

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KIRSAL BÖLGELERDE RİSK OLUŞTURAN MESLEK  
GRUPLARINDA ÇALIŞAN YETİŞKİNLERDE  
*BARTONELLA HENSELAE* VE *BARTONELLA  
BACILLIFORMIS*'E KARŞI ANTİKOR  
SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. YÜKSEL AKKAYA**

**TEZ DANIŞMANI**

**DOÇ. DR. ÇAĞRI ERGİN**

**DENİZLİ-2011**

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KIRSAL BÖLGELERDE RİSK OLUŞTURAN MESLEK  
GRUPLARINDA ÇALIŞAN YETİŞKİNLERDE  
*BARTONELLA HENSELAE* VE *BARTONELLA  
BACILLIFORMIS*'E KARŞI ANTİKOR  
SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. YÜKSEL AKKAYA**

**TEZ DANIŞMANI**

**DOÇ. DR. ÇAĞRI ERGİN**

**DENİZLİ-2011**

Doç.Dr. Çağrı ERGİN'in danışmanlığında Dr. Yüksel AKKAYA tarafından yapılan "Kırsal Bölgelerde Risk Oluşturan Meslek Gruplarında Çalışan Yetişkinlerde *Bartonella henselae* ve *Bartonella bacilliformis*'e Karşı Antikor Seroprevalansının Araştırılması " başlıklı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BASKAN Prof.Dr. İltınur KALFETİ

ÜYE Doç.Dr.Çağrı ERGİN

ÜYE Yrd.Doç.Dr.Mustafa ŞENGÜL

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Mustafa KILIÇ  
Dekan  
T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANI

Doç.Dr. Çağrı ERGİN'in danışmanlığında Dr. Yüksel AKKAYA tarafından yapılan "Kırsal Bölgelerde Risk Oluşturan Meslek Gruplarında Çalışan Yetişkinlerde *Bartonella henselae* ve *Bartonella bacilliformis*'e Karşı Antikor Seroprevalansının Araştırılması " başlıklı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN Prof.Dr. İltınur KALELİ

ÜYE Doç.Dr.Çağrı ERGİN

ÜYE Yrd.Doç.Dr.Mustafa ŞENGÜL

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Prof. Dr. Mustafa KILIÇ  
Dekan  
T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANI

Asistanlığım süresince bilgi birikimi ve engin tecrübesiyle desteğini esirgemeyen; hayata bakışı, hoşgörüsü, anlayışı, çalışma disiplini ve azmi, strateji yapmadan karşısındakine saygı ve sevgi gösterişi ile her zaman saygı ve minnettarlıkla hatırlayacağım değerli hocam, tez danışmanım Doç.Dr. Çağrı Ergin'e,

Yaptığımız her çalışmada desteğini ve deneyimini bizden esirgemeyen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlknur Kaleli'ye, engin bilgisi ve bu bilgisini bizimle paylaşan desteğini zor anlarımda hep yanımda hissettiğim sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Mustafa Şengül'e, yüreğindeki insan sevgisini her koşulda korumaya çalışan Doç. Dr. Nural Cevahir'e, çalışma azmiyle hatırlayacağım Doç.Dr. Melek Demir'e, hayata bakışı ve pozitifliğiyle bizlere örnek olan Yrd. Doç. Dr. Ergun Mete'ye;

Bu zorlu süreçte desteğini esirgemeyen, dik duruşuyla herkese örnek olan dostum, kardeşim Uzman Dr. Özgün Kiriş Satılmış'a, cancanım ve yılmaz dostum Uzman Dr. Cansev Yılmaz'a, asistan arkadaşım Dr. Orçun Zorbozan'a

Tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Refik Saydam Hıfzısıhha Viroloji Laboratuvarı klinik şefi Doç. Dr. Gülay Korukluoğlu ve laboratuvar çalışanlarına,

Mikrobiyoloji laboratuvarında beraber çalıştığımız Nilgün Arıkan, Yasemin Şanal, Mustafa Uysal, Utku Taşçı, Nergis Keskin, Yasemin Dağ, Kubilay Taylan, Nesrin Buluş, Alev Çelik, Musa Arıkan , Hikmet Dağ, İbrahim Çırnaz'a

Asistanlığımın her aşamasını benimle birlikte yaşayan, hayata ve insanlara dair kendisinden çok şey öğrendiğim ablam Doç. Dr. Muhterem Aydın'a

En değerli varlıklarım hayatımın anlamı kızım ve eşim'e, sevgilerini hayatımın her döneminde hissettiğim anne ve babalarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Yüksel AKKAYA

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>GİRİŞ</b> .....	1
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	2
<b>BARTONELLA TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ</b> .....	2
<b>BULAŞMA</b> .....	5
<b>PATOGENEZ</b> .....	6
<b>KLİNİK TABLOLAR</b> .....	7
Kedi Tırmığı Hastalığı.....	8
Carrión Hastalığı.....	10
Oroya Ateşi.....	11
Verruga Peruana.....	11
Basiller Anjiomatoz.....	12
Peliozis Hepatitis.....	13
Nörolojik Komplikasyonlar.....	13
Oküler Komplikasyonlar.....	14
Endokardit.....	14
Uzamış ateş/nedeni bilinmeyen ateş.....	15
<b>EPİDEMİYOLOJİ</b> .....	16
<b>BARTONELLA TÜRLERİNİN TESPİTİ, İZOLASYONU VE TANIMLANMASI</b> .....	21
Morfoloji ve Boyanma Özellikleri.....	21
Kültür.....	21
Gram Boyama ve Koloni Morfolojisi.....	23
Tanımlama Yöntemleri.....	24
Histopatolojik Tanı.....	25
Biyokimyasal Yöntemler.....	25
Gaz likid Kromatografisi.....	26

<b>Moleküler Yöntemler.....</b>	<b>26</b>
<b>Serolojik Yöntemler.....</b>	<b>27</b>
<b>İmmünfluoresans Yöntemler.....</b>	<b>27</b>
<b>Enzim İmmün Ölçüm Yöntemi.....</b>	<b>28</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>29</b>
<b>BULGULAR.....</b>	<b>37</b>
<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>52</b>
<b>SONUÇLAR.....</b>	<b>73</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>75</b>
<b>YABANCI DİL ÖZETİ.....</b>	<b>77</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>78</b>

## TABLolar ÇİZELGESİ

	Sayfa No
<b>Tablo- 1</b> Araştırmada <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> seropozitifliği.....	37
<b>Tablo -2</b> <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> seropozitiflik dilüsyon oranlarının dağılımı.....	38
<b>Tablo -3</b> Bölgelere göre <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> seropozitifliği...	38
<b>Tablo -4</b> <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> 'in cinsiyete göre seropozitiflikleri.....	39
<b>Tablo- 5</b> <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> 'in mesleklere göre seropozitiflikleri.....	40
<b>Tablo -6</b> <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> 'in yaş gruplarına göre seropozitifliklerinin dağılımı.....	41
<b>Tablo -7</b> Pire teması ile <i>B. henselae</i> , <i>B.bacilliformis</i> seropozitifliklerinin karşılaştırılması.....	42
<b>Tablo- 8</b> Kene teması ile <i>B.henselae</i> , <i>B.bacilliformis</i> seropozitifliklerinin karşılaştırılması.....	42
<b>Tablo- 9</b> Tatarcık maruziyeti ile <i>B. henselae</i> , <i>B.bacilliformis</i> seropozitifliklerinin karşılaştırılması.....	43
<b>Tablo-10</b> Bitlenme ile <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> 'in seropozitiflikleri.....	45
<b>Tablo-11</b> Uyuz geçirme ile <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> 'in seropozitiflikleri.....	45
<b>Tablo-12</b> Evcil hayvanlarla temas ile <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> seropozitiflikleri.....	46



<b>Tablo-13</b>	Son beş yılda yabancı hayvanlarla temas ve yabancı hayvanların ısırması ve tırmalamasının <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> seropozitiflikleri.....	47
<b>Tablo-14</b>	Sulak alan varlığında <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> seropozitiflikleri.....	48
<b>Tablo-15</b>	Geriye dönük hayvancılık varlığında <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> seropozitiflikleri.....	49
<b>Tablo-16</b>	Ev dışında açık alanlarda kalma ve yaralanmada <i>B.hensealae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> seropozitifliği.....	50
<b>Tablo-17</b>	Sulak tarım yapma ile <i>B.henselae</i> ve <i>B.bacilliformis</i> seropozitiflikleri.....	51

## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil-1</b> Denizli Kuzey Kırsalı.....	29
<b>Şekil-2</b> Auromin-fenol ve Gram boyama ile <i>B.henselae</i> 'nin ışık ve fluoresans mikroskop görüntüleri.....	31
<b>Şekil-3</b> Vero hücre kültüründe ko-kültüre edilen <i>Bartonella bacilliformis</i> ATCC 35685 (KC583) kökeni ile hazırlanan lamaların IFAT ile fluoresans mikroskopi (~900x) değerlendirmesi.....	36

## KISALTMALAR

BA	: Basiller Anjiomatozis
Bad A	: <i>Bartonella</i> Adhesin
BHI	: Brain Heart Infusion
BLPs	: Bacteriophage Like Particle
EC	: Endothelial Cell
IaIB:	: <i>B.bacilliformis</i> invasion associated locus B
IFA	: Immunofluorescence Antibody
IFAT	: Immunofluorescence Antibody Technique
EIA	: Enzyme Immunoassay
PCR	: Polymerase Chain Reaction
HSM	: Hepatosplenomegali
LAP	: Lenfadenomegali
KTH	: Kedi Tırmığı Hastalığı
HUVEC	: Human umbilical vein Endothelial Cell
SDS-PAGE	: Sodium Dodecyl Sulfate- Polyacrylamide Gel Electrophoresis
T4SS	: T 4 Secretion System
TLR4	: Toll Like Reseptor 4
POGS	: Parinaud Okuloglandüler Sendrom
EMEM	: Eagle's Medium
FCS	: Fetal Calf Serum
AIDS	: Acquired Immune Ddeficiency Syndrome
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
SPSS	: Statistical Package for the Social Science
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
IL-8	: İnterlökin-8

## GİRİŞ

*Bartonella* türleri gram negatif kokobasil/basil şeklinde vektörlerle geçiş yapan, zoonotik bir bakterilerdir. Günümüzde yirmiikiden fazla türü tanımlanmıştır. *Bartonella* türleri insanlarda ve hayvanlarda yaygın olarak görülmektedir. Klinik tabloları süpüratif granülomatoz ve vasküler proliferatif lezyonlar temelinde meydana gelmektedir. İnsanlarda kedi tırmığı hastalığı, basiller anjiomatoz, nörolojik ve oküler, komplikasyonlar, peliozis hepatit, endokardit, Carrión hastalığı gibi tablolara neden olmaktadır.

Son yıllarda insanlarda ve hayvanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar ile *Bartonella* türleri önem kazanmıştır. Özellikle kedilerin *Bartonella* türleri için rezervuar olmaları, kenelerin ve yeni vektörlerin tanımlanması gibi nedenlerden dolayı, oluşturduğu klinik tablolar giderek artan bir öneme sahiptirler.

Etkenin tanımlandığı 1885 yılından bu yana yapılan araştırmalarda yeni türler ve bu türlerin oluşturduğu yeni klinik tablolar tanımlanmıştır. Human immunodeficiency virus (HIV) ve immünsüpresif hastalarda etken başarıyla izole edilmiştir. Risk gruplarında yapılan epidemiyolojik çalışmalarda oranlar değişkenlik göstermektedir. Dünyanın farklı bölgelerinde yapılan seroprevalans çalışmalarında *B.henselae* %5.5 ile %57.3, *B.bacilliformis* %6.1 ile %63.6 oranında saptanmıştır.

Bu çalışmada Denizli kuzey kırsal bölgesinde yaşayanlar arasında Bartonelloz için risk oluşturan meslek gruplarının belirlenmesi ve *B.henselae* (Houston-1) ile *B.bacilliformis* (KC 583) seroprevalansının saptanması amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

*Bartonella* türleri hayvanlarla temas ile ilişkilendirilen, dünyada oldukça yaygın görülen zoonotik bir patojendir (1). Akut ve kronik enfeksiyonlar, vasküler proliferatif lezyonlar ve süpüratif granülomatoz lezyonlara neden olmaktadır. Basiller anjiomatozis (BA), ateş, bakteriyemi, endokardit, santral sinir sistemi lezyonları ve çoğunlukla immünsüprese hastalarda görülen sistemik enfeksiyonlar gibi klinik tablolar oluşturmaktadır (2, 3).

*Bartonella* genusu küçük, pleomorfik, Gram negatif, zayıf boyanan basil veya kokobasil, oksidaz ve katalaz negatif mikroorganizmalardır.  $\alpha$ -*Protobacteria* şubesinin alt üyesi olan bu bakterilerin günümüzde bilinen 22'den fazla türü vardır (3, 4). *B.henselae*, *B.bacilliformis* ve *B.quintana*'nın insanlar için patojen olduğu uzun süredir bilinmektedir. Ancak son zamanlarda *B.clarridgeiae*, *B.elizabethae*, *B.grahamii* de patojen olarak kabul edilmektedir (3, 5). *B.henselae*'nin kedilerdeki doğal taşıyıcısı kedi pireleridir (*Ctenocephalides felis*). *Bartonella* türlerinin geçişi ile ilgili yapılan çalışmalarda kene, tatarcık, pire ve bitlerin önemli rolü olduğu belirtilmektedir (2, 4, 6). *B.bacilliformis* için bir tatarcık türü (*Lutzomyia verrucorum*), *B.quintana* için vücut biti (*Pediculus humanis corporis*) tanımlanmış olan vektörlerdir.

## BARTONELLA TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ

“Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin 2004'teki basımına göre *Rickettsiales* sınıfı üç aile içermektedir: *Rickettsiaceae*, *Bartonellaceae* ve *Anaplasmataceae* (7). *Rickettsiaceae* genusunda *Rickettsia*, *Coxiella* ve *Rochalimaea* bulunmaktadır (8). *Rickettsia* ve *Coxiella*'ların spesifik konak hücrelerinin dışında kültür edilememelerine rağmen, *Rochalimaea* genusu üyeleri basil şeklinde organizmalardır ve hücreden bağımsız besiyerlerinde üretilmiştir. *Bartonellaceae* ailesinde 1984 yılına kadar sadece bir *Bartonella* türü (*B.bacilliformis*), iki *Grahamella* türü (*G.talpae* ve *G.peromysci*) ve iki *Rochalimaea* türü (*R.quintana* ve *R.vinsonii*)

tanımlanmıştır. *B.elizabethae* 1993 yılında yeni bir tür olarak eklenmiştir (8). Wear 1983 yılında kedi tırmığı hastalığı (KTH) olan bir hastanın deri ve visseral organların lenf nodu biyopsilerinde yaptığı preparatlarda Warthin-Starry gümüş boyası ile boyanan ve kümeler oluşturan mikroorganizmalar görmüş ancak kültürde üretilmeleri zor olmuştur (9). Etken mikroorganizma yıllar içinde hücre kültürlerinde izole edilmiş, moleküler ve genetik yöntemler ile tanımlanmıştır. Bu zor üreyen bakteriler, *R.quintana* ve *R.henselae* türlerini içine alan *Rochalimaea* genusunun üyeleri olarak kabul edilmiştir (10-12). Brenner ve ark.'nın taksonomik çalışmaları, *Rochalimaea* türlerinin *B.bacilliformis* ile çok yakın ilişkisi olduğunu saptamış ve *Bartonella* ile *Rochalimaea* türlerinin birleşmesini desteklemiştir. Sonuç olarak, *Rochalimaea* genusunun tüm üyeleri *B.quintana*, *B.vinsonii*, *B.henselae* ve *B.elizabethae* olarak *Bartonella* genusuna dahil edilmişlerdir (13).

*Grahamella* ve *Bartonella* türleri 1995 yılında benzerliklerinin olması ve 16S rRNA analizleri tanımlanmış ve birleştirilmiştir (3). Birtles ve ark. genetik ve fenotipik ölçütlere dayanarak, Londra'daki "Central Public Health Laboratory"da *Grahamella* genusunun da *Bartonella* genusu ile birleştirilmesini önermişlerdir. Bu birleştirme sonrası rodentlerde beş *Bartonella* türü (*B.talpae*, *B.peromysci*, *B.grahamii*, *B.taylorii*, *B.doshiae*) daha bulunmuştur (14). O'connor ve ark.ları deoksiribonükleik asit (DNA) hibridizasyon teknikleri ve 16S rRNA sekanslaması kullanarak yaptıkları genetik analiz ile *Bartonella*'nın *Bartonellaceae* ailesinde tek genus olduğunu saptamışlardır. Bu aile *Proteobacteria* sınıfının  $\alpha_2$  subgrubundaki "Rhizobiales" takımına aittir (15). *Afipia*, *Brucella* ve *Agrobacterium tumefaciens* ile yakın akrabadır. Bu türlerden *B.bacilliformis* ve *B.quintana* insana özgül iken, *B.henselae*, *B.clarridgeiae* ve *B.koehlerae* kedilerden *B.grahamii*, *B.taylori*, *B.doshiae*, *B.tribocorum* vahşi farelerden, *B.vinsonii subsp. berkhofii* ise köpeklerden izole edilmiştir (16).

Geleneksel kültür ve serolojik yaklaşımlar ile yeni moleküler ve genetik teknikler kullanılarak, birkaç yeni *Bartonella* türü keşfedilmiş ve tanımlanmıştır. Endokarditli bir hastada, 1993 yılında bulunan izolat

*B.elizabethae* olarak adlandırılmıştır (8). Drancourt ve ark. Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) yöntemi ile *B.henselae* izolatlarındaki hücresel proteinlerinin kemotaksonomik değerlendirmeleri ile birlikte 16S rDNA sekanslama analizini yapmışlardır. Sonuç olarak 16S rDNA sekanslaması ile *B.henselae*'yi, *B.henselae* Houston (16S tip I) kökeni ve *B.henselae* Marseilles (16S tip II) kökeni olmak üzere iki geno/serogruba bölen teklifi yapmışlardır (17). Ayrıca Bergmans ve ark. Hollanda'da KTH olan kişilerde Polimerase Chain Reaction (PCR) yöntemini kullanarak *B.henselae* Tip I ve Tip II varyantlarını saptanmışlardır (18). İlerleyen yıllarda kedi popülasyonlarında yapılan çalışmalarla bu iki izolatın farklı coğrafik dağılımlar gösterdiği belirlenmiştir. Marseilles (16S tip II) izolatının Doğu Amerika, Doğu Avrupa ve Avustralya'da; Houston (16S tip I) izolatı ise Asya (Japonya ve Filipinler) de baskın olarak görüldüğü belirlenmiştir (5, 19). San Francisco da bakteriyemisi olan 25 kediden izole edilen *B.henselae* izolatlarının ikisinin farklı olduğu görülmüş ve yeni bir tür olarak tanımlanmış bu tür *B.koehlerae* olarak adlandırılmıştır (20). Fransa'da Heller ve ark. tavşanlardan (*Oryctolagus cuniculus*) *B.alsatica*'yı izole etmişlerdir (21). Kaliforniya'da 1995 ve 1996 yılında yapılan çalışmalarla endokartli yavru köpeklerden *B.vinsonii* subsp. *berkhoffii* izole edilmiştir (22). Roux Fransa'da köpeklerle teması olan genç bir erkek hastadan bu türü izole ederek insanlarda enfeksiyon yapabildiğini kanıtlamıştır (23). Clarridge ve ark. Houston'da KTH olan iki vakadan PCR ve laboratuvarlarında yapılan diğer testlerle karşılaştırırken, her iki vakada *B.henselae* tespit etmiş olmalarına rağmen hastalara ait olan yavru kedilerden birinde farklı bir tür izole etmişlerdir. Daha sonra bu izolata Dr. Jill Clarridge adına ithafen *B.clarridgeiae* adı verilmiştir. Hemen ardından Kordick ve ark. 1997 yılında papül, ateş ve LAP'ı (lenfadenopati) olan KTH olan bir hastadan *B.clarridgeiae*'yi izole etmiştir (24, 25). Bermond ve arkadaşları Fransa'da 2002 yılında ruminantlardan biyokimyasal parametreler ve 16S sekans analizi ile *B.caproeli*'yi izole etmişlerdir (26). Dehio ve ark. Almanya'da vahşi geyiklerde *B.bacilliformis* ve *B.clarridgeiae*'ye benzeyen, flajelli yeni bir *Bartonella* türü izole etmişlerdir. Bu yeni türe *B.schoenbuchii* spp.nov adı

verilmiştir (27). *B.tamiae* 2008 yılında Tayland'da üç hastadan sekans analizi ile izole edilmiştir (28).

## BULAŞMA

*Bartonella* türlerinin vektörlerle bulaşı tam olarak aydınlatılamamıştır. Akarlar, *Phlebotomus sp.*, *Cetanocephalides felis*, vücut bitleri ve keneler bu bulaştan sorumlu tutulmuştur (4,16). KTH etkeni olan *B.henselae*'nin bulaşı tam olarak tanımlanmamış olmasına rağmen kedi piresinin (*C.felis*) dışkılarından deriye inokülasyon, pirenin kedinin dişleri arasında yerleşmesi ve kedinin tırnak aralarında bulunması ile kedi tırmalaması veya ısırması ile bulaşı sorumlu olabileceği bildirilmiştir (4, 16, 29). *B.henselae*'nin doğal taşıyıcısı kedi pireleridir. Keneler de kediler, insanlar, köpekler ve diğer memeli konaklarda bartonella türlerinin taşıyıcıları olarak gösterilmişlerdir (4, 6). *B.henselae* için doğal rezervuar evcil kediler (*Felis domesticus*) dir (30). Vektörlerle bulaşan zoonotik enfeksiyonların ev kedileri ve hayvan barınaklarında bulunan kediler arasındaki oranı *B.henselae* için %14.7 olarak bulunmuştur. İspanya'da kedilerde arthropoda ilişkili hastalıkların taramasında en yüksek oran *B.henselae*'da (%71.4) saptanmıştır (31, 32). Yapılan çalışmalarda köpeklerin *B.vinsonii subsp. berkhofii*, *B.henselae*, *B.clarridgeae*, *B.elizabethae* ile enfekte oldukları bulunmuştur (22, 33). Kaliforniya'da Chang ve ark. *Bartonella* Deoxyribonucleic acid (DNA)'sını baz alarak farklı kene türlerinden yaptıkları PCR çalışmasında 1253 keneden 29'unda farklı kene türlerinden *Bartonella* DNA'sını izole etmişlerdir. *Bartonella* DNA *Ixoides pacificus*, *I.ricinus*, *Dermacentor occidentalis*, *D.variabilis* türü kenelerden izole edilmiştir (34). 2010 yılında Angelakis ve ark'larının dünyada kene popülasyonu verilerini karşılaştırdıkları çalışmada benzer sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmada *Bartonella spp.* için *I.pacificus*, *B.bacilliformis* için *I.ricinus*, *B.henselae* için *I.pacificus* gibi farklı kene türlerinden bartonella DNA'sı izole edilmiştir (6). *B.bacilliformis* ile ilişkili olan hastalıklar dünyanın belli bölgelerinde Güney Amerika'nın And dağları, Peru, Ekvador, Kolombiya gibi alanlarda sınırlıdır. Bu bölgelerde bulunan *Phlebotomus* türü bir tatarcık (*Lutzomyia verrucorum*) vektördür. Vektörle



bulaşan vakalar Güney Amerika'dan bildirilmiştir (34-37). Peru'da Hambuch ve ark. yaptıkları çalışmada, *L.peruensis*'in de etkili olabileceğini ve *B.bacilliformis* için farklı bölgelerde yapılacak çalışmalarla vektör ve hastalık prevalansının daha iyi gösterilebileceğini belirtmişlerdir (38).

## PATOGENEZ

*Bartonella* türlerinin hemotrop oldukları bilinmektedir. *B.bacilliformis* enfeksiyonlarında akut hematokrit düşüşü olurken, *B.quintana* ve *B.henselae*'da ise anemi olmadan kronik intraeritrositik bakteriyemiye neden olmaktadır (39, 40). *B.bacilliformis* ve muhtemelen *B.henselae*, hidrofobik bir faktör olan deformin salgılamak suretiyle eritrositlerin hücre zarında invajinasyon yaparak çukurlar oluşmasına neden olur. *B.bacilliformis* kamçı aracılığıyla gerçekleşen motilitesi ile eritrositlerde parazit olarak davranır. *B.bacilliformis* Invasion Associated Locus (IaIB) geni varlığı ile arthropod gibi davranarak eritrosit işgalini artırır (40-43). *B.henselae*'da bulunan bir adhezin olan *BadA*; endotel hücrelerine  $\beta$  integrinler ve çeşitli hücre dışı matriks proteinleri gibi proteinlere bağlanarak makrofajlar üzerinden fagositozu inhibe eder (44). *B.quintana* ve *B.henselae*'da bir salgı sistemi olan "T4 secretion system" (T4SS) bulunurken *B. bacilliformis*'de yoktur. "Endotelial cell" (EC) iskeletindeki değişiklikler için efektör sistemler olan VirB/VirD4 ile T4SS üzerinden NF- $\kappa$ B aktivasyonu ve apoptozis inhibisyonu gerçekleşir (45, 46). *Bartonella*'nın oluşturduğu anjiogenez mekanizması oluşturduğu tablolarda önem taşımaktadır. *B.bacilliformis* in-vivo ortamda "Human umbilical ven endotelial cell" (HUVEC) içinde anjiogenik çözümler mitojenik bir protein sentezler. Ekstrasellüler ortamda *B.bacilliformis* GroEL HUVEC için mitojeniktir, bu durumun intraselüler apoptozisi tetikleyebileceği düşünülmektedir. *B.henselae* enfeksiyonlarında *BadA* geni ile proanjiogenik moleküller olan "Vascular Endotelial Growth Factor" (VEGF) ve IL-8 sentezi indüklenir. T helper-1 VEGF upregülasyonu ile ekspresyonunu ve IL-8'inde hepatositlerde artışını indükler (41, 47-49). Son yıllarda saflaştırılmış LPS'lerin *B.quintana*'da yapılan fare modelinde immün aracılı artritte TLR4

aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (40, 50).

