
- Saf su (PCR için)

Primerler:

Örneklerin amplifikasyonu amacıyla IS1111 geninden (erişim kodu: M80806), derive edilmiş spesifik primer çifti kullanıldı (Fournier ve Raoult 2003).

F: 5'-GTAAAGTGATCTACACGA-3' (87,8 nMoles) (IDT ref no: 61623750)

R: 5'-TTAACAGCGCTTGAACGT-3' (89,1 nMoles) (IDT ref no: 61623751)

Primer Hazırlanması:

Üretici firmanın belirttiği doğrultuda Forward primer 891 µl ve Reverse primer 878 µl distile su ile sulandırılarak 20 pmol/µl konsantrasyonda stok solüsyonları hazırlandı. Stok primerler kullanılıncaya kadar -20° C'de saklandı. Kullanılmadan önce %20 oranında distile su ile sulandırıldı.

Thermocycler:

LightCycler 2.0 (Roche) Real-time PCR cihazı kullanıldı.

3.1.3.3. Diğer gereçler

- Pozitif kontrol (Dr. Mustapha BERRI, INRA-Fransa'dan temin edilen *C. burnetii* Nine Mile suşunun DNA ekstraktı kullanıldı)
- Negatif kontrol (DNase, RNase, pirojen içermeyen distile su kullanıldı.)
- Sınıf II kabinet (Heal Force)
- NanoDrop 1000 Spektrofotometre (ThermoScientific)
- Vorteks mikser (Biosan)
- Isıtıcı blok (Biosan TDB-100)
- Soğutmalı mikrosantrifüj (Denville 260D)
- USB disk
- Ethanol (%96) (Merck KGa, Almanya)
- İsoopropanol (Merck KGa, Almanya)
- LightCycler kapillar tüpleri (20µl) (ROCHE, Almanya)
- 1,5 ml ve 2 ml kapaklı mikrosantrifüj tüpleri (DNase, RNase, pirojen free) (Axygen)
- 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl filtreli pipet ucu (Axygen)
- 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl otomatik pipetler (Ependorf, Almanya)
- NanoPure su (ThermoScientific)
- Pudrasız eldiven
- Kurutma kağıdı

3.1.3.4. Tam kan sayımı

Hayvanların kuyruk venasından antikoagulanlı tüplere alınan venöz kan kullanılarak, İ.Ü. Veteriner Fakültesi Merkez Laboratuvarı'n da otomatik kan sayımı cihazı ile (Midray), tam kan sayımı tayini [total eritrosit sayısı (RBC), hematokrit oranı (HCT), hemoglobin miktarı (HGB), trombosit sayısı (PLT), total lökosit sayısı (WBC)] belirlendi.

Tam kan sayımı kitinin içeriği:

- V-28 D sulandırıcı (Midray)
- V-28 R yıkayıcı (Midray)
- V-28 CFL Lize edici (Midray)

3.2. Yöntem

3.2.1. ELISA

Üretici firma tarafından kitte belirtilen yönleme göre yapıldı. Serum örnekleri ve kit bileşenleri oda ısısına getirildi. Kontroller ve serum örnekleri 1:400 oranında yıkama solusyonu ile dilue edildi. Her dilue edilen örnek ve kontrolden 100 µl mikrolakadaki uygun kuyucuklara konuldu. Mikrolaka hafifçe çalkalandı. 60 dakika 37° C’de inkube edildi.

Her kuyucuk 300 µl yıkama solusyonu ile 3 kere yıkandı. Her yıkamadan sonra tüm kuyuların sıvı içeriğini aspire edildi. Son aspirasyon ardından, emici malzeme üzerinde mikrolaka üzerinde kalan yıkama sıvısı hafifçe vurularak akıtıldı. 100 µl Q fever Anti Ruminant IgG-PO konjugat her kuyucuğa ilave edildi. Mikrolakanın üzeri kapatılarak 60 dakika 37° C’de inkube edildi. Her kuyucuk 300µl yıkama solusyonu ile 3 kere yıkandı. 100 µl TMB substrat solusyonu her kuyucuğa konuldu. Oda sıcaklığında (18-25° C) 15 dakika inkube edildi Renk reaksiyonunu durdurmak için 100 µl Stop solusyonu TMB her kuyucuğa ilave edildi. Mikrolakalar optik okuyucusunda 450 nm dalga boyu kullanılarak değerlendirildi.

Testin Validasyonu:

Her testte, pozitif kontrolün optik dansitesi (OD) değeri ile negatif kontrolün OD değeri belirlenerek test valide edildi. Pozitif kontrol OD değeri 2,0 ve negatif kontrolün OD değeri de 0,5 sınırını geçmediği saptandı. Pozitif ve negatif kontrol değerleri arasındaki farkın $\geq 0,3$ olarak belirlendi.

Pozitif ve negatif sonuçların değerlendirilmesi:

$$\frac{\text{Test örneklerinin OD değeri ort.} - \text{Negatif kontrol OD değerleri ort.}}{\text{Pozitif kontrol OD değeri} - \text{Negatif kontrol OD değeri}} \times 100$$

Sonuçlar, %30'dan küçük olan değerler negatif, %30'a eşit ve büyük olan ile %40'dan küçük olan değerler şüpheli, %40'a eşit ve büyük olan değerler ise pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.2. Real- time PCR

3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu

Kan örnekleri

DNA ekstraksiyonu, üretici tarafından kan örnekleri için tavsiye edilen yönteme göre aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

200 µl kan, 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu. 200 µl bağlanma tampon çözeltisi ve 40 µl proteinaz K ilave edildi ve vortekslendi. 70° C'de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda 100 µl isopropanol eklendi ve karıştırıldı. Karışım 2 ml'lik toplama tüpünün içindeki spin kolon içine aktarıldı, 8.000x g'de 1 dakika santrifüje edildi. Spin kolon tüpü içinden çıkarılarak yeni 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirildi, 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon çözeltisi ilave edildi, 8.000x g'de 1 dakika süreyle santrifüje edildi. Spin kolon tekrar 2 ml'lik toplama tüpüne konuldu, 500 µl yıkama tampon çözeltisi ilave edildi, 8.000x g'de 1 dakika süreyle santrifüje edildi. Bu işlem iki kere tekrar edildi. Filtre membranı kurutulması için 10.000x g'de 10 saniye santrifüje edildi. Spin kolon 2 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve filtreli tüpün üzerine önceden ısıtılmış (70° C) 200 µl elusyon tampon çözeltisi ilave edildi. Oda ısısında 8.000x g'de 1 dakika santrifüje edildi. Alttaki sıvı real-time PCR'da hedef DNA olarak kullanılabilecek kadar -20°C'de saklandı.

Süt örnekleri:

DNA ekstraksiyonu, üretici tarafından süt/memeli dokusu örnekleri için tavsiye edilen yönteme göre aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

1 ml süt mikrosantrifüj tüpüne alınıp en yüksek seviyede santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Altta kalan tortunun üzerine 200 µl doku lizis tampon çözeltisi ve 40

μ l proteinaz K ilave edilerek vortekslendi. 55° C’de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, tüplere 200 μ l bağlanma tampon çözeltisi eklenerek 70° C’de 10 dakika inkübe edildi. Sürenin sonunda karışıma 100 μ l isopropanol eklendi ve karıştırıldı. Karışım 2 ml’lik toplama tüpünün içindeki spin kolon tüpü içine aktarıldı, 1 dakika 8.000x g’de santrifüje edildi. Spin kolon tüpü içinden çıkarılarak yeni 2 ml’lik koleksiyon tüpüne yerleştirildi, 500 μ l inhibitör uzaklaştırıcı tampon çözeltisi ilave edildi, 8.000x g’de 1 dakika süreyle santrifüje edildi. Spin kolon tekrar 2 ml’lik koleksiyon tüpüne konuldu, 500 μ l Yıkama tampon çözeltisi ilave edildi, 8.000x g’de 1 dakika süreyle santrifüje edildi. Bu işlem iki kere tekrar edildi. Filtre membranı kurutmak için 10.000x g’de 10 saniye santrifüje edildi. Spin kolon 2 ml’lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve Filtre tüpün üzerine 200 μ l önceden ısıtılmış (70° C) elusyon tampon çözeltisi ilave edildi. Oda ısısında 8.000x g’de 1 dakika santrifüje edildi. Altaki sıvı real-time PCR’da hedef DNA olarak kullanılabilecek kadar -20° C’de saklandı.

Ekstraktların DNA miktarının ölçümü:

Ekstrakte edilen örneklerin %10’u (40 adet) tesadüfi olarak seçilerek NanoDrop 1000 Spektrofotometre (ThermoScientific) ile sahip oldukları nükleik asit saflığı (A260/280), DNA/RNA oranları (A260/230) ve ng cinsinde DNA miktarları ölçüldü. Rastlantısal olarak seçilen kan ve süt ekstraktlarının ölçüm değerleri Tablo 3-2’de gösterilmiştir.

Tablo 3-2: Örneklere ait DNA ekstraktlarının ölçümleri

Süt ekstartkı no	A260/280	A230/260	DNA miktarı (ng/ μ l)	Kan ekstartkı no	A260/280	A230/260	DNA miktarı (ng/ μ l)
5	1,61	1,9	1,27	7	1,75	1,8	4,13
12	2,04	2,2	4,89	16	1,89	1,6	5,67
24	1,82	1,8	17,71	28	1,76	2	9,54
33	1,92	2,1	37,86	37	1,92	1,5	12,7
44	2,12	2	2,06	42	1,56	2,1	2,65
52	1,49	1,7	3,54	59	1,86	1,7	16,1
65	1,87	2	18,53	66	1,89	1,9	14,9
77	1,75	1,8	7,8	72	1,95	1,7	2,64

Tablo 3-2 (devam): Örneklere ait DNA ekstraktlarının ölçümleri

84	1,68	1,7	2,65	81	1,88	1,9	6,45
99	1,95	2,3	42,12	97	1,79	1,7	4,93
108	1,68	2,2	10,1	105	1,86	2,2	14,6
111	1,89	1,6	20,5	113	1,93	1,6	21
123	1,49	2	5,73	128	1,82	2	45,2
134	1,79	2,2	8,65	138	1,83	1,9	27,8
143	1,68	1,8	6,84	146	1,95	1,7	14,8
157	1,85	2	26,41	153	2	1,9	34,5
163	1,94	1,9	5,62	166	1,79	1,7	16,4
175	1,87	2,2	23,65	174	1,83	2	15,7
182	1,68	1,9	4,68	186	1,76	2	1,81
193	1,76	1,5	9,68	197	1,95	1,7	38
200	1,84	1,7	6,73	200	1,8	2	11,8

3.2.2.2. DNA amplifikasyonu

Real-time PCR Karışımı Hazırlanması:

Her bir örnek için 12 µl distile su, 1 µl reverse primer, 1 µl forward primer, 2 µl MgCl₂ (3 mmol), 2 µl LightCycler® FastStart DNA Master SYBR Green I (10x konsantre), mikrosantrifüj tüpüne konuldu. Hazırlanan PCR karışımı homojen hale getirilmesi için vortekslenerek kısa süreli santrifüje edildi. PCR karışımı, her bir örnek için lightcycler kapiller tüplere 18 µl olacak şekilde aktarıldı ve 2 µl inceleme örneklerinden elde edilen ekstrakte DNA'ları eklendi.

Termal döngü, Schneeberger ve ark. (2010) çalışmasındaki değerler kullanılarak 95° C'de 10 dakika 1 siklus ön denatürasyonun ardından toplam 40 sikluluk 95° C 20 saniye denatürasyon, 60° C 10 saniye bağlanma ve 72° C 1 saniye sentez ile tamamlandı. En son erime eğrisi (melting curve) saptanması amacıyla 65° C 15 saniye 1 siklus tamamlandı. Hayvanların kan ve sütlerinden elde edilen genomik DNA ürünlerinden, IS1111 primerleri kullanılarak, 260 bp uzunluğundaki bölge amplifiye edildi ve SYBR Green hidrolizine bağlı floresan artışı görülen inceleme örnekleri *Coxiella burnetii* yönünden pozitif olarak saptandı. Elde edilen grafiklerdeki cycle threshold (C_T) değerlerine göre değerlendirmeler yapıldı.

3.2.3. Tam kan sayımı

Hayvanların kuyruk venasından antikoagulanlı tüplere alınan venöz kandan İ.Ü. Veteriner Fakültesi Merkez Laboratuvarında tam kan sayımı tayini yapıldı. Kan sayımı parametreleri sığırlar için spesifik değerlendirme bölümünde Merck Veterinary Manual'deki referans aralıkları baz alınarak değerlendirildi (The Merck Veterinary Manual 2012).

3.2.4. İstatiksel analiz

İstatistiki inceleme için kaynak, yaş, ırk, reproduktif problemi, mastit varlığı, kene varlığı durumları temel alınarak ELISA sonuçları incelendi. Bulguların istatistiki önemlerinin belirlenmesi amacıyla sonuçlar Statistical Package for the Social Science (SPSS) versiyon 13.0 paket programı (IBM, SPSS Inc, Chicago, IL) kullanılarak "Khi-kare (χ^2) testi" ile değerlendirildi. Ayrıca iki ayrı grup olan tam kan değerleri ile ELISA aynı niteliğe ait ölçümlerinin ortalamaları "Bağımsız örneklem T-testi" ile saptandı (Özdamar 1999).

4. BULGULAR

4.1. ELISA bulguları

Çalışmada toplam 200 hayvana ait kan serumlarının, 20 (%10)'si ELISA ile pozitif saptanırken, reproduktif problemi olan ineklerden alınan 100 serum örneğinin 11 (%11)'i ve reproduktif problemi olmayan hayvanlardan alınan 100 serum örneğinin 9 (%9)'u seropozitif bulundu. ELISA ile saptanan 20 pozitif serum örneklerinin kaynak, ırk, yaş, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığına göre dağılımı Tablo 4-1'de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: ELISA ile pozitiflik saptanan serum örneklerinin kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit ve kene varlığına göre dağılımı

Pozitif Serum No	Kaynak	Yaş	İrk	Reproduktif Durumu	Mastit	Kene Varlığı
13	Çatalca/İstanbul	3	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
17	Çatalca/İstanbul	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
36	Saray/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
73	Saray/Tekirdağ	6	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
78	Saray/Tekirdağ	2	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Var
85	Merkez/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
93	Merkez/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
96	Merkez/Tekirdağ	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Yok
123	Babaeski/Kırklareli	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok
125	Babaeski/Kırklareli	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
127	Uzunköprü/Edirne	6	Siyah Alaca	Abort	Yok	Var
128	Uzunköprü/Edirne	3	Siyah Alaca	Abort	Yok	Yok
135	Uzunköprü/Edirne	3	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
137	Uzunköprü/Edirne	2	Siyah Alaca	Abort	Var	Var
141	Uzunköprü/Edirne	6	Siyah Alaca	İnfertil	Var	Yok
157	Çatalca/İstanbul	2	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
162	Çatalca/İstanbul	5	Siyah Alaca	İnfertil	Yok	Yok
180	Başakşehir/İstanbul	6	Jersey	İnfertil	Yok	Var
185	Başakşehir/İstanbul	4	Siyah Alaca	Sağlıklı	Yok	Var
186	Başakşehir/İstanbul	6	Siyah Alaca	Abort	Var	Yok

Toplam 12 adet abort yapmış ineğin 4 (%33)'ü seropozitif olarak belirlendi. Abort görülen hayvanlardaki seropozitiflik oranı diğer gruplara göre daha yüksek olarak

saptanmış olup, fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Reprodüktif duruma göre sığırların seropozitiflik oranlarına ait bilgiler Tablo 4-2’de bildirilmiştir.

Tablo 4-2: Reprodüktif durumuna göre sığırların seropozitiflik oranları

Reprodüktif Durumu	İncelenen Örnek Sayısı	Pozitif Sayısı	Pozitiflik Oranı (%)	Khi-Kare
Sağlıklı	100	9	9,0 ^b	8,314*
İnfertil	81	7	8,6 ^b	
Abort	12	4	33,3 ^a	
Metrit	7	0	0 ^{ab}	
TOPLAM	200	20	50,9	

*: $p < 0,05$

a, b: Farklı harf ile ifade edilen oranlar arası farklılık önemlidir.

Seropozitif sığırların yaşlarına göre incelendiğinde aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. ELISA ile pozitif olduğu saptanan süt sığırlarının yaşlara göre dağılımı Tablo 4-3’de sınıflandırılmıştır.

Tablo 4-3: Yaş duruma göre sığırların seropozitiflik oranları

Yaş	İncelenen Örnek Sayısı	Pozitiflik Oranı (%)	Khi- Kare
1-3	61	11,5	1,364 ^{ÖD}
3-5	84	7,1	
5+	55	12,7	
TOPLAM	200	31,3	

ÖD: $p > 0,05$ istatistiki olarak önemli değildir.

ELISA sonuçlarına göre, İstanbul’da %8,4, Tekirdağ’da %8,6, Kırklareli’nde %10,5, Edirne’de %17,9 oranında pozitiflik saptandı. En yüksek pozitiflik oranı Edirne ilinde yetiştirilen hayvanlarda görülmekle birlikte, illere göre fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu. ELISA pozitif olan serumların alındıkları kaynaklara göre dağılımı Tablo 4-4’de gösterilmiştir.

Tablo 4-4: Kaynak duruma göre sığırların seropozitiflik oranları

Kaynak	İncelenen Örnek Sayısı	Pozitiflik Oranı (%)	Khi-Kare
İstanbul	83	8,4	2,311 ^{ÖD}
Tekirdağ	70	8,6	
Kırklareli	19	10,5	
Edirne	28	17,9	
TOPLAM	200	45,4	

ÖD: $p > 0,05$ istatistiki olarak önemli değildir.

Seropozitif sığırların mastit varlığına göre incelendiğinde aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. ELISA ile pozitif olduğu saptanan süt sığırlarının mastit varlığına göre dağılımı Tablo 4-5’de sınıflandırılmıştır.

Tablo 4-5: Mastit varlığına göre sığırların seropozitiflik oranları

Mastit Varlığı	İncelenen Örnek Sayısı	Pozitiflik Oranı (%)	Khi-Kare
Pozitif	77	10,8	0,021 ^{ÖD}
Negatif	123	9,8	
TOPLAM	200	20,6	

ÖD: $p > 0,05$ istatistiki olarak önemli değildir.

Seropozitif sığırların kene varlığına göre incelendiğinde aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. ELISA ile pozitif olduğu saptanan süt sığırlarının kene varlığına göre dağılımı Tablo 4-6’de sınıflandırılmıştır.

Tablo 4-6: Kene varlığına göre sığırların seropozitiflik oranları

Kene Varlığı	İncelenen Örnek Sayısı	Pozitiflik Oranı (%)	Khi-Kare
Pozitif	81	11,1	0,187 ^{ÖD}
Negatif	119	9,2	
TOPLAM	200	20,3	

ÖD: $p > 0,05$ istatistiki olarak önemli değildir.

4.2. Real-time PCR bulguları

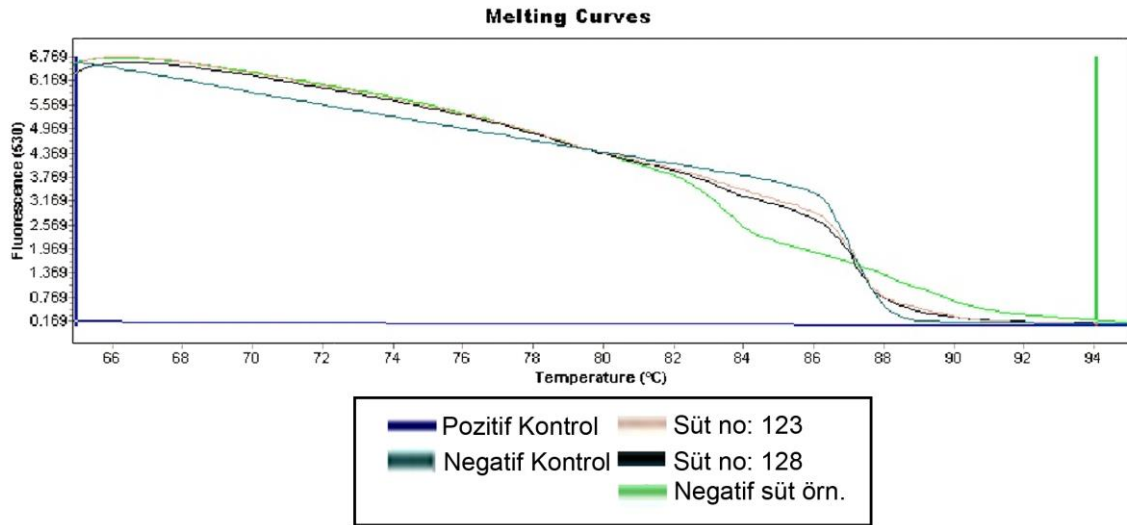
İncelenen 200 süt örneğinin 2 (%1)’sinde *Coxiella burnetii* DNA’sı saptanırken, kan örneklerinde spesifik DNA saptanmadı. Reprodüktif problemi olan ineklerden alınan 100 süt örneğinin 1 (%1)’i ve reprodüktif problemi olmayan ineklerden alınan 100 süt örneğinin 1 (%1)’i PCR pozitif saptandı. Reprodüktif problemi olan abort yapan toplam 12 hayvana ait süt örneklerinin 1 (%8,3)’i PCR pozitif olarak belirlendi. Süt örnekleri PCR pozitif saptanan hayvanların kan serumlarında da *C.burnetii* spesifik antikor saptanmıştır.

Real-time PCR ile pozitiflik saptanan süt örneklerinin kaynak, yaş, ırk, reprodüktif problemleri, mastit, kene varlığı göre dağılımı ve C_T değerleri Tablo 4-7’de belirtilmiştir.

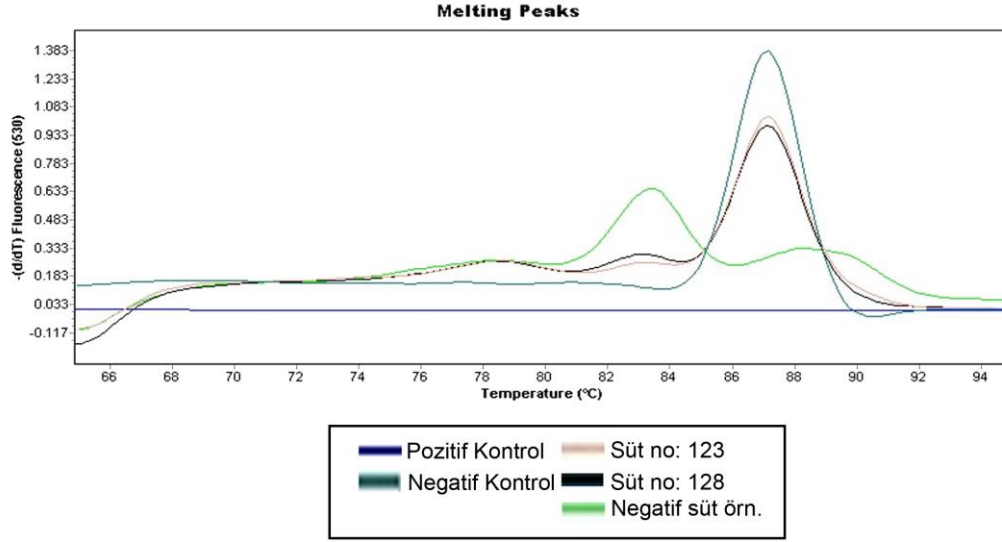
Tablo 4-7: Real-time PCR ile pozitiflik saptanan süt örneklerinin kaynak, yaş, ırk, reproduktif durumları, mastit varlığı, kene varlığı ve C_T değeri göre dağılımı

Serum No	Kaynak	Yaş	İrk	Reproduktif Durumu	Mastit	Kene Varlığı	C _T Değeri
123	Babaeski/ Kırklareli	6	Siyah Alaca	Sağlıklı	Var	Yok	31,37
128	Uzunköprü/ Edirne	3	Siyah Alaca	Abort	Yok	Yok	34,60

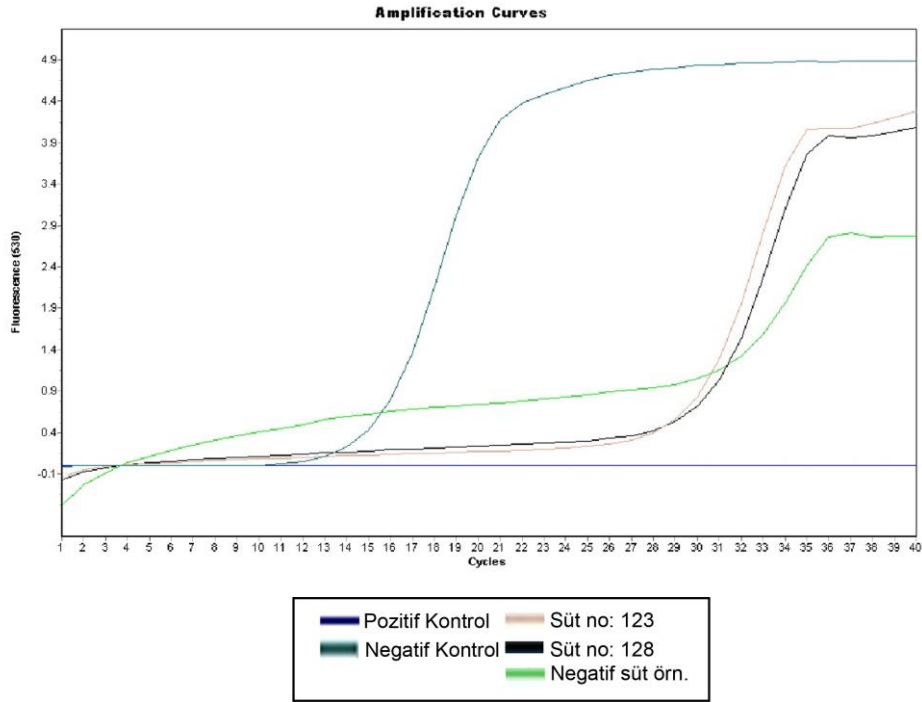
Real-time PCR ile pozitiflik saptanan süt örnekleri ile pozitif ve negatif kontrollerine ait real-time PCR erime eğrisi (melting curve) sonuçları Şekil 4-1'de, süt örnekleri ile pozitif ve negatif kontrollerine ait real-time PCR erime yüksekliği (melting peaks) sonuçları Şekil 4-2'de verilmiştir. Süt örnekleri ile pozitif ve negatif kontrollerine ait real-time PCR amplifikasyon eğrisi sonuçları Şekil 4-3'de verilmiştir.



Şekil 4-1: Süt örneklerin Real-time PCR erime eğrisi sonuçları



Şekil 4-2: Süt örneklerin Real-time PCR erime yüksekliği sonuçları



Şekil 4-3: Süt örneklerin Real-time PCR amplifikasyon eğrisi sonuçları

ELISA ile seropozitif bulunan 20 hayvanın, kanlarından yapılan real-time PCR incelemesinde negatif bulunurken, bu hayvanların sütlerinden yapılan PCR analizi sonucunda sadece 2 hayvanda spesifik DNA saptandı. ELISA ile saptanan 20 seropozitif hayvana ait kan ve süt örneklerin real-time PCR sonuçlarına göre dağılımı Tablo 4-8’de gösterilmiştir.

Tablo 4-8: ELISA ile saptanan 20 seropozitif hayvana ait kan ve süt örneklerin real-time PCR sonuçları dağılımı

Pozitif Serum No	ELISA	Kan PCR	Süt PCR
13	Pozitif	Negatif	Negatif
17	Pozitif	Negatif	Negatif
36	Pozitif	Negatif	Negatif
73	Pozitif	Negatif	Negatif
78	Pozitif	Negatif	Negatif
85	Pozitif	Negatif	Negatif
93	Pozitif	Negatif	Negatif
96	Pozitif	Negatif	Negatif
123	Pozitif	Negatif	Pozitif
125	Pozitif	Negatif	Negatif
127	Pozitif	Negatif	Negatif
128	Pozitif	Negatif	Pozitif
135	Pozitif	Negatif	Negatif
137	Pozitif	Negatif	Negatif
141	Pozitif	Negatif	Negatif
157	Pozitif	Negatif	Negatif
162	Pozitif	Negatif	Negatif
180	Pozitif	Negatif	Negatif
185	Pozitif	Negatif	Negatif
186	Pozitif	Negatif	Negatif

4.3. Tam kan sayımı bulguları

ELISA seropozitif olan sığırların kaynak, yaş, ırk ve tam kan sayımı değerleri Tablo 4-9'da gösterilmiştir.

Tablo 4-9: ELISA seropozitif olan sığırların kaynak, yaş, ırk ve tam kan sayımı değerleri

Pozitif Serum No	Kaynak	İrk	Yaş	RBC	HCT	HGB	PLT	WBC
13	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	3	6,35	30,22	8,6	474	6,77
17	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	4	6,25	27	8,2	150	10
36	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	2	7,24	26,6	9,5	354	35,7
73	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	6	5,99	24,7	8,9	185	36,2
78	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	2	6,74	28,9	10,4	212	36,1
85	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	6,74	25,7	8,7	257	34,1
93	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	6,57	31,4	10,7	121	34,2
96	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	5,82	22,4	8	181	35,9
123	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	6	5,82	23,5	8,6	200	13,4
125	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	6	5,39	23,2	9,1	249	9,5
127	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	6	7,6	28,4	10,5	274	17
128	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	3	6,22	25	9,4	457	10,1
135	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	3	7,16	26,5	9,4	125	46,7
137	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	2	9,02	30,5	10,8	634	12,2
141	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	6	5,74	23,3	8,9	449	13,8
157	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	2	5,76	24,5	9,1	243	9,8
162	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	5	6,48	25,7	9,8	402	13,8
180	Başakşehir/İstanbul	Jersey	6	6,74	34,4	11,2	108	6,3
185	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	4	4,82	20,3	6,6	425	8,1
186	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	6	5,42	23,6	8	478	6,8

ELISA seronegatif olan sığırların kaynak, yaş , ırk ve tam kan sayımı değerleri Tablo 4-10' da gösterilmiştir.