## **KLİNİK TABLOLAR**

*Bartonella* türleri çok sayıda klinik enfeksiyon tablosu oluşturmaktadır. Sıklıkla görülen Carrion hastalığı, siper ateşi ve KTH'nın yanısıra; tekrarlayan bakteriyemi, endokardit, nedeni bilinmeyen ateş gibi tablolar sosyoekonomik durumu düşük kentsel alanlarda ve mülteci kamplarında yaygın olarak tanımlanmıştır. Ayrıca basiller anjiomatozis, hepatik peliosis, tekrarlayan ve sebebi bilinmeyen ateş, bakteriyemi, optik nörit, retinit gibi oküler tutulumlar, LAP, pulmoner, hepatik, splenik abseler, meningoensefalit, ensefalit gibi santral sinir sistemi hastalıkları, endokardit, miyokardit, perikardit gibi kardiyovasküler komplikasyonlar, osteomyelit, kutanöz vaskülit v.b. gibi pekçok belirtiyeye neden olmaktadır (2, 4, 51).

Enfeksiyonun şiddeti ve ortaya çıkışı kişinin bağışıklık durumuyla yakından ilgilidir. İmmünsüpresif hastalar *B.henselae* ve *B.quintana* ile enfekte olma eğilimindedirler. Hastalar çoğunlukla HIV, kronik alkolizm, immünsüpresyon ve sistemik hastalığı bulunan bireylerden oluşur. Hastalığın süresinin kliniğe, hastanın bağışıklık durumuna ve virülans faktörlerine bağlı olduğu bilinmektedir (2-4). Sağlıklı bireylerde lokalize formlar, immunsüpresif hastalarda ise sistemik ve yaygın enfeksiyonlar görülmektedir. Enfeksiyon tedavi edilmediği takdirde ölümle sonuçlanabilmektedir. Klasik olarak basiller anjiomatozis ve hepatik peliozis HIV'le enfekte hastalarda CD4 T helper hücre sayısının 200 hücre/mm<sup>3</sup> olduğu vakalarda tespit edilmişlerdir (2, 3, 52, 53).

## **Kedi Tırmığı Hastalığı**

Literatürde KTH uzun yıllar bölgesel lenfadenopati ve ateşli bir sendrom olarak bildirilmiştir. Tanı yöntemlerinin geliştirilmesiyle beraber KTH'da etken *B.henselae* olarak tanımlanabilmiştir. KTH klinik sendrom olarak ilk kez 1950 yılında Debre ve arkadaşları tarafından raporlanmıştır. Daha önceki yıllarda

ise Parinaud 1889 yılında oküloglandüler sendrom yaklaşımı içerisinde benzer semptomları tanımlamıştır. Çok sayıda rapor ve KTH çalışmalarına rağmen, etken 1983 yılına kadar saptanamamıştır (54). Wear ve ark. KTH hastalığı ile enfekte bir hastanın lenf nodlarından Warthin-Starry boyama yöntemi ile Gram negatif küçük pleomorfik bir basil tanımlamışlardır (9). Brenner ve ark. başarılı bir şekilde etkeni *Afipia felis* olarak adlandırmışlar ve 1992 yılında, HIV'le enfekte hastalarda ateş, peliosis hepatis, BA'de *Rochalimaea henselae* izole etmiştir. 1990'larda yapılan ilave çalışmalarla KTH etkeni olarak *A.felis*'in rolü *Rochalimaea* lehine yorumlanmaya başlanmıştır (13, 54-57).

Hastalığın geçişi tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen daha çok pire (*C.felis*) ile enfekte tırmaklarla tırmalama, enfekte kedi pireleri feçesinin deriye inokülasyonu, kedi veya kedi yavrularıyla temas ile bulaşır. Hastaların %95'inde kedi ile temas %75'inde ise kedi tırmalama öyküsü vardır (16, 58-61). Amerika'da KTH çocuklarda ve 21 yaş altı genç adölesanlarda primer LAP'ın en yaygın nedenidir (62, 63). İnsidansı yaklaşık olarak yılda 100.000'de 3-4'tür. Hastalık dünyada her yerde görülmekle birlikte ailesel ve coğrafik kümelenmeler gösteren çalışmalar bildirilmiştir; kış aylarında sık görülmekte ve coğrafik farklılıklara rağmen yılda 2000 hasta yatarak tedavi almaktadır (58, 62).

KTH tipik ve atipik olmak üzere iki formda gelişir. Tipik formda tırmalama ve ısırma yerinde 3-10 gün içinde ağrısız gruplar halinde eritematöz papül veya papülopüstüller lezyonlar açığa çıkar, 2-4 hafta içinde kendiliğinden iyileşir (35, 64). 1-2 hafta içinde özellikle çocuklarda konstitusyonel semptomlar olan anoreksi, artralji, halsizlik, ateş, v.b gelişmekle beraber en önemli klinik belirti 1-7 hafta içinde gelişen ve %85-90 oranında görülen bölgesel LAP'lardır. Bölgesel LAP'lar genellikle tek taraflı ve ağrısızdır. Çoğunlukla aksiller ve epitrokleal lenf nodları tutulur. LAP 2-4 ayda gerilemekle beraber 12 aya kadar nadiren rastlanabilir (61, 64, 65).

KTH spontan olarak 2-4 ay içinde gerilemektedir. Ancak Acquired immune deficiency syndrome (AIDS), malignite, immünsüpresyon ve kronik alkolizmi olanlarda yaygın LAP'la hayatı tehdit eden klinik tablolar gelişebilir. Hastalarda KTH'nın atipik formlarının geliştiği bildirilmiştir (35). Bu formda, uzun süreli ateş, Parinaud okuloglandüler sendrom, hepatik ve splenik abseler, HSM, nörolojik komplikasyonlar, ensefalit, pnömoni ve plevral effüzyon, osteomyelit ve granülomatoz hepatit görülür. Bunların içinde klinik önemi olan bir tablo olan ensefalit, çocuklarda sıklıkla ciddi seyrederek ancak kendi kendini sınırlıyabilme özelliğine sahiptir (65).

Göz komplikasyonları, optik nörit, nöoretinit, subretinal lezyonlar, retinit, intermedier üveit, inflamatuvar ve anjiomatoz lezyonlardır. Skotomlar, papil ödemi ve tek taraflı ani görme kayıpları, koroidal lezyonlar olabilir. Fakat bu bulguları KTH'na özgül değildir (65, 66).

KTH tanısında patojenin izolasyonunda, PCR, "Immunofluorescence antibody" (IFA) ve "Enzyme linked immunoassay" ELİSA gibi serolojik testler kullanılmaktadır. İnsanlarda KTH tanısı için IFA referans test olarak kabul edilmektedir. Biyopside granülomatöz lezyonlar ve mikroabseler görülmesi tipiktir (54). Warthin-Starry gümüşleme yöntemi ile LAP'tan alınan kesitte mikroorganizmalar kümeler halinde görülür (67). Yapılan çalışmalarla KTH'ında *B.clarridgeiae*'nin de etken olabileceği bildirilmiştir (29, 68).

### **Carrión Hastalığı**

Bartonellosis veya Carrión hastalığı, Peru'nun And dağlık bölgesinde ırmak kenarındaki kıyılarda yaygındır ve Kolomb öncesindeki dönemlerde de bulunduğu kabul edilmiştir. Değişen epidemiyolojisiyle beraber artık önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (68, 69).

Daniel Carrión adlı tıp öğrencisi 1885 yılında bir hastadan aldığı örneği kendisine inoküle ederek birkaç gün sonra şiddetli anemi ile seyreden hastalık sonucunda hayatını kaybetmiş ve hastalık bundan sonra Carrión hastalığı olarak adlandırılmıştır. Etken *B.bacilliformis*'tir. 1905 yılında Dr.

Alberto Barton tarafından saptanmıştır. *B.bacilliformis* için potansiyel risk faktörleri ile ilgili hipotezler öne sürülmüştür. Tatarcık ve kemirgenler ile temas, çiftçilik gibi çevre şartlarında çalışılan meslekler, evde hayvan beslemek, yaş, endemik bölgeye göç, immünsüpresyon ve hamilelik risk faktörleri olarak düşünülmüştür (68, 70). *B.bacilliformis* için bilinen tek rezervuar insandır. Etken konağa alındıktan sonra aylarca sessiz kalır sonra bakteriyemi ile akut hastalık meydana gelir. Peruda bulunan vektörü *Lutzomyia verrucorum* ile taşınır. Vektör 500-3200 metre yükseklerde yaşar. Peru'da yapılan bir çalışmada %0.5 gibi genel bir yaygınlık bulunmuş ve 2 yıl içinde seroprevalansı %12.7 olarak saptanmıştır (68, 70, 71).

Hastalık 2 farklı klinik evreye ayrılabilir. Akut faz; ateş, hemolitik anemi, baş ağrısı, kas, eklem ağrıları ve solgunlukla karakterizedir. 2 hafta yada yıllar sonra ortaya çıkan klinik iyileşme ile karakterize baş ve distal ekstremitelerde yoğun olarak döküntüler, nodüler deri lezyonları ile seyreden ikinci faz oluşur. Verruga peruana; Peru siğili, Verruga andiloca gibi çeşitli isimlerle adlandırılır. Kronik faz da herhangi bir akut faz öyküsü olmadan açığa çıkabilir. Kosek ve ark. Peru ve Amazon'da Carrión hastalığının nonendemik alanlarda salgın halinde görüldüğünü saptamışlardır (72).

### **Oroya Ateşi**

Oroya ateşinin inkübasyon süresi yaklaşık 60 (10-210) gündür. Halsizlik, uyku hali, iştahsızlık, kas ağrısı, baş ağrısı, omurga ve ekstremitelerde eklem ağrısı gibi nonspesifik prodromal belirtiler, titreme ile başlayan hastalık ateş sarılık ve dispne ile birlikte hızlı bir klinik kötüleşme olur. Klinikte hakim olan tablo hemolitik anemidir. Bu bulgulara LAP ve hepatosplenomegali (HSM) eşlik eder. Ağır vakalarda, perikardiyal efüzyon, miyokardit, endokardit, deliryum, konvülziyon, koma, akut solunum sıkıntısı ve multiorgan yetmezliği oluşabilir. Oroya ateşi 1 ila 4 hafta sürer. Tedavi edilmemiş vakalarda mortalite oranı %44-88 arasında değişir. Yatarak tedavi edilen hastalarda ise bu oran %0.7 olarak bulunmuştur (51, 68, 71, 72).

## **Verruga Peruana**

Kollar ve bacaklarda döküntüler plemorfik nodüler deri lezyonlarıyla karakterizedir. Yüz ve gövde tutulabilir. Lezyonların boyutu ve sayısı değişebilir. Kırmızı veya mor renkli birkaç milimetre saplı, birkaç santimetreye kadar değişen sapsız plak benzeri lezyonlarda görülebilir. Sistemik belirtiler olan ateş, halsizlik, eklem ağrıları başağrısı, anjiomatöz nodüller eşlik edebilir (3, 51, 68). Histopatolojik tanısında Warthin Starry ve gümüşleme boyalarının her ikisinde de hücrelerde mikroorganizmalar kümeler halinde görülür. Carrión hastalığının serolojik tanısında ELİSA, IFA, direk hemaglutinasyon ve immüblot teknikleri kullanılmaktadır. Western blot ve PCR daha duyarlı ve özgüdür ancak alt yapı ve maliyet nedeniyle kullanımı sınırlıdır. ELISA ile Carrión hastalığının endemik olduğu Peru'da 1985 yılında yapılan bir çalışmada hastaların ancak %63.6'sını saptanabilmiştir (65, 68, 73, 74).

## **Basiller Anjiomatoz**

Basiller anjiomatoz sıklıkla AIDS ve diğer immünsüpresif hastalarda tanımlanan vasküler proliferatif bir hastalıktır. Kutenöz tümörlerle seyretmekle beraber diğer organ tutulumları da eşlik edebilir. Basiller anjiomatoz olarak adlandırılan hastalık basilin indüklediği reaktif vasküler proliferasyonla karakterizedir (3, 9, 35). Yapılan çalışmalarda etkenin AIDS hastalarında CD4 hücre sayıları 100 hücre/mm<sup>3</sup>'den az olduğunda enfeksiyonun ortaya çıkışını ve yayılmasını uyardığı gözlemlenmiştir. Nadir de olsa benzer vasküler proliferasyonlar karaciğerde (peliosis), dalak, lenf nodu, akciğer, kemik, gastrointestinal sistem, beyin, ağız, burun ve anal bölgede gelişebilir (3, 35, 68). Lezyonlar papül, siğil, saplı subkutan nodüller veya hiperkeratotik plaklar şeklinde görülebilir. Ülserasyon ve kanamalar meydana gelebilir. Lezyonlar soliter veya çok sayıda, bütün vücudu kaplayacak şekilde yaygın, papül, siğil, saplı ya da sapsız olabilir. Kemik tutulumu bulunan olgularda genellikle ağrısız, litik radius ve tibiada yerleşen üzerinde selülit bulunabilen lezyonlar saptanmıştır. Periton ve anüste de benzer lezyonlar tarif edilmiştir (3, 54, 68).

BA tanısı epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar bulgularını içerir. Laboratuvar metodları histopatolojiyi, kültürü, serolojiyi, *Bartonella* DNA'sını saptayan PCR'ı kapsar. Histopatolojide *Bartonella* türleri, intraselüler ve ekstraselüler alanda her iki boyama yöntemi Warthin-Starry ve gümüşleme ile kok veya kokobasil şeklinde kümelenmiş olarak görülür. *Bartonella*'nın lezyondan kültürünün yapılması zordur. Serolojik tekniklerden IFA ile titrelerin 1/64 titrenin üzerinde olması kabul edilir (68, 77-79).

Tedavide makrolidler, tetrasiklinler, eritromisin, vankomisin, siprofloksasin, kloramfenikol, gentamisin, trimetropim-sulfmetaksazol kullanılmaktadır. AIDS, immünsüpresif ve komplikasyon gelişen hastalarda kombinasyonlar denenmelidir (62, 71, 77, 79). Farklı antibakteriyal ajanlar *B.bacilliformis*'in neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Eritromisin, kloramfenikol, rifampin, florokinolonlar, penisilin, tetrasiklinler, sefalosporinler ve diğer antimikrobial ajanlar kullanılmaktadır (51). Roig intraselüller patojenlerde siprofloksasinin intraselüler penetrasyonunun iyi olduğunu göstermiş ve *B.bacilliformis* gibi intraselüler patojenlerin tedavisinde ilk tercih olabileceğini ileri sürmüştür (80). *Bartonella spp.*'nin neden olduğu enfeksiyonlarda tedavi protokolleri yapılan araştırmalarla şekillendirilmiştir. Antibiyotik duyarlılıkları ökaryotik hücrelerin varlığında veya hücre olmaksızın deney hayvanlarında saptanabilir. Antibiyotik duyarlıklarının saptanmasında hayvanlarda yapılan deneyler veya %5-10 koyun ve at kanı içeren zenginleştirilmiş katı veya sıvı besiyerleri kullanılmıştır (81). Antibiyotik duyarlılıkları NCCLS tarafından standardize edilememiştir. TNF $\alpha$  antagonisti olan etanercept tedavisi sırasında kedi tırnığı hastalığının ortaya çıkabileceği düşünülmektedir (82).

### **Peliozis Hepatitis**

Peliozis hepatitis, karaciğeri etkileyen BA'de AIDS ile birlikteliği saptanan farklı bir klinik formudur. Kronik enfeksiyonlar, kanser, immünsüpresif ilaçların kullanımı ile BA ilişkilidir. Organ transplantasyonu yapılan 2 hastada BA ile birlikte peliozis hepatitis saptanmıştır (75). Peliozis hepatitis karaciğer parankimine yayılan kan dolu kitlelerle karakterizedir.

HSM, ateş, karın ağrısı ve hepatik parankim kaybı vardır. San Francisco'da 1997'de BA'lu hastaların vaka kontrol çalışmasında hastaların %53'ünde *B.henselae*, %47'sinde *B.quintana* etken olarak saptanmıştır (76).

### **Nörolojik Komplikasyonlar**

*Bartonella* türlerinin oluşturduğu nörolojik komplikasyonlar nadirdir. Enfekte hastaların %2'sinde meydana gelen en yaygın belirti ensefalopatidir. Sıklık sırasına göre; ensefalopati, status epileptikus, koma, nöroretinit, asemptomatik menenjit, transvers miyelit, radikülitis, serebral arterit, akut hemipleji ve demans görülür (83). Tüm bu nörolojik belirtiler KTH'larında %1-2 oranındadır (84). Bütün nörolojik belirtiler LAP'ı takiben 2-4 hafta sonra ortaya çıkar (85). Semptomlar başağrısı ile mental değişiklikler arasında değişir. *Bartonella* ensefalopatisi olan hastalarda nöbet oluşumunu %46-88 oranında bildirilmiştir. Bazı durumlarda status epileptikus gelişebilir (86, 87).

Ensefalopatili hastaların laboratuvar sonuçları değişken ve uyumlu olmamakla beraber tanıda yardımcı olabilir. Genellikle BOS analizinde pleositoz görülür ve protein artmıştır (54, 86-88). Hastalığın akut döneminde elektroensefalografi değerlendirmesi ile hastaların % 80'inde tam normale dönüş saptanmıştır. Tanıda BT ve MR'da anormal bulguların tespit edilmesi önemlidir. Ensefalopati olan hastaların yaklaşık %90'ı spontan iyileşir. Literatürde *B. henselae* ile enfekte ensefalopatisi olan ve mortal sonuçlanan bir olgu bildirilmektedir (54, 88).

### **Oküler Komplikasyonlar**

İlk kez 1889 yılında tanımlanan ateş, bölgesel LAP ve foliküller konjonktivitten oluşan Parinaud oküloglandüler sendrom (POGS) en yaygın görülen göz komplikasyonudur (65, 89). KTH olanların klinik manifestasyonlarında olan POGS hastaların %6'sında görülmüş ve etken olarak *B.henselae* saptanmıştır (90). Enfeksiyonun konjonktivaya direkt inokülasyonla bulaştığı düşünülmektedir. Tipik belirtileri yabancı cisim hissi, tek taraflığı göz kızarıklığı, seröz akıntı ve gözyaşı üretiminin artmasıdır.



Klinik muayenelerde nekrotik granülom, konjonktiva epitelinde ülserasyon, preaurikular ve servikal lenf nodları görülür (65).

### **Endokardit**

*B.quintana*, *B.henselae*, *B.elizabethae* ve *B.vinsonii*'ye ait iki alt tür (*B.vinsonii* subsp. *berkhoffii* ve *B.vinsonii* subsp. *arupensis*) insanlarda endokardit ile ilişkili olarak bulunmuştur. *Bartonella* endokardit olgusu olarak düşünülen valvülopatili olan 22 hasta tespit edilmiştir. Beş olguda *B.quintana* ve dört olguda *B.henselae* etken olarak saptanmıştır (51). *Bartonella* endokarditi düşünülen hastalarda *Chlamydia pneumoniae*, *C.psittaci* ve *C.trachomatis* gibi çapraz reaksiyon veren antikolar olabilir (91). Almanya'da *Bartonella* endokarditi düşünülen ancak kültüre edilemeyen 2 olguya PCR ve elektron mikroskop yardımı ile *Bartonella* spp olarak tanı konmuştur (92). Raoult endokarditli bir erkek hastadan *B.alsatica*'yı izole etmiştir (93). Roux köpeklerle teması olan çiftlik sahibi endokarditli bir hastadan *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*'yi izole etmiştir (23). Tüm bu veriler ışığında, altta yatan kardiyak lezyonu olanların *Bartonella* türlerinin oluşturduğu endokardite bir eğilimi olduğu düşünülmektedir (23, 51).

### **Uzamış Ateş/Nedeni Bilinmeyen Ateş**

Uzamış ateş ve/veya nedeni bilinmeyen ateş çoğunlukla iki hafta veya daha fazla süren, hiçbir semptom veya belirti vermeyen klinik hastalık olarak tanımlanmaktadır. Nedeni bilinmeyen ateş için enfeksiyöz ajanlar ve klinik tanılar listesi sürekli olarak yenilenerek uzamaktadır. Jacobs ve ark. Amerika'da 146 çocuk ile yürüttükleri klinik bir araştırmada nedeni bilinmeyen ateş için EBV ve osteomiyelitten sonra *B.henselae*'yi üçüncü neden olarak ileri sürmüşlerdir. Yüzkırkaltı çocuktan %5 kadarında sebebi bilinmeyen ateş etyolojisinde *B.henselae* bulunmuştur (94, 95). Nedeni bilinmeyen ateş vakalarında etken *B.henselae* ise ateşle beraber LAP ancak hepatosplenik tutulum olmadan abdominal ağrı olabilmektedir. Nedeni bilinmeyen ateş olgularında etken belirlenemiyorsa abdominal ağrı, LAP ve kedi ile temas

olan olgularda *B.henselae* enfeksiyonu düşünülmesi önerilmektedir (54, 94, 96).

## EPİDEMİYOLOJİ

Son on yılda *Bartonella* türleri için yapılan seroepidemiolojik çalışmaların sayısı artmıştır. Çalışmalar daha çok endemik olarak yaygın olduğu düşünülen Güney Amerika'da yapılmış olmakla beraber dünyanın her yerinden raporlar bildirilmektedir (5, 65, 97). Amerika Birleşik Devletleri, Japonya, Avrupa, Yeni Zelanda, Avusturalya ve pek çok ülkede epidemiyolojik taramalar yapılmıştır (2, 4, 54). *B.henselae*'da kedilerin rezervuar konumunda olduğu bilinmektedir. Hastalık daha çok kış ve sonbahar aylarında görülmektedir (54). Kedilerdeki pire yoğunluğu nem oranı yüksek ılıman iklim kuşaklarında artmaktadır. *B.bacilliformis*'in görülme sıklığı yine iklimle yakından ilişkilidir. El-Nino kasırgasından sonra *B.bacilliformis* vektör popülasyonunda ve enfeksiyonlarında yüksek nem ve yüksek sıcaklığa bağlı olarak artış görülmüştür (2, 62, 68). Bu coğrafik bölgelerde (örneğin Güney Amerika'da) yaşayan sokak kedilerinin %40-70'inde kedi piresi bulunmaktadır. Kedi tırnakları ve dişleri arasında yer alan pireler, kedilerin insanları tırmalaması veya ısırması ile insanlara bulaşın olduğu düşünülmektedir (35, 64, 98-100). Amerika'da 24.000 KTH vakası olanların 2000 kadarı hastanede yatarak tedavi edilmiştir. Bunların %80'i çocuktur. Bu olguların insidansının 2-14 yaş arasında pik yaptığı görülmüştür. Erkeklerde oran %60 olarak tespit edilmiştir (2, 78, 101). Amerika Birleşik Devletleri'nde poliklinik hastalarının tahmini prevalansının %0.93 olarak hesaplandığı ve maliyetinin yılda 12 milyon dolar olduğu saptanmıştır. Evde kedi veya kedi yavrusu besleyen ailelerin KTH olan vakalar arasındaki insidansı %0.77- 0.86 arasındadır (2, 101). KTH her yaşta görülmekle beraber Sander ve ark yaptıkları çalışmada 60 hastanın yaş profillerini ortaya çıkarmışlardır. Bu araştırmada hastaların yarısından fazlasının 20 yaşın altında olduğu (10-15 yaş) %33, 43'nün 21 yaş üstünde, %17'sinin ise 41-84 yaş arasında olduğunu tespit etmişlerdir (64, 97, 102). *B.bacilliformis*'in etken olduğu Oroya ateşi 1869-1873 yılları arasında deniz seviyesinden 4900 metre

yüksekte çalışmakta olan 7000 demiryolu işçisinde akut hemolitik anemi ile ölümlere neden olmuştur. Tibet'te yapılan bir çalışmada yüksek dağlarda çalışan demir yolu işçilerinin Oroya ateşi ile ilişkilendirilen hastalıklara sahip olduğu belirlenmiştir (68). Siper ateşi etkeni *B.quintana*'da bulaş vücut biti (*Pediculus humanis corporis*) ile meydana gelmektedir. Başka vektör tanımlanmamıştır. Birinci Dünya Savaşı sırasında yaklaşık 1 milyon insan etkilenmiş, İkinci Dünya Savaşı'nda ise nadir olarak bildirilmiştir. Günümüzde çoğunlukla HIV ile infekte hastalarda bildirilmektedir (2, 4). Brezilya'da 2001 yılında 457 sağlıklı yetişkinde 1/64 titrede "Immunofluorescence antibody technique" (IFAT) ile antikor varlığı *B.henselae* için %13.7, *B.quintana* için %12.8 tespit edilmiştir (103). Amerika'da Baltimore eyaletinde Comer ve ark. intravenöz ilaç kullanan 630 kişide yaptıkları çalışmada, IFAT ile *B.henselae*, *B.elizabethae* ve *B.quintana* seropozitiflik oranlarını sırasıyla %11, %33 ve %10 olarak saptamışlardır. Aynı araştırmacılar Newyork'ta 204 intravenöz ilaç kullanıcısında yaptıkları taramada *B.elizabethae*, *B.quintana* ve *B.henselae* seropozitiflik oranlarını sırasıyla %46, %2 ve %10 oranında bulmuşlardır (104, 105). Tayvan'da veteriner, veteriner teknisyeni ve veteriner öğrencilerinden toplam 295 serum örneğinin IFA ile seropozitiflik oranları %1.7 saptanmıştır (106). Tokyo'da risk grupları olan veterinerler ve profesyonel olarak hayvancılık yapan 233 kişiden alınan serum örneğinde immun peroksidaz yöntemiyle yapılan teste *B.henselae* oranı %15.0 olarak saptanmıştır (107). Japonya'da risk grubu olan sağlıklı 129 veteriner öğrencisi ile kardiyovasküler hastalık bulunan 159 hastada *B.henselae* IgG oranı %3.1 veteriner öğrencilerinde ise IgG oranı %10.9, IgM oranı ise %0.8 olarak bulunmuştur (108). Ohio'da 351 veteriner ve veteriner teknisyeninden alınan serum örneklerinde *B.henselae* ve *B.quintana* seropozitifliği % 7.1 olarak tespit edilmiştir (109).

*B.bacilliformis* coğrafik dağılımıyla ilgili olarak Carrión hastalığı olan veya asemptomatik seyreden hastalardan izole edilen 10 izolatin sekizinin And Dağları bölgesinde görülen *B.bacilliformis* olduğu gözlenmiştir. 1997-1999 yılları arasında prospektif kohort çalışması yapılarak Peru dağlık alanlarında yaşayan 690 kişi çalışmaya alınmış, bu kişilerin evde veya

hastanede olması gözardı edilmiş ve asemptomatik bakteriyemi oranı %0.5 olarak tespit edilmiştir. Takip eden 2 yıl içinde enfeksiyon insidansı %12.7 saptanmıştır. En yüksek insidans beş yaş altındaki çocuklarda görülmüştür. İnsidanstaki doğrusal azalmada yaşın etkili olduğu belirlenmiştir (71,110). Ekvador'da kütanöz verrüköz lezyonları olan 224 kişide yapılan serolojik araştırmada *B.bacilliformis* oranı %21 bulunmuştur (111). Kosek ve ark. Peru'da, endemik olmayan bir bölgede Carrión hastalığı salgınından sonra %77.5 gibi çok yüksek bir oranda *B.bacilliformis* antikor pozitifliği saptamışlardır (72).

Polonya'da çeşitli insan popülasyonlarında *B.henselae* ve *B.quintana* için IFAT metoduyla yapılan seroprevalans taramalarında antikor oranları veterinerlerde %45, evsiz alkoliklerde %48.3 ve kedi besleyicilerinde %58.3 olarak bulunmuştur (1). Breitschwerdit kedi, köpek ve arthropod teması olan 14 immünsüresif hastada *B.henselae* IFA ile 8 hastada seropozitiflik, 5 hastada PCR ile pozitiflik saptamıştır (112). Tayland'da 163 serum örneğinin IFAT ile değerlendirilmesinde antikor oranı %1.2 olarak bulunmuştur (113). Ürdün'de, randomize seçilen 482 çocukta IFAT ile yapılan çalışmada; *B.henselae* için %11 ve *B.quintana* için %4.1 seropozitiflik oranı saptanmıştır (114). Yunanistan'da 500 sağlıklı kişinin serum örneklerinin IFAT ile *B.henselae* ve *B.quintana* antikorları açısından değerlendirilmesinde oran sırasıyla %19.8 ve %15'dir (115). Girit adasında 231 serum örneğinde *B.henselae* oranı %15.9 olarak saptanmıştır (116). Hırvatistan'da 2009 yılında yapılan taramada *B.henselae* seropozitiflik oranları çocuklarda %41.3, kan donörlerinde %57.4 bulunmuştur (117). İspanya'da Katalonya bölgesinde sağlıklı 218 hastanın serum örneklerinde *B.henselae* oranı IFAT ile %8.7 bulunmuştur (118). İtalya'da Toskana bölgesinde 508 sağlıklı çocuk ve adelosanda IFAT ile yapılan taramada *B.henselae* antikor oranları yüksek oranda (%61.6) saptanmıştır (119).

Japonya'da 200 sağlıklı hamile kadında *B.henselae* antikor oranı %1.0, sebebi bilinmeyen ateşi olan 29 çocukta %3.4, servikal LAP'si olan 31 çocukta %9.6, yaygın LAP'ı olan 22 çocukta %4.5 oranlarında bulunmuştur.

Servikal LAP'ı olan çocuklardaki oranın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir (120). San Fransisco'da ateşi olan HIV pozitif 382 hastanın %18'inde kültür, IFAT ve PCR kullanılarak *Bartonella* enfeksiyonları saptanmış ve bu enfeksiyonlarda etken olarak *B.henselae* ve *B.quintana* %18 oranında bulunmuştur (121). Çin Halk Cumhuriyeti'nde 2008 yılında riketsial epidemiyoloji araştırması yapılan Tianjin bölgesinde 365 tarım işçisinde *B.henselae* antikor oranı %9.6 saptanmıştır (122). İsveç'te 126 serum örneği retrospektif olarak incelenmiş ve *B.henselae*, *B.quintana*, *B.elizabethae* IgG antikor seropozitifliği %8.3 olarak tespit edilmiştir (123). İsveç'te beş farklı bölgede sağlıklı kan donörlerinden 1999 yılında toplanan ve 2005 yılında yapılan çalışmada 498 serum örneğinin antikor titresi araştırılmış, antikor oranları; *B.elizabethae* için %14.1, *B.grahamii* için %2.6, *B.henselae* için (Houston tip1) %1.2, Marseille tipi için %1.8 *B.quintana* için %0.2, *B. vinsonii subsp vinsonii* için %0.0 olarak bildirilmiştir (124). Johannesburg'da ayaktan tedavi alan 188 HIV pozitif hastada *Bartonella* bakteriyemisi "nested" PCR ile %10.1 iken IgG oranları 13 hastada IFA ile 1/64 titrede pozitif bulunmuştur (125).

Türkiye verileri daha çok olgu bildirimleri ile sınırlıdır. Adana, İzmir, Bolu ve Denizli'den olgu bildirimleri yapılmıştır (126-130). Denizli'de kan bankasına başvuran 800 gönüllüde yapılan seroprevalans taraması Türkiye'deki ilk verilerdir. Bu taramada kan donörlerinde *B.henselae* seroprevalansı %6.0 olarak saptanmıştır (131).

Kediler, köpekler, küçük memeliler, rodentler, vahşi hayvanlar, geniş getiren hayvanlarda yapılan serolojik, kan kültürü ve PCR çalışmalarıyla *Bartonella* türlerinin izolasyonları yapılmış ve yeni türleri tanımlanabilmiştir; *B.schoenbuchii*, *B.birtlesii*, *B.bovis*, ve *B.caproelii* yeni türlerdir (26, 27, 132-134). Fransa'da *B.alsatica* yabani tavşanlardan izole edilmiş endokardit ve lenfadenit etkeni olarak gösterilmiştir. *B.tamiae* Tayland'da PCR ile insandan izole edilmiştir. Vektör ve rezervuarlarında izole edilebilmesi için çalışmalar devam etmektedir (28, 93). İki yeni *Bartonella* türü 2009 yılında Japonya'da küçük tarla faresi (*Apodemus argenteus*) ve büyük tarla faresi

(*A.speciosus*)'nden sırasıyla PCR yöntemiyle *Bartonella japonica sp. nov.* ve *Bartonella silvatica sp. nov.* izole edilmiştir. Amerika'da koyun kanından (*Melophagus ovinus*) *Candidatus Bartonella melophagi* izole edilmiş ve son zamanlarda hasta iki kadının kanlarından da saptanmıştır. Tayland da rodentlerden *Candidatus bartonella thailandensis* izole edilmiştir (135-137). Köpekler, kırmızı foklar, rakunlar, vahşi et oburlar (çakal, tilki) gibi hayvanların *B.clarridgeiea*'nın doğal rezervuarı olduğu bilinmektedir. Pireler *B.clarridgeiea* için de ana vektörlerdir (5, 24).

Kedilerde *Bartonella* seroprevalansı değişik oranlardadır. Hawai'de % 47, Japonya'da %15, Endonezya'da %54, İsrail'de %40, Mısır'da %11, Portekiz'de %7, İspanya'da %71.4, Ürdün'de %1.5, Türkiye'de pet kliniklerinde kedilerdeki oran %9.4 olarak tespit edilmiştir (4,16, 32, 138, 139). Köpeklerde *B. vinsonii subsp. berkhofii*'nin epidemiyolojisine ilişkin veriler oldukça sınırlıdır. Kaliforniya'da sokak köpeklerinde %10.1, Çin'de %2.9, Hint Okyanusun'da %9 İspanya'da %1.07 seropozitiflik, saptanmıştır (4, 16, 64, 140, 141). 2000 yılında Kaliforniya'da PCR yöntemiyle vahşi et oburlarda (çakal, tilki) yapılan bir çalışmada *B.vinsonii subsp.berkhofii* oranı % 28 bulunmuştur (142). Köpeklerde endokardit, üveit, koroidit splenomegali yapabilir. Genel olarak hayvanlarda endokardit yapar. Daha çok hastalığın iletilmesinde asıl önemli rolün keneler tarafından olduğu ileri sürülmüştür (33, 34, 143). Kedilerde *Bartonella* enfeksiyonları klinik olarak görülmeyebilir. Bazı kedilerde ise üveit, hafif bir ateş ve endokardit görülebilir (4, 33).

## **BARTONELA TÜRLERİNİN TESPİTİ, TANIMLANMASI VE İZOLASYONU**

### **Morfoloji ve Boyanma Özellikleri**

*B.henselae*, 1-2x0.5-0.6 µm boyutlarında, Gram-negatif, hafif kıvrık titreme hareketi yapan, pleomorfik, genellikle kokobasil morfolojide, flagellasız, mikroaerofilik, fakültatif hücre içi bir bakteridir. Otoaglutinasyon

özelliğinden dolayı Gram boyamada bir araya toplanarak kümeler halinde görülmektedir (10, 35, 64, 144). *B.bacilliformis* ve *B.clarridgeiae*'de hareket flagella ile yapılmaktadır. *B.tribocorum*'da fimbriaya benzeyen polar yapılar görülmüştür (35).

## Kültür

*Bartonella* türlerinin izolasyonu için kan, lenf nodu aspiratı veya dokusu, iç organlardan veya deriden alınan biyopsi örnekleri kullanılabilir. Sistemik tutulum olmaksızın KTH olanlarda başarılı bir izolasyon için lenf nodu örnekleri kan örneklerine tercih edilir. Nadiren bakteriyemi yaptığı için kandan izolasyonu zordur. Başarılı ve erken izolasyon için hastalığın erken evrelerinde lenf nodu örneklerinin toplanması önemlidir. Süpüratif lenf nodu örneklerinden izolasyon şansı azdır; canlı mikroorganizmalar olmayabilir; bu hastalar immünsüpresif oldukları için invaziv bakteriyel sürece bağlı olarak bakteriyemi olabileceği düşünülmektedir.

Slater ve ark. 1990 yılında ateş ve bakteriyemisi olan fakat vasküler proliferatif lezyonları olmayan iki hastadan aldıkları kan örneklerini; etkenin izolasyonu için geliştirdikleri yöntem olan kanın lizisle santrifüj edilmesiyle 1992 yılında yeni bir türü tanımlayabilmişlerdir. Bu yöntemde kan lizisle santrifüjden sonra çikolota agar ve koyun kanlı agara ekilmiş, 35°C de %5 CO<sub>2</sub>'li etüvde 14 gün inkübe edilmiş yapışık, beyaz renkli, saydam morfolojik olarak heterojenite gösteren koloniler görülmüştür (2, 10, 12).

Kan örneklerinin EDTA ve lizis solüsyonu içeren izolatör santrifüj tüplerinde -70°C'da 24 saat dondurulup çözdürüldükten sonra kanlı agara inoküle edilmesi ile kandan *Bartonella spp.* türlerinin izolasyon oranı artmıştır (145-147). Besiyerleri ekimler yapıldıktan sonra 35-37°C de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edilir. Yaklaşık 5-15 gün sonra koloniler görülmeye başlar ancak yavaş büyüyen bir bakteri olduğu için 45 gün gibi uzun bir süre beklendikten sonra üremenin negatif olduğu kabul edilmelidir. Yavaş üreme özelliği ve kültür süresinin uzunluğundan dolayı kontaminasyonlara dikkat edilmelidir. Üreme sonrasında Gram negatif, hafif kıvrık, kok veya kokobasil

şeklinde kümeler yapan oksidaz ve katalaz negatif mikroorganizmaların görülmesi *Bartonella* türlerinin ayırtedilmesini sağlar (4, 32, 145).

Agar temelli kültür yöntemleri %5'lik at kanı veya tavşan kanı içeren kalp infüzyon agarlardır. Kan eklenmiş beyin-kalp infüzyon (BHI) agar, triptik soy agar, Columbia agar ve zenginleştirilmiş çukulata agar, Brusella agar, BCYE agar, MacConcey agar, otomatize veya yarı otomatize kan kültür sistemleride (BACTEC vb) büyümeyi destekleyebilir. Ancak otomatize sistemlerin CO<sub>2</sub> üretimi ile sinyal sistemine dayandığından hatalı sonuçlar oluşabilir. *Bartonella sp.* bu sistemlerde sinyal oluşturacak kadar yüksek CO<sub>2</sub> üretimi oluşturamayabilmektedir. Bu nedenle klinik örnekler otomatize sistemlerde uzun inkübasyon (en az 2 hafta) gerektirir. Örnek ekimlerinden 1 hafta sonra şişeden alınan örnek akridin-oranj gibi floresans bir boyayla boyanabilir; Bu sistemlerdeki üreme saptandıktan sonra agar subkültür yapılması önerilmektedir. Antibiyotik duyarlılık testi için Columbia agar ve Kanlı Muller Hinton agar tercih edilmektedir. Taze olarak hazırlanmış besiyeri, bakteri izolasyonu için önemlidir. Selektif besiyeri yoktur. Bazı *Bartonella* türlerinin büyümesi için 45 güne kadar inkübasyon süresi gerekmesine rağmen, inoküle edilmiş petri besiyerleri 35-37°C'de nemli atmosferde en az 21 gün inkübe edilir (2, 12, 35, 77, 144). Çoğu *Bartonella* türleri anaerobik şartlar altında, 25-42°C'de, hemin ve CO<sub>2</sub> yokluğunda üremez. Ancak *B.bacilliformis* üremek için CO<sub>2</sub>'e ihtiyaç duymaz ve düşük ısıyı (25-28°C) tercih eder (77).

Doğrudan kültür işleminin zorluklarından dolayı hücre kültürü yöntemleri ile izolasyonda kullanılmaktadır. Farklı hücre kültür tipleri denenmektedir. Hücre kültürü kokültüvasyonu için insan endotel hücreleri (ECV 304), Vero hücreleri, HeLa, L929 fare fibroblast içeren shell-vial veya flask içine kokültüvasyon yapılır (2, 35, 148, 149).

Koehler ve ark BA'lı hastaların deri lezyonlarından *B.henselae* ve *B.quintana* izolasyonu için sığır endotel hücre dizisini (CPA) kullanmışlardır (145). Araştırmacılar monolayer CPA üzerine biyopsi materyalini homojenize



ederek kültürünü yapmışlar, 9-36 günlük inkübasyondan sonra bulanıklaşan kültür materyalinin süpernatantını tanımlama için agar besiyerine inoküle etmişlerdir. Benzer şekilde Drancout ECV dizisini kullanarak *B.quintana*'yı izole etmiştir. Chamberlin *B.bacilliformis*'i Vero hücre kültüründe üretmiş ve bu yöntem kullanılarak üretilen mikroorganizmalar IFAT yöntemiyle tespit edilmişlerdir. PCR ve diğer moleküller teknikler kullanılabilir. (148-150). RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium), BAPGM (*Bartonella α-probacteria* growth medium) içeren besiyerleri de izolasyon şansını artırmaktadır (2, 151).

Ayrıca *Bartonella* türlerinin üretilmesi için "Insect cell" kültür besiyeri adı verilen *Drosophila melanogaster*'in Schenider's hücrelerini içeren besiyeri kullanılmıştır (152).

### **Gram Boyama ve Koloni Morfolojisi**

*B.henselae*, *B.quintana* ve *B.elizabethae*'nin bazı kökenleri büyümeleri sırasında agar yüzeyinde çukur oluşturabilir. Karakteristik olarak, *B.henselae* kolonileri beyaz, kuru, yapışkan, karnıbahar benzeri, agar içine gömülmüş ve morfolojik olarak heterojendir (35, 77). Çok sayıda pasaj ile koloniler daha az kuru, daha az yapışkan, daha geniş ve daha hızlı üremeye eğilimli olmaktadır. *B.elizabethae* kolonileri %5'lik tavşan kanı eklenmiş kalp infüzyon agarda büyüyen kolonilerin etrafında hafif veya parsiyel hemolizler görülebmesinin dışında *B.henselae*'ya benzemektedir. *B.bacilliformis* kolonileri başlangıçta düzgün, küçük, saydamdır ve subkültürlerde de aynı şekilde kalırlar. Bu nedenle kolonileri diğer türlerden farklıdır (77).

*Bartonella* organizmaları salin ile hazırlanmış süspansiyonlarda seyirme şeklinde motilite gösterirler (77). *B.bacilliformis* ve *B.clarridgeiae*'in *flagellası* vardır. *B.tribocorum*'da fimbria benzeri polar yapılar bulunur. *B.henselae*'nın *flagellası* yoktur. Dehio ve ark. *B.henselae*'nin HUVEC hücrelerine yerleştirilmesi ile aktin bağımlı hücreler aracılığıyla eritrositlere invazyon yaptığını göstermiştir (16, 153).

## **Tanımlama Yöntemleri**

Son yıllara kadar *Bartonella* türlerinin oluşturduğu enfeksiyonların tanımlanması için özgül olarak geliştirilmiş tanı yöntemleri olmadığından klinik bulgular ile tanı konulmuştur. *Bartonella* enfeksiyonlarının tanısında rutin laboratuvar testleri spesifik ve anlamlı değildir. Enfeksiyon varlığında lökosit sayısı normal veya artmış, trombosit sayısı artmış, azalmış veya normal olabilir. BOS incelemesi normal olabileceği gibi hafif bir protein artışı gözlemlenebilir (54, 64).

KTH tanısında *B.henselae* antijenlerinin deri içine inokülasyonu ile yapılan deri testi önemlidir. Bu testin değerlendirilmesinde sürecinde 48-96 saat sonra hipersensitivitenin görülmesi %95-98 tanı koydurur. *Bartonella* türlerinin enfeksiyonlarının tanımlanmasında kan, doku ve lenf nodu gibi bölgelerden alınan örneklerin kültüre edilmesi, histopatolojik inceleme, serolojik testler ve PCR ile etken izolasyonu gibi testlerin birlikte yapılması gereklidir (2, 5, 66).

## **Histopatolojik Tanı**

Erken tanımlama yöntemlerinden biri ilk kez 1983 yılında yapılan Warthin-Starry boyama yöntemidir. Warthin-Starry boyama metoduyla kümelenmeler oluşturan mikroorganizmalar görülmektedir (10). Histopatolojik incelemede KTH'da granüler formasyon, mikroabseler ve foliküler formasyonlar vardır. Hücre infiltrasyonları nötrofiller, makrofajlar, plazma hücreleri, lenfositler, epiteloid, eozonofil ve nekrotik hücreler görülebilir (2, 54, 68, 77). BA hastalarının histopatolojik incelemesinde ise yeni vasküler proliferasyonların görülmesi tanıda önemlidir (2, 68). Basiller peliozide karakteristik olarak karaciğer ve dalak parankiminde içi kanla dolu lezyonlar bulunur. "Stellate" (nörofillerle ve dev hücrelerle çevrelenmiş nekroz alanları) abseleri vardır (35).

## Biyokimyasal Yöntemler

Genel olarak *Bartonella* türlerinin biyokimyasal özellikleri *Rochalimaea* ile benzerdir. Kimyasal olarak "inert"tirler. Katalaz, oksidaz, üreaz, indol, dekarboksilaz ve nitrat redüksiyon testleri biyokimyasal testlerdir ve nonreaktiftirler. *Bartonella* türlerini tanımlamak için laboratuvarlarda kullanılan fenotipik yöntemler, yağ asitlerinin ayırılması için kullanılan kemotaksonomik yöntemler ve moleküller yöntemler (PCR, RFLP, RT-PCR) gibi yöntemleri içermektedir (8, 12, 32, 154, 155). *Bartonella* türlerinin yaptıkları bakteriyel enzimleri tespit etmek için kromojenik enzim substratları kullanılarak ticari tanımlama sistemleri ile birlikte tespit edilebilir (örn: Microscan Rapid Anaerob Panel, Vitek *Neisseriae-Haemophilus* tanımlama kartı, IDS Rapid ANA II Panel, API AnIDENT panel, Microscan HNID Panel) (155, 156).

## Gaz Likid Kromatografisi

Welch ve ark. 1992 yılında *B.henselae*'nin tanımlanmasında gaz-likid kromatografisini kullanmıştır (12). *Bartonella* türlerinin biyokimyasal özellikleri türlerin ayrılmasında kullanılmaktadır. Optimal büyüme sıcaklıkları, katalaz, hemoliz, oksidaz, üreaz, nitrat redüksiyonu, indol reaksiyonları, oksidasyon/fermentasyon yapımlarına göre ayrılırlar. Aminoasit kullanımlarına göre içerdikleri enzimler önemlidir (77).

## Moleküler Yöntemler

Moleküler yöntemler, direkt klinik örneklerden hızlı tanı, kültürden etkenin tanımlanması ve izolatların tür tayininin yapılması amacıyla kullanılmaktadır. İnsan, kediler ve diğer hayvanlardan izole edilen *Bartonella* şüpheli izolatlara PCR ile tür tayini uygulanmaktadır (144,154). Avidor ve ark. İsrail'de üç yöntemi karşılaştırmışlardır. Bu araştırmada nükleik asit amplifikasyonu için 16S /23S intergenik ara bölgesini tanımlayan prob, RFLP analizi ile sitrat sentaz geni (*gltA*) ve ısı şok proteini olan 60kDa bölgesinin PCR temelli amplifikasyonunu kullanmışlardır. Sonuç olarak *glt*/RFLP'nin kullanıldığı metodla klinik doku örneklerinden *B.henselae*'yi yüksek oranlarda

ve hızlı olarak saptamışlardır (154). Protein kodlayan gen bölgelerinin en önemlileri sitrat sentaz geni (*gltA*), 60 kDa ısı şok proteini (*groEL*), riboflavin sentaz geni (*ribC*), hücre division proteini (*ftsZ*) ve dış membran proteinleri 17kDa ağırlığındaki antijen klinik örneklerden direk olarak tanınması ve saptanması için geliştirilmiştir (157, 158). *Bartonella* türlerinin subtiplendirilmesi için farklı yöntemler denenmiştir. Matar ve ark. A1ul ve HaeIII retraksiyon enzim kırmasında sonra bu yöntemi subtiplendirmede önermişlerdir (159). *B.bacilliformis*'de ve *B.henselae*'da bulunan BLPs (bacteriophage-like particle) 16S/23S intergenik spacer bölgesi PCR amplifikasyonu ile subtiplendirmede kullanılmaktadır (160). *B.bacilliformis* tanımlanmasında ise *GroEL* ve *GroES* HrcA kullanılarak protein dizi analizi ile tanımlanmış ve karakterize edilmiştir (49).

## Serolojik Yöntemler

Serolojik yöntemler tanıda en çok tercih edilen yöntemlerdir. Sıklıkla iki serolojik yöntem IFA ve ELISA kullanılmaktadır. IFA ve EIA yöntemlerinden özellikle IFA'nın CDC tarafından BA'de tanı için kullanımının önerilmesinden sonra yapılan çalışmalarla pek çok araştırmacının kullandığı bir yöntem olmuştur (2, 5, 55). Regnery ve ark.'ları *B.henselae* ile infekte Vero hücrelerini antijen olarak kullanmışlar ve böylece etkenin otoaglutinasyonunu engellediğini, test alanına homojen yayıldığını gözlemlemişlerdir. Böylece elde ettikleri antijeni IFAT ile değerlendirmişler ve titrenin 1/64 üzerinde olmasını anlamlı kabul etmişlerdir. Bu yöntem pek çok araştırmacının kullandığı bir yöntem olarak kabul görmüştür (2, 53, 156).

IFA tekniğinde karşılaşılan en önemli teknik problemlerden biri *B.henselae* ile *Chlamydia sp.*, *Bartonella sp.*, *Coxiella burnetti*, *Rickettsia rickettsii*, *Ehrlichia chaffensis*, *Treponema pallidum*, *Francisella tularensis* arasında meydana gelen çapraz reaksiyonlardır (64).