Tablo 4-10: ELISA seronegatif olan sığırların kaynak, yaş, ırk ve tam kan sayımı değerleri

Serum No	Kaynak	İrk	Yaş	RBC	HCT	HGB	PLT	WBC
1	Avcılar/İstanbul	Siyah Alaca	6	5,46	23,8	8,3	414	8,4
2	Avcılar/İstanbul	Siyah Alaca	4	6,18	27,9	9,7	300	19,6
3	Avcılar/İstanbul	Esmer	3	4,76	20,1	7,3	296	9,5
4	Avcılar/İstanbul	Siyah Alaca	5	6,84	30,4	10,4	136	22,5
5	Avcılar/İstanbul	Siyah Alaca	5	6,31	28,3	10,1	271	17,2

Tablo 4-10 (devam): ELISA seronegatif olan sığırların kaynak, yaş, ırk ve tam kan sayımı değerleri

6	Avcılar/İstanbul	Siyah Alaca	3	6,79	27,9	9,7	382	21,1
7	Avcılar/İstanbul	Esmer	4	5,4	25,5	8,8	316	19,7
8	Avcılar/İstanbul	Esmer	2	5,45	26,4	9	322	11
9	Avcılar/İstanbul	Esmer	2	5,81	31,6	10,8	216	13,7
10	Avcılar/İstanbul	Esmer	5	6,21	28,6	9,9	303	18,3
11	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	4	7,64	33,9	9,7	293	5,9
12	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	3	6,96	26	7,5	98	10,5
14	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	2	7,21	29	8,6	333	6,64
15	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	3	6,4	27,5	8,3	353	7,81
16	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	3	1,19	4,94	1,2	92	3,51
18	İpsala/Edirne	Siyah Alaca	6	7,46	26,6	9,8	241	10,1
19	İpsala/Edirne	Siyah Alaca	5	6,23	23	9	150	12,4
20	İpsala/Edirne	Siyah Alaca	4	6,29	21,7	7,9	312	11,4
21	İpsala/Edirne	Siyah Alaca	7	6,73	26,5	9,3	317	20
22	İpsala/Edirne	Siyah Alaca	5	9,01	30,4	10,9	372	13
23	İpsala/Edirne	Siyah Alaca	6	5,94	26,3	8,5	289	38,4
24	İpsala/Edirne	Siyah Alaca	8	5,89	26,2	8,7	112	22,9
25	İpsala/Edirne	Siyah Alaca	5	5,7	25,3	9,2	328	13,2
26	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	5,54	25,3	8,6	353	34,3
27	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	5,7	26	8,8	296	33,8
28	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	2	6,44	28,1	9,4	143	33,6
29	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	5,79	26,4	8,8	371	33,3
30	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	6,13	20,8	7,3	246	35,3
31	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	2	6,36	26,9	9,2	385	34,2
32	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	5,76	24,7	8,7	301	35,5
33	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	4,68	25	8,6	305	38
34	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	6,83	28,3	9,5	326	33,8
35	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	6	5,47	28,7	9,5	276	33,3
37	Çorlu/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	6,45	25,4	9	403	35,4
38	Çorlu/Tekirdağ	Siyah Alaca	2	5,13	18,1	6,6	317	36,8
39	Çorlu/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	5,7	19,2	7,1	294	36,8
40	Çorlu/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	6,04	23,2	8,3	278	35,8
41	Çorlu/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	4,9	20,1	7,6	214	37,8
42	Çorlu/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	7,2	26,8	9,4	289	35
43	Çorlu/Tekirdağ	Siyah Alaca	9	5,45	22,8	8,1	352	35,6
44	Çorlu/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	6,23	24	8,6	245	36
45	Çorlu/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	6,81	27,2	9,5	281	35
46	Çorlu/Tekirdağ	Siyah Alaca	2	5,28	22,8	8,1	255	35,8
47	Beykoz/İstanbul	Siyah Alaca	5	7,3	34,7	9,4	132	27,3
48	Beykoz/İstanbul	Siyah Alaca	4	7,3	31,6	8,3	189	26,2
49	Beykoz/İstanbul	Esmer	5	6,32	27,5	9,8	56	35,7

Tablo 4-10 (devam): ELISA seronegatif olan sığırların kaynak,yaş , ırk ve tam kan sayımı değerleri

50	Beykoz/İstanbul	Siyah Alaca	4	6,5	28	10	125	26
51	Beykoz/İstanbul	Siyah Alaca	6	6,05	22,3	8,3	258	37,4
52	Beykoz/İstanbul	Siyah Alaca	5	6	22,3	8	253	36
53	Beykoz/İstanbul	Siyah Alaca	7	6,01	20,7	7,9	156	38,5
54	Beykoz/İstanbul	Esmer	5	5,26	22,4	8,4	207	37,7
55	Beykoz/İstanbul	Siyah Alaca	5	5,42	23,4	8,4	45	36
56	Beykoz/İstanbul	Siyah Alaca	4	5,03	20	7,4	150	35
57	Beykoz/İstanbul	Siyah Alaca	5	5,84	22,3	8,6	334	38,5
58	Beykoz/İstanbul	Siyah Alaca	2	5,88	24,7	6,7	729	27
59	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	7,15	26,4	9,9	273	37,6
60	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	6,46	27,5	9,6	76	35
61	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	2	7,42	30,9	10,7	274	34,6
62	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	6,05	28	10,1	352	36,1
63	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	6,69	28	9,7	547	34,9
64	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	2	6,87	26,1	9,9	316	38
65	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	6,32	22,7	8,3	473	36,7
66	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	7,08	27	9,6	216	35,4
67	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	7,05	23,7	8,9	483	37,4
68	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	5,86	24,9	9,3	62	37,2
69	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	7,18	29,4	10,1	149	34,6
70	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	6,74	25,3	9,3	154	37
71	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	2	6,37	22,8	8,3	301	36,6
72	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	6	6,5	25,5	9,3	294	36,5
74	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	5,14	24,3	9,7	236	39,8
75	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	5,81	22	8,1	192	37
76	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	5,66	22,4	9,1	357	40,9
77	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	6,87	29,8	10,5	295	35,4
79	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	7,13	29	10,3	116	35,7
80	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	6,47	25,4	9,1	125	35,8
81	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	7,54	26	9,5	383	36,5
82	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	6,12	28,3	10,2	150	36,2
83	Saray/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	7,62	28,7	10,1	271	35,1
84	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	6,6	23,9	8,4	166	35,2
86	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	6,57	27,7	9,6	114	34,6
87	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	8	4,97	21,5	7,6	244	35,6
88	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	6	6,32	23	8,1	325	35,4
89	Merkez/Tekirdağ	Simmental	3	5,5	25	8	350	35
90	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	5,71	23,3	8,4	363	36,4
91	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	5,45	23,7	8,2	289	34,4
92	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	6	6,34	30,1	10,4	296	34,7
94	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	6,11	25,4	8,9	219	35,1

Tablo 4-10 (devam): ELISA seronegatif olan sığırların kaynak, yaş, ırk ve tam kan sayımı değerleri

95	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	6	6,17	22,9	8,2	365	36
97	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	6	6,32	22,5	7,8	385	35
98	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	5,83	23,5	8,5	254	36,1
99	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	4,7	22	8	250	35
100	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	6	5,52	24,6	8,5	304	11,1
101	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	7,79	30	10,3	393	12,8
102	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	7,56	29	9,8	356	15,9
103	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	3	6,99	27,4	10,2	457	18,3
104	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	4	5,24	25	8,7	246	15
105	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	7	6,72	24,2	8,3	392	19,5
106	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	5	6,99	26,4	9,2	399	10,9
107	Merkez/Tekirdağ	Siyah Alaca	6	7,41	26,9	9,2	341	20,8
108	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	3	5,14	26,1	9,3	544	12,1
109	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	7	5,53	20,4	7,8	282	11,9
110	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	6	6,13	21,3	8,1	352	8,7
111	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	7	6,79	24,5	8,9	248	11
112	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	5	5,8	26,3	9,7	311	7,9
113	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	6	6,26	25	9,1	269	20,1
114	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	7	7,4	30,8	10,9	183	19,6
115	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	6	6,72	31,8	11,3	276	13
116	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	7	6,53	26,9	9,6	398	17,9
117	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	4	6,97	28,9	10,4	267	13,8
118	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	5	5,33	23,7	8,7	311	12,1
119	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	3	6,51	25,6	9,3	314	15,1
120	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	4	4,89	19,9	7,4	281	16,2
121	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	6	5,89	22,3	8,3	298	13,9
122	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	7	5,4	20,9	7,8	289	10,1
124	Babaeski/Kırklareli	Siyah Alaca	8	6,14	26,4	9,9	393	10,6
126	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	4	6,15	24,7	9,4	99	27,3
129	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	5	6,6	25,3	9,6	303	12,3
130	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	6	7	37	8,4	240	17
131	Uzunköprü/Edirne	Montofon	4	7,2	27,8	9,4	354	24
132	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	5	6,76	26,2	9,8	186	12,9
133	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	9	7	26,7	10	404	11
134	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	6	7,65	27,7	10,2	478	16
136	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	8	6,68	26,5	10,1	271	11,7
138	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	6	7,42	27,9	10,1	343	13,2
139	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	7	6,15	24,7	9,5	323	15,1
140	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	6	5,6	23,1	8,8	330	11,9
142	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	7	5,41	21,7	7,2	96	13,5
143	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	6	5,4	20,3	7	300	8

Tablo 4-10 (devam): ELISA seronegatif olan sığırların kaynak, yaş, ırk ve tam kan sayımı değerleri

144	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	4	5,44	18,7	6,9	318	7,1
145	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	6	6,58	23,9	8,4	330	8,1
146	Uzunköprü/Edirne	Siyah Alaca	7	7,36	36,4	11,9	240	22,6
147	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	5	6,8	28,4	9,6	169	20,2
148	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	4	5,33	26,5	8,9	388	14,8
149	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	3	6,31	25,2	9	202	12,7
150	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	2	6,22	27,3	9,4	121	13,9
151	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	6	5,99	25,3	8,9	194	11
152	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	5	6,35	28,1	10,6	437	23,4
153	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	4	6,06	21,4	7,9	404	5,7
154	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	6	6,57	30,7	10,7	414	14,4
155	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	2	6,55	26	9,8	449	13,2
156	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	3	5,85	26	9,6	135	23,2
158	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	4	4,85	19,7	7,7	393	11,8
159	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	5	5,77	28,3	10,9	292	12,8
160	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	3	6,26	24,8	9,3	321	21,4
161	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	6	6,33	24,8	9	347	21,6
163	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	6	5,98	26	9,9	386	14,4
164	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	3	6,92	26,5	8,8	354	9,1
165	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	2	6,13	25,5	9,7	474	14,6
166	Çatalca/İstanbul	Siyah Alaca	4	6,13	24,2	9,2	400	12,9
167	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	5	4,07	16,6	5,3	397	5,5
168	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	4	5,82	23,3	7,6	400	8,7
169	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	3	5,16	23,1	7,3	321	7,3
170	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	2	5,23	23,8	7,8	389	5,7
171	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	2	5,52	27,2	8,5	196	8,7
172	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	3	5,46	26,4	8,4	383	8,7
173	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	4	5,46	25,1	8	349	5,5
174	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	2	5,39	26,6	8,7	437	6,8
175	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	4	6,11	24,5	8	59	6,2
176	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	5	5,41	21,6	7,1	448	8,3
177	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	3	6,92	26,5	8,8	585	10,4
178	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	2	6,11	24	7,8	292	6,3
179	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	6	5,97	26,6	8,7	326	6
181	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	4	5,2	23,8	7,7	52	8
182	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	6	5,84	26,7	8,4	390	7,2
183	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	7	5,44	24,9	8	70	12,1
184	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	5	5,47	27,2	8,7	488	8,3
187	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	5	5,11	20	6,5	466	7,6
188	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	4	4,61	21,4	7,1	495	6,9
189	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	6	4,6	18	5,3	48	6,3

Tablo 4-10 (devam): ELISA seronegatif olan sığırların kaynak, yaş, ırk ve tam kan sayımı değerleri

190	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	3	4,84	22,8	7,3	341	7,3
191	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	2	4,72	23,7	7,8	383	7,3
192	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	5	4,65	22,5	7,1	517	6,9
193	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	7	4,66	21	7,1	452	8,3
194	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	4	6,24	21,7	7,3	457	8,1
195	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	6	4,74	7,1	21,4	355	6,5
196	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	4	5,21	23,6	7,3	178	8,3
197	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	5	5,2	23,1	7,6	410	8,1
198	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	2	10,4	21,7	7,2	585	10,4
199	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	8	5,47	23,4	7,7	493	6,3
200	Başakşehir/İstanbul	Siyah Alaca	4	4,99	23,3	7,7	311	9,6

ELISA seropozitif olan sığırların seronegatif olan sığırlara göre RBC, HCT, HGB ortalama değerlerinin yükseldiği; PLT ve WBC ortalama değerlerinin ise düştüğü ancak bu farklılıkların önemsiz olduğu saptandı. ELISA seropozitifliği ile sığırların tam kan sayımı parametreleri ortalama değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4-11’de gösterilmiştir.

Tablo 4-11: ELISA seropozitifliği ile sığırların tam kan sayımı parametreleri ortalama değerlerinin karşılaştırılması

Tam Kan Parametreleri	ELISA (+)(n=20) ort ± SH	ELISA (-)(n=180) ort ± SH	t-değeri (+)	Önemlilik
RBC	6,39 ± 0,21	6,1 ± 0,7	1,328	öd
HCT	26,29 ± 0,78	24,99 ± 0,32	1,325	öd
HGB	9,2 ± 0,25	8,8 ± 0,12	1,083	öd
PLT	298,9 ± 33,44	300,77 ± 8,87	0,065	öd
WBC	19,82 ± 2,9	21,9 ± 1,2	0,584	öd

Artı-eksi değerler (±) ortalamadaki standard hatayı ifade eder. Ortalamalar arasındaki fark t-test kullanılarak ölçülmüştür.

RBC: total eritrosit sayısı, HCT: hematokrit oranı, HGB: hemoglobin miktarı, PLT: trombosit sayısı, WBC: total lökosit sayısı

ÖD: p> 0,05 istatistiki olarak önemli değildir.

ELISA seropozitif olan reproduktif problemi olan sığırların; reproduktif problemi olmayan sığırlara göre RBC, HCT, HGB ve PLT ortalama değerlerinin yükseldiği; WBC ortalama değerlerinin ise düştüğü ancak bu farklılıklardan sadece HGB değerinin p<0,05 düzeyinde önemli olduğu saptandı. ELISA seropozitif olan sığırların reproduktif durumlarına göre tam kan sayımı parametrelerinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması Tablo 4-12’de gösterilmiştir.