## İmmünfluoresan Yöntem

CDC referans test olarak 1995 yılında immünfluoresan yöntemlerin BA tanısında kullanılabilirliğini kabul etmiştir. Bu testin duyarlılığı değişken

olmakla beraber özgüllüğünün yüksek olması tanı değerini artırmaktadır (55). KTH'da bu testin duyarlılığı %90-95 arasındadır. IFA tekniğinin geliştirilmesinde ilk kez Regnery ve ark. 1992 yılında *B.henselae*'yi Vero hücrelerine ekmişler ve KTH olan hastaların kanlarında %88 gibi yüksek bir oranda tespit etmişlerdir. Bu çalışmada titrenin  $\geq 1/64$  olması hastalık için anlamlı kabul edilmiştir (144). *B. bacilliformis* için IFA tekniğinin geliştirilmesi çalışmaları Chamberlin ve ark. tarafından endemik bir bölge olan Peru'da yapılmıştır (149). Zbinden ve ark.ları 100 sağlıklı kan donörünün serumunda *B.henselae* antikor titrelerine bakmışlardır. Antikor titrelerini yirmialtı hastada pozitif bulmuşlardır. Bu populasyon için 1/256 titrenin anlamlı olması gerektiğini vurgulamışlardır (150). Bergman's ve ark 1997 yılında IFA testlerindeki duyarlılık sorunlarının *B.henselae*'nin Vero hücrelerine kokültüvasyonundaki sürelerden birkaç gün veya birkaç saat gibi farklılıklardan kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir (161). CDC tarafından yürütülen bir çalışmada Dalton ve ark. *B.henselae*, *B.quintana* ve *B.elizabethae*'yi Vero hücre kültüründe üretmişler ve IFA ile test etmek için bu organizmaları kullanarak laboratuvarında antijen hazırlamışlardır (55). Maurin ve ark. ECV hücre dizinini; IgG için *Bartonella* antijen eldesinde Vero hücresi kullanan, IgM içinse agar temelli besiyeri kullanan ticari firmadan alınan kitlelerle karşılaştırarak iki kitin duyarlılık ve özgüllüğünü araştırmıştır. Sonuç olarak KTH olan kişilerde Vero hücre kültüründe hazırlanan antijenlerin antikorları saptamada ECV hücre dizisinde hazırlanan antijene göre daha duyarlı olduğunu saptamışlardır (162).

## Enzim İmmün Ölçüm Yöntemi

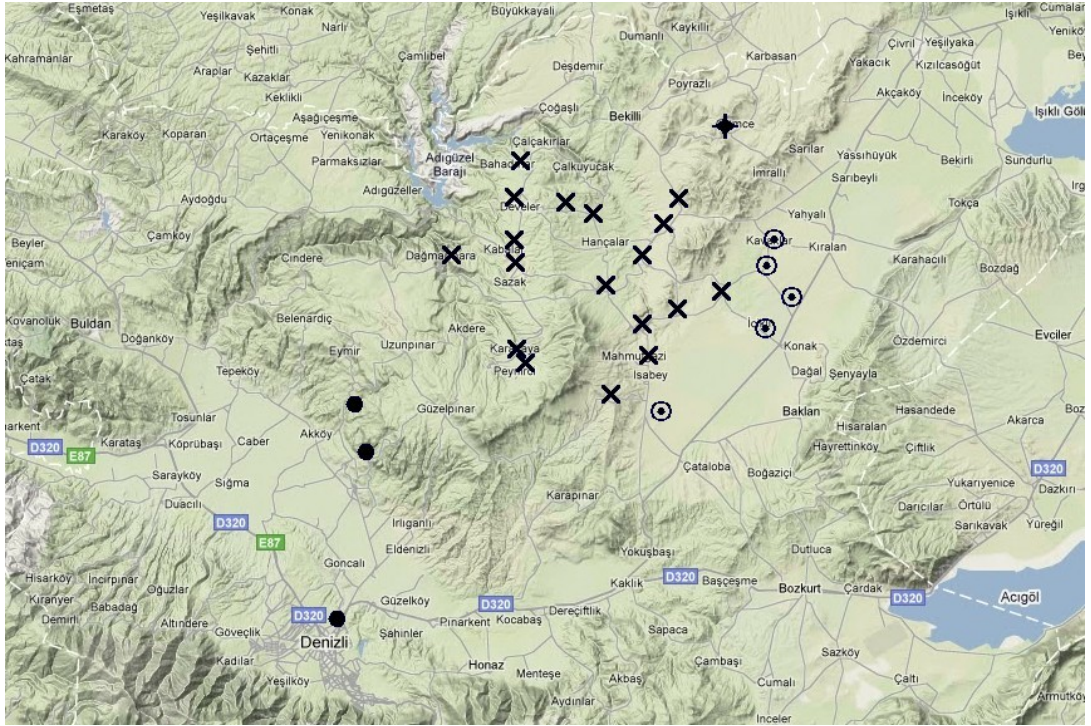
KTH' nın tanısında kullanılan önemli bir serolojik testtir. EIA solid faz antijeni olarak agarda üretilmiş olan *B.henselae* bakterilerini kullanarak, spesifik IgG, IgA ve IgM' nin tespiti için geliştirilmiştir. EIA PCR ve IFA'nın karşılaştırıldığı çalışmalar yapılmıştır. IgM, PCR ve EIA'da duyarlılık yönünden karşılaştırılmıştır. ELISA'da IgM duyarlılık %71.4, PCR'da %80.6 olarak saptanmıştır. Hollanda'da serolojik testlerle yapılan 56 KTH'nın olduğu bir çalışmada IFA, EIA ile duyarlılık açısından değerlendirildiğinde IFA'nın duyarlılığı istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Yapılan çalışmalarda

EIA duyarlılığı (%40-100) olarak bildirilmiştir. IFA'da IgG duyarlılık %14-100, özgülük %34-100, IgM'nin duyarlılığı %2-50, özgülüğü %86-100. ELISA'da IgG duyarlılık %10-%97, IgM duyarlılığı %60-85 özgülüğü %98-99 olarak belirlenmiştir (161,163-165).

# GEREÇ VE YÖNTEM

## 1. Çalışma grubunun oluşturulması

Bu çalışma, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yürütüldü. Ocak 2009- Haziran 2009 tarihleri arasında Denizli İli Kuzey kırsalında (Şekil 1) risk oluşturan meslek gruplarında çalışan 477 yetişkin gönüllüden çalışma grubu oluşturuldu.



Şekil 1: Denizli Kuzey Kırsalı.

Araştırmaya Denizli İli kuzey bölgesinde bulunan 4 farklı bölge [**Baklan Bölgesi** (⊗): İçikli, Gelinören, Ataköy, Çakırlar, Kavaklar; **Çal Bölgesi** (✕): Akkent, Yukarıseyit, Aşağıseyit, Dayılar, Selcen, Bayıralan, Şapçılar, Kabalar, Develer, Peynirci, Sazak, Kocaköy, Mahmutgazi, Süller, Merkez, Dağmarmara, Bahadırlar, Karakaya; **Bekilli Bölgesi** (✱): Gömce ve **Denizli Bölgesi** (●): Merkez, Haytabey, Gözler] alınmıştır.

*B.henselae* ve *B.bacilliformis*'e karşı antikor seroprevalansının araştırılmasını amaçlayan bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik kurulunun 7/7/2008 tarihli toplantısında 2008/7-1 sayılı form numarası ile onay alınmıştır. Hayvan sağlığı çalışanları, hayvan yetiştiricileri, sulak tarım yapanlar gibi, *Bartonelloz* için risk grubu oluşturan meslek gruplarında çalışanlar, evcil hayvan besleyenler, evcil hayvanlar tarafından tırmalanma ve ısırılma öyküsü olanlar, vektörlerle temasın yoğun olarak gerçekleşebileceği bölgelerde tarım yapanlar, bu bölgelerde yaşayanlar, yabani hayvanlar tarafından ısırılma öyküsü olanlar, ev dışında açık alanlarda kalma ve yaralanma öyküsü olanlar, yurt dışına seyahat öyküsü olanlar ve avcılık alt araştırma gruplarını oluşturdu.

Risk grubunda yer alan gönüllü yetişkinlere yapılacak işlemler ve sonuçları hakkında bilgi verildi. Çalışmaya alınan risk grubunda yer alan gönüllü yetişkinlere sorgulama formu uygulandı (Ek1).

Risk grubundaki gönüllü yetişkinlerden intravenöz yolla 8 ml kan örneği alınarak 10 ml'lik tüplere konuldu. Sahada alınan kan örnekleri oda ısısında 5-6 saat içinde Pamukkale Üniversitesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na ulaştırıldı. Laboratuvara getirilen tüm kan örnekleri 4200 rpm'de 7-10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar 2 ml'lik steril eppendorf tüplere aktararak çalışma zamanına kadar -20°C'de saklandı.

## **2. Test lamlarının oluşturulması**

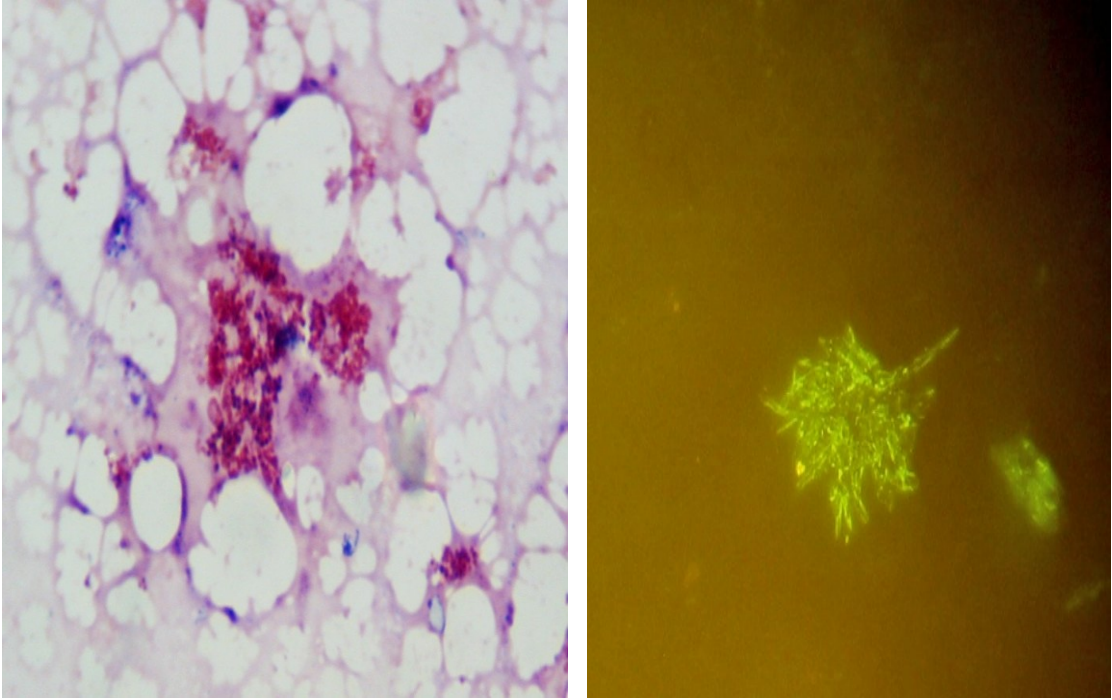
Liyofilize *B.henselae* ATCC 49882 (Houston-1) ve *B.bacilliformis* KC583 (ATCC 35685) kökeni, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında [LGC Standarts GMBH ,GERMANY] alındı.

### **2.1. Bakteri kökenlerinin canlandırılması**

Liyofilize *B.henselae* ATCC 49882 (Houston-1) ve *B.bacilliformis* KC583 (ATCC 35685) kökeni Tıp II güvenlik kabini içinde steril fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ile süspansiyon edildi. Bakteri süspansiyonu taze olarak hazırlanmış



%5 defibrine at kanlı BHI agar besiyelerine ekimleri yapıldı. Ekim yapılan besiyeleri nem ve %5-10'luk CO<sub>2</sub> sağlayan etüvde 30 gün süresince inkübe edildi. Ekimin başlangıcından itibaren bir hafta aralıklar ile *B.henselae* ve *B. bacilliformis*'e ait koloni oluşumunun varlığı araştırıldı. Oluşan kolonilerden "Auramin-fenol" fluoresans boyası ve Gram boyası ile *B.henselae* ve *B.bacilliformis* üreme kontrolü yapıldı. "Auramin fenol" fluoresans boyası ile yeşil refle veren basil ve Gram boyası ile Gram-negatif basil ve kokobasil) görülerek Bartonella olarak değerlendirildi (Şekil 2) .



**Şekil 2:** Auromin-fenol ve Gram boyama ile *B.henselae*'nin ışık ve fluoresans mikroskop görüntüleri.

- (a) Gram boyama yöntemi ile *B.henselae*'nin hücre kültüründe ışık mikroskobu altındaki görüntüsü.
- (b) Auromin-fenol ile *B.henselae*'nin fluoresans mikroskop altındaki görüntüsü.

## 2.2. Vero hücre kültürü serilerinin ko-kültürasyonu

Vero hücreleri Ankara Refik Saydam Hıfzısıha Merkezi Başkanlığı Viroloji Laboratuvarı'ndan temin edildi. Güvenlik kabini içinde, önceden 25 cm<sup>2</sup>'lik flasklar içinde üremiş Vero hücrelerinin içinde bulunduğu besiyeri ortamı steril bir enjektör yardımıyla boşaltıldı. Flasklar içindeki hücreler steril PBS ile çalkalanarak yıkandı. Ölü olan hücreler yıkanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Flask yüzeyine tutunmuş olan sağlıklı hücreler, flask içine 2 ml tripsin ilave edilerek 3 yada 5 dakika boyunca tripsin ile muamale edildi. Flask yüzeyine tutunmuş olan matür sağlıklı hücrelerin besiyeri ortamı içine dökülmesi sağlandı. Besiyeri ortamındaki sağlıklı hücreler üzerindeki tripsin maruziyetinin giderilmesi için, 100 ml EMEM (Eagle's Medium), 10 ml FCS (Fetal Calf Serum), 2 ml L-glutamin, kullanıma hazır 1ml HEPES solüsyonu ve 0.4 ml amfoterisin-B kullanılarak hazırlanan hücre büyüme solüsyonundan 7 ml alınarak 25 cm<sup>2</sup>'lik flasklar içine konuldu. Hücrelerin içinde bulunduğu süspansiyon sıvısı steril kapaklı bir tüpe aktarıldı ve 25 °C'de 1000 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstte kalan süpernatant sıvı, güvenlik kabini içinde steril pasteur pipeti yardımıyla dışarı atıldı. Geri kalan hücre pelleti üzerine önceden hazırlanan 2 ml büyüme solüsyonu konuldu. Vorteks yardımı ile hücre pelleti resüspanse edildi. Resüspanse edilmiş olan hücreler steril pasteur pipeti yardımıyla 6 adet 25 cm<sup>2</sup>'lik steril flasklar içerisine aktarıldı. Hücre süspansiyonu bulunan 25 cm<sup>2</sup>'lik flasklara 5'er ml önceden hazırlanan büyüme solüsyonu konuldu. Hücrelerin bir kısmı EMEM, FCS ve Dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılarak hazırlanan koruyucu solüsyon içinde -80°C'de saklandı. Flasklar içine alınan hücreler 37°C'de %5-10 CO<sub>2</sub> içeren, nemli ortam sağlayan etüvde 24. ve 48. saate kadar inkübe edildi. Hücreler invert mikroskop altında X400 büyütmede incelenerek tek tabakalı hücre dizisi oluşuna kadar inkübasyona devam edildi.

Hücrelerin tek tabaka oluşumu sağlandıktan sonra, %5 defibrine at kanlı BHI agar besiyerinde canlandırılmış olan *B.henselae* ATCC 49882 (Houston-1) ve *B.bacilliformis* KC583 (ATCC 35685) kökeni, BHI buyyonu ile süspanse edildi. Bakteri süspansiyonundan 100 µl alınarak tek tabaka

halinde hücre içeren 25 cm<sup>2</sup>'lik flasklar içinde ko-kültivasyona alındı. Bu hücreler 37°C'de %5-10'luk CO<sub>2</sub> ve nem sağlayan etüvde bir hafta inkübe edildi.

### **2.3. Antijenlerin inaktivasyonu ve teflon lamlara kaplanması**

Ticari olarak satın alınmış olan teflon kaplı lamlar deterjan ve musluk suyu ile uygun şekilde yıkandıktan sonra %96'lık etanol içeren şale içinde 10 dakika bekletildi. Hava akımı altında uygun şekilde kurutulan lamlar kullanıma hazır hale getirildi.

İnkübasyonda bırakılmış hücreler, *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'in üreme kontrolü ve olası bakteri ve küf kontaminasyonu için güvenlik kabini (Tip II) steril pasteur pipeti yardımıyla lam üzerine alınarak gram boyama ile değerlendirildi. Bakteri ya da küf kontaminasyonunun olmadığı görüldü.

Hücreler güvenlik kabini (Tip II) içinde steril pasteur pipeti yardımıyla steril cam tüplere alındı. Benmari içinde 56°C'de 30 dakika su banyosunda bekletilerek *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'in antijenlerinin inaktivasyonu sağlandı. Güvenlik kabini 100 µl'lik pipet yardımıyla inaktive edilmiş antijen süspansiyonundan 10'ar µl alınarak, her birinde on kuyucuk bulunan 2.5x7.5 cm boyutlarındaki teflon kaplı lamlar üzerine antijenler konuldu. Lamlar hava akımı yardımıyla oda ısısında kurumaya bırakıldı. Kurutulmuş olan lamlar, soğutulmuş aseton kullanılarak -20°C'de 15 dakika tespit edildi. Antijen kaplı lamların aseton ile tespitinden sonra lamlar saklama kabı içinde -70 °C'de çalışma süresine kadar saklandı.

### **2.4. IFAT ile antikor saptanması**

Çalışma kapsamına alınan serum örneklerine Regnery ve ark.'nın oluşturduğu Bartonella antijenlerinin teflon kaplı lamlara tespiti ve antikorların IFAT tekniği ile saptanması protokolu uygulandı (53).

*B.henselae*'ya ve *B.bacilliformis*'e karşı antikor varlığı indirekt fluoresans antikor tekniği ile araştırıldı. Çalışmada, patolojik ve klinik olarak BA tanısı almış hasta serumu seropozitif serum örneği kullanıldı. Bu testte total IgG/A/M antikorları kalitatif olarak değerlendirildi. İmmünofluoresans yöntem ile +2 pozitiflik seropozitiflik olarak değerlendirildi.

Çalışma başlangıcında, -20°C'deki dondurucudan alınan serum örneklerinin 15-30 dakika oda ısısında bekletilerek çözümleri sağlandı. Vortekslenerek homojenize edildi. Fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ile yağ alınmış süt tozunun %5'lik çalışma dilüsyon solüsyonu hazırlandı.

IFAT testi serum örneklerinin 1/64 tarama, dilüsyonunda Vero hücrelerinde kokültivasyon ile elde edilen *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antijenleri kullanılarak yapıldı.

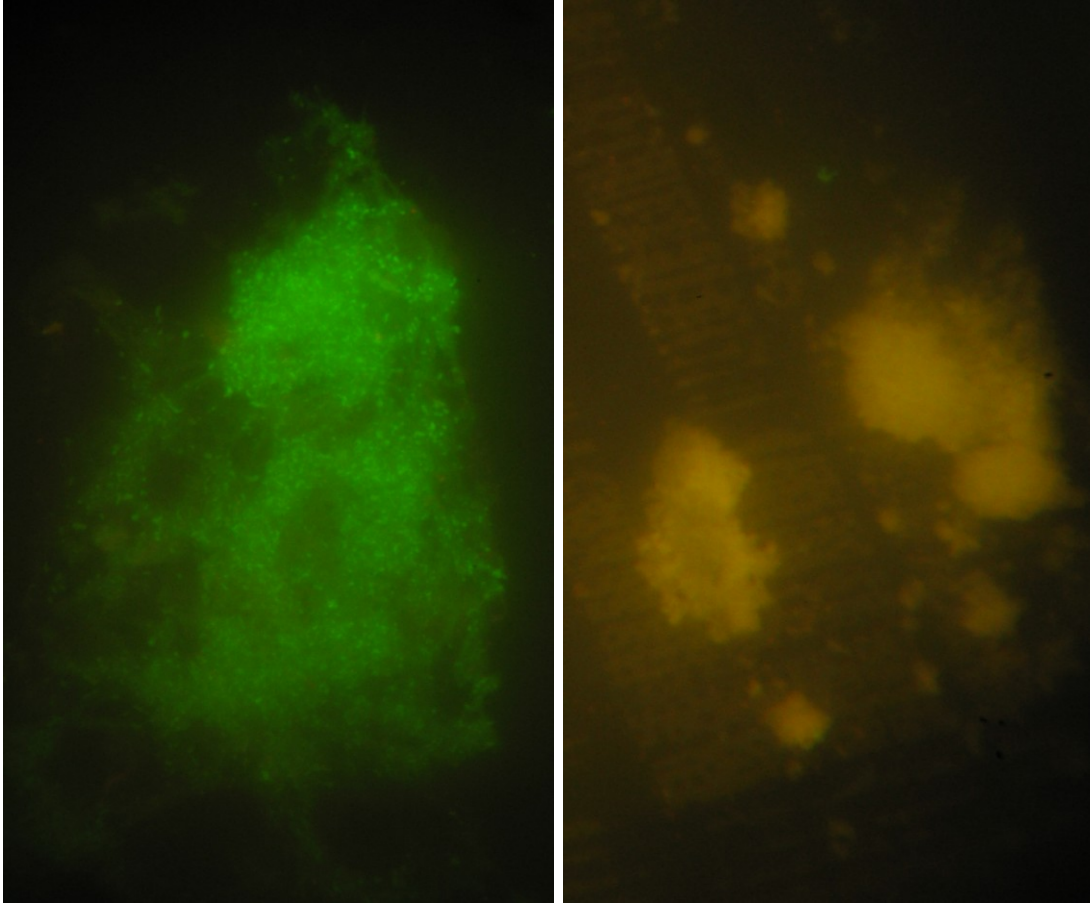
Çalışmaya alınan serum örneklerinin 1/64 tarama dilüsyonu, PBS ile hazırlanmış % 5'lik süt tozu kullanılarak sağlandı. Önceden hazırlanmış ve -70°C'de saklanmış olan antijen kaplı teflon lamalar karanlık ortamda yavaş bir şekilde çözünmesi beklenilerek oda ısısına getirildi. Dilüe edilmiş olan serum örneklerinden otomatik pipet yardımıyla 25'er µl alınarak teflon kaplı lamalar üzerindeki kuyucuklara konuldu. Karanlık ve nemli ortamda 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında lamalar, cam şale içinde tween 20 içeren PBS ile beş dakika yıkamaya bırakıldı. Yıkamadan sonra, lamalar hava akımı yardımıyla uygun şekilde kurutuldu. Sonraki aşamada, ticari olarak satılan fluorescein isothiocyanate (EUROIMMUN ALMANYA) ile konjüge edilmiş keçi kökenli anti-human IgG/A/M konjugatı teflon lamalar üzerindeki her kuyucuğa 20'şer µl konuldu. Lamalar karanlık ve nemli ortamda 37°C'de 30 dakika tekrar inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra lamalar, içine 60 µl Ewans blue ve tween 20 eklenen PBS ile dolu şale içinde beş dakika yıkamaya bırakıldı. Lamalar uygun şekilde hava akımı yardımıyla kurutulduktan sonra, her kuyucuğa 10 µl tamponlu gliserol konuldu. Hava kabarcığı kalmayacak şekilde lamel ile kapatıldı. *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'in antikorları 1/64 dilüsyonda pozitif kabul edilen

serumların sırsıyla 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024, 1/2048'e kadar ardışık dilüsyonları çalışılarak değerlendirildi.

### **3. Floresans mikroskop ile değerlendirme**

Örneklerin değerlendirilmesi Regnery ve ark.'nın tarif ettiği immüno fluoresans antikor yöntemi uygulanarak yapıldı (53, 156). Toplam 450 serum örneğinde *B.henselae* ve *B. bacilliformis'* e karşı oluşmuş IgG/A/M tipindeki antikorlar araştırıldı.

Floresans mikroskop ile önce X100 büyütmede incelenecek alan bulundu. *B.henselae* ve *B.bacilliformis'* e karşı oluşmuş IgG/A/M tipindeki antikorlar için X400 büyütmede değerlendirme yapıldı. Çalışmada patolojik ve klinik olarak BA tanısı almış hastanın serumu pozitif kontrol olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol benzeri yeşil floresans veren örnekler seropozitif olarak değerlendirildi. Serum örneklerinin incelenmesinde önceden tanımlanmış, subjektif olarak floresans yansıma şiddeti göz önüne alınarak 0'dan +3'e kadar spesifik immüno fluoresans skorlaması yapıldı (101). *B.henselae* için  $\geq 1/64$  dilüsyondaki +2 pozitiflik, seropozitiflik olarak kabul edildi (121). Negatif kontrol benzeri kırmızı refle veren yada hiç refle vermeyen örnekler ise seronegatif olarak değerlendirildi (Şekil 3).



**Şekil 3:** Vero hücre kültüründe ko-kültüre edilen *Bartonella bacilliformis* ATCC 35685 (KC583) kökeni ile hazırlanan lamaların IFAT ile fluoresans mikroskopi (~900x) değerlendirmesi.

- (a) pozitif (+++) reaksiyon;
- (b) negatif reaksiyon

İstatistiksel analiz SPSS Ver 16.0 (Statiscal Package for the Social Science, Chicago, ABD, 2007) programı ile yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde  $\chi^2$ , Fisher'in kesin  $\chi^2$ , Mann-Whitney U ve "univariate" analiz testleri kullanıldı. İstatistiksel hata payı 0.05 kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya Denizli kuzey kırsal bölgesinde yaşayan risk grubu olarak düşünülen 477 sağlıklı yetişkin gönüllü alındı. Taramaya alınan 477 serum örneğinden 1/64 titrede 210 hastada (%44.0) *B.henselae* seropozitifliği, 60 hastada (%12.6) *B.bacilliformis* seropozitifliği bulundu (Tablo 1). Her iki bakteriye karşı antikor 27 (%5.7) gönüllüde saptandı.

Tablo-1: Araştırmada *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitifliği.

	<i>B.henselae</i> (N=477)		<i>B.bacilliformis</i> (N=477)	
	N	%	n	%
Pozitif	210	44.0	60	12.6
Negatif	267	56.0	417	87.4
Toplam	477	100.0	477	100.0

*B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitif saptanan olgularda dilüsyon oranları çalışıldı. Veriler Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo-2: *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflik dilüsyon oranlarının dağılımı.

Dilüsyon oranları	<i>B.henselae</i> pozitiflik oranları (N=210)		<i>B.bacilliformis</i> pozitiflik oranları (N=60)	
	N	%	n	%
1/64	128	26.8	43	9.0
1/128	66	13.8	12	2.5
1/256	13	2.7	5	1.0
1/512	3	0.6	1	0.2

Çalışmaya alınan 4 farklı bölgede seropozitifliklerin dağılımı istatistiksel farklılık göstermedi ( $p>0.05$ ). Odds oranları *B.henselae* için bölgelere göre Çal'da 0.76, Baklan'da 0.96, Denizli Merkez'de 0.31, Bekilli'de 0.21 bulundu. *B.bacilliformis* için Odds oranları bölgelere göre Çal'da 0.49, Baklan'da 0.39, Denizli Merkez'de 0.74, Bekilli'de 0.07 olarak hesaplandı (Tablo 3).

Tablo-3 Bölgelere göre *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitifliği (N=477)

Bölge	N	<i>B.henselae</i>		<i>B.bacilliformis</i>	
		N	%	n	%
Çal	313	141	29.5	38	7.9
Baklan	78	43	9.0	9	1.9
Denizli Merkez	55	18	3.8	11	2.3
Bekilli	31	9	1.8	2	0.4
Toplam	477	210	44.0	60	12.6

*B.henselae* seropozitifliği cinsiyetler arasında farklılık göstermezken ( $p>0.05$ ); erkeklerde *B.bacilliformis* antikorları daha yüksek saptandı (Tablo 4;  $p=0.03$ ).

Tablo- 4: *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'in cinsiyete göre seropozitiflikleri.

Cinsiyet	N	<i>B.henselea</i>		<i>B.bacilliformis</i>	
		N	%	n	%
Erkek	242	111	23.3	38	7.9
Kadın	235	99	20.7	22	4.7
Toplam	477	44.0	44.0	60	12.6

Çalışmaya alınan gönüllü kişilerin meslekleri gruplandırıldı ve seropozitiflik oranları tablo 5'de gösterildi. Veteriner teknisyenlerinde *B.bacilliformis* seropozitiflikleri daha yüksekti ( $p<0.05$ ). Her iki mikroorganizmaya karşı antikor varlığı 6 veteriner teknisyeninden 2'sinde (%0.4), 3 orman işçisinin 1'inde (%0.2), 22 veterinerin 1'inde (%0.2), 18 çobanın 1'inde (%0.2) ve 401 çiftçinin ise 23'ünde (%4.8) pozitif olarak bulundu.



Tablo -5: *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'in mesleklere göre seropozitiflikleri.

Meslek	N	<i>B.henselae</i>		<i>B.bacilliformis</i>	
		n	%	n	%
Çiftçi	401	174	36.5	46	9.6
Veteriner	22	12	2.5	6	1.3
Çoban	18	6	1.3	4	0.8
Hayvancılık	9	3	0.0	0	0.0
Emekli	8	6	1.3	0	0.0
Veteriner teknisyeni	6	2	0.4	3**	0.6
Kasap/celep	4	3	0.6	0	0.0
Orman işçisi	3	3	0.6	1	0.2
Diğer *	6	1	0.2	0	0.0
Toplam	477	210	44.0	60	12.6

\* Öğrenci, temizlik görevlisi, işçi; ( \*\*p<0.05)

Çalışmaya alınan kişilerin yaş ortalamalarına göre *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri değerlendirildi (Tablo 6).

Tablo-6: *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'in yaş gruplarına göre seropozitifliklerinin dağılımı.

Yaş grubu	N	<i>B.henselae</i>		<i>B.bacilliformis</i>	
		N	%	n	%
10-19	16	7	1.5	1	0.2
20-29	56	25	5.2	11	2.3
30-39	116	45	9.4	16	3.3
40-49	146	56	11.7	20	4.1
50-59	83	44	9.2	5	1.0
60-69	40	25	5.2	6	1.3
70-79	15	7	1.4	1	0.2
80 ve üstü	5	1	0.2	0	0.0
Toplam	477	210	44.0	60	12.6

*B.henselae* antikor varlığı yaş grupları arasında istatistiksel farklılık gösterdi. 50-69 yaş grubunda daha yüksek oranda *B.henselae* antikorları saptandı (p=0.02). *B.bacilliformis* için antikor varlığı gruplar arasında farklılık göstermedi (p>0.05).

Çalışmaya alınan gönüllülerin pire temaları sorgulandı. Veriler tablo 7'de gösterilmektedir. *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antikorlarının gruplar arasında istatistiksel farklılığı bulunmadı (p>0.05).

Tablo-7: Pire teması ile *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitifliklerinin karşılaştırılması.

Pire temas öyküsü	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	n	%	n	%	n	%
Pire teması var	333	143	30.0	190	40.0	36	7.5	297	62.3
Pire teması yok	144	67	14.0	77	16.0	24	5.1	120	25.1
Toplam	477	210	44.0	267	56.0	60	12.6	417	87.4

Araştırmaya alınan gönüllülerin kene ile temaları sorgulandı. *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antikorları gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi (Tablo 8).

Tablo-8: Kene teması ile *B. henselae*, *B.bacilliformis* seropozitifliklerinin karşılaştırılması.

Kene ile temas	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	n	%	n	%	n	%
Kene ile temas var	153	57	12.0	9	20.0	10	2.1	143	30.0
Kene ile temas yok	324	153	32.0	171	36.0	50	10.5	274	57.4
Toplam	477	210	44.0	267	56.0	60	12.6	417	87.4

Kene ile teması olan olgularda hem *B.henselae*'ya, hem *B.bacilliformis*'e karşı seropozitiflik yüksek oranda saptandı (*B.henselae* için p= 0.04, *B.bacilliformis* için p= 0.009). İstatistiksel olarak anlamlı farklılık

gösterdi. Kene ile teması olan gruplar arasında her iki türe karşı antikor pozitifliği 6 kişide pozitif bulundu (%1.3).

Çalışmaya alınan kişilerin tatarcık maruziyetleri sorgulandı. Karşılaştırmalı veriler Tablo 9'da gösterildi.

Tablo-9: Tatarcık maruziyeti ile *B.henselae*, *B.bacilliformis* seropozitifliklerinin karşılaştırılması.

Küpdüşen tatarcık, yakarca	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	N	%	n	%	n	%
Evet	429	184	38.6	245	51.4	49	10.3	380	79.7
Hayır	48	26	5.4	22	4.6	11	2.3	37	7.7
Toplam	477	210	44.0	217	56.0	60	12.6	417	87.4

Tatarcık maruziyetlerine göre kıyaslandığında *B.henselae* için istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülürken ( $p=0.02$ ) *B.bacilliformis* için istatistiksel farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Çalışmaya alınan gönüllülerin kronik hastalıkları açısından *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri değerlendirildi. Hiçbir hastalığı bulunmayan 360 kişiden 154 (%32.2) tanesinde *B.henselae* seropozitifliği, 46 (%9.6) tanesinde ise *B.bacilliformis* seropozitifliği saptandı. Kronik hastalığı (kalp hastalığı, DM, HT vb.) bulunan (N=117) hastalarda *B.henselae* seropozitifliği 56 (%11.7) hastada, *B.bacilliformis* seropozitifliği 14 (%2.9) hastada saptandı. Bu veriler arasında istatistiksel farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Kronik hastalığı olan (DM, HT, KKY, KAH, v.b.) ve bu hastalıklara bağlı olarak sürekli ilaç kullanma öyküsü olan kişilerde *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri değerlendirildi. Sürekli ilaç kullanma öyküsü bulunan 96 gönüllüden 44'ünde (%9.2) *B.henselae*, 14'ünde ise (%2.9) *B.bacilliformis*'e karşı antikor bulundu. İlaç kullanım öyküsü olmayan 381 gönüllüden 166'sında (%34.8) *B.henselae*, 46 (%9.6) tanesinde *B.bacilliformis*'e karşı antikor bulundu. Bu verilerle *B.henselae* ve

*B.bacilliformis* grupları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Çalışmada son beş yılda ahır hayvancılığı yapanlar arasında *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri değerlendirildi. Ahır hayvancılığı yapan 433 gönüllünün 193'ünde (%40.5) *B.henselae*, 51'inde (%10.7) *B.bacilliformis* antikoru pozitif bulundu. Ahır hayvancılığı yapmayan 44 gönüllünün 17'sinde (%3.5) *B.henselae*, *B.bacilliformis* ise 9'unda (% 1.8) seropozitifliği bulundu. Bu verilerle gruplar arasında istatistiksel farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ).

Çalışmaya alınan yetişkin gönüllülerin hayatları boyunca saç, vücut, kasık, saç ve vücut bitlenmelerinin olup olmadığı sorgulandı. *B.henselae* ve *B.bacilliformis* grupları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı. Her iki türe karşı antikor seropozitifliği bitlenme olan kişilerde 10 (%2.1), bitlenme olmayanların 17'sinde (%3.6) bulundu ( $p>0.05$ ). İstatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Tablo-10: Bitlenme ile *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'in seropozitiflikleri.

Bitlenme	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	N	%	n	%	n	%
Saç	151	71	14.9	80	16.8	17	3.6	135	28.4
Vücut	21	11	2.3	10	2.1	2	0.4	17	3.6
Saç ve vücut	2	2	0.4	0	0.0	1	0.2	1	0.2
Hayır	303	126	26.4	177	37.1	40	8.4	263	55.2
Toplam	477	210	44.0	267	56.0	60	12.6	416	87.4

Araştırmaya alınan gönüllülerin hayatlarının herhangi bir döneminde uyuzla temaslarının olup olmadığı soruldu. Veriler tablo 11'de gösterilmektedir. Gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Tablo -11: Uyuz geçirme ile *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'in seropozitiflikleri.

Uyuz geçirme	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	N	%	n	%	n	%
Var	18	10	2.1	8	1.7	3	0.6	15	3.1
Yok	459	200	41.9	259	54.3	57	12.0	402	84.3
Toplam	477	210	44.0	217	56.0	55	12.6	417	87.4

Araştırmaya alınan gönüllülerin evcil hayvanlarla temasları sorgulandı. *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antikoru gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermedi ( $p>0.05$ ). Veriler tablo 12'de gösterilmektedir.

Tablo-12: Evcil hayvanlarla temas ile *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri.

Evcil hayvanlarla temas	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	N	%	n	%	n	%
Var	132	50	10.5	82	17.2	15	3.1	117	24.5
Yok	345	160	33.5	185	38.8	45	9.5	300	62.9
Toplam	477	210	44.0	267	56.0	60	12.6	417	87.4

Çalışmada gönüllülerin son beş yıldı yabancı hayvanlarla teması ve hayatlarının herhangi bir döneminde yabancı hayvanların ısırması veya tırmalaması öyküleri sorgulandı (Tablo 13). *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antikoru gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermedi ( $p>0.05$ ).

Tablo-13: Son beş yıldı yabancı hayvanlarla temas ve yabancı hayvanların ısırması ve tırmalamasının *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri.

Son beş yıldı yabancı hayvanlarla temas, ısırma	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	N	%	n	%	n	%
Temas var	131	61	13.0	68	14.4	22	4.6	109	22.8
Temas yok	346	148	31.0	198	41.6	38	8.0	308	64.6
Isırma var	17	9	1.9	8	1.7	0	0.0	17	3.5
Isırma yok	460	201	42.1	259	54.3	60	12.6	400	83.9

Araştırmaya alınan kişilerden avcılık yapanların 83'ünün (%17.4) 33'ünde (%6.9) *B.henselae*, 17'sinde (%3.6) *B.bacilliformis* antikoru saptandı. Avcılık yapmayan 394 kişinin 177'sinde (%17.1) *B.henselae*, 15'inde (%3.1) *B.bacilliformis* antikoru saptandı. Avcılık yapanlarda *B.bacilliformis* istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ( $p=0.04$ ). Her iki mikroorganizmaya karşı bireylerin 6'sında (%1.3) seropozitiflik bulundu. *B.henselae* antikoru gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermedi ( $p>0.05$ ).

Çalışmada gönüllülerin yaşadıkları alanlar sorgulandı. Yaşadıkları alanda sulak alanların, çay, baraj, çay ve baraj her ikisinin birlikte bulunup bulunmaması gibi sorular soruldu. *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri sorgulandı. Sulak alanlarda yaşayan kişilerde *B.henselae* antikoru daha yüksek bulundu ( $p=0.006$ ). *B.bacilliformis* için gruplar arasında farklılık görülmedi. *B.henselae* seroprevalansı yaşam alanında sulak alan bölgelerinde yaşayanlarda daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). İstatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Tablo 14).

Tablo-14: Sulak alan varlığında *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri.

Yaşadıkları bölgede sulak alan	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	N	%	n	%	n	%
Sulak alan var	361	172	36.0	189	39.6	45	9.4	316	66.2
Sulak alan yok	116	38	8.0	78	16.4	15	3.2	101	21.2
Toplam	477	210	44.0	267	56.0	60	12.6	417	87.4

Çalışmaya alınan gönüllü kişilerin yaşam özellikleri sorgulandı. Sigara, alkol kullanımının sıklığı, ne kadar zamandır kullandıkları *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri değerlendirildi. Elde edilen verilerle yaşam özellikleri açısından değerlendirildiğinde sigara ve alkol kullanımının *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antikoru gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermedi ( $p>0.05$ ).

Yurt dışına seyahat öyküsü olan 60 (%12.6) kişinin 28'inde (%5.9) *B.henselae*, 6'sında (%1.3) ise *B.bacilliformis* antikoru pozitif saptandı. *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antikoru gruplar arasında farklılık göstermedi ( $p>0.05$ ).

Araştırmaya alınan kişilere hayatlarının herhangi bir döneminde geriye dönük hayvancılık yapıp yapmadıkları soruldu. *B.bacilliformis* seroprevalansı eskiden hayvancılık yapan kişilerde de yüksek saptandı ( $p=0.006$ ). İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi (Tablo 15).

Tablo-15: Geriye dönük hayvancılık varlığında *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri.

Geriye dönük hayvancılık hikayesi	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	N	%	n	%	n	%
Var	452	200	42.0	252	52.8	52	11.0	400	83.8
Yok	25	10	2.0	15	3.2	8	1.6	17	3.6
Toplam	477	210	44.0	267	56.0	60	12.6	417	87.4

Çalışmada yer alan kişilerin ev dışında açık alanlarda kalması, yaralanması sorgulandı. Bu veriler *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antikoru açısından değerlendirildi. Veriler tablo 16'da gösterilmektedir. Kişilerin açık alanlarda yaralanma ve açık alanlarda bütün gün boyunca kalma *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antikoru gruplar arasında istatistiksel farklılık göstermedi ( $p>0.05$ ).

Tablo-16: Ev dışında açık alanlarda kalma ve yaralanmada *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitifliği.

Ev dışında açık alanlarda yaralanma, kalma	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	N	%	n	%	n	%
Yaralanma var	349	153	32.0	196	41.0	46	9.6	303	63.5
Yaralanma yok	128	56	12.0	72	15.0	14	3.0	114	23.9
Kalma var	342	150	31.4	192	40.3	44	9.2	298	62.5
Kalma yok	135	60	12.6	75	15.7	16	3.4	119	25.1

Gönüllülerin tarım yapmaları, tarımda kaç saat çalıştıkları ve hangi saat aralıklarında çalıştıkları ve bu çalıştıkları saat aralıklarında tatarcık maruziyetleri sorgulandı. Bu verilerde istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Çalışmaya alınan gönüllülerin sulak tarım yapmaları ile *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri değerlendirildi . Veriler Tablo 17’de gösterildi.

Tablo-17: Sulak tarım yapma ile *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri.

Sulak tarım	N	<i>B.henselae</i>				<i>B.bacilliformis</i>			
		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
		N	%	n	%	n	%	n	%
Evet	235	131	27.5	104	21.8	30	6.3	205	43.0
Hayır	242	79	16.5	163	34.2	30	6.3	212	44.4
Toplam	477	210	44.0	267	56.0	60	12.6	217	87.4

Bu veriler ışığında gönüllülerin sulak tarım yapıyor olmaları *B.henselae* açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ( $p=0.009$ ).



## TARTIŞMA

Bu araştırmada Denizli kuzey kırsal bölgesinde yaşayan yerel halk arasında *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'in neden olduğu bartonelloz için risk oluşturan meslek gruplarında etkenlere karşı oluşan seroprevelansın saptanması ve irdelenmesi amaçlandı. Risk grupları; meslek, yaşadıkları bölge, yaşam özellikleri gibi faktörlere göre oluşturuldu. Evde hayvan besleme, geçmişe yönelik hayvancılık yapma, sulak bir alanda yaşama ve tarım ile uğraşma, çalışma saatleri, çalışma saatlerinin uzunluğu ve gün içindeki dağılımı incelemeye alındı. Gönüllülerin tatarcık, bit ve kene maruziyetleri sorgulandı. Yaşam özellikleri avcılık, yurt dışına gitme hikayeleri incelendi.

Dünya'da farklı bölgelerde insanlarda *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'e yönelik yapılan seroprevelans taramaları değişkenlik göstermektedir. Kırsal alanda yaşayan insanlarda yapılan taramalarda *B.henselae* seroprevelansı Hırvatistan'da %57.3, Doğu Çin'de %19.6, Ürdün'de %11, Yunanistan'da %19.8, Girit'te %15.9, Çin'de Tianjin bölgesinde %9.6, İspanya'da %11.9, İspanya'nın Sevilla bölgesinde %24.7, İtalya'da %61.6, Kanada'da %36.5, Amerika Birleşik devletlerinde %0.8-9.3, Brezilya'da %13.7 Avusturya'da %65, Polonya'da %48.3 ve Tayland'da %5.5 oranında saptanmıştır (1, 101, 103, 113-119, 122, 166-172, 173). Kırsal bölgelerde *B.bacilliformis* için seroprevelans oranları Ekvador'da %21, Peru'da Amazon kıyısına yakın bölgede %55, And dağlarında % 63.6 ve %12.7 Urubamba'da %6.1 bulunmuştur (71, 72, 74, 111, 174). Sunulan araştırmada Denizli kuzey kırsal bölgesinde *B.henselae* seropozitifliği %44.0, *B.bacilliformis* seropozitifliği %12.6 olarak bulundu. Bu oranlar *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seroprevelansının çalıştığımız bölgedeki pozitiflikleri hakkında fikir vermektedir. Kaçar ve arkadaşları immünkompetan kronik hepatiti olan HIV negatif bir olguda Basiller anjiomatoz tanısını Warthin-starry boyası kullanarak klinik ve histopatolojik olarak koymuşlardır (126). Aydoğan ve arkadaşları HIV seronegatif ve kedilerle teması olmayan 23 yaşında anjiomatöz lezyonları olan bir olguda retikülin gümüş boyası ve klinikle basiller anjiomatöz tanısı alan hastayı tanımlamışlardır (127). Yılmaz ve

arkadaşları yaptıkları çalışma ile sağlıklı kan donörlerinde *B.henselae* seroprevelansını %6 olarak belirlemişlerdir. Çalışma Pamukkale Üniversitesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Merkezi kan bankasına başvuran sağlıklı 800 gönüllüden alınan serum örnekleri ile yapılmış. Değerlendirmede IFA ile antikor titresi araştırılmıştır (131).

IFA ile yapılan seroprevelans taramalarında CDC önerileri doğrultusunda 1/64 ve üzeri dilüsyonlar *Bartonella spp.*'de pozitif kabul edilmektedir (55). Araştırmamızda CDC önerileri doğrultusunda 1/64 ve üzeri dilüsyonlar yapıldı. Dilüsyonla yapılan araştırmalarda Holmberg ve arkadaşları sağlıklı 126 kan donöründe IFA'da 1/64 ve üzerini pozitif kabul etmişlerdir. *B.henselae* antikorlarını 8 hastada 1/64'de, 4 hastada 1/128'de pozitif saptamışlardır (123).

İsveç'te araştırmacılar 322 sağlıklı kan donöründe *Bartonella spp.* oranını 1/64 dilüsyonda %6.8 bulmuşlardır (171). İtalya'da araştırmacılar *B.henselae* antikorları 508 çocuktan 1/64 dilüsyonda %61.6, 1/256 dilüsyonda %8.3 1/512 dilüsyonda %2.4 1024 dilüsyonda %0.6 1/ 2048 dilüsyonda %0.2 pozitif bulunmuştur (119). Pons ve arkadaşlarının *B.henselae* antikorları seropozitifliğini IFA yöntemi kullanarak saptadığı araştırmada 218 hastada dilüsyon oranları çalışılmıştır. Katılımcıların 1/64 dilüsyonda %4.6, 1/128 dilüsyonda %1.8, 1/256 dilüsyonda %1.8 ve 1/512 dilüsyonda %0.4 seropozitiflik saptanmıştır (118). Chamberlin *B.bacilliformis* antikorlarının IFA tekniğiyle saptanması ve geliştirilmesi için yaptığı çalışmada dilüsyon oranlarını 1/32 ile başlayıp 1/1028 ile sonlandırmıştır (71). Tokyo'da 197 üveitli, 83 sağlıklı gönüllüden *B.henselae* antikorları 1/64, 1/1024 dilüsyonları yapılarak %21.4 oranında bulunmuştur. Bu çalışmada Kedi tırmığı hastalığı olan bir hastada 1/64 dilüsyonda, birinde 1/1024 dilüsyonda pozitif saptanmıştır (175). Ancak bazı çalışmalarda tarama amaçlı tek dilüsyon yapılmıştır. Hırvatistan'da ve Brezilya'da yapılan taramalarda dilüsyon oranları 1/64 ile sınırlı kalmıştır. İleri dilüsyon oranları yapılmamıştır (103, 117). Sunulan taramada serum oranları 1/64, 1/128, 1/256 ve 1/512 oranlarında seyreltildi. Gönüllülerin 128'inde 1/64, 66'sında 1/128, 13'ünde

1/256, 3'ünde 1/512 dilüsyonda *B.henselae* antikorları pozitif bulundu. *B.bacilliformis* seroprevelans amaçlı taramada ise dilüsyonları 43 kişide 1/64, 12 kişide 1/128, 5 kişide 1/256 ve 1 kişide 1/512'de seropozitiflik saptandı.