Tablo 4-12: ELISA seropozitif olan sığırların reproduktif durumlarına göre tam kan sayımı parametrelerinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması

Kan parametreleri	Rep(+) (n=9) ort ± SH	Rep (-) (n=11) ort ± SH	t-değeri (+)	Önemlilik
RBC	6,609 ± 0,31	6,13 ± 0,25	1,166	ÖD
HCT	27,091 ± 1,1	25,31 ± 1,07	1,147	ÖD
HGB	9,7 ± 0,29	8,63 ± 0,35	2,332	*
PLT	316 ± 53,45	278 ± 37,88	0,555	ÖD
WBC	18,81 ± 4,125	21,06 ± 4,6	0,365	ÖD

“±” değeri ortalamadaki standart hatayı ifade etmektedir. Ortalama değerler arasındaki farklar t-test kullanılarak ölçülmüştür.

RBC: total eritrosit sayısı, HCT: hematokrit oranı, HGB: hemoglobin miktarı, PLT: trombosit sayısı, WBC: total lökosit sayısı,

ÖD: $p > 0,05$ istatistiki olarak önemli değildir.

*: $p < 0,05$

5. TARTIŞMA

Q humması zorunlu hücre içi Gram-negatif bir bakteri olan *Coxiella burnetii* tarafından oluşturulan ve tüm dünyada görülen infeksiyöz zoonoz bir hastalıktır. Etkenin rezervuarı başta çiftlik hayvanları (sığır, koyun, keçi) olmakla birlikte, diğer evcil hayvanlar (kedi, köpek, tavşan), kuşlar ve kenelerdir. Etken doğal siklusunu kene ve rodentlerde geçirdikten sonra koyun, keçi, sığır, köpek ve kedi gibi evcil hayvanlara bulaşır. İnfeksiyonun kenelere bağlı olmayan siklusunun ise özellikle sığırları kapsayan evcil hayvan popülasyonları içinde geliştiği vurgulanmıştır (Maurin ve Raoult 1999; Madariaga ve ark. 2003). Bakteri infekte hayvanın idrar, dışkı ve sütü ile çevreye yayılır. Hastalığın başlıca bulaşma yolu infekte damlacıkların inhalasyon yoluyla alınması olup, infekte sütün oral alımıyla da bulaştığı bilinmektedir. İnsandan insana bulaşma nadirdir, ancak infekte anneden bebeğe, kemik iliği transplantasyonu ve kan transfüzyonuyla da bulaşma olabilmektedir. Son yıllarda *C.burnetii* infeksiyonlarının, giderek artan oranlarda görülmesi ve salgınlar oluşturması nedeniyle yeniden önem kazandığı bildirilmiştir (Arricau-Bouvery ve Rodolakis 2005; Gilsdorf ve ark. 2008; van der Hoek ve ark. 2012).

C. burnetii infeksiyonları keçi, koyun ve sığırlarda abort ve reproduktif sistemde bozukluklara neden olur (CFSPH 2007). Sığırlarda Q humması belirtileri abort, ölü ya da zayıf yavru doğumu, metrit ve infertilite şeklinde görülür (Lang 1990; Maurin ve Raoult 1999; Clemente ve ark. 2009).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, Q humması infeksiyonun serolojik tanısı amacıyla çeşitli testler kullanılmıştır. En çok kullanılan yöntemlerin IFA, KF ve ELISA olduğu bildirilmiştir (OIE 2010). ELISA, IFA ve KF'ye göre daha duyarlı, uygulanması ve standardizasyonu kolaydır. KF ile karşılaştırıldığında, ELISA'nın komplemente bağlanma yetisine sahip olmayan IgG2 alt sınıf antikorlarını da tespit edebilmesi yüksek sensitivitesinin bir göstergesi olarak bildirilmiştir. Dünya genelinde yapılan serolojik çalışmalar incelendiğinde KF testinin düşük sensitiviteye sahip olmasından dolayı sığır ve koyun çalışmalarında daha az tercih edildiği görülmektedir (Rousset ve ark. 2007; Guatteo ve ark. 2007b; Rousset ve ark. 2009; Guatteo ve ark. 2011). Q humması infeksiyonunu tespit etmek için insanlarda da en çok kullanılan testin ELISA olduğu

bildirilmiştir (Arricau-Bouvery ve Rodolakis 2005; Rousset ve ark. 2007; Guatteo ve ark. 2007a; Rousset ve ark. 2009).

Çok sayıda hayvan ve sürüleri test etmek için ELISA diğer testlere göre avantajlı bir testtir, fakat tüm serolojik testler ile etkeni saçan hayvanları tespit etmede bazı dezavantajların da olduğu düşünülmektedir. Vajinal mukus, dışkı veya sütle *C. burnetii*'yi saçan çoğu hayvan seropozitif olmasına rağmen, bir kısmı etkeni saçmadan da seropozitif olabilir ve diğer taraftan seronegatif olanların bir kısmı da etkeni saçabilirler (Arricau-Bouvery ve ark 2005; Fournier ve ark 2003).

Bu araştırmada, serolojik tarama amacıyla sığırlardan alınan kan serumu örnekleri *C. burnetii* spesifik antikorların saptaması için ELISA ile incelenmiştir. Bu amaçla hem faz I hem de faz II antijenlerine karşı spesifik antikorları saptayabilen CHEKIT Q fever kiti (IDEXX) kullanılmıştır.

Fransa, İngiltere, İtalya, İspanya, Almanya, İsrail ve Kanada gibi birçok ülkede yapılan epidemiyolojik çalışmalarda Q hummasının halk sağlığı açısından önemli olduğunu vurgulamışlardır (Angelakis ve Raoult 2010). Süt tüketimiyle insanlara bulaşması nedeniyle ruminantlarda yapılan koruma ve kontrol çalışmalarıyla insanlarda da infeksiyonun prevalansının azaldığı belirtilmiştir (Szymańska-Czerwińska ve ark. 2014).

İrlanda'da yapılan çalışmada, 290 süt çiftliğinden toplanan tank sütü örneği ve 332 farklı süt ve et çiftliklerinde bulunan hayvanlardan toplamda 1659 kan serumu alınmıştır. İndirek ELISA ile yapılan inceleme sonucu, süt örneklerinde %37,9 kan serumu örneklerinde ise %1,8 oranında pozitiflik saptadıklarını bildirmişlerdir (Ryan ve ark. 2011).

Khalili ve ark. (2012) tarafından İran'da gerçekleştirilen serolojik çalışmada, reproduktif problemleri olan ve olmayan süt sığırları seçilmiştir. Tesadüfi seçilen 161 serumun (87 sağlıklı ve 74 problemlili) ELISA ile araştırılması sonucu reproduktif problemi olanlarda %51,35 ve reproduktif problemi olmayanlarda %10,3 oranında pozitiflik tespit etmişlerdir. Sonuç olarak sığırlarda reproduktif problemleri görülmesinin önemli olduğu bildirmişlerdir ($p < 0,05$).

Pimenta ve arkadaşlarının (2015) Portekiz'deki 90 farklı süt çiftliğinden alınan süt örneklerinde ELISA gerçekleştirdikleri araştırma sonucunda, %61,1 oranında pozitiflik saptandığı rapor edilmiştir.

Ülkemizde hayvanlarda (sığır ve koyunlarda) Q humması'nın varlığı ilk defa 1946–1947 yıllarında sütlerden *C.burnetii*'nin izole edilmesiyle ortaya konulmuştur (Payzın 1949; Golem 1951).

Türkiye'de gerçekleştirilen bir araştırmada, Çukurova bölgesinde yaşayan insan ve hayvanlarda Q humması enfeksiyonunun yaygınlığı mikro komplement fiksasyon testi ile araştırılmıştır. Abort yapmış 92 adet sığıra ait kan serumdan yapılan 1:8 dilusyonda 41 adedi (%44,5), 1:32 dilusyonda 21 adedinde (%22,8) pozitiflik saptanmıştır. Kontrol grubu olarak, sağlıklı sürülerden alınan 318 adet sığır kan serumunda ise 1:8 dilusyonda 37 adedinin (%3,4) pozitif reaksiyon verdiği ortaya çıkarılmıştır (Özyer ve ark. 1990).

Elazığ'a bağlı sekiz farklı ilçeden bulunan rastgele seçilen 48 çiftlikte 416 sığır ve 47 sürüdeki 411 koyundan toplanan kan serumlarında, Q humması varlığını belirlemek için indirekt floresan antikor testi (IFA) tarafından incelenmiştir. Sığırların 17 (%5,8) koyunlarda ise 43 (%10,5) seropozitif olgu tespit edilmiştir (Cetinkaya ve ark. 2000).

Erzurum ve çevresinde sığırlarda ve çiftçilerde Q humması seroprevalansını saptamak için gerçekleştirilen bir araştırmada, toplam 230 sığır ve 92 sağlıklı çiftçiden kan örneği alınarak *C. burnetii* antikor ticari ELISA kiti ile araştırılmıştır. Test edilen 230 sığır kan serumunun 22'sinde (%9,5) ve çiftçilerden alınan 92 kan serumunun 18'sinde (%19,5) *C. burnetii*'ye karşı gelişen antikorlar saptanmıştır. Abort görülen 53 sığırın 12'sinde (%22,6) ve abort görülmeyen 177 sığırın 10'unda (%5,6) *C. burnetii* antikorları tespit edildiği bildirilmiştir (Seyitoğlu ve ark. 2006).

Ceylan ve arkadaşlarının (2009) yaptığı çalışmada, Van, Muş ve Bitlis çevresindeki farklı 16 lokasyondaki sığır ve koyunlarda *C. burnetii* enfeksiyonunun seroprevalansının belirlenmesi için 92 sığır ve 92 koyundan rastgele toplanan serum örnekleri *C. burnetii* faz II antijenine karşı IgG antikorları tespit etmek için ELISA ile incelenmiştir. Seropozitiflik sığır ve koyunlarda sırasıyla %16,3 ve %5,4 oranlarında gözlenmiştir.

Kırıkkale’de 20 çiftlik sahiplerinden ve 32 inek ile 88 koyundan alınan kan serumları IFA ile incelenmiştir. Araştırmacılar, çiftlik sahiplerinde % 90, ineklerde % 53,1 ve koyunlarda %63,6 oranında pozitiflik saptadıklarını rapor etmişlerdir (Dogru ve ark. 2010).

Konya ilinde yapılan ve Q humması seroprevalansı belirlemek amacıyla gerçekleştirilen bir araştırmada, 322 süt sığırından serum örneği ve süt toplanmış, IFA testi ile *Coxiella burnetii* faz II’ye karşı oluşan IgG antikoru aranmıştır. Araştırmacılar %12,4 oranında pozitiflik saptadıklarını bildirmişlerdir. Araştırmada, reproduktif bozukluklar ve kene varlığı arasında istatistiksel olarak bir öneme rastlanmamıştır (Gazyagci ve ark. 2011).

Sığırlarda infeksiyonun seroprevalans oranları gerçekleştirilen pek çok çalışmanın verilerine göre, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde %5,8 ile %53,1 değerleri arasında bildirilmiştir (Özyer ve ark. 1990; Özgür ve ark. 1996; Özgür ve ark. 1997; Cetinkaya ve ark. 2000; Berberoğlu ve ark. 2004; Büke ve ark. 2006; Seyitoğlu ve ark. 2006; Dogru ve ark 2010; Gazyagci ve ark. 2011; Parın ve Kaya 2012, Can ve ark. 2015).

Gerçekleştirilen tez çalışmasında, toplam 200 hayvana ait kan serumlarının, 20 (%10)’si ELISA ile pozitif saptanırken, reproduktif problemi olan ineklerden alınan 100 serum örneğinin 11 (%11)’i ve reproduktif problemi olmayan hayvanlardan alınan 100 serum örneğinin 9 (%9)’u seropozitif bulundu. Benzer çalışmaların bir kısmı ile bulgularımız paralellik göstermesine rağmen bir kısmından ise yüksek ya da düşüktür. Bu farklılıkların, coğrafi koşullar ve iklimsel değişiklikler, test edilen polülasyonlar ve hayvanlarda klinik bulguların varlığı ve farklılığı (abort ve fertilité sorunları olan veya olmayan) (Leloğlu 1977; Kılıç ve Çelebi 2008a; Ceylan ve ark. 2009), kullanılan test tekniği/test antijeni ve buna bağlı spesifite, sentitivite farklılıkları (Lucchese ve ark. 2015), örnekleme sayısı ve farklı cut-off değerleri (Gazyagci ve ark. 2011) örnek alınan bölgelerdeki zooteknik ve sanitasyon farklılıkları, karasal ülke sınırlarına sahip olup olmaması gibi kriterlerin sonucu olarak yorumlanmıştır.

Özyer ve ark. (1990) KF testi ile, Çetinkaya ve ark. (2000) IFAT ve Seyitoğlu ve ark. (2006) ELISA ile yaptıkları araştırmalarda abort yapan hayvanlarda pozitiflik oranlarının abort geçmişi olmayanlara göre istatistiksel olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir.

İran'da gerçekleştirilen bir araştırmada, reproduktif problemi olan (abort, erken ya da ölü doğum, mastit ve retensiyo gibi) hayvanlardaki ELISA pozitifliğinin bu problemlerin bulunmadığı gruba göre oranı yüksek belirlenmiş olup, iki oran arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Ancak, araştırmacılar belirtilen farklı problemlere göre bir değerlendirme yapmamışlardır (Khalili ve ark. 2012).

Gazyagcı ve ark. (2011) yaptıkları araştırmada, pozitif saptadıkları hayvanlarda reproduktif bozukluklara ve kene varlığına rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

C. burnetii etkenlerinin memeli hayvanlarda gebelik sırasında aktive olarak sayısının arttığı ve bu nedenle yüksek oranda aborta neden olduğu bildirilmiştir (Fournier ve ark. 1998).

Bu tez çalışmasında, toplam 12 adet abort yapmış ineğin 4 (%33)'ü seropozitif olarak belirlendi. Abort görülen hayvanlardaki seropozitiflik oranı diğer gruplara göre daha yüksek olarak saptanmış olup, fark birçok literatürle (Fournier ve ark. 1998; Özyer ve ark. 1990; Çetinkaya ve ark. 2000; Seyitoğlu ve ark.2006) uyumlu olarak istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

To ve ark. (1998) Japonya'da yaptığı çalışmada 93 infertil sığır ve 114 metrit ile mastit görülen hayvanlarda yapılan IFA testinde sırasıyla faz I antijenlerine karşı sırasıyla %58 ve %59,7 oranında, faz II antijenlerine karşı ise sırasıyla %58 ve %62,5 pozitiflik saptanmıştır. Bu çalışmada ayrıca bu hayvanlardan alınan serum ve süt örneklerinde PCR testi ile incelenmesi sonucu infertilite görülen sığırların serumlarında %2,2 süt örneklerinde %20,4; metritis ve sığırların serumun %5,3, süt örneklerine %28 oranında pozitiflik saptadıklarını rapor etmişlerdir.