Bölgeler arasındaki seropozitiflik oranlarında farklılık bulunmakla birlikte bölgeler arasında fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0.05$ ). Taramanın yapıldığı bölgeler coğrafik konumu, bu bölgelerde hayvancılık ve tarım yapılması gibi özelliklerine göre 4 farklı bölgeye ayrıldı. Bölgelere göre seropozitiflik oranları *B.henselae* için Çal'da %29.5, Baklan'da %9.0, Denizli Merkez'de %3.8, Bekilli'de %1.9 bulunurken *B.bacilliformis* oranları Çal'da %7.9, Baklan'da %1.9, Denizli Merkez'de %2.3, Bekilli'de %0.3 olarak saptandı. Çin Halk Cumhuriyeti'nde Tianjin bölgesinde 2008 yılında yedi farklı bölge ve sekiz ayrı çiftlikte sağlıklı 365 tarım işçisinde yapılan epidemiyolojik çalışmada seropozitiflik oranı *B.henselae* için %9.6 olarak bulunmuştur. Çalışmada *B.henselae* dışında vektörlerle bulaşan diğer hastalıklar da gözden geçirilmiştir. Bu mikroorganizmalar; *Coxiella burnetti* (%6.4), *Rickettsia typhi* (%4.1), *Anaplasma phagocytophilum* (%8.8)'dur. Seropozitiflik dağılımına göre bölgeler değerlendirildiğinde *B.henselae*' için (%22.9) Tanngu bölgesinde istatistiksel olarak farklılık gözlenmiştir. Xiqing bölgesinde *B.henselae* oranı %16.7 ve Jinnan bölgesinde ise %12.7 bulunmuştur. Oranların yüksek bulunduğu bölgelerin düşük irtifa, Sarı Deniz'e yakınlık, pek çok nehrin bu bölgelerde yer almaları ve liman şehri olmaları gibi özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Bu bölge özelliklerinin pireler ve diğer vektörler için ortama uyum sağlamayı ve bu bölgede kalmayı kolaylaştırabildiği araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (122). Çin'in doğu bölgelerinde *B.henselae* seroprevelansının ve risk faktörlerinin belirlenmesi için Sun ve ark.ları tarafından yapılan başka bir araştırmada ise oran %19.6 bulunmuştur. Çalışmaya 556 kişi alınmış 205 kuduz kliniğine başvuran hastalar ve 351 sağlıklı gönüllüdür. Sekiz farklı bölgeden toplanan serumlar IFA ile değerlendirilmiş ve yaşam bölgeleri arasında pozitiflik oranları farklı bulunmuştur. Hangzhou (%32.3), Tiantai (%25.9) ve Longyou (%22) bölgelerinde diğer bölgelere göre daha yüksek seropozitiflik oranları tespit edilmiştir. Jianghsan bölgesinde ise düşük pozitiflik (%2) oranları tespit

edilmiştir. Araştırmacılar bölgeler arasında ki pozitiflik oranlarındaki farklılığın bu bölgelerdeki köpek ısırılmaları ve temasının yüksek olmasıyla açıklanabileceğini belirtmişler, bölgesel özellik belirtmemişlerdir (166). Hırvatistan'da Brodsko ve Posavka şehirlerinde sağlıklı populasyonda *B.henselae* seroprevelansı araştırılmış. Serum örnekleri rastgele seçilmiş 54 kan donörü ve 46 çocuktan toplanmış. Son altı ayda ateş ve lenfadenopati öyküsünün bulunması dışlanma kriteri olarak kabul edilmiş. Yaş, cinsiyet, ikamet ettikleri bölge ve kedilerle temas bilgileri sorulmuş. Serum örnekleri Zagreb üniversite hastanesi enfeksiyon hastalıkları seroloji laboratuvarında değerlendirilmiş. *B.henselae* IgG antikoru IFA ile değerlendirilmiş. 1/64 ve üzeri pozitif olarak kabul edilmiş. Çalışmaya alınan çocukların yaş ortalaması (3-18) 11.4, kan donörü olan yetişkinlerin (19-65) 42.8 olarak hesaplanmıştır. *B.henselae* IgG seropozitifliği çocuklarda 19(%41.3), yetişkinlerde ise (%57.4) olarak bulunmuş. İki grup arasında İstatistiksel farklılık görülmemiş. Kedi ile teması olan 54 kişiden 29'unda pozitif bulunmuş. İkamet ettikleri bölgenin kentsel alanda yaşayan 63 kişiden 27'si (%42.9), kırsal alanda yaşayan 37 kişiden 23'ü (%62.2) pozitif olarak bulunmuş. Karşılaştırılan veriler arasında İstatistiksel farklılık bulunmamış. Araştırmacılar bulunan yüksek oranı çalışmanın yapıldığı bölgenin sıcak ve nemli olması nedeniyle potansiyel vektörler için bir yaşam alanı olabileceğini öne sürmüşler. Hırvatistan'ın kuzeyine düşen bölgenin ikliminin ılıman olması *B.henselae* seropozitiflik oranını yüksek olmasını etkilemiş olabileceği düşünülmüş. Bizim çalışmamızda bulunan yüksek *B.henselae* oranları Hırvatistan'da yapılan çalışma ile korele olarak saptandı. Çalışılan alanın iklim benzerlikleride önemlidir. *B.bacilliformis* için bu değer istatistiksel farklılık gösterdi. Bizim çalışmamızda ki bölgeler Hırvatistan'da yapılan araştırmada olduğu gibi kırsal bölgelerdir. Bu açıdan değerlendirildiğinde *B.henselae* oranının çalışma bölgelerimizde yüksek olması beklenmelidir (117). Brezilya'da Minas Gerais eyaletinde çalışmaya 3 farklı bölge alınmıştır. Bu bölgeler şehirlerin etrafında yer alan küçük kasabaların ve çoğunlukla küçük çiftliklerin olduğu alanlardır. En yüksek oran Piau şehrinde gönüllülerin toplanan serumlarının hepsinde (%100) ile *B.henselae* antikoru tespit edilmiştir (103). Pons ve arkadaşları İspanya'nın kuzeyinde sahil kıyısına yakın 11 belediyeden oluşan

ağırlıklı olarak kentsel yerleşimli Katalonya bölgesinde 218 sağlıklı kişide IFA ile yapılan seroprevalans çalışmasında *B.henselae* kentsel alanda %8.3, yarı kırsal alanda %11.9 saptanırken kırsal alanda antikor saptanamamıştır. Bu çalışmada seropozitiflik açısından bölgesel farklılık görülmemiştir (118). Sunulan çalışmada bölgeler arasında Çal bölgesinde *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflik oranları daha yüksek bulundu. En düşük oran Bekilli bölgesinde saptandı. Saptanan düşük oran Bekilli bölgesinde hayvancılığın daha az yapılması ve Bekilli'nin coğrafi yapısından dolayı sulak tarım yapmak için elverişli olmamasıyla ilişkilendirildi. Bekilli bölgesinde geçim kaynağı daha çok şarapçılıktır. Çal ve Baklan bölgesinde sulak tarım yapmak için arazi elverişlidir. Her iki bölgede de hayvan sayısı fazladır. Küçükbaş ve büyükbaş hayvancılık yaygın şekilde yapılmaktadır. Baklan ve Çivril ovaları tarım havzası olarak kullanılmaktadır. Bu havzada tarlalarda sulama yapılmaktadır. Bu bölgelerde *B.henselae* yüksekliği bu nedenlerle ilişkilendirildi.

*B.bacilliformis* dünyada özellikle yüksek irtifanın olduğu Peru, Kolombiya, Brezilya ve Ekvador'da yaygın olarak bulunmaktadır. Sadece yüksek irtifanın değil ayrıca iklim özellikleri, vektörlerin dağılımının da epidemiyolojide etkili olduğu bilinmektedir. (4, 73). Dünyada yapılan farklı epidemiyolojik çalışmalarla *B.bacilliformis* seroprevalansı belirlenmiştir. Amano ve arkadaşları Ekvador'da 224 kişide 5 farklı kasabada *B.bacilliformis* seroprevalansını araştırmışlardır. Kasabalardan ikisinin irtifası denize yakın, üçü daha yüksek alanda bulunmaktadır. İrtifası denize yakın olan kasabalarda oran %21 olarak bulunmuştur (111). Sunulan çalışmadaki ki bölgelerde yer alan köyler, dağ köyleri ve ova köyleridir. Ancak köylerde yaşayan kişilerin arasında köylere yerleşme ve çalışma için yer değiştirme eğiliminin fazla olması nedeniyle seropozitifliğin bölgesel olarak değerlendirilmesinin uygun olmadığı düşünüldü.

Demografik veriler göz önüne alındığında cinsiyetler arasında *B.henselae*'da istatistiksel farklılık görülmezken, Erkeklerde *B.bacilliformis* antikorları daha yüksek oranda pozitif bulundu. Bu farklılığın erkek

katılımcıların kadınlara göre yaşam koşullarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü. Erkek katılımcıların tarlada daha uzun süre kalmaları, çalışma yerlerini değiştirmeleri, ev dışında açık alanda kalmalarının etkili olabileceği düşünüldü. İspanya'da 119 erkek ve 99 kadın gönüllüde *B.henselae* antikorlarını saptadıkları çalışmada cinsiyetler arasında istatistiksel farklılık görülmemiştir (118). Yine Tayland'da *B.henselae* antikorlarının seroprevelansının araştırıldığı çalışmada 57 erkek ve 106 kadın arasında pozitiflik oranları erkeklerde %7.0, kadınlarda %4.7 bulunmuştur. *B.henselae* antikor pozitifliklerinin cinsiyetler arasında farklılığı saptanmamıştır (113). Çin Halk Cumhuriyeti'nin doğu bölgelerinde 2010 yılında *B.henselae* seroprevelansı için yapılan taramalarda seropozitiflik oranları kadınlarda %20.9, erkeklerde %18.6 saptanmıştır. Ancak bu farklılık dikkate alınmamıştır (166). Tea ve arkadaşları Yunanistan'da kentsel alanda yaşayan ve Ahepa Üniversitesi kan bankasına başvuran 500 sağlıklı yetişkin ve çocuktan topladığı örneklerde *B.henselae* ve *B.quintana* seroprevelansını araştırmıştır. Çalışmada 263 erkekten 57'si (%21.7) *B.henselae*, 41'i (%15.6) *B.quintana*, 237 kadından 42'si (%17.7) *B.henselae*, 34'ü (%14.3) *B.quintana*'da seropozitif bulunmuştur. Cinsiyetler arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır (115). Hırvatistan'da toplamda seropozitiflik oranı 50 (%50) kişiden oluşmuş. 67'si erkek 33'ü kadın olan gönüllülerin seropozitiflik oranları erkeklerde 35 (%52.2), kadınlarda 15 (%45.5) olarak bulunmuş. Araştırmacılar istatistiksel farklılık belirtmemişlerdir. *B.bacilliformis*'in endemik görüldüğü Peru'da yapılan çalışmada kadınların seropozitiflik (%58.7) oranının genel popülasyonun seropozitiflik (%50) oranına göre yüksek bulunmuş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Erkeklerde seropozitiflik oranının (%41.3) daha düşük olmasının örneklerin alındığı tarihlerde erkek katılımcıların kırsalda çalışıyor olmasına ve bu nedenle erkek katılımcılara ulaşamamasının oranın düşük olmasını etkileyebileceği ifade edilmiştir (71). Araştırmamızda erkek katılımcıların sulak tarımda daha fazla çalışmaları, sulama yapmak için günlerce tarlada yatmaları, hayvanların otlak ve meralarda otlatılmasını ve bakımını yapmalarının *B.bacilliformis* seropozitifliğinin yüksek olmasını etkilemiş olabileceği düşünüldü.

Bu çalışmada risk oluşturan meslek gruplarında çalışan kişilerin *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seroprevalansının tespit edilmesi amaçlandı. Meslek grupları değerlendirildiğinde *B.henselae* seropozitifliğinde gruplar arasında istatistiksel farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ). Veteriner teknisyenlerinde *B.bacilliformis* seropozitifliğinin yüksek olduğu saptandı ( $p=0.02$ ). Veterinerler kendi meslek grubu içerisinde değerlendirildiğinde pozitiflik oranları *B.henselae*'da %54, *B.bacilliformis*'te %33 olarak bulundu. Benzer şekilde Ohio'da Noah ve arkadaşları potansiyel risk grubunda *Bartonella spp.* enfeksiyonunda serolojik ve epidemiyolojik bir çalışma yapmışlardır. Ohio'da yapılan çalışmada risk grubu olarak veterinerler, veteriner teknisyenleri ve veterinerlikle ilişkili işlerde çalışan toplam 351 gönüllüden serum toplanmıştır. Ohio'da veteriner fakültesinde düzenlenen toplantıda serum örnekleri alınarak IFAT çalışılmıştır. Antikor varlığı hem *B.henselae* hem de *B.quintana* için oran %7.1 aynı olarak belirlenmiştir. Noah ve arkadaşları antikor seropozitifliği yüksekliğini kedilerle yoğun ve sık temas, ayrıca bit, kedi piresi (*Ctenocephalides felis*) gibi vektörlerle temasın yoğun olarak gerçekleşmiş olması gibi sebeplerle ilişkilendirmişlerdir (109). Veterinerlerin çalıştıkları alanların sıklıkla çok sayıda ve kırsal alanlardan oluşması, açık alanlarda geçirdikleri sürelerin uzunluğu, hayvanlarla temasın çok sayıda ve sıklığının fazla olması gibi etkenlerin çalışmamızda da oranın yüksek olmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir. Kikuchi ve arkadaşları Japonya'da 48 kedi tırmığı hastalıklı, 159 kardiyovasküler hastalıklı ve 129 sağlıklı veteriner öğrencisinden aldıkları serum örneklerinde *B.henselae* antikor pozitifliğini araştırdıkları çalışmada Kedi tırmığı hastalığı bulunan 48 hastanın 19'unda (%39.6) *B.henselae* IgG, 4'ünde (%8.3) *B.henselae* IgM antikor pozitifliği bulunmuştur. Kardiyovasküler hastalığı bulunan 159 hastada ise, 5 (%3.1) *B.henselae* IgG pozitif saptanmıştır. Risk grubu olarak 129 sağlıklı veteriner öğrencinin 14'ünde *B.henselae* IgG (%10.9), 1'inde (%0.8) *B.henselae* IgM antikor pozitifliği bulunmuştur. Kedi tırmığı hastalığı olan hastalardaki antikor pozitiflik oranları diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek izlenmiştir (108). Kumasaka 2001 yılında Japonya'da profesyonel olarak veterinerlik yapan 233 veterinerin *B.henselae* seropozitifliğini ELİSA yöntemi ile 155 sağlıklı yetişkinde araştırmıştır. Tokyo ve Chiba şehrinde yapılan araştırmada negatif

kontrol grubu olarak, kedi tırmığı hastalığı ve antikor titreleri  $200 \geq$  olan 5 kişi pozitif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Negatif kontrol grubu olan 155 kişiden 148'i seronegatif, seropozitif 5 kişiden 2'sinde ise antikor titresi  $400 >$ 'ün üstünde tespit edilmiştir. Uzman veteriner olarak çalışan 233 kişiden 35'inin (%15) pozitif olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar uzman veterinerler arasında genç kadın veterinerlerin seropozitiflik oranının erkek veterinerlere göre daha yüksek olduğunu izlemişlerdir (107). Bu çalışmada kadın veteriner hekim sayısı oldukça az olduğundan böyle bir değerlendirme yapılamadı. Tayvan'da kedi tırmığı hastalığının epidemiyolojisinin araştırılması için 2006 yılında risk grubu olarak değerlendirilen veterinerlikle ilişkili işlerde çalışan 295 kişi ve eş zamanlı olarak 131 kediden tam kan ve serum örnekleri toplanmış. Çalışma örneklerinin 114'ü 2002 yılında Tayvan'da Veteriner konferansında, 81'i Chung Hsing veteriner fakültesi hastanesinde, 1 tanesi profesyonel olarak veterinerlik yapan ve *Leptospira* enfeksiyonu olan, geri kalanı ise Tayvan üniversitesinde 29 klinik çalışanı, 55 veteriner öğrencisi, 16 tanesi veteriner teknisyeni olarak çalışan kişilerden oluşmuştur. Toplanan örneklerin 100'ü serum, 195'i tam kan örneğidir. Çalışmada yöneltilen sorular demografik, mesleki riskleri ortaya çıkarmak yapılandırmak ve ilişkilendirilmek amacıyla hazırlanmıştır. Tayvan'da yapılan bu çalışmada sadece insan popülasyonu değil aynı zamanda kedilerde ki oranı da saptamak amaçlanmıştır. 131 kedi örneği Mart 2001 ile Mayıs 2003 tarihleri arasında toplanmıştır. Kedilerden alınan örnekler Tayvan'da 3 farklı gruptan toplanmıştır. 30'u sahipli kedi, 37'si Tainan (Güney Tayvan) şehrindeki kedi üretme çiftliğinde, 64'ü Taipei şehrinde belediye hayvan koruma barınağındaki kedilerden alınmıştır. Kedilerden ve insanlardan serum ve tam kan örnekleri toplanmıştır. Yapılan çalışmada örnekler PCR ve IFA ile değerlendirilmiştir. PCR ile 44'ü kedi tam kan örneği, 107'si insan tam kan örneği; IFA ile 100'ü insan serumu 87'si kedi serumu olarak çalışılmış. IFA ile antikor titresi  $1/32$ 'den başlanıp  $1/512$ 'ye kadar devam etmiştir. IFA'da lamalar kaplanırken *B. henselae* tip 1 (Houston-1 ATCC 49882) IFA skoru 2 olanlar ve antikor titresi  $1/64$  olanlar pozitif olarak kabul edilmiştir. PCR /RFLP ile sitrat sentaz geni (*glfA*) kullanılarak *Bartonella spp* varlığı gösterilmiştir. PCR ile *B.henselae* tip 1 (Houston-1 ATCC 49882), *B.henselae* tip 2 ve



*B.clarridgeiae* (ATCC 51734) genleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak veteriner ilişkili işlerde çalışan kişilerin hiçbirinde (107 serum örneği) *Bartonella spp* tespit edilememiştir. IFA çalışılan örneklerin 5'inde (%1.7) *B.henselae* seropozitifliği bulunmuştur. Seropozitif bulunan kişilerin hepsinin son 6 ayda kedi ve köpeklerle yakın teması olduğu belirtilmiş. 131 kediden 25'inde (%19.1) *Bartonella spp.* pozitifliği bulunmuştur. %9.2'sinde *B.henselae* Tip1 ve Tip2 pozitif bulunmuş, IFA ile %23.7'si *B.henselae* Tip1'e (Houston-1ATCC 49882) karşı antikor saptanmıştır. 12'si bakteriyemik olan kedilerde ise *B.henselae* tip 2 IFA ile saptanamamış, ancak 9'u seropozitif olarak bulunmuştur. Seropozitif bulunan 5 kişinin demografik verilerine bakıldığında 3'ü klinik çalışanı 2'si veteriner öğrencisi, 5'nin son 6 ayda tırmalandığı veya ısırıldığı, seropozitif olanların tamamının evinde kedi veya köpek beslediği, klinikte çalışma süresine göre ise 2'sinin 0-3 yıl, 2'sinin 4-10 yılı 1'inin 21-30 yıldır klinikte çalışmakta olduğu bulunmuştur. İstatistiksel olarak farklılık hepsinin evinde kedi veya köpek beslemesi ve bunlar tarafından ısırılma veya tırmalanma öyküsünün pozitif olmasıymış. Bizim çalışmamızda sorgulanan kedi ve köpek teması istatistiksel farklılık göstermedi. Bunun sebebi olarak evin içinde kedi, köpek beslemek yerine dışarıda ve açık alanda yaşayan hayvanlarla kısa süreli temaslara açıklanabileceği düşünüldü. (106). Chmielewski farklı insan popülasyonlarında *Bartonella spp.* varlığını araştırmıştır. Çalışmaya evsiz alkolikler, veterinerler, intravenöz ilaç kullanıcıları ve kedi yetiştiricileri alınmıştır. *Bartonella spp.* oranı evsiz alkoliklerde %48.3, veterinerlerde %45, kedi yetiştiricilerinde %53.3 saptanırken, intravenöz ilaç kullanıcılarında %0 saptanmıştır (1).

Çalışmamızda yer alan diğer meslek gruplarında da farklı oranlarda seropozitiflikler saptanmıştır. Doğa ortamında uzun süre çalışan vektörlerle sıklıkla temas eden çiftçilerde *B.henselae* seropozitifliği %36.5 iken *B.bacilliformis* seropozitifliği %9.6; çobanlarda *B.henselae* seropozitifliği %1.3 *B.bacilliformis* seropozitifliği %0.8 olarak bulundu. Çin Halk Cumhuriyeti'nde Tianjin bölgesinde 2008 yılında sağlıklı 365 tarım işçisinde yapılan epidemiyolojik çalışmada *B.henselae* oranı %9.6 olarak saptanmıştır. İşçilerin çalıştıkları çiftlikler at, koyun, domuz ve otlaklarda sığır otlatılan çiftliklerdir. Bu tarım işçilerindeki *B.henselae* oranları sığır otlatanlarda

%79.8, süt sağanlarda %14.5, paketlemede çalışanlarda %2.9 ve veterinerlerde ise %1.7 olarak bulunmuştur (122). Avusturya'da Viyana şehrinde hayvanat bahçesinde çalışan işçilerde yapılan bir seroprevalans taramasında *B.henselae* oranı sağlıklı 120 işçide %65 olarak bulunmuştur. Bu oranın yüksekliğine hayvanlarla uzun süre temasın neden olabileceği ileri sürülmüştür (172). Sunulan araştırmada iftilerde *B.henselae* antikorları yüksek bulundu. Bu gruptaki yüksekliğin nedeni olarak; taramaya katılan ifti gönüllülerin sadece tarım değil aynı zamanda hayvancılık yapmalarının da etkili olabileceği düşünüldü. Bölgesel zellikler göz önüne alındığında hemen her evde büyükbaş veya küçükbaş hayvan bulunması, bu hayvanların bakımını ve beslenmesini çiftçilerin yapmasından dolayı Avusturya'daki çalışmaya benzer şekilde pozitiflik oranları bulunmuştur. Bu durumda uzun süreli temas bölgemizde de yüksek oranlara yol açmış olabilir. Kosek ve ark. 2000 yılında *B.bacilliformis*'in endemik olmadığı popülasyonda *B.bacilliformis* enfeksiyonunun doğal seyrini araştırmıştır. Kosek bu taramada Peru'da Amazon nehrinden 1372 metre yükseklikte bulunan Chachapoyas şehrini seçmiştir. Bu bölge Utcubamba nehrinin kıyısında yer alan bir vadide kurulu olup yarı tarımsal küçük alanlardan oluşmuş bir bölgedir. Toplanan serum rnekleri IFA (*B.bacilliformis* ATCC 510) ile değerlendirilmiş ve serum örneklerinin %55'i seropozitif bulunmuştur. Araştırmada rneklem küçük olan grup yaşlı, erkek ve tarımla uğraşan kişilerden oluşmuştur (72). Peru'da Chamberlin'in yaptığı çalışmada *B.bacilliformis* oranı %12.7 bulmuştur. Chamberlin alışmasında *Bartonellosis*'in endemik olarak görüldüğü Peru'da dağlar ve ovalarda yerleşim gösteren 1600 metre yükseklikte And dağlarında yer alan 4 kasabada yürütmüştür. Çalışmaya alınan ailelerin geçim kaynakları ise daha çok tarım ve hayvancılıktır. Chamberlin'in bulduğu oran sunmakta olduğumuz çalışmamız da *B.bacilliformis* antikorlarının pozitif bulunduğu risk gruplarındaki oranla benzerlik göstermektedir (71).

Artropod temasının *B.henselae* ve *B.bacilliformis* bulaşmasında rol olabileceğine dair veriler elde edilmiştir (6, 34, 112). Araştırmamız sonucunda kenelerle ve tatarcık temasında *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri istatistiksel olarak farklılık göstermiştir. Kenelerde hem *B.henselae* hem de

*B.bacilliformis*'de istatistiksel farklılık görülürken, tatarcıkta *B.henselae*'da istatistiksel farklılık görüldü (kenelerde *B.henselae*'da  $p= 0.04$ , *B.bacilliformis*'te  $p= 0.009$ , tatarcık *B.henselae*'da  $p=0.02$ ). Kaliforniya'da 2002 yılında Chang ve ark. *Bartonella* DNA'sını baz alarak farklı kene türlerinden yaptıkları PCR çalışmasında 1253 keneden 29'unda farklı kene türlerinden *Bartonella* DNA'sını izole etmişlerdir. Kenelerin 254'ünde (%11.4) *Bartonella spp.*'i DNA'sını pozitif bulmuştur. *Bartonella* DNA'sı *Ixoides pacificus*, *I.ricinus*, *Dermacentor occidentalis*, *D.variabilis* türü kenelerden izole edilmiştir (34). 2010 yılında Angelakis ve ark'larının dünyada kene popülasyonu verilerini karşılaştırdıkları çalışmada benzer sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmada *Bartonella spp.* için *I.pacificus*, *B.bacilliformis* için *I.ricinus*, *B.henselae* için *I.pacificus* gibi farklı kene türlerinden bartonella DNA'sı izole edilmiştir. Bu çalışma ile *Bartonella* ve türlerinin bulaşında potansiyel vektör olarak kenelerin rolünü araştırmışlardır. PCR yöntemini kullanarak kenelerden *Bartonella spp.*, *B.henselae*, *B.bacilliformis*, *B.quintana*, *B.vinsonii subsp.berkhofii* ve *B.tamiae*'nin DNA'sını başarıyla izole etmişlerdir. Angelakis bu çalışma ile *Bartonella* türlerinin insanlara ve hayvanlara bulaşında kenelerin önemli bir vektör olabileceğini ileri sürmüştür. Dünyanın farklı bölgelerinde kenelerden izole edilen *Bartonella spp.* DNA'larının olması *B.bacilliformis*, *B.henselae* ve diğer *Bartonella* türlerinin DNA'sını taşıyan kenelerin dünyanın her yerinde olabileceğini göstermiştir (6, 34). İmmünitesi normal olan kişilerden *Bartonella spp.* izolasyonu yapmak oldukça zordur. İzolasyon için serolojik, moleküller ve patolojik yöntemlerin hepsinin bir arada kullanılması gerekmektedir. Breitschwerdt ve arkadaşları 2007 yılında immünitesi normal olan ancak artropod ve hayvan teması olan 42 kişinin kan ve serum örneklerini toplayarak *Bartonella spp.* izole etmeye çalışmışlardır. *Bartonella spp.* izolasyonu immünitesi normal olan kişilerde serolojik, patolojik ve moleküller olarak başarısızdır. Çalışma Kasım 2004 ile Haziran 2005 tarihleri arasında Kuzey Karolina üniversitesinde yapılmış. Kişilere yaş, cinsiyet, hayvanlarla temas ve ısırılma hikayeleri, açık alanda aktivitede bulunmaları, artropodlarla temas, seyahat ve tıbbi geçmişi sorulmuştur. *Bartonella spp.* varlığının gösterilmesi için IFA, kültür ve PCR yöntemi kullanılmıştır. Bakteriyal izolasyonda PCR amplifikasyonundan

sonra 7 gün boyunca kanlı agarda ve zenginleştirilmiş kültür materyalinde (BAPGM) subkültüre edilmiş. Çalışmaya alınan 42 kişinin 14'ünde *B.henselae* ve *B.vinsonii subspecies berkhoffii* tespit edilmiş. 12'si kadın ve 2'si erkek olan kişilerin yaş aralığı 30-53 yaş arasında değişmekte ve hepsinin 10 yıl ve daha öncesinde hayvan teması bulunmaktaymış. 13'ünde kedi, 12'sinde köpekle temaslarının günlük olduğu belirlenmiş. Bütün katılımcıların hayvanların ısırması veya tırmalaması özellikle kedi teması ve artropod maruziyeti; pirelenmek, kene, akarlar, bit, sinek ısırması, sivrisinek teması olduğu rapor edilmiş. Geriye dönük klinik semptomları sorgulanmış. Klinik semptomları arasında halsizlik, miyalji, artralji, ataksi, paraestezi ve baş ağrıları görülmüş. IFA ile 1/64 ve üzeri seropozitif olarak kabul edilmiş. Katılımcıların 8'inde seropozitiflik bulunmuş. Başlangıç olarak *Bartonella* DNA'sının amplifiye edilmesi 3'ü tam kan örneğinden, 7'si zenginleştirilmiş besiyerinden, 4'ü de subkültürlerden izole edilmiş. 5 kişide sonuçlar başlangıçta yapılan PCR ve kültüre göre negatifmiş. Amplifiye edilen *Bartonella* DNA'larının 11'i kan örneklerinden 13'ü zenginleştirilmiş kültürden ve 5'i de kültürden izole edilmiş. PCR ile başlangıçta DNA amplifikasyonu sadece 3 kişide, 5 kişide zenginleştirilmiş kültüre ihtiyaç duyulmuş kalan 5'inde ise örneklerin ardışık olarak zenginleştirilmiş ekimlerle tanısı konmuş. Çalışmada amaçlanan PCR ve zenginleştirilmiş kültürle immünkompetan hastalarda okült *Bartonella* enfeksiyonları saptamaktır. Sonuç olarak çalışmada PCR yöntemini kullanarak yaptıkları izolasyon çalışmalarında *B.henselae* ve *B.vinsonii subsp berkhoffii*'yi 14 örnekten izole etmişlerdir. IFA ile 8 seropozitiflik saptamıştır (112). Bu oranının Chomel ve arkadaşlarının 2003 yılında Amerika'da yaptıkları çalışmadaki, sağlıklı kişilerde %3, veterinerlerde %7.1lik oranlarla korele olmamasının sebebini ise *Bartonella spp*'deki antijen farklılıklarından kaynaklanabileceğini ileri sürerek açıklamışlardır (112, 168). Araştırmacılar *Bartonella spp.* izole ettikleri 14 kişide artropod temasının olduğunu vurgulamışlardır. Buradan yola çıkarak *Bartonella spp.* bulaşında kenelerin rolü ispatlanmamış olsa da kene teması olan insanlardan ve kenelerden *Bartonella* DNA'sının izole edilmesinin önemi vurgulanmıştır (6, 31, 112). Bizim çalışmamızda da kene teması olanlarda *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'te istatistiksel farklılık görülmesi çalışmanın

yapıldığı alanda kene popülasyonunun *Bartonella spp.* izolasyonu yönünden değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir. Yılmaz ve arkadaşlarının Pamukkale Üniversitesi hastanesi Kan Bankası'na başvuran 800 sağlıklı kan donöründe yaptıkları çalışmada *B.henselae* oranı %6.0 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada demografik veriler, artropod teması, yaşam özellikleri sorgulanmıştır. Kenelerle temas, tavşan besleme ve yurt öğrencilerinde istatistiksel farklılık görülmüştür (131). Araştırmamızda benzer şekilde kene temasında istatistiksel farklılık görülmesi Denizli'nin kırsal bölgelerindeki kenelerde *Bartonella spp.* taşıyıcılığının bulunabileceğini düşündürmektedir.

Yaş grupları değerlendirildiğinde, *B.henselae* pozitifliğinin 50-69 yaş grupları arasında istatistiksel farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. *B.bacilliformis*'te ise yaş gruplarında istatistiksel farklılık görülmemiştir. 2010 yılında Çin'de doğu bölgelerinde *B.henselae* seroprevalansının ve risk faktörlerinin belirlenmesi için yapılan araştırmada oran %19.6 bulunmuş. Çalışmaya 556 kişi alınmış bunların 205'i kuduz kliniği olarak adlandırılan kliniğe başvuran hastalarken, 351'i sağlıklı kişilerden oluşmuş. Sekiz farklı bölgeden Aralık 2005 ile Kasım 2006 tarihleri arasında toplanan serumlar IFA ile değerlendirilmiş. Katılımcıların yaşadıkları bölgeler, yaş, cinsiyet ve köpek ısırmasına maruziyetleri sorgulanıp kaydedilmiş. Antikor titreleri yükseldikçe köpek ısırmasının önemli olduğu belirtilmiş. Yüksek antikor titrelerinin akut enfeksiyonlarda önemli olduğu vurgulanmış. 317 erkekte seropozitiflik %18.6, 239 kadında %20.9 bulunan oranın birbirine benzer olduğu söylenmiş. Yaş seropozitiflikleri ise anlamsız olarak ifadelendirilmiş. Yaş grupları arasında %26.9'luk oranla 45-59 yaş grubunda en yüksek oran bulunmuştur (166). Hırvatistan'da yapılan çalışmada 19-65 yaş arasındaki *B.henselae* oranı %57.8 bulunmuştur (117). Yunanistan'da Tea ve ark. 2002 yılında *B.henselae* ve *B.quintana*'nın sağlıklı kişilerde ki varlığı araştırılmış. Serum örnekleri Haziran 2002 ile Ağustos 2002 tarihleri arasında Ahepa üniversitesi hastanesinin kan bankasına  $\beta$  talasemi taraması için başvuran yaşları 2-60 arasında değişen kentsel alanda yaşayan 500 kişiden toplanmış. Son altı ayda klinik olarak lenfadenopati ve ateş hikayeleri sorgulanmamış. Yaş, cinsiyet ve kedi temasları sorgulanmış ve gruplandırılmış. 263'ü erkek, 237'si

kadın olmak üzere cinsiyet için iki grup, 2-14 yaş (n=152), 15-29 yaş (n=138), 30-50 yaş (n=119), >50 yaş (n=91) dört grup, kedi temasları için kedi sahibi olan 150 kişi, kedi ile teması olan 165 kişi, hiçbir şekilde kedi teması olmayan 185 kişiden oluşan üç grup oluşturulmuş. Serum örnekleri IFA ile değerlendirilmiş. Test kitleri üretici firmadan (Focus Technologies Cypress CA) temin edilmiş. *B.henselae* ve *B.quintana*'ya karşı oluşan IgG antikorları için 1/64 ve IgM antikorları için 1/20 titrelerine göre pozitiflik kabul edilmiş. 500 serum örneğinden 99'unda (%19.8) *B.henselae* IgG, 75'inde (%15) *B.quintana* IgG ve 62'sinde (%12.9) her iki türe karşı IgG seropozitifliği saptanmış. Serum örneklerinin hiçbirinde IgM saptanamamıştır. Gruplar arasında İstatistiksel olarak farklılık bulunmamış. Erkeklerde seropozitiflik *B.henselae*'da %21.7, *B.quintana*'da %15.6, kadınlarda *B.henselae* %17.7, *B.quintana*'da %14.3 olarak bulunmuş. Yaş gruplarında İstatistiksel farklılık bulunmamış. Antikor titreleri arasında İstatistiksel farklılık bulunmuş. *B.henselae*'da kedi teması olanlarda *B.quintana*'ya göre daha yüksek titreler anlamlı kabul edilmiş. 2-14 yaş grubu ile 31-50 yaş grubunda antikor titreleri daha yüksek bulunmuş. Çalışmada çapraz reaksiyon kedi teması olanlarda daha yüksek bulunurken hayatları boyunca kedi teması olmayanlarda ise çapraz reaksiyon oluşmamış. Araştırmacılar üretici firmaların temin ettiği kitlerin *Bartonella spp.* türlerini ayırtmede yeterli olmadığını vurgulamışlardır. Kedi teması olan ve olmayan kişiler arasında farklılık saptanamamış olmasının Sander ve arkadaşlarının çalışmalarıyla tezatlık oluşturmuş gibi dursada bu durumun antikor titreleri yükseldikçe kedi temasının önem kazanmasıyla açıklanabileceğini belirtmişlerdir. Sonuçta Yunanistan'da yapılan çalışmada 2-14 (%6.8) ve 31-50 (%6.2) yaş grubunda oranlar yüksek bulunmuştur(115, 167). Kuzey İspanya'da yapılan çalışmada ise yaş, cinsiyet ve diğer veriler karşılaştırıldığında istatistiksel farklılık 30-44 yaş grubunda saptanmıştır (118).

Peru'da Kosek ve arkadaşları *B.bacilliformis* seropozitifliğinin 55 yaş ve üzerinde %85.1 saptamışlardır (72). Bu oranın yaş ile arttığını, *B.bacilliformis* seropozitifliğinde istatistiksel farklılığa neden olduğunu belirtmişlerdir. Chamberlin ve arkadaşlarının 2 yıl süreli yaptıkları prospektif kohort

çalışmasında yaşları 1-90 arasında olan katılımcılarda çocuk yaş grubunda, yaş arttıkça seropozitifliğin arttığı saptanmıştır. Bu artışı çocuk yaş grubunda *B.bacilliformis* ile temasın artmasına, *B.bacilliformis*'e karşı oluşan immüntenin gelişmesine ve *B.bacilliformis*'in endemik olduğu bölgede uzun süre ikamet edilmesine bağlamışlardır (71). Şili'de 181 çocuk ve adolosenda *B.henselae* seropozitifliği %13.3, 107 kedi yetiştiricisinde ise %10.3 saptanmıştır (170). Ürdün'de 482 çocukta *B.henselae* oranı %11 bulunmuştur. Yaş gruplarında istatistiksel farklılık 7-10 yaş arasında saptanmıştır (114). İtalya'da yaşları 6 ay-18 yaş arasında değişen 508 çocukta *B.henselae* seroprevalansı araştırılmış. Çalışmaya alınan çocukların diare, astım, solunum sistemi enfeksiyonları ve akut adenit gibi hastalıkları mevcutmuş. IFA ile hasta serumlarında *B.henselae*'ya karşı IgG ve IgM antikorlarında pozitiflik oranı %61.6 bulunmuş (119). Yılmaz ve arkadaşlarının gönüllü kan donörlerinde yaptığı seroprevalans taramasında *B.henselae* seropozitifliği 21-30 yaş grubundaki kişilerde yüksek oranda (%48.3) saptanmıştır. Bununla beraber yaş grupları arasında istatistiksel farklılık görülmemiştir (131). Pons ve arkadaşları 2008 yılında Kuzey İspanya'da sahil kıyısına yakın 11 belediyeden oluşan ağırlıklı olarak kentsel olan Catalonia bölgesinde 218 sağlıklı kişiden serum örnekleri toplamışlar. Toplanan örnekler rastgele küçük cerrahi yaralanmalar veya pediatrik acile başvuran kişilerden oluşmuş. IFA kullanılarak yapılan seroprevalans çalışmasında *B.henselae* kentsel alanda %8.3, yarı kırsal alanda %11.9, kırsal alanda %0 olarak bulunmuş. Çalışmada istatistiksel farklılık 30-64 yaş grubunda bulunmuş (118). Araştırmamızda sunulan verilerde yaş gruplarında ki oran *B.henselae*'da istatistiksel farklılık gösterdi. Bu veriler Türkiye'de yapılan ilk verilerdir. Çalışmamıza çocuk yaş grubu alınmamasının en önemli nedenlerinden biri risk grubu olarak değerlendirilen işlerde çocukların çalışmamasıdır.

Çalışmamızda avcılık yapanların 83'ünün (%17.4) 33'ünde (%6.9) *B.henselae*, 17'sinde (%3.6) *B.bacilliformis* antikorları bulunmuştur. Avcılık yapanlarda *B.bacilliformis* istatistiksel olarak farklılık gösterdi (p=004). İsveç'te demografik ve epidemiyolojik veriler doğu Avrupa'ya seyahat, ev dışında açık

alandaki 1 hafta ve daha uzun süre kalma, fare yetiştiriciliği yapmak, kedilerle temas *B.elizabethae* seropozitiflik oranının yüksekliğiyle ilişkilendirilmiştir (124). Bizim çalışmamızda avcılık yapanlarda *B.bacilliformis*'in istatistiksel farklılığında uzun süre ev dışında açık alanlarda kalma, artropod maruziyetinin artması, av için değişik bölgelere seyahat, avlanılan hayvandan bulaşın *B.bacilliformis* bulaşında ve seroprevalansında etkili olabileceği düşünüldü. Sunulan araştırmanın yapıldığı bölge coğrafik özellikleri nedeniyle yabani kuşlar, tilki, balık, domuz, tavşan ve diğer vahşi hayvanların bulunduğu bir bölgedir. Avcılık yılın belli zamanlarında ve belli alanlarda yapılmaktadır. Bu nedenle avcılık yapanlar 1 hafta ve bazen daha uzun süre ev dışında açık alanlarda kalmaktadırlar. Avcılar doğada uzun süre hayvanlarla temas halindedirler ve vektörlerle temasta artmaktadır. Avcılık yapanlarda *B.bacilliformis* seroprevalansının yüksekliği bu nedenlerle ilişkilendirilmiştir.

Araştırmamız sonucunda sulak alanlarda yaşayan kişilerde *B.henselae* antikoru daha yüksek bulundu ( $p=0.006$ ). *B.bacilliformis* için gruplar arasında ise istatistiksel farklılık gösteren yükseklik saptanmadı. *B.henselae*'ya karşı seroprevalansın sulak yaşam alanlarında yaşayan ve tarım yapanlarda istatistiksel olarak yükseklik gösterdi ( $p=0.006$ ). Çalışma için seçtiğimiz alan Denizli kuzey kırsalında bulunan bölgededir. Bu alanda Büyük Menderes nehrinin geniş kollarından biri yer almaktadır. Bu nehrin üzerine kurulu barajın olması, nehirden sulama amaçlı kullanım için neredeyse bütün bölgeyi kapsayan kanalların varlığı tatarcık gibi vektörlere yaşam alanları için zemin oluşturması açısından önemlidir. Benzer şekilde Çin Halk Cumhuriyeti'nde Tianjin bölgesinde sağlıklı 365 tarım işçisinde yapılan epidemiyolojik çalışmada oran *B.henselae*'da %9.6 olarak bulunmuştur. Oranların yüksek bulunduğu bölgeler düşük irtifa, Sarı Deniz'e yakınlık, pek çok nehrin bu bölgelerde yer almaları ve liman şehri olmaları gibi özelliklere sahiptir. Bu bölge özellikleri pireler ve diğer vektörler için ortama uyum sağlamayı ve bu bölgede kalmayı kolaylaştırabilir. Tianjin bölgesinin de ekolojik ve epidemiyolojik olarak bu bulaşa zemin hazırladığı düşünülmüştür (122). Araştırdığımız bölge Büyük Çökelez dağı (1840 metre),



Sazak dağı (1143 metre), Beşparmak Dağı (1307 metre) ile çevrili bir alandır. Bu bölgede Denizli'nin yüksek ovalarından olan Çivril ve Baklan ovası yer almaktadır. Coğrafik özellikleri ile Kosek ve arkadaşlarının Peru'da 1372 metre yükseklikte bulunan Chachapoyas şehrinde Utcubamba nehrinin kıyısında yeralan bir vadide yarı tarımsal küçük alanlarda yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermektedir. Kosek yaptığı çalışmada *B.bacilliformis* oranını %55 olarak bulmuştur. Bu yüksekliğin çalışılan bölgenin nehre yakınlığına, denizden olan yüksekliğine ve katılımcıların çiftçilik yapmalarına bağlamıştır (72).

Çalışmamızda katılımcıların geriye dönük hayvancılık yapmaları *B.bacilliformis* seropozitifliğinde yükseklik saptanmış, bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0.006$ ). Bu veri daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Ekvador'da Amano ve arkadaşları 224 kişide 5 farklı kasabada *B.bacilliformis* seroprevalansını araştırmışlar. Kasabalardan ikisi alçak bölgede, üçü yüksek alanda bulunmaktaymış. Deniz seviyesi düşük alanda bulunan kasabalarda oran %21 bulunmuştur. Bu kasabalarda geriye dönük hayvancılık yapılmaktadır (111). Peru'da yapılan çeşitli araştırmalarda *B.bacilliformis* pozitifliklerinde hayvancılık yapmanın önemi vurgulanmıştır (71, 72).

Bu çalışmada katılımcıların yaşam özellikleri sorgulandı. Çalışmaya alınan gönüllülerin kronik hastalıkları açısından *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri değerlendirildi. Hiçbir hastalığı bulunmayan 360 kişiden 154 (%32.2) tanesinde *B.henselae* seropozitifliği, 46 (%9.6) tanesinde ise *B.bacilliformis* seropozitifliği saptandı. Kronik hastalığı (kalp hastalığı, DM, HT vb.) bulunan (N=117) hastalarda *B.henselae* seropozitifliği 56 (%11.7) hastada, *B.bacilliformis* seropozitifliği 14 (%2.9) hastada saptandı. Bu veriler arasında istatistiksel farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Kronik hastalığı olan (DM, HT, KKY, KAH, v.b.) ve bu hastalıklara bağlı olarak sürekli ilaç kullanma öyküsü olan kişilerde *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri değerlendirildi. Sürekli ilaç kullanma öyküsü

bulunan 96 gönüllüden 44'ünde (%9.2) *B.henselae*, 14'ünde ise (%2.9) *B.bacilliformis*'e karşı antikor bulundu. İlaç kullanım öyküsü olmayan 381 gönüllüden 166'sında (%34.8) *B.henselae*, 46 (%9.6) tanesinde *B.bacilliformis*'e karşı antikor bulundu. Bu verilerle *B.henselae* ve *B.bacilliformis* grupları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Çalışmada son beş yılda ahır hayvancılığı yapanlar arasında *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitiflikleri değerlendirildi. Ahır hayvancılığı yapan 433 gönüllünün 193'ünde (%40.5) *B.henselae*, 51'inde (%10.7) *B.bacilliformis* antikorları pozitif bulundu. Ahır hayvancılığı yapmayan 44 gönüllünün 17'sinde (%3.5) *B.henselae*, *B.bacilliformis* ise 9'unda (% 1.8) seropozitifliği bulundu. Bu verilerle gruplar arasında istatistiksel farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ).

Çalışmamızda ev dışında açık alanlarda kalma, yaralanma öyküsü gözden geçirildi. Ev dışında açık alanlarda kalan 342 kişiden 150'sinde (%31.4), ev dışında açık alanlarda kalma öyküsü olmayan 135 kişiden 60'ında (%12.6) *B.henselae* pozitifliği saptanmıştır. Ev dışında açık alanlarda yaralanma öyküsü bulunan 349 kişinin 153'ünde (%32), ev dışında açık alanlarda yaralanma öyküsü bulunmayan 128 kişinin 56'sında (%12) *B.henselae* pozitifliği tespit edildi. Ev dışında açık alanlarda kalan 342 kişiden 42'sinde (%9.2), ev dışında kalmayan 135 kişiden 16'sında (%3.4) oranında *B.bacilliformis* seropozitifliği saptandı. Ev dışında açık alanlarda yaralanan 349 kişiden 46'sında (%9.6), yaralanması olmayan 128 kişiden 14'ünde (%3.0) *B.bacilliformis* seropozitifliği saptandı. *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antikorları gruplar arasında farklılık göstermedi ( $p>0.05$ ).

Yurt dışına seyahat öyküsü olan 60 (%12.6) kişinin 28'inde (%5.9) *B.henselae*, 6'sında (%1.3) ise *B.bacilliformis* antikorları pozitif saptandı. *B.henselae* ve *B.bacilliformis* antikorları gruplar arasında farklılık göstermedi ( $p>0.05$ ).

Gönüllülerin tarım yapmaları, tarımda kaç saat çalıştıkları ve hangi saat aralıklarında çalıştıkları ve bu çalıştıkları saat aralıklarında tatarcık maruziyetleri sorgulandı. Bu verilerde istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Evcil ve yabani hayvanlarla temas ve ısırma da *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seropozitifliklerinde istatistiksel farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ). Breitschwerdit yaptığı araştırmada evcil ve yabani hayvanlarla düzenli temasın *B.henselae* pozitiflik oranını arttırdığını ileri sürmüştür. Köpeklerin temasını ve ısırmasını sorgulayan Sun ve arkadaşları *B.henselae* antikor titreleri yükseldikçe köpek ısırmasının önemini arttığını vurgulamışlardır (112, 166). Kikuchi sağlıklı veteriner öğrencilerinde *B.henselae* pozitifliğinin yüksek olmasını kedi teması ile ilişkilendirmiştir (108). Tayvan'da *B.henselae* antikorları pozitif bulunan 8 katılımcının 5'nin kedi veya köpekler tarafından son 6 ayda tırmalandığı veya ısırıldığı, seropozitif olanların tamamının evinde kedi veya köpek beslediği bulunmuştur (106). Yunanistan'da yapılan araştırmada kedi teması ile *B.henselae* antikor pozitifliği araştırılmıştır. Çalışmada çapraz reaksiyon kedi teması olanlarda daha yüksek bulunurken hayatları boyunca kedi teması olmayanlarda ise çapraz reaksiyon oluşmamıştır. Araştırmacılar üretici firmaların temin ettiği kitlerin *Bartonella* türlerini ayırt etmede yeterli olmadığını vurgulamışlardır (115). Kedi teması olan ve olmayan kişiler arasında farklılık saptanmamış olmasının Sander ve arkadaşlarının çalışmalarıyla tezatlık oluşturmuş gibi dursa da bu durumun antikor titreleri yükseldikçe kedi temasının önem kazanmasıyla açıklanabileceğini belirtmişlerdir. Sander'ın çalışması ile Almanya'da *B.henselae* seropozitiflik oranı %30 gibi yüksek bir oranda bulunmuştur (167). Bu araştırmanın, yapıldığı bölgede ev içinde (evcil olarak) kedi ve köpeklerle uzun süreli temas yoktur. Ev içinde kedi veya köpek beslemek yerine sadece ev dışında kısa süreli temas bulunmaktadır. Bölgede köpekler çoban köpeği olarak yetiştirilir ve insanlarla temas sadece sahiplerinin köpekleri beslemeleri ile sınırlıdır. Kediler daha çok çiftliklerde, ahırlarda fare yakalamak için dışarıda beslenmektedirler. Dolayısıyla uzun süreli temasın

olmadığı görülmektedir. Bölgesel alışkanlıkların bu temasta rolü olduğu ve seropozitifliği etkilemiş olabileceği düşünülebilir.

Çalışmamızda Denizli ili kuzey kırsal bölgesinde yaşayan risk grubunu oluşturan mesleklerde çalışan kişilerin, seroprevalansı hakkında veriler toplandı. *B.henselae* ve *B.bacilliformis* bulaşında rolü olabileceği düşünülen etkenler gözden geçirildi. Çalışmaya alınan bölgenin kırsal alan olması, bölgede yaygın bir şekilde hayvancılık yapılması, bölgenin coğrafik özellikleri çıkan sonuçları değerlendirme açısından önemlidir. Coğrafik olarak baraj, çay, küçük su kaynakları ve sulama kanallarının bulunması etkeni taşıyan yakarca, kene, pire ve diğer akarların bölgede bulunmasını kolaylaştırmaktadır. Katılımcıların çalışma, konaklama gibi nedenlerle bölgeler arasında yer değiştirmeleri bölgesel farklılıkları ortadan kaldırmıştır.

Yaptığımız çalışmada yaş, cinsiyet, meslek, kene ve yakarca teması sulak alanda yaşıyor olmak, avcılık ve geriye dönük hayvancılık istatistiksel farklılık gösterdi. Farklılık gösteren veriler arasında yer alan kene ve yakarca temasının bu bölgede yapılacak çalışmalarla desteklenebileceği düşünüldü. Hayvancılık ve çiftçiliğin yaygın olduğu bölgemizde kırsal alanların coğrafik konumları göz önünde bulundurularak yapılacak çalışmalar seroprevalans çalışmalarını destekleyecektir. Türkiye’de yapılan çalışmalar az sayıdadır. Veriler daha çok klinik vakalarla sınırlandırılmıştır. Az sayıda olan epidemiyolojik veriler artırılmalıdır. Risk gruplarında ve sağlıklı kişilerde yapılacak çalışmalarla seroprevalans çalışmaları geliştirilecektir.