Muskens ve ark. (2011) Hollanda'da gerçekleştirdikleri çalışmada 12 farklı çiftlikten toplanan metritli 45 sığırın uterusundan alınan örneklerden real-time PCR ile yapılan inceleme sonucu sadece 1 tanesinde pozitiflik saptanırken, metritli sığırlarda yapılan ELISA incelemesinde ise %9 oranında pozitiflik saptanmıştır.

Bu tez çalışmasında, 81 infertil hayvanın 7 adedi (%8,6) pozitif saptanmıştır. Bununla birlikte 7 adet metritli hayvandan alınan serum örneklerinin hiç birinde spesifik antikorlar saptanmamıştır. Diğer gruplar ile karşılaştırıldıklarında aradaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Ruminantlarda, yaşla birlikte patojenle temas oranı arttığı ve buna bağlı olarak *C. burnetii* karşı gelişen seropozitifliğin artacağı bildirilmiştir (Capuano ve ark. 2004; Rodolakis 2006; Guatteo ve ark. 2007; Rousset ve ark. 2009). Araştırmamızda da seropozitif sığırların yaşlarına göre oranları, incelendiğinde en yüksek oran (%12,7) 5 ve üstü yaş gurubunda saptanmıştır, ancak oranlardaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli bulunmadığı tespit edilmiştir.

Sıcaklık, nem, hava hareketleri gibi coğrafik ve meteorolojik faktörler bu hastalığın yayılmasında son derece etkili bulunmaktadır. Organizma kuru iklim bölgelerinde yaygındır. Bu nedenle Akdeniz, Afrika ve doğu Avustralya Q humması'nın esas bulunma bölgeleri olarak kabul edilmektedir (Kaplan ve ark. 1955; Yanase ve ark. 1997; Maurin ve Raoult 1999; Tissot- Dupont ve ark. 2004; Parker ve ark.2006; Ohlson ve ark. 2014).

ELISA sonuçlarına göre, İstanbul'da %8,4, Tekirdağ'da %8,6, Kırklareli'nde %10,5, Edirne'de %17,9 oranında pozitiflik saptandı. En yüksek pozitiflik oranları sınır illerimiz olan Edirne ve Kırklareli'nde yetiştirilen hayvanlarda görülmekle birlikte, illere göre fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu. Yapılan yayınlar incelendiğinde her yörede farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Bu durumun nedenlerinden bir tanesinin, muhtemel diğer faktörlerin yanı sıra, iller arasında coğrafik yapıya bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

To ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada *C. burnetii* infeksiyonunun, mastit ile seyreden üreme sorunları olan süt sığırlarında, prevalansının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda mastitli hayvanların %10,8'inde, mastit yönünden sağlıklıların ise %9,8'sinde pozitiflik saptandı. Sığırların mastit varlığına göre pozitiflik oranları karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Tez çalışmasının gerçekleştirildiği bölgede diğer etkenler nedeniyle mastitin yaygın görülmesinin (Kırşan ve ark 1999; İkiz ve ark. 2013) bu sonucu desteklediği düşünülmüştür.

Keneler, *C. burnetii*'nin rezervuarı ve birincil vektörleri olup kırktan fazla kene türünün *C. burnetii* ile infekte olduğu saptanmıştır (Spyridaki ve ark. 2009). Evcil ve yabani memeliler, kuşlar gibi konakçılar için bulaşma kaynaklarından biridir (Spitalska ve Kocianova, 2003).

Payzın (1953), Ağrı, Van merkez ve kazalarından 50 kene örneği toplamış ve bu çalışma kenelerin %4' ünün *C. burnetii* ile infekte olduğunu bildirmişlerdir.

Leloğlu (1977) tarafından yapılan çalışmada ise *Dermacentor spp.* kene süspanyonlarının deney hayvanlarına inokülasyonu ile bir deney hayvanında antikor yanıtı saptanmış ve doku örneklerinde boyama ile etken gözlenmiştir.

Araştırmacılar, güney İsveçre’de test ettikleri 48 keneden 8 tanesinde *C. burnetii* saptadıklarını bildirmişlerdir (Bernasconi ve ark. 2002).

Slovakya’da gerçekleştirilen, kenelerden PCR ile *C. burnetii* saptanmasına yönelik, bir çalışmada toplanan 235 keneden sadece 6 (%2,55)’sında etken tespit edilmiştir (Špitalská ve Kocianova 2003).

Güney Kıbrıs genelinde yapılan bir çalışmada, toplanan kenelerden nested-PCR ile %7,8 oranında pozitiflik saptanırken, sığırdaki ise IFA IgG testi ile %24 oranında pozitiflik saptandığı bildirilmiştir (Psaroulaki ve ark. 2006).

Çetinkaya ve ark. (2000) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, keneyi ortadan kaldırmak için hiçbir önlem alınmayan çiftlik veya barınaklarda bulunan sığır ve koyunlarda, önlem alınan çiftliklere göre, daha yüksek oranlarda seropozitiflik görüldüğü halde fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Gazyagcı ve ark. (2011) yaptıkları araştırmada, pozitif saptadıkları hayvanlarda kene varlığına rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda seropozitif saptanan sığırların, kene varlığına göre pozitiflik oranları incelendiğinde kene saptanan hayvanlardaki pozitiflik oranı (%11,1) kene bulunmayan hayvanlardaki orana (%9,2) kıyasla daha yüksek olmakla birlikte aradaki farkın istatistiksel olarak önemli bulunmadığı saptanmıştır. Bu bulgu, kenelerin bulaşmada önemi bilinmekle birlikte farklı bulaşma yollarının da olasılığı ve keneye bulaşma olduktan sonra hayvanda enfestasyonun ortadan kalkabileceği gerçeğinden kaynaklanmış olabileceğini düşündürmüştür.

Beşeri ve Veteriner Hekimlik alanlarında Q hummasının teşhisinde, özellikle farklı klinik örneklerde *C. burnetii*’yi saptamak için PCR testleri spesifik, duyarlı ve çabuk bir yöntem olması nedeniyle daha çok tercih edilmeye başlanmıştır (Arricau-Bouvery ve ark 2005). Son yıllarda, hücre kültürlerinde ve klinik örneklerde *C. burnetii* DNA’sını saptamak için çeşitli testler geliştirilmiştir. Bu testler arasında konvansiyonel PCR (Fournier ve ark. 2003), nested PCR (Rahimi ve ark. 2010, Parisi ve ark. 2006) ve SYBR Green (Brennan ve ark. 2003) ya da TaqMan (Harris ve ark. 2000) ile real-time PCR testleri bulunmaktadır. Real-time PCR tekniklerin tanı ve araştırma amacıyla *C.*

burnetii'nin DNA'sının saptanması ve kantitasyonu imkanını önemli oranda arttırdığı bildirilmiştir (Kim ve ark. 2005; Samuel ve Hendrix 2009; Sidi-Boumedine ve ark. 2010; Natale ve ark. 2012). Tekrarlı ve transpozon benzeri elementi baz alan primerlerle yapılan PCR testleri (Trans PCR), hayvanların süt, dışkı ve dokularında spesifik DNA sekansının çok az kopyasını bile saptamaktadır (Willems ve ark 1994). Testlerin hedef sekansları com1 veya htpB gibi tek kromozomal genler, plazmidler (QpHI, QpRS) veya *C. burnetii* Nine Mile RSA 493 suşunun genomunda 20 kopyada mevcut olan IS1111 insersiyon elementin transpozaz geninden orijin almışlardır. IS1111 elementin multikopya sayısından dolayı, bununla yapılan PCR testinin daha duyarlı olduğu saptanmıştır (Jones ve ark. 2011). Ayrıca hayvanlardan vajinal mukus, dışkı veya süt ile etkeni saçabilmesinden dolayı portör olan hayvanların belirlenebilmesinden dolayı dolayı en güvenilir, duyarlı ve çabuk yöntemlerden birisi olarak kabul edilmektedir (Fournier ve ark 2003, Gwida, ve ark. 2012).

Bu tez çalışmasında, *C. burnetii* spesifik DNA amplifikasyonu IS1111 insersiyon elementinin primer olarak kullandığı real-time PCR ile (Trans PCR), gerçekleştirilmiştir.

Özellikle antikorların henüz şekillenmediği, infeksiyonun erken safhasında PCR tekniğinin oldukça güçlü ve güvenilir bir teşhis aracı olduğu bildirilmiştir. Schneeberger ve ark. (2010)'nın, yaptığı çalışmada, seronegatif akut Q humması hastalarının %98'inde ve anti-faz II IgM seropozitif hastaların %90'unda *C. burnetii* DNA'sının tespit edilebildiği ortaya konmuştur. Serolojik cevap şekillenmeye başladıktan sonra PCR kademeli olarak negatif sonuç vermektedir (Schneeberger ve ark. 2010). IgM antikorlarının yokluğu ve pozitif PCR sonuçları arasında önemli bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur. Hastalığın ilk 2 haftasında örnekleme yapılan Q humması vakalarında, henüz antikor oluşumu şekillenmediği için serolojiyle sonucun sıklıkla negatif bulunduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, yanlış negatif sonuçların önüne geçmek adına, rutinde PCR ve serolojinin kombine uygulanmasını önermektedirler (Hou ve ark. 2011).

Ancak, PCR ve real-time PCR canlı ve ölü bakteri DNA'sı ayrımını yapamamaktadır. Bununla birlikte, yanlış negatif sonuç alma riskini minimize etmek için, örnekleme yapıldığı gün PCR uygulanmalıdır. Örnekleme ilk gününde PCR ile pozitif çıkan süt ve vajinal svap örneklerinin, deepfreeze'de -20° C'de 3 gün

saklanıp, örnekler tekrar PCR'a alındığında süt örneklerinin sadece 2/3'ünde, vajinal svap örneklerinin 1/2'sinde PCR ile pozitiflik tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Guatteo ve ark. 2007a)

Kırkan ve ark. (2008), transpozon benzeri tekrarlı bölgesine dayanan PCR testi (Trans-PCR) ile sığır kan örneklerinde *Coxiella burnetii* varlığı aramışlardır. İncelenen 138 sığır kan örneklerinin incelenmesi sonucunda 6 (%4,3) pozitif örnek tespit edilmiştir.

Bir başka çalışmada, Erzurum ilindeki sığır abortlarında *Coxiella burnetii* varlığı moleküler olarak belirlenmiştir. Çalışmada 100 adet aborte olmuş sığır fötüslerinden örnekler (karaciğer, dalak) alınarak DNA ekstraktlarından yapılan amplifikasyon ve görüntüleme işlemleri sonucunda 100 aborte fötüs örneğinin 6'sında (%6) *Coxiella burnetii* yönünden pozitiflik bulunmuştur (Küçükkalem ve ark. 2013).

Hayvanlardan insanlara *C. burnetii*'nin saçılması kritik noktalardan biri olup hayvanlardan saçıcı durumda olduğu tespit edilmelidir. Serolojik çalışmalar (KF, ELISA, IFA) ile *Coxiella burnetii*'ye karşı gelişen antikorların tespiti için yapılan rutin çalışmalar ve büyük skalalı epidemiyolojik çalışmalarda kullanılırken canlılığının daha önce hastalığa maruz kaldığı gösterilirken, etkeni hala saçtığını göstermemektedir. Bunun nedeni, teknikleri sensitivite eksikliği (seronegatif olanlarda etken varlığı) zaten bilinmektedir (Arricau-Bouvery ve Rodolakis 2005; Maurin ve Raoult 1999). Şu anda, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) Q humması doğrudan saptanması ve saçıcılığı tanımlanması açısından en analitik hassas ve hızlı araçlardan biridir (Gwida, ve ark. 2012).

Bu tez çalışmasında, ELISA ile seropozitif saptanan 20 hayvanın, kanlarından yapılan real-time PCR incelemesi sonuçları negatif bulunurken, bu hayvanların sütlerinden yapılan PCR analizi sonucunda 2 (%10) hayvanda spesifik DNA saptandı. Sütlerinde *C. burnetii* DNA'sı saptanan hayvanlardan biri abort yapmış olup, diğeri kayıt edilen reproduktif problemlere sahip değildi ancak iki hayvanda da mastit olgusu görülmüştür. Genel olarak, incelenen 200 hayvandan alınan süt örneğinin %1'inde etken DNA'sı saptanmıştır. ELISA pozitif sığırların kanlarından yapılan PCR sonucu spesifik DNA saptanmaması bu hayvanların akut evrede olmadıklarını düşündürmektedir. Kanda spesifik antikorların şekillenmeye başlamasıyla birlikte bakterilerin kandan temizlendiği ve PCR'ın kademeli olarak negatif sonuç verdiği

bildirilmiştir (Schneebereger ve ark. 2010). Seropozitif hayvanların sütlerinde PCR ile %10 oranında saçıcılık tespit edilmesinin en önemli nedeninin bu hayvanların (PCR negatif) saçıcı olmadıkları, ancak serumlarında spesifik antikörlerin henüz saptanabilir sınırlarda bulunmasından kaynaklanabileceği düşündürmüştür. Bir başka deyişle, epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan serolojik testler canlının daha önce hastalığa maruz kaldığı gösterilirken, bakteriyemiye ya da etkeni hala saçtığını göstermemektedir. Bir diğer muhtemel nedenin ise süt örneklerinin çalışılmadan önce dondurularak saklanması olduğu bildirilmiştir (Guatteo ve ark. 2007a, Guatteo ve ark. 2011).

Tam kan sayımı yapılması insanlarda sıklıkla görülmesine karşın hayvanlarda bu çalışmalar çok az değerlendirmeye alınmaktadır. Akut Q humması geçiren insanların %25'inde lökosit sayısı yükseldiği halde, çoğu hastada normal düzeyde beyaz kan hücre sayısı (WBC) bulunmaktadır. Hastalığın ilk zamanlarında hastaların 1/3'ünde trombositopeni gözlenirken, trombositozisde gözlenebilmektedir (Fournier ve ark. 1998, Anderson 2013). Yapılan araştırmalarda hastalıkta sıklıkla rastlanan trompositopeni en tipik bulgulardan biridir. Q humması immun sistemi aktive ettiğinden dolayı otoimmun veya infeksiyöz hastalıkların (HIV, bruselloz vb.) kan tablolarında değişiklikler meydana gelmektedir (Holmes ve ark. 2009).

Çalışmamızda 200 sığırdan sadece 12'sinde (%6) trombositopeni görülürken, bu hayvanlar seronegatif olup 7'sinde infertilite görülmektedir. ELISA seropozitif olan sığırların seronegatif olan sığırlara göre RBC, HCT, HGB ortalama değerlerinin yükseldiği; PLT ve WBC ortalama değerlerinin ise düştüğü ancak bu farklılıkların istatistiki açıdan anlamlı olmadığı saptandı. Ayrıca ELISA seropozitif ve reproduktif sorunları olan sığırların; reproduktif sorunu olmayan sığırlara göre RBC, HCT, HGB ve PLT ortalama değerlerinin yükseldiği; WBC ortalama değerlerinin ise düştüğü ancak bu farklılıklardan sadece HGB değerinin istatistiksel açıdan önemli olduğu saptandı. Veteriner Hekimliğinde Q humması açısından kan parametrelerinin öneminin belirlenmesi için detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada, İstanbul ili ve Trakya yöresinde yetiştirilen, farklı işletmelere ait süt sığırlarında Q hummasının seroprevalansı %10 olarak saptanmış olup reproduktif problemler arasında abort varlığı istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Dolayısıyla, abort olgularında hastalığın mutlaka akla getirilmesinin önemli olduğu kanısına varılmıştır.

Sütle saçıcılık real-time PCR tekniği %1 olarak belirlenmiştir. Bu oran diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında göreceli olarak daha düşük ve mit verici olmakla birlikte sütün diğer duyarlı hayvanlara ve insanlara bulaşmada önemli bir kaynak olduğu unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

- Aitken, I. D. (1989). Clinical aspects and prevention of Q fever in animals. *European journal of epidemiology*, 5(4), 420-424.
- Alsaleh, A., Pellerin, J. L., Rodolakis, A., Larrat, M., Cochonneau, D., Bruyas, J. F., & Fieni, F. (2011). Detection of *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever, in oviducts and uterine flushing media and in genital tract tissues of the non pregnant goat. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 34(4), 355-360. and MLVA typing. *BMC Microbiol.* 6, 38
- Anderson, A. (2013). Diagnosis and Management of Q Fever--United States, 2013: Recommendations from CDC and the Q Fever Working Group. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention.
- Angelakis, E., & Raoult, D. (2010). Q fever. *Veterinary microbiology*, 140(3), 297-309.
- APHIS (2011) Prevalence of *Coxiella burnetii* in Bulk-tank Milk on U.S. Dairy Operations
http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy_07_is_Coxiella.pdf erişim tarihi: 20/07/2013
- Arricau-Bouvery, N., & Rodolakis, A. (2005). Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis?. *Veterinary research*, 36(3), 327-349.
- Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Bodier, C., Dufour, P., Rousset, E., & Rodolakis, A. (2005). Effect of vaccination with phase I and phase II *Coxiella burnetii* vaccines in pregnant goats. *Vaccine*, 23(35), 4392-4402.
- Arricau-Bouvery N, Hauck Y, Bejaoui A., Frangoulidis D, Bodier C, Souriau A, Meyer H, Neubauer H, Rodolakis A, Vergnaud G, (2006). Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates by infrequent restriction site-PCR
- Astobiza, I., Barandika, J. F., Hurtado, A., Juste, R. A., & García-Pérez, A. L. (2010). Kinetics of *Coxiella burnetii* excretion in a commercial dairy sheep flock after treatment with oxytetracycline. *The Veterinary Journal*, 184(2), 172-175.

- Barlow, J., Rauch, B., Welcome, F., Kim, S. G., Dubovi, E., & Schukken, Y. (2008). Association between *Coxiella burnetii* shedding in milk and subclinical mastitis in dairy cattle. *Veterinary research*, 39(3), 1.
- Beare, P. A., Unsworth, N., Andoh, M., Voth, D. E., Omsland, A., Gilk, S. D., & Heinzen, R. A. (2009). Comparative genomics reveal extensive transposon-mediated genomic plasticity and diversity among potential effector proteins within the genus *Coxiella*. *Infection and immunity*, 77(2), 642-656.
- Beaudeau, F., Guatteo, R., & Seegers, H. (2006). Excretion of *Coxiella burnetii* by dairy cows: consequences for disease screening and control. *Épidémiologie et Santé Animale*, 49, 1-4.
- Berberoğlu, U., Gözalan, A., Kiliç, S., Kurtoğlu, D., & Esen, B. (2004). A seroprevalence study of *Coxiella burnetii* in Antalya, Diyarbakir and Samsun provinces. *Mikrobiyoloji bülteni*, 38(4), 385.
- Bernasconi, M. V., Casati, S., Péter, O., & Piffaretti, J. C. (2002). Rhipicephalus ticks infected with *Rickettsia* and *Coxiella* in southern Switzerland (Canton Ticino). *Infection, Genetics and Evolution*, 2(2), 111-120.
- Berri, M., Laroucau, K., & Rodolakis, A. (2000). The detection of *Coxiella burnetii* from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction. *Veterinary microbiology*, 72(3), 285-293.
- Berri, M., Souriau, A., Crosby, M., & Rodolakis, A. (2002). Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of *Coxiella* abortion in a sheep flock. *Veterinary microbiology*, 85(1), 55-60.
- Blain, S. (2007). Contagious diseases of ruminants: management of Q fever in goats. *Summa, Animalia da Reddito*, 2(3), 59-63.
- Brennan, R. E., & Samuel, J. E. (2003). Evaluation of *Coxiella burnetii* antibiotic susceptibilities by real-time PCR assay. *Journal of clinical microbiology*, 41(5), 1869-1874.
- Brouqui P, Marrie T, Raoult D. *Coxiella*, In: Murray P, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds) (2007); *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. ASM Press, Washington,DC.;1062-9.
- Büke, Ç., Atalay, S., Tunçel, M., Arsu, G., Çiçeklioğlu, M., & Türk, M. (2006). İzmir'in Ovacık Beldesi'nde Q Humması Seroprevalansının Kesitsel

Değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 20(3), 155-158.

- Cairns, K., Brewer, M., & Lappin, M. R. (2007). Prevalence of *Coxiella burnetii* DNA in vaginal and uterine samples from healthy cats of north-central Colorado. *Journal of feline medicine and surgery*, 9(3), 196-201.
- Can, H. Y., Elmalı, M., & Karagöz, A. (2015). Detekcija *Coxiella burnetii* u skupnim uzorcima kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka pomoću lančane reakcije polimeraze (PCR). *Mljekarstvo*, 65(1), 26-31.
- Capuano F, Parisi A, Cafiero MA, Pitaro L, Fenizia D, (2004): *Coxiella burnetii*: what is the reality? *Parassitologia* 46, 131–134.
- CDC (2013) Q fever erişim tarihi: 09/02/2014 <http://www.cdc.gov/qfever/>
- Cetinkaya, B., Kalender, H., Ertas, H. B., Muz, A., Arslan, N., Ongor, H., & Gurfay, M. (2000). Seroprevalence of coxiellosis in cattle, sheep and people in the east of Turkey. *Australian Veterinary Journal*, 56, 181-183.
- Ceylan, E., Berktas, M., Keles, I., & Ağaoğlu, Z. (2009). Seroprevalence of Q Fever in Cattle and Sheep in the East of Turkey. *Asian Journal of Animal & Veterinary Advances*, 4(3).
- CFSPH (2007) Qfever Erişim:12.03.2010 http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/q_fever.pdf
- Chiu, C.K., Durrheim D.N. (2007) A review of the efficacy of human Q fever vaccine registered in Australia. *N.S.W. Public Health Bull.* 18, 133-136
- Clemente, L., Barahona, M. J., Andrade, M. F., & Botelho, A. (2009). Diagnosis by PCR of *Coxiella burnetii* in aborted fetuses of domestic ruminants in Portugal. *Veterinary Record*, 164(12), 373-374.
- Courcoul, A., Hogerwerf, L., Klinkenberg, D., Nielen, M., Vergu, E., & Beaudeau, F. (2011). Modelling effectiveness of herd level vaccination against Q fever in dairy cattle. *Vet Res*, 42, 68.
- Cutler, S. J., Paiba, G. A., Howells, J., & Morgan, K. L. (2002). Q fever—a forgotten disease?. *The Lancet infectious diseases*, 2(12), 717-718.
- Dellacasagrande J, Capo C, Raoult D. (1999). IFN-mediated control of *Coxiella burnetii* survival in monocytes: the role of cell apoptosis and TNF. *J Immunol*; 162: 2259–2265

- Dellacasagrande, J., Ghigo, E., Machergui-El, S., Toman, R., Raoult, D., Capo, C., & Mege, J. L. (2000). $\alpha\beta 3$ integrin and bacterial lipopolysaccharide are involved in *Coxiella burnetii*-stimulated production of tumor necrosis factor by human monocytes. *Infection and immunity*, 68(10), 5673-5678.
- Dellacasagrande J, Ghigo E, Raoult D, Capo C, Mege JL. (2002) IFN- γ -induced apoptosis and microbicidal activity in monocytes harboring the intracellular bacterium *Coxiella burnetii* require membrane TNF and homotypic cell adherence. *J Immunol*; 169: 6309–15
- Deutsch, D. L., & Peterson, E. T. (1950). Q Fever: Transmission From One Human Being To Others: Report of Three Cases. *Journal of the American Medical Association*, 143(4), 348-350.
- Dogru, A. K., Yildirim, M., Unal, N., & Gazyagci, S. (2010). The Relationship of *Coxiella burnetii* Seropositivity Between Farm Animals and Their Owners: A Pilot Study. *J. Anim. Vet. Adv*, 9, 1625-1629.
- Dumler, S. J. (2002). Q fever. *Curr Treat Options Infect Dis*, 4, 437-445.
- Dupont, H., Raoult, D., Brouqui, P., Janbon, F., Peyramond, D., Weiller, P. J., ... & Poirier, R. (1992). Epidemiologic features and clinical presentation of acute Q fever in hospitalized patients: 323 French cases. *The American journal of medicine*, 93(4), 427-434.
- ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) (2010). Panel with Representatives from the Netherlands, France, Germany, United Kingdom, United States of America. Risk assessment on Q fever. ECDC Technical Report, 40 pp. doi:10.2900/28860.
- EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW); Scientific Opinion on Q Fever. *EFSA Journal* 2010; 8(5):1595. [114 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1595. Available online: www.efsa.europa.eu
- Eklund, C. M., Parker, R. R., Lackman, D. B., Eklund, C. M., & Lockman, D. B. (1947). A case of Q fever probably contracted by exposure to ticks in nature. *Public Health Reports (1896-1970)*, 1413-1416.
- Fenollar, F., & Raoult, D. (2004). Molecular genetic methods for the diagnosis of fastidious microorganisms. *Apmis*, 112(11-12), 785-807.

- Fishbein, D. B., & Raoult, D. (1992). A cluster of *Coxiella burnetii* infections associated with exposure to vaccinated goats and their unpasteurized dairy products. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 47(1), 35-40.
- Forland F, Jansen A, Gomes HC. (2014) Technical report. Risk assessment on Q fever Stockholm: European Centerfor Disease Prevention and Control erişim tarihi: 11/02/2014
http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1005_TER_Risk_Assessment_Qfever.pdf
- Fournier, P. E., Marrie, T. J., & Raoult, D. (1998). Diagnosis of Q fever. *Journal of clinical microbiology*, 36(7), 1823-1834.
- Fournier, P. E., & Raoult, D. (2003). Comparison of PCR and serology assays for early diagnosis of acute Q fever. *Journal of clinical microbiology*, 41(11), 5094-5098.
- Fries, L. F., Waag, D. M., & Williams, J. C. (1993). Safety and immunogenicity in human volunteers of a chloroform-methanol residue vaccine for Q fever. *Infection and immunity*, 61(4), 1251-1258.
- Gajdosova E., Kovacova E., Toman R., Skultety L., Lukacova M. & Kazar J. (1994). Immunogenicity of *Coxiella burnetii* whole cells and their outer membrane components. *Acta Virol.*, 38, 339–344.
- Garrity, G. M., Bell, J. A., & Lilburn, T. (2005). Family II. Coxiellaceae fam. nov. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer, New York, 237-247.
- Gazyagci, S., Aktas, M. S., Kilic, S., Babur, C., Celebi, B., & Duru, S. Y. (2011). Seroprevalence of Q fever in dairy cattle in the Konya province, Turkey. *Revue De Medecine Veterinaire*, 162(8-9), 387-390.
- Gerth, H. J., Leidig, U., & Riemenschneider, T. (1982). Q-fever epidemic in an institute of human pathology. *Deutsche medizinische Wochenschrift* (1946), 107(37), 1391.
- Ghigo, E., Capo, C., Raoult, D., & Mege, J. L. (2001). Interleukin-10 stimulates *Coxiella burnetii* replication in human monocytes through tumor necrosis factor down-modulation: Role in microbicidal defect of Q fever. *Infection and immunity*, 69(4), 2345-2352.

- Gilsdorf, A., Kroh, C., Grimm, S., Jensen, E., Wagner-Wiening, C., & Alpers, K. (2008). Short Report: Large Q fever outbreak due to sheep farming near residential areas, Germany, 2005. *Epidemiology and Infection*, 136(8), 1084.
- Giménez, D. F. (1964). Staining rickettsiae in yolk-sac cultures. *Biotechnic & Histochemistry*, 39(3), 135-140.
- Golem, S. B. (1951). Türkiye’de Q fever. Epidemiyoloji ve hayvan Q feveri hakkında kısa bilgi. *Türk İji Tec Biyol Derg*, 11, 1.
- Greenslade, E., Beasley, R., Jennings, L., Woodward, A., & Weinstein, P. (2003). Has *Coxiella burnetii* (Q fever) been introduced into New Zealand?. *Emerging infectious diseases*, 9(1), 138.
- Guatteo, R., Beaudeau, F., Ledoux, D., Le Drean, E., & Seegers, H. (2007a). Risk of false-negative results when delaying PCR from sampling for *Coxiella burnetii* detection in dairy cows. *Revue de medecine veterinaire*, 158(12), 641.
- Guatteo, R., Beaudeau, F., Joly, A., & Seegers, H. (2007b). *Coxiella burnetii* shedding by dairy cows. *Veterinary research*, 38(6), 849-860.
- Guatteo, R., Seegers, H., Taurel, A. F., Joly, A., & Beaudeau, F. (2011). Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: A critical review. *Veterinary microbiology*, 149(1), 1-16.
- Gutzu, E., Sudran, C. and Timofte, V. (1969) La lymphadenite mesenterique primitive rickettsienne, Rev. Roum. Înframicrobiol., 6, 159
- Gwida, M., El-Ashker, M., & Khan, I. (2012). Q fever: a re-emerging disease. *J Vet Sci Technol*, 3(120), 2.
- Harman, J. B. (1949). Q Fever In Great Britain Clinical Account Of Eight Cases. *The Lancet*, 254(6588), 1028-1030.
- Harris, R. J., Storm, P. A., Lloyd, A., Arens, M., & Marmion, B. P. (2000). Long-term persistence of *Coxiella burnetii* in the host after primary Q fever. *Epidemiology and Infection*, 124(03), 543-549.
- Hellenbrand, W., Breuer, T., & Petersen, L. (2001). Changing epidemiology of Q fever in Germany, 1947-1999. *Emerging Infectious Diseases*, 7(5), 789
- Holmes Jr, R. O., Hartzell, J. D., Tofferi, J. K., Roebuck, J. D., & Kelly, W. F. (2009). Dual high titer antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in association with systemic Q fever. *JCR: Journal of Clinical Rheumatology*, 15(8), 411-413.

- Honstetter, A., Imbert, G., Ghigo, E., Gouriet, F., Capo, C., Raoult, D., & Mege, J. L. (2003). Dysregulation of cytokines in acute Q fever: role of interleukin-10 and tumor necrosis factor in chronic evolution of Q fever. *Journal of Infectious Diseases*, 187(6), 956-962.
- Hoover, T. A., Culp, D. W., Vodkin, M. H., Williams, J. C., & Thompson, H. A. (2002). Chromosomal DNA deletions explain phenotypic characteristics of two antigenic variants, phase II and RSA 514 (crazy), of the *Coxiella burnetii* nine mile strain. *Infection and immunity*, 70(12), 6726-6733.
- Hou, M. Y., Hung, M. N., Lin, P. S., Wang, Y. C., Lin, C. C., Shu, P. Y., & Lin, L. J. (2011). Use of a single-tube nested real-time PCR assay to facilitate the early diagnosis of acute Q fever. *Japanese journal of infectious diseases*, 64(2), 161-162.
- Howe, G. B., Loveless, B. M., Norwood, D., Craw, P., Waag, D., England, M., & Kulesh, D. A. (2009). Real-time PCR for the early detection and quantification of *Coxiella burnetii* as an alternative to the murine bioassay. *Molecular and cellular probes*, 23(3), 127-131.
- Ikiz, S., Başaran, B., Bingö, E. B., Çetin, Ö., Kaşıkçı, G., Özgür, N. Y., ... & Sabuncu, A. (2013). Presence and antibiotic susceptibility patterns of contagious mastitis agents (*Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*) isolated from milks of dairy cows with subclinical mastitis. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37, 569-574.
- Izzo, A. A., Marmion, B. P., & Worswick, D. A. (1988). Markers of cell-mediated immunity after vaccination with an inactivated, whole-cell Q fever vaccine. *Journal of Infectious Diseases*, 157(4), 781-789.
- Jones, R. M., Hertwig, S., Pitman, J., Vipond, R., Aspán, A., Bölske, G., ... & Sawyer, J. (2011). Interlaboratory comparison of real-time polymerase chain reaction methods to detect *Coxiella burnetii*, the causative agent of Q fever. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(1), 108-111.
- Kalender H. (2001) Elazığ ve komşu illerdeki koyunlarda *Coxiella burnetii* enfeksiyonunun yaygınlığı. *Turk J Vet Anim Sci*; 25: 51-55.
- Kaplan, M. M., & Bertagna, P. (1955). The geographical distribution of Q fever. *Bulletin of the World Health Organization*, 13(5), 829.

- Kersh, G. J., Fitzpatrick, K. A., Self, J. S., Priestley, R. A., Kelly, A. J., Lash, R. R., & Anderson, A. D. (2013). Presence and persistence of *Coxiella burnetii* in the environments of goat farms associated with a Q fever outbreak. *Applied and environmental microbiology*, 79(5), 1697-1703.
- Khalili M., Sakhaee, E., & Babaei, H. (2012). Frequency of anti-*Coxiella burnetii* antibodies in cattle with reproductive disorders. *Comparative Clinical Pathology*, 21(5), 917-919.
- Kırkan Ş, Kaya O, Tekbıyık S, Parın U. (2008) Detection of *Coxiella burnetii* in cattle by using PCR. *Turk J Vet Anim Sci*; 32: 215-220.
- Kırşan İ., Özgür N.Y., Gürbulak K., İKİZ S. ve Şenünver A., “Laktasyondaki ineklerde subklinik mastitislerin ampisillin ve sulbaktam kombinasyonu ile tedavisi”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 29, 105-111 (1999).
- Kilic S, Celebi B. (2008) Genel bilgiler. *Türk Hij Den Biyol Derg.*; 65(Ek3): 1-20
- Kilic, S., Komiya, T., Celebi, B., Aydin, N., Saito, J., Toriniwa, H., & Babuer, C. (2008). Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in Stray Cats in Central Anatolia. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 32(6), 483-486.
- Kim, S. G., Kim, E. H., Lafferty, C. J., & Dubovi, E. (2005). *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. *Emerg Infect Dis*, 11(4), 619-621.
- Kovacova, E., & Kazar, J. (1999). Rickettsial diseases and their serological diagnosis. *Clinical laboratory*, 46(5-6), 239-245.
- Kováčová, E., & Kazar, J. (2002). Q fever—still a query and underestimated infectious disease. *Acta Virol*, 46, 193-210.
- Küçükkalem, Ö. F., Cengiz, S., Kiliç Altun, S., & Yildirim, M. (2013). Erzurum İlinde Sığır Abortlarında *Coxiella burnetii*'nin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8(3).
- Lang, G. H. (1990). Coxiellosis (Q fever) in animals. *Q fever*, 1, 23-48.
- Lederberg, J. (2000). Infectious history. *Science*, 288(5464), 287-293.
- Leloglu, N. (1977) Studies on Q fever in humans, sheep and cattle in Erzurum, Kars and Agri provinces. *Ataturk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8, 113-131

- Leone, M., Honstetter, A., Lepidi, H., Capo, C., Bayard, F., Raoult, D., & Mege, J. L. (2004). Effect of sex on *Coxiella burnetii* infection: protective role of 17 β -estradiol. *Journal of Infectious Diseases*, 189(2), 339-345.
- Levy, P. Y., Carrieri, P., & Raoult, D. (1999). *Coxiella burnetii* pericarditis: report of 15 cases and review. *Clinical infectious diseases*, 29(2), 393-397.
- Lockhart, M. (2010). The detection of *Coxiella burnetii* (Q fever) in clinical and environmental samples (Doctoral dissertation, Murdoch University).
- Lockhart, M. G., Islam, A., Fenwick, S. G., Graves, S. R., & Stenos, J. (2013). Growth Yields of Four *Coxiella burnetii* Isolates in Four Different Cell Culture Lines. *Advances in Microbiology*, 3, 88.
- Lorenz, H., Jäger, C., Willems, H., & Baljer, G. (1998). PCR detection of *Coxiella burnetii* from different clinical specimens, especially bovine milk, on the basis of DNA preparation with a silica matrix. *Applied and environmental microbiology*, 64(11), 4234-4237.
- Lucchese, L., Capello, K., Barberio, A., Zuliani, F., Stegeman, A., Ceglie, L., ... & Natale, A. (2015). IFAT and ELISA phase I/phase II as tools for the identification of Q fever chronic milk shedders in cattle. *Veterinary microbiology*.
- Madariaga, M. G., Rezai, K., Trenholme, G. M., & Weinstein, R. A. (2003). Q fever: a biological weapon in your backyard. *The Lancet infectious diseases*, 3(11), 709-721.
- Mallavia L.P., Samuel J.P ve Frazier M.E. (1991) The genetics of *Coxiella burnetii* etiologic agent of Q fever and chronic endocarditis s259-284 in J.C. Williams and H. A. thompson (ed.) Q fever: the biology of *Coxiella burnetii* CRC Press, Inc., Boca ratoni Fla.
- Mallavia, L. P. (1991). Genetics of rickettsiae. *European journal of epidemiology*, 7(3), 213-221.
- Marmion B.P., Ormsbee R.A., Kyrkov N.V., Wright J., Worswick D.A., Izzo A.A., Esterman A., Feery B. & Shapiro R.A. (1990). Vaccine prophylaxis of abattoir-associated Q fever: eight years' experience in Australian abattoirs. *Epidemiol. Infect.*, 104, 275-287.

- Marrie, T. J., Langille, D., Papukna, V., & Yates, L. (1989). Truckin'pneumonia—an outbreak of Q fever in a truck repair plant probably due to aerosols from clothing contaminated by contact with newborn kittens. *Epidemiology and infection*, 102(01), 119-127.
- Marrie, T. J., Stein, A., Janigan, D., & Raoult, D. (1996). Route of infection determines the clinical manifestations of acute Q fever. *Journal of Infectious Diseases*, 173(2), 484-487.
- Maurin, M., Benoliel, A. M., Bongrand, P., & Raoult, D. (1992). Phagolysosomes of *Coxiella burnetii*-infected cell lines maintain an acidic pH during persistent infection. *Infection and immunity*, 60(12), 5013-5016.
- Maurin, M., & Raoult, D. F. (1999). Q fever. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 518-553.
- McDade, J. E. (1990). Historical aspects of Q fever. *Q fever*, 1, 5-21.
- McQuiston, J. H., & Childs, J. E. (2002). Q fever in humans and animals in the United States. *Vector borne and zoonotic diseases*, 2(3), 179-191.
- Mertens, K., Samuel, J. E., Raoult, D., & Parola, P. (2007). Bacteriology of coxiella. *Infectious Disease And Therapy Series*, 43, 257.
- Milazzo A, Hall R, Storm PA, Harris RJ, Winslow W, et al. (2001) Sexually transmitted Q fever. *Clin Infect Dis* 33: 399-402.
- Miller, J. D., Shaw, E. I., & Thompson, H. A. (2006). *Coxiella burnetii*, Q Fever, and Bioterrorism. In *Microorganisms and Bioterrorism* (pp. 181-208). Springer US.
- Moos, A. B. B. I. E., & Hackstadt, T. (1987). Comparative virulence of intra- and interstrain lipopolysaccharide variants of *Coxiella burnetii* in the guinea pig model. *Infection and immunity*, 55(5), 1144-1150.
- Morguet, A. J., Jansen, A., Raoult, D., & Schneider, T. (2007). Late relapse of Q fever endocarditis. *Clinical Research in Cardiology*, 96(7), 519-521.
- Muskens, J., Van Maanen, C., & Mars, M. H. (2011). Dairy cows with metritis: *Coxiella burnetii* test results in uterine, blood and bulk milk samples. *Veterinary microbiology*, 147(1), 186-189.
- Natale, A., Bucci, G., Capello, K., Barberio, A., Tavella, A., Nardelli, S., ... & Ceglie, L. (2012). Old and new diagnostic approaches for Q fever diagnosis:

correlation among serological (CFT, ELISA) and molecular analyses. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 35(4), 375-379.

- Nicollet, P., & Valognes, A. (2007). Current review of Q fever diagnosis in animals. *Bulletin De L Academie Veterinaire De France*, 160(4), 289-295.
- Ning, Z., Yu, S. R., Quan, Y. G., & Xue, Z. H. A. N. G. (1992). Molecular characterization of cloned variants of *Coxiella burnetii* isolated in China. *Acta virologica*, 36(2), 173.
- Ohlson, A., Malmsten, J., Frössling, J., Bölske, G., Aspán, A., Dalin, A. M., & Lindberg, A. (2014). Surveys on *Coxiella burnetii* infections in Swedish cattle, sheep, goats and moose. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56(1), 39.
- OIE Terrestrial Manual 2010 Chapter 2.1.12 (2010) Q Fever Erişim:09/02/2014 http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.12_Q-FEVER.pdf
- Öngör, H., Cetinkaya, B., Karahan, M., Acik, M. N., Muz, A., & Bulut, H. (2004). Detection of *Coxiella burnetii* by immunomagnetic separation-PCR in the milk of sheep in Turkey. *Veterinary record*, 154(18), 570-572.
- Özbey, G., Kalender, H., & Muz, A. (2009). Q Humması'nin Epidemiyolojisi Ve Teşhisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 18(2), 100.
- Özdamar K. (1999)SPSS ile Biyostatik (3. Baskı), Kaan Kitabevi Eskişehir; 341-349
- Özgür, N. Y., Hasöksüz, M., Yılmaz, H., İkiz, S., & Ilgaz, A. (1996). Risk grubundaki insanlarda *Coxiella burnetii* antikorlarının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 26, 109-13.
- Özgür, N. Y., Hasöksüz, M., Yılmaz, H., İkiz, S., & Ilgaz, A. (1997). İnfertilite sorunu olan dişi sığırlarda ve insanlarda *Coxiella burnetii* antikorlarının ELISA testi ile belirlenmesi ve sero-prevalansının saptanması. *Pendik Vet Mikrob Derg*, 2, 207-18.
- Özyer, M., Mirioğlu, M., & Köksal, F. (1990). Çukurova Bölgesinde yaşayan insan ve hayvanlarda Q fever enfeksiyonu insidansının komplement fiksasyon testi ile araştırılması. *Pendik Hayv Hast Merk Araşt Enst Derg*, 21, 28-39.

- Panaiotov, S., Ciccozzi, M., Brankova, N., Levterova, V., Mitova-Tiholova, M., Amicosante, M., ... & Kantardjiev, T. (2008). An outbreak of Q fever in Bulgaria. *Annali dell'Istituto superiore di sanit *, 45(1), 83-86.
- Paracıkoğlu, J. (2006). Coxiella infeksiyonları. İçinde N. Aydın, J. Paracıkoğlu (Ed.) Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıkları). Ankara: İlke-Emek Yayınları; 219-221
- Parın, U., Kaya, O. (2012): Detection of Coxiella burnetii shedding in bovine, ovine, and caprine herds. In: X. National Congress of Veterinary Microbiology. September 24-27 Aydın, Turkey
- Parisi, A., Fraccalvieri, R., Cafiero, M., Miccolupo, A., Padalino, I., Montagna, C., & Sottili, R. (2006). Diagnosis of Coxiella burnetii-related abortion in Italian domestic ruminants using single-tube nested PCR. *Veterinary microbiology*, 118(1), 101-106.
- Parker, N. R., Barralet, J. H., & Bell, A. M. (2006). Q fever. *The Lancet*, 367(9511), 679-688.
- Payzın S. (1949) T rkiye'de Q humması epidemiyolojisi *T rk Hyg Tec Biol Derg.* 2: 101-110
- Payzın S. (1953): Epidemiological Investigations on Q fever in Turkey. *Bull World Hlth Org*; 9:553-8.
- Phase, I. (2014). *Coxiella burnetii*–Pathogenic Agent of Q (Query) Fever. *Transfus Med Hemother*, 41, 000-000.
- Philip C.B. (1948). Comments on the name of Q fever organism. *Public Health Rep.* 63,58-59
- Pimenta, L., Alegria, N., Anast cio, S., Sidi-Boumedine, K., da Silva, G., Rabio,  ., & Sim es, J. (2015). Prevalence of Coxiella burnetii antibodies in Portuguese dairy cattle herds. *Tropical animal health and production*, 47(1), 227-230.
- Psaroulaki, A., Hadjichristodoulou, C., Loukaides, F., Soteriades, E., Konstantinidis, A., Papastergiou, P., ... & Tselentis, Y. (2006). Epidemiological study of Q fever in humans, ruminant animals, and ticks in Cyprus using a geographical information system. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25(9), 576-586.

- Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., FitzPatrick, E. S., Fanning, S., & Hartigan, P. (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease*. John Wiley & Sons.
- Raghavan, R. (2008). Mobile genetic elements in *Coxiella burnetii*: Friends, foes or just indifferent?. ProQuest.
- Rahimi, E., Doosti, A., Ameri, M., Kabiri, E., & Sharifian, B. (2010). Detection of *Coxiella burnetii* by nested PCR in bulk milk samples from dairy bovine, ovine, and caprine herds in Iran. *Zoonoses and public health*, 57(7-8), e38-e41.
- Raoult, D. (1990). Host factors in the severity of Q fever. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 590(1), 33-38.
- Raoult, D., Vestris, G., & Enea, M. (1990). Isolation of 16 strains of *Coxiella burnetii* from patients by using a sensitive centrifugation cell culture system and establishment of the strains in HEL cells. *Journal of clinical microbiology*, 28(11), 2482-2484.
- Raoult, D. (1993). Treatment of Q fever. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 37(9), 1733.
- Raoult, D., Mege, J. L., & Marrie, T. (2001). Q fever: queries remaining after decades of research. *Emerging infections*, 29-56.
- Raoult, D., Marrie, T. J., & Mege, J. L. (2005). Natural history and pathophysiology of Q fever. *The Lancet infectious diseases*, 5(4), 219-226.
- Rauch, A. M., Tanner, M., Pacer, R. E., Barrett, M. J., Brokopp, C. D., & Schonberger, L. B. (1987). Sheep-associated outbreak of Q fever, Idaho. *Archives of internal medicine*, 147(2), 341-344.
- Rodolakis A, (2006) Q fever, state of art: epidemiology, diagnosis and prophylaxis. *Small Rumint Res* 62, 121–124.
- Rodolakis, A., Berri, M., Caudron, C., & Souriau, A. y C. Bodier. (2007). Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine and ovine herds. *J. Dairy Sci*, 90, 5352-5360.
- Rodolakis, A. (2009). Q Fever in dairy animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1166(1), 90-93.

- Rousset, E., Durand, B., Berri, M., Dufour, P., Prigent, M., Russo, P., & Aubert, M. (2007). Comparative diagnostic potential of three serological tests for abortive Q fever in goat herds. *Veterinary microbiology*, 124(3), 286-297.
- Rousset, E., Berri, M., Durand, B., Dufour, P., Prigent, M., Delcroix, T., & Rodolakis, A. (2009). Coxiella burnetii shedding routes and antibody response after outbreaks of Q fever-induced abortion in dairy goat herds. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(2), 428-433.
- Ryan, E. D., Kirby, M., Collins, D. M., Sayers, R., Mee, J. F., & Clegg, T. (2011). Prevalence of Coxiella burnetii (Q fever) antibodies in bovine serum and bulk-milk samples. *Epidemiology and infection*, 139(09), 1413-1417.
- Samuel, J. E., & Hendrix, L. R. (2009). Laboratory maintenance of Coxiella burnetii. *Current protocols in microbiology*, 6C-1.
- Schneeberger PM, Hermans MHA, van Hannen EJ, Schellekens JJA, Leenders ACA, Wever PC, (2010). Real-Time PCR with serum samples is dispensable for early diagnosis of acute Q fever. *Clin Vac Immunol.* 2, 286-290.
- Scott, G. H., & Williams, J. C. (1990). Susceptibility of Coxiella burnetii to chemical disinfectants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 590(1), 291-296.
- Serbezov V.S., Kazar J., Novkirishki V., Gatcheva N., Kovacova E. & Voynova V. (1999). Q fever in Bulgaria and Slovakia. *Emerg. Infect. Dis.*, 5, 388–394.
- Seshadri, R., Paulsen, I. T., Eisen, J. A., Read, T. D., Nelson, K. E., Nelson, W. C., & Heidelberg, J. F. (2003). Complete genome sequence of the Q-fever pathogen Coxiella burnetii. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(9), 5455-5460.
- Seyitoğlu, Ş., Özkurt, Z., Dinler, U., & Okumuş, B. (2006). The seroprevalence of coxiellosis in farmers and cattle in Erzurum district in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30.
- Sidi-Boumedine, K., Rousset, E., Henning, K., Ziller, M., Niemczuck, K., Roest, H. I. J., & Thiéry, R. (2010). Development of harmonised schemes for the monitoring and reporting of Q-fever in animals in the European Union. EFSA Scientific report.

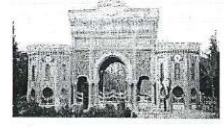
- Špitalská, E., & Kocianova, E. (2003). Detection of *Coxiella burnetii* in ticks collected in Slovakia and Hungary. *European journal of epidemiology*, 18(3), 263-266.
- Spyridaki, I., Psaroulaki, A., Vranakis, I., Tselentis, Y., & Gikas, A. (2009). Bacteriostatic and bactericidal activities of tigecycline against *Coxiella burnetii* and comparison with those of six other antibiotic. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(6), 2690-2692.
- Stoker, M. G. P., & Fiset, P. (1956). Phase variation of the Nine Mile and other strains of *Rickettsia burneti*. *Canadian journal of microbiology*, 2(3), 310-321.
- Szymańska-Czerwińska, M., Niemczuk, K., & Mitura, A. (2014). Prevalence of *Coxiella Burnetii* in Dairy Herds-Diagnostic Methods and Risk to Humans-A Review. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 58(3), 337-340.
- The Merck Veterinary Manual: Hematologic Reference Ranges (2012) http://www.merckvetmanual.com/mvm/appendixes/reference_guides/hematologic_reference_ranges.html erişim: 10/05/2015
- The Merck Veterinary Manual: Q fever (2012) http://www.merckmanuals.com/vet/generalized_conditions/q_fever/overview_of_q_fever.html erişim: 10/02/2014
- Thompson, H. A., & Suhan, M. L. (1996). Genetics of *Coxiella burnetii*. *FEMS microbiology letters*, 145(2), 139-146.
- To, H., Htwe, K. K., Kako, N., Kim, H. J., Yamaguchi, T., Fukushi, H., & Hirai, K. (1998). Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in dairy cattle with reproductive disorders. *Journal of veterinary medical science*, 60(7), 859-861.
- van der Hoek, W., Morroy, G., Renders, N. H., Wever, P. C., Hermans, M. H., Leenders, A. C., & Schneeberger, P. M. (2012). Epidemic Q fever in humans in the Netherlands. In *Coxiella burnetii: Recent Advances and New Perspectives in Research of the Q Fever Bacterium* (pp. 329-364). Springer Netherlands.
- Vranakis, I., Kokkini, S., Chochlakis, D., Sandalakis, V., Pasparaki, E., Minadakis, G., & Psaroulaki, A. (2012). Serological survey of Q fever in Crete, southern Greece. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 35(2), 123-127.

- Waag, D. M. (2007a). *Coxiella burnetii*: Host and bacterial responses to infection. *Vaccine*, 25(42), 7288-7295.
- Waag, D. M. (2007b). Q FEVER. *Medical Aspects of Biological Warfare*, 199-213.
- Walker, D. H., Dumler, J. S., & Marrie, T. (2012). Rickettsial Diseases.(Part 8, Section 10, Chapter 174) In: Longo DL, Fauci AS Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. *Harrison's Principle of Internal Medicine*.
- Westra, S. A., LOPES, C. E., & Ten Berg, J. (1958). The first cases of Q-fever in the Netherlands. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde*, 102(2), 69.
- Willems, H., Thiele, D., Frölich-Ritter, R., & Krauss, H. (1994). Detection of *Coxiella burnetii* in cow's milk using the polymerase chain reaction (PCR). *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 41(1-10), 580-587.
- Williams, J. C. (1991). Infectivity, virulence, and pathogenicity of *Coxiella burnetii* for various hosts. *Q fever: the biology of Coxiella burnetii*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc, 21-72.
- Woldehiwet, Z. (2004). Q fever (coxiellosis): epidemiology and pathogenesis. *Research in veterinary science*, 77(2), 93-100.
- Worswick, D. A., & Marmion, B. P. (1985). Antibody responses in acute and chronic Q fever and in subjects vaccinated against Q fever. *Journal of medical microbiology*, 19(3), 281-296.
- Yanase, T., Muramatsu, Y., Ueno, H., & Morita, C. (1997). Seasonal variations in the presence of antibodies against *Coxiella burnetii* in dairy cattle in Hokkaido, Japan. *Microbiology and immunology*, 41(2), 73-75.
- Yeaman, M. R., Mitscher, L. A., & Baca, O. G. (1987). In vitro susceptibility of *Coxiella burnetii* to antibiotics, including several quinolones. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 31(7), 1079-1084.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 78

27/05/2010

Sn. Doç. Dr. Serkan İkiz
İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Karar No: 78
Başvuru Tarihi: 06/05/2010

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Vet. Hek. Zehra Seda MAVİLİ'ye ait "Dişi Sığırlarda Q Hummasının Moleküller (Real time PCR) ve Serolojik (ELİSA) Yöntemlerle Araştırılması" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev A. KAYMAZ
İ. Ü. HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Müjdat UYSAL
Üye

Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN
Üye

Prof. Dr. Nuriye AKEV
Üye

Prof. Dr. Alper YILMAZ
Üye

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Safiye ALTUN
Üye

Mak. Müh. Seyfettin AVCI
Üye

TELİF HAKKI İZİNİ

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü TEZLERİN ÇOĞALTILMASI VE YAYIMI İÇİN İZİN BELGESİ

Tez Yazarının

Soyadı : MAVİLİ

Adı: ZEHRA SEDA

Uyruğu : TC

T.C. Kimlik No: 23165410316

Diğer Belirtiniz.....

Sürekli Adresi: Çalışlar Caddesi Neyzen-Sokak Oya Apt. No: 11 D: 7 Bahçelievler /İstanbul

Telefon No: 05334183941 Faks: E-Posta: sedamavili@gmail.com

Tezin yapıldığı Kurum: İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tez Türü: Doktora Yüksek Lisans

Mezuniyet Tarihi: 02/07/2015

Tezin Başlığı: Dişi Sığırlarda Q Hummasının Moleküler (Real-Time PCR) Ve Serolojik (ELISA) Yöntemlerle Araştırılması

Tez Desteklenmişse Araştırma Projesi No: 8341

Tez yazarı aşağıdaki seçeneklerden birini işaretleyerek imzalamalıdır.

..a)Yukarıda başlığı yazılı olan tezimin, ilgilenenlerin incelemesine sunulmak üzere **İstanbul Üniversitesi ve bağlı alt kurumları** tarafından arşivlenmesi, kağıt, mikroform veya elektronik formatta, İnternet dahil olmak üzere her türlü ortamda tamamen veya kısmen çoğaltılması, ödünç verilmesi dağıtımı ve yayımı için, tezimle ilgili fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere hiçbir ücret (royalty) ve erteleme talep etmeksizin izin verdiğimi beyan ederim.

Tez Yazarı İmza

Tarih

.....

03/07/2015.....

..b)Tezimin İstanbul Üniversitesi ve/veya bağlı alt kurumları tarafından çoğaltılması veya yayımının tarihine kadar ertelenmesini talep ediyorum. Bu tarihten sonra (a) maddesindeki koşulların geçerli olacağını kabul ve beyan ederim. (Ertelene süresi formun imzalandığı tarihten itibaren en fazla 3 (üç) yıldır.) (Tezin kopyalanması endişesi, tezin erişime açılmasının engellenmesi için bir gerekçe olarak kabul edilemez.)

Tez Yazarı İmza

Tarih

.....

.....

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Zehra Seda	Soyadı	Mavili
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	24/02/1984
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	23165410316
Email	sedamavili@gmail.com	Tel	05334183941

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	2015
Yük.Lis.		
Lisans	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi (bütünleşik yüksek lisans)	2007
Lise	Özel Bahçeşehir Lisesi	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜD S Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	66,25	
Almanca	İyi	İyi	İyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	71,28	70	70
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Office	Çok iyi

Tebliğleri

Bilimsel çalışmalar:

Uluslararası bilimsel toplantılarda sözlü sunulan ve özeti yayınlanan bildiri veya konuşma

1. **MAVİLİ Z.S.**, İkiz S., “ Investigation of Q fever in cattle by molecular (Real time PCR) and serological (ELISA) tests in Trakia district of Turkey”, *25th Meeting of the American Society of Rickettsiolog*, Salt Lake City Utah USA, July 27-31, 2012
2. İkiz S., Ak S., Özgür Ny., Bağcıgil A.F, Metiner K., Başaran Kahraman B., Çelik B., **MAVİLİ Z. S.** Gamma interferon assay for diagnosis of bovine tuberculosis. *2nd Turkish-Bosnian Scientific Days within the Framework of the Partnership between the Veterinary Faculties of Sarajevo University and Istanbul University* Istanbul, May 9-11, 2013
3. **MAVİLİ Z.S.**, İkiz S. Q fever in cattle in Trakia district of Turkey. *VETistanbul Grup Kongresi*. İstanbul, Türkiye, 28- 30 Nisan 2014
4. **MAVİLİ Z.S.** İkiz S., Ak S. Discovery of bacterial communication: Quorum sensing. *VETistanbul Grup Kongresi*. St.Petersburg, Rusya 7-9 Nisan 2015

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan tam metni veya özeti yayınlanan poster

1. **MAVİLİ Z.S.**, İkiz S., “İstanbul ve Trakya yöresindeki dişi sığırlarında Q hummasının moleküler (Real-time PCR) ve serolojik (ELISA) yöntemlerle araştırılması”, *X. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi*, Kuşadası, Aydın, Türkiye. 24-27 Eylül 2012.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan tam metni veya özeti yayınlanan poster

1. İkiz S., Ak S., Özgür Ny., Bağcıgil A.F, Metiner K., Başaran Kahraman B., Çelik B., **MAVİLİ Z.S.** Gamma interferon assay for diagnosis of bovine tuberculosis. *8th Joint Scientific Symposium of the Veterinary Faculties of TC İstanbul Üniversitesi and Ludwig-Maximilians Universität München*, Munich, Germany. April 9-12, 2013
2. **MAVİLİ Z.S.** İkiz S., Ak S. Discovery of bacterial communication: Quorum sensing. *3rd Turkish-Bosnian Scientific Days within the Framework of the Partnership between the Veterinary Faculties of Sarajevo University and Istanbul University* 23 Nisan 2015 Saraybosna

Sertifikalar:

Kalite Yönetim Sistemleri:

Laboratuvar

Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği (ISO/IEC 17025:2005) İyi
Üretim Uygulamaları (GMP)

İyi Laboratuvar Uygulamaları (GLP)

Eğitimin Alındığı Kuruluş: TSC Yönetim Sistemleri Eğitim Akademisi 2012-Ekim

Gıda

Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi (ISO 22000- HACCP)

Kırmızı et üretimi ve et ürünleri üretimine yönelik uygulamalı HACCP eğitimi

Kanatlı eti ve et ürünleri üretimi ile ilgili HACCP eğitimi

Eğitimin Alındığı Kuruluş: İVHO- TÜV Rheinland Group-2007-Nisan

Diğer Eğitimler:

Kalite Yönetim Sistemi (ISO 9001:2008)

İş Sağlığı ve Güvenliği Yönetim Sistemi (OHSAS 18001:2007)

Çevre Yönetim Sistemi (ISO 14001:2004)

Eğitimin Alındığı Kuruluş: TSC Yönetim Sistemleri Eğitim Akademisi- 2012-Kasım

Burslar ve Yurtdışı Tecrübeleri:

- The Wellcome Trust (Cambridge Üniversitesi Veteriner Bilimleri Yaz Okulu Cambridge İngiltere) (26/06/06-25/08/06)
- Tübitak- 2224 Yurt Dışı Bilimsel Etkinliklere Katılma Desteği Programı (2012)
- American Society for Rickettsiology Travel Award (2012)
- Tübitak- 2224 Yurt Dışı Bilimsel Etkinliklere Katılma Desteği Programı (2015)