## SONUÇLAR

- Bu çalışmada Ocak 2009-Haziran 2009 tarihleri arasında Denizli ili kuzey kırsalında risk oluşturan farklı meslek gruplarında çalışan 477 yetişkin gönüllüden alınan serum örnekleri IFA tekniği ile çalışmaya alındı. Dilüsyonları 1/64 ve üzerinde pozitif olan örnekler seropozitif olarak değerlendirildi.
- Serum örneklerinde *B.henselae* seropozitiflik oranı %44.0 *B.bacilliformis* seropozitiflik oranı %12.6 olarak bulundu.
- Serum örneklerinin %26.8'inde 1/64, %13.8'inde 1/128, %2.7'sinde 1/256, %0.6'sında 1/512 dilüsyonda *B.henselae* antikoru pozitif bulundu. *B.bacilliformis* seroprevalans amaçlı taramada ise %9.0 1/64, %2.5 1/128, %1.0 1/256 ve %0.2 1/512'de seropozitiflik saptandı.
- Çalışmaya alınan risk oluşturan meslek gruplarındaki gönüllülerin demografik ve epidemiyolojik verileri ile *B.henselae* ve *B.bacilliformis*'te seropozitiflik oranları değerlendirildi. *B.henselae* seropozitifliği kene teması olanlarda, yakarca maruziyeti olanlarda, sulak alanda yaşayanlarda, tarım ile uğraşanlarda ve ileri yaş gruplarında daha yüksek saptandı ( $p<0.05$ ). *B.bacilliformis*'te ise kene teması, cinsiyet, avcılık yapma, meslek grupları ve geriye dönük hayvancılık yapanlarda istatistiksel farklılık saptandı ( $p<0.05$ ).
- *B.henselae* ve *B.bacilliformis* pozitif saptanan gönüllü yetişkinlerin yaşadıkları bölgeler, kronik hastalıkları, kullandıkları ilaçlar, ameliyat öyküsü, alkol ve sigara kullanma öyküleri, ev dışında açık alanlarda kalma, (bağ, bahçe, tarla, dağ, orman, kır) yaralanma, seyahat için yurt dışına gitme, evcil hayvanlarla temas ve evcil hayvanlar tarafından ısırılma (kedi, köpek, horoz, tavşan) yabani hayvanlarla temas ve yabani hayvanlar tarafından ısırılma, bit, pire temaslari, uyuz geçirme öyküsü ve ahır

hayvancılığı (koyun, keçi ve sığır) yapmalarına göre veriler analiz edildi. Demografik verilerde istatistiksel farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Sonuç olarak yapılan çalışma ile risk oluşturan meslek gruplarında çalışan kişilerde *B.henselae* oranı %44.0, *B.bacilliformis* oranı %12.6 olarak saptandı. Türkiye’de seroprevalans çalışmaları sağlıklı ve risk grubunda yer alan kişilerde yeterli sayıda değildir. Bölgesel özellikler seroprevalans çalışmalarında farklılık gösterse de bu çalışma ile risk grubunu oluşturan farklı mesleklerde çalışan kişilerde bartonelloz seroprevalansının araştırılması gerektiği sonucuna varıldı.

## ÖZET

Bu çalışmada Denizli kuzey kırsal bölgesinde risk oluşturan meslek gruplarında çalışan yetişkinlerde *B.henselae* ve *B.bacilliformis* seroprevalansının saptanması amaçlandı. Sağlıklı 477 yetişkin gönüllüden toplanan örneklerde immünfloresan antikor tekniği kullanılarak *B.henselae* ATCC 49882 (Houston-1) ve *B.bacilliformis* KC583 (ATCC 35685) kökenine karşı oluşan antikorlar saptandı. Serum örnekleri Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilimdalı laboratuvarında çalışıldı. *B.henselae* seropozitiflik oranı %44.0, *B.bacilliformis* seropozitiflik oranı %12.6 olarak bulundu. Gönüllülerin %26.8'inde 1/64, %13.8'inde 1/128, %2.7'sinde 1/256, %0.6'sında 1/512 dilüsyonda *B.henselae* antikorları pozitif bulundu. *B.bacilliformis* seroprevalans amaçlı taramada ise dilüsyonlar %9'ında 1/64, %2.5'inde 1/128, %1'inde 1/256 ve %0.2'sinde 1/512'de seropozitiflik saptandı.

Verilerin istatistiksel analizinde *B.henselae* için kene teması, tatarcık maruziyeti, sulak alanda yaşama, tarım yapma ve yaş gruplarında istatistiksel farklılık saptandı ( $p<0.005$ ). *B.bacilliformis*'te erkeklerde, meslek gruplarında, kene temasında, avcılık yapanlarda, geriye dönük hayvancılık yapanlarda istatistiksel farklılık tespit edildi ( $p<0.005$ ).

Gönüllülerin yaşam özellikleri sorgulandı. Saptanan veriler kaydedildi. Katılımcıların yaşadıkları bölgeler, kronik hastalıkları, kullandıkları ilaçlar, ameliyat öyküsü, alkol ve sigara kullanma öyküleri, ev dışında açık alanlarda kalma, yaralanma, seyahat için yurt dışına gitme, evcil ve yabani hayvanlarla temas ve hayvanlar tarafından ısırılma, bit, pire temaslari, uyuz geçirme öyküsü ve ahır hayvancılığı yapmalarına göre veriler analiz edildi. Demografik verilerde istatistiksel farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Türkiye'de seroprevalans çalışmaları sınırlı sayıdadır. Yaptığımız çalışma Türkiye'de bartonelloz seroprevalansının saptanması açısından önemlidir. Denizli'nin farklı kırsal bölgelerinde *B.henselae* seropozitifliği %44.0, *B.bacilliformis* seropozitifliği %12.6 olarak saptandı.

Risk oluşturan meslek gruplarında yaptığımız seroprevalans taraması ile, bölgesel ve farklı coğrafik özellik gösteren risk gruplarında bartonelloz seroprevalans çalışmalarının yapılması gerektiğı sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** *B.henselae*, *B.bacilliformis*, seroprevalans, zoonoz, risk oluşturan meslek grupları



## SUMMARY

In the current study we aimed to detect seroprevalence of *B.henselae* and *B.bacilliformis* at working adults risk by occupational groups in northern rural area of Denizli. The antibodies against to origin of the *B.henselae* ATCC 49882 (Houston-1) and *B.bacilliformis* KC583 (ATCC 35685) was detected by using Immunofluorescence antibody technique was used in samples collected from 477 healthy adult volunteers. Serum samples were studied in laboratory of microbiology department of Pamukkale university faculty of medicine. The ratio of *B.henselae* seropositive was found 44.0% and of *B.bacilliformis* was found as 12.6%. Antibodies of *B.henselae* were found as positive in 26.8% volunteers at 1/64, in 13.8% at 1/128, in 2.7% at 1/256 in dilution. In seeking of *B.bacilliformis* dilutions were found in 9% at 1/64, in 2.5% at 1/128, in 1% at 1/256, in 0.12% at 1/512 seropositive.

At statistical analysis of data, statistical differences for *B.henselae* was detected according to tick exposure, to sandfly, live in wetlands, agriculture and age groups ( $p<0.005$ ). *B.bacilliformis* in men, statistically differences was detected those who contact with ticks, Professional groups, hunting and were backward livestock.

Life characteristic of the volunteers were asked and detected data were recorded. Data were analyzed according to participants live regions, chronic diseases, use drugs, surgery history, alcohol and smoking history, exposure in open spaces outside the home, injury, going abroad for travel, domestic and wild animals by contact with animals and bites, lice, fleas contacts, scabies revision stories and doing backward livestock. There was no statistical differences in demographic data ( $p<0.005$ ).

Seroprevalence studies are limited in Turkey. This study is important in determining seroprevalence Bartonellosis in Turkey. In the present study in different rural areas of Denizli seropositivity of *B.henselae* was detected as 44.0% , *B.bacilliformis* seropositivity was 12.6% .

Screening by risk occupational groups with our seroprevalence, regional and geographical features of different studies showing the risk groups should be preferred Bartonellosis seroprevalence .

**Key words:** *B.henselae*, *B.bacilliformis*, seroprevalence, zoonoz, risk occupational groups .

## KAYNAKLAR

1. Chmielewski T, Podsiadły E, Tylewska-Wierzbanowska S. Presence of Bartonella spp. in various human populations. Pol J Microbiol 2007; 56: 33-38.
2. Anderson BE, Neuman MA. Bartonella spp. as emerging human pathogens. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 203-219.
3. Jacomo V, Kelly PJ, Raoult D. Natural history of Bartonella infections (an exception to Koch's postulate). Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9: 8-18.
4. Guptill L. Bartonellosis. Vet Microbiol 2010; 140: 347-359.
5. Chomel BB, Kasten RW. Bartonellosis, an increasingly recognized zoonosis. J Appl Microbiol 2010; 10: 1-8.
6. Angelakis E, Billeter SA, Chomel BB, Raoult D. Potential for tick – borne Bartonelloses. Emerg Infect Dis 2010; 16: 385-391.
7. Weiss E, Moulder JW. Genus II. Rochalimaea (Macchiavello 1947) Krieg 1961. In: Krieg NR, Holt JG, eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. Baltimore: Williams&Wilkins, 1984: 698-701.
8. Daly JS, Worthington MG, Brenner DJ, Moss CW, Hollis DG, Weyant, RS et al. Rochalimaea elizabethae sp. nov. isolated from a patient with endocarditis. J Clin Microbiol 1993; 31: 872-881.

9. Wear DJ, Margileth AM, Hadfield TL, Fischer GW, Schlagel CJ, King FM. Cat scratch disease: a bacterial infection. *Science* 1983; 30: 1403-1405.
10. Slater LN, Welch DF, Hensel D, Coody DW. A newly recognized fastidious gram negative pathogen as a cause of fever and bacteremia. *N Engl J Med* 1990; 323: 1587-1593.
11. Slater LN, Welch DF, Min KW. *Rochalimaea henselae* causes bacillary angiomatosis and peliosis hepatis. *Arch Intern Med.* 1992; 152: 602-606.
12. Welch DF, Pickett DA, Slater LN, Steigerwalt AG, Brenner DJ. *Rochalimaea henselae* sp. nov. a cause of septicemia, bacillary angiomatosis and parenchymal bacillary peliosis. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 275-280.
13. Brenner DJ, O'Connor SP, Winkler HH, et al. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov., and to remove the family Bartonellaceae from the Order Rickettsiales. *Int J Syst Bacteriol* 1993; 43: 777-786.
14. Birtles RJ, Harrison TG, Saunders NA, Molyneux DH. Proposals to unify the genera *Grahamella* and *Bartonella*, with descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov, *Bartonella peromysci* comb. nov., and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov, *Bartonella taylorii* sp. nov, and *Bartonella doshiae* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1995; 45: 1-8.
15. O'Connor SP, Dorsch M, Steigerwalt AG, Brenner DJ, Stackebrandt E. 16S rRNA sequences of *Bartonella bacilliformis* and cat-scratch disease bacillus reveal phylogenetic relationships with the  $\alpha$ -2

- subgroup of the class Proteobacteria. J Clin Microbiol 1991; 29: 2144-2150.
16. Breitschwerdt EB, Kordick DL. Bartonella infection in animals: Carriership, reservoir potential, pathogenicity and zoonotic potential for human infection. Clin Microbiol Rev 2000; 13: 428-438.
  17. Drancourt M, Birtles R, Chaumentin G, Vandenesch F, Etienne J, Raoult D. New serotype of Bartonella henselae in endocarditis and cat-scratch disease. Lancet 1996; 347: 441-443.
  18. Bergmans AM, Schellekens JF, Van Embden JD, Schouls LM. Predominance of two Bartonella henselae variants among cat-scratch disease patients in the Netherlands. J Clin Microbiol 1996; 34: 254-260.
  19. Boulouis HJ, Chang CC, Henn JB, Kasten RW, Chomel BB. Factors associated with the rapid emergence of zoonotic Bartonella infections. Vet Res 2005; 36: 383-410.
  20. Droz S, Chi B, Horn E, Steigerwalt AG, Whitney AM, Brenner DJ. Bartonella koehlerae sp. nov., isolated from cats. J Clin Microbiol 1999; 37: 1117-1122.
  21. Heller R, Kubina M, Mariet P, Riegel P, Delacour G, Dehio C. Bartonella alsatica sp. nov, a new Bartonella species isolated from the blood of wild rabbits. Int J Syst Bacteriol 1999; 49: 283-288.
  22. Breitschwerdt EB, Kordick DL, Malarkey DE, Keene B, Hadfield TL, Wilson K. Endocarditis in a dog due to infection with a novel Bartonella subspecies. J Clin Microbiol 1995; 33: 154-160.

23. Roux V, Eykyn SJ, Wyllie S, Raoult D. *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* as an agent of afebrile blood culture-negative endocarditis in a human. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1698-1700.
24. Clarridge JE, Raich TJ, Pirwani D, Simon B, Tsai L, Rodriguez Barradas MC, et al. Strategy to detect and identify *Bartonella* species in routine clinical laboratory yields *B. henselae* from human HIV positive patient and unique *Bartonella* strain from his cat. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2107- 2113.
25. Kordick DL, Hilyard EJ, Hiedfield TL, Wilson KH, Steigerwalt AG, Brenner DJ, et al. *Bartonella clarridgeiae*, a newly recognized zoonotic pathogen causing inoculation papules, fever and lymphadenopathy (cat-scratch disease). *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1813-1818.
26. Bermond D, Boulouis HJ, Heller R, Van Laere G, Monteil H, Chomel BB, et al. *Bartonella bovis* Bermond et al sp. nov. and *B. caproeli* sp. nov. isolated from European ruminants. *Int J Syst Evol Microbiol* 2002; 52: 383-390.
27. Dehio C, Lanz C, Pohl R, Behrens P, Bermond D, Piémont Y, et al. *Bartonella schoenbuchii* sp. nov, isolated from blood of wild roe deer. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51: 1557-1565.
28. Kosoy M, Morway C, Sheff KW, Bai Y, Colborn J, Chalcraft L, et al. *Bartonella tamiae* sp. nov, a new recognized isolated from three human patients from Thailand. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 772-775.
29. Kordick DL, Brown TT, Shin K, et al. Clinical and pathologic evaluation of chronic *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* infection in cats. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1536-1547.

30. Chomel BB, Abbott RC, Kasten RW, Floyd-Hawkins KA, Kass PH, et al. *Bartonella henselae* prevalence in domestic cat in California: risk factors and association between bacteremia and antibody titers. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2445-2450.
31. Case JB, Chomel BB, Nicholson W. Serological survey of vector-borne zoonotic pathogens in pet cats and cats from animal shelters and colonies. *J Feline Med Surg* 2006; 8: 111-117.
32. Solano-Gallego L, Hegarty B, Espada Y, Llull J, Breitschwerdt E. Serological and molecular evidence of exposure to arthropod-borne organisms in cats from Northeastern Spain. *Vet Microbiol* 2006; 118: 274-277.
33. Chomel BB, Boulouis HJ, Maruyama S, Breitschwerdt E. *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. *Emerg Infect Dis* 2006; 12; 389-394.
34. Chang CC, Hayashidani H, Pusterla N, Kasten RW, Madigan JE, Chomel BB. Investigation of *Bartonella* infection in ixodid ticks from California. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2001; 25: 229-236.
35. Wong R, Tappero J, Cockerell CJ. Bacillary angiomatosis and other *Bartonella* species infections. *Semin Cutan Med Surg* 1997; 16: 188-99.
36. Bentzel DE, Espinosa BJ, Canal E, Blazes DL, Hall ER. Susceptibility of Owl Monkeys (*Aotus nacymaae*) to experimental infection with *Bartonella bacilliformis*. *Comp Med* 2008; 58: 76-80.
37. Lydy SL, Eremeeva ME, Asnis D, Paddock CD, Nicholson WL, Silverman DJ. et al. Isolation and characterization of *B. bacilliformis* from an expatriate Ecuadorian. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 627-637.

38. Hambuch TM, Handley SA, Ellis B, Chamberlin J, Romero S, Regnery R. Population genetic analysis of *B.bacilliformis* isolates from areas of Peru where Carrion's disease is endemic and epidemic. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3675-3680.
39. Kordick DL, Breitschwerdt EB. Intraerythrocytic presence of *B.henselae*. *J Clin Microbiol* 1995; 33; 1655-1656.
40. Minnick FM. Pestilence, persistence and pathogenicity: infection strategies of *Bartonella*. *Future Microbiol* 2009; 4: 743-758.
41. Scherer CD, Deburon I, Minnick MF. Characterization of *B. bacilliformis* flagella and effect of anti-flagellin antibodies on invasion of human erythrocytes. *Infect Immun* 1993; 61: 4962-4971.
42. Coleman AS, Minnick MF. Establishing a direct role for the *B. bacilliformis* invasion associated locus B (*IaIB*) protein in human erythrocyte parasitism. *Infect Immun* 2001; 69; 4373-4381.
43. Coleman SA, Minnick MF. Differential expression of the invasion – associated locus B (*IaIB*) gene of *B.bacilliformis* in response to environmental cues. *Microb Pathog* 2003; 34: 179-186.
44. Wagner CL, Riess T, Linke D, Eberhardt C, Schäfer A, Reutter S, et al. Use of *Bartonella* adhesin A (*BadA*) immunoblotting in the serodiagnosis of *Bartonella henselae* infections. *J Med Microbiol* 2008; 298: 579-590.
45. Dehio C. Infection associated type 4 secretion systems of *Bartonella* and their diverse roles in host cell interaction. *Cell Microbiol* 2008; 8: 1591-1598.



46. Pulliainen AT, Dehio C. Bartonella henselae: subversion of vascular endothelial cell functions by translocated bacterial effector proteins. *Int J Bio Cell Bio* 2009; 41: 507-510.
47. Minnick MF, Smitherman SL, Samuels DS. Mitogenic effect of Bartonella bacilliformis on human vascular endothelial cells and involvement of GroEL. *Infect Immun* 2003; 71: 6933-6942.
48. Kabeya H, Umehara T, Okanishi H, Tasaki I, Kamiya M, Misawa A, et al. Experimental infection of cats with Bartonella henselae resulted in rapid clearance associated with T helper 1 immune responses. *Microb Infect* 2009; 11: 716-720.
49. Callison JA, Battisti JM, Sappington KN, Smitherman LS, Minnick MF. Characterization and expression analysis of the groESL operon of B. bacilliformis. *Gene* 2005; 359: 53-62.
50. Abdollahi-Roodsaz S, Joosten LA, Roelofs MF, Radstake TR, Matera G, Popa C, et al. Inhibition of Toll-like Receptor 4 breaks the inflammatory loop in autoimmune destructive arthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2957-2967.
51. Rolain JM, Brouqui P, Koehler JE, Maguina C, Dolan MJ, Raoult D. Recommendations for treatment of human infections caused by Bartonella species. *Antimicrob Agent Chemother* 2004; 48: 1921-1933.
52. Pasapera EM, Laszlo Ovos Jr, Giordano A, Cassone M. Bartonella: emerging pathogen or emerging awareness? *J Infect Dis* 2009; 13: 3-8.

53. Regnery L, Childs JE, Koehler JE. Infections associated with Bartonella species in persons infected with human immunodeficiency virus. Clin Infect Dis 1995; 1: 94-98.
54. Florin TA, Zaoutis TE, Zaoutis LB. Beyond cat scratch disease: widening spectrum of Bartonella henselae infection. Pediatrics 2008; 121: 1413-1425.
55. Dalton MJ, Robinson LE, Cooper J, Regery RL, Olson JG, Childs JE. Use of Bartonella antigens for serologic diagnosis of cat-scratch disease at a national referral center. Arch Intern Med 1995; 15: 1670-6.
56. Koehler JE. Bartonella – associated infections in HIV infected patients. AIDS Clin Care 1995; 12: 97-102.
57. Sander A, Posselt M, Oberle K, Bredt W. Seroprevalence of antibodies to Bartonella henselae in patients with cat scratch disease and in healthy controls: evaluation and comparison of two commercial serological tests. Clin Diagn Immunol 1998; 5: 486-490.
58. Chu BC, Tam VT. A serologically proven case of cat-scratch disease presenting with neuroretinitis. Hong Kong Med J 2009; 15: 391-393.
59. Regnery R, Tappero J. Unraveling mysteries associated with cat-scratch disease, bacillary angiomatosis, and related syndromes. Emerg Infect Dis 1995; 1: 16-21.
60. McCool TL, Hoey JG, Montileone F, Goldenberg HB, Mordechai E, Adelson ME. Discovery and analysis of Bartonella henselae antigens for use in clinical serologic assays. Diagn Microbiol Infect Dis 2008; 60: 17-23.

61. Munson PD, Thomas G, Boyce, Salomao DR, Orvidas JL. Cat scratch disease of the head and neck in a pediatric population: Surgical indications and outcomes. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2008; 139: 358-363.
62. Zangwill KM. Bartonella infections. *Pediatr Infect Dis* 1997; 8: 57-63.
63. Margileth AM. Cat scratch disease. *Adv Pediatr Infect Dis* 1993; 8: 1-21.
64. Çelebi B. Bartonella henselae ve enfeksiyonları. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42: 163-175.
65. Lamas C. Human bartonellosis: seroepidemiological and clinical features with an emphasis on data from Brazil – A review. *Rev Mem Inst Oswaldo Cruz* 2008; 103: 221-235.
66. Curi ALL, Machado DO, Heringer G, Campos WR, Orefice F. Ocular manifestation of cat –scratch disease in HIV – positive patients. *Am J Ophthalmol* 2006; 141: 400-401.
67. Lin YY, Hsiao HC, Hsu YH, et al. Immunohistochemical study of lymph nodes in patients with cat scratch disease. *J Formos Med Assoc* 2006; 105: 911-917.
68. Maguina C, Humberto G, Palmira V. Bartonellosis. *Clin Dermatol* 2009; 27: 271-280.
69. Maguina CM, Gotuzzo E. Bartonellosis: New and Old. *Infect Dis Clin North Am* 2000; 14: 1-22.

70. Maco V, Ciro M, Tirado A, Vidal JE. Carrion disease (*Bartonella bacilliformis*) confirmed by histopaology in the high forest of Peru. *Rev Inst Med Trop* 2004; 46: 171-174.
71. Chamberlin J, Laughlin LW, Romero S, Solórzano N, Gordon S, Andre RG, et al. Epidemiology of endemic *Bartonella bacilliformis*: A prospective cohort study in a Peruvian Mountain Valley community. *J Infect Dis* 2002; 186: 983-990.
72. Kosek M, Lavarello R, Gilman RH, Delgado J, Maguiña C, Verástegui M, et al. Natural history of infection with *Bartonella bacilliformis* in a nonendemic population. *J Infect Dis* 2000; 182: 865-872.
73. Chamberlin J, Laughlin L, Gordon S, Romero S, Solórzano N, Regnery RL. Serodiagnosis of *Bartonella bacilliformis* infection by indirect immunofluorescence antibody assay test development and application in an area of bartonellosis endemicity. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4269-4271.
74. Knobloch J, Solano L, Alvarez O, Delgado E. Antibodies to *Bartonella bacilliformis* as determined by fluorescence antibody test, indirect haemagglutination and ELISA. *Trop Med Parasitol* 1985; 36: 183-185.
75. Bonatti H, Mendez J, Guerrero I, Krishna M, Ananda-Michel J, Yao J, et al. Disseminated *Bartonella* infection following liver transplantation. *Eur Org Trans* 2006; 19: 683-687.
76. Koehler JE, Sanchez MA, Garrido CS, Whitfeld MJ, Chen FM, Berger TG, et al. Molecular epidemiology of *Bartonella* infections in patients with bacillary angiomatosis-peliosis. *N Engl J Med* 1997; 337: 1876-1883.

77. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Miscellaneous Fastidious Gram-Negative Bacilli. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6. Edition. Lippincott Williams&Wilkins Philadelphia, A Wolters Kluwer Company. 2006; 497-510.
78. Zangwill KM, Hamilton DH, Perkins BA, Regnery RL, Plikaytis BD, Hadler JL, et al. Cat-scratch disease in Connecticut: Epidemiology, risk factors and evaluation of a new diagnostic test. *N Engl J Med* 1993; 329: 8-13.
79. Gasquet S, Maurin M, Brouqui P, Lepidi H, Raoult D. Bacillary angiomatosis in immunocompromised patients. *AIDS* 1998; 12: 1793-1803.
80. Roig J, Casal J, Gispert P, Gea E. Antibiotic therapy of community-acquired pneumonia (CAP) caused by atypical agents. *Med Mal Infect* 2006; 36: 680-689.
81. Sobraquès M, Maurin M, Birtles RJ, Raoult D. *Antimicrob Agent Chemother* 1999; 43: 2090-2092.
82. Mathieu S, Vellin JF, Poujol D, Ristori JM, Soubrier M. Cat scratch disease during etanercept therapy. *Joint Bone Spine* 2007; 74: 184-186.
83. Baylor P, Garoufi A, Karpathios T, Lutz J, Mogelof J, Moseley D. Transverse myelitis in 2 patient with *Bartonella henselae* infection (cat scratch disease). *Clin Infect Dis* 2007; 45: 42-45.
84. Noah DL, Bresee JS, Gorenssek MJ, Rooney JA, Cresanta JL, Regnery RL, et al. Cluster of five children with acute encephalopathy associated with cat-scratch disease in South Florida. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 866-869.

85. Gerber JE, Johnson JE, Scott MA, Madhusudhan KT. Fatal meningitis and encephalitis due to *Bartonella henselae* bacteria. *J Forensic Sci* 2002; 47: 640-644.
86. Wheeler SW, Wolf SM, Steinberg EA. Cat-scratch encephalopathy. *Neurology* 1997; 49: 876-878.
87. Armengol CE, Hendley JO. Cat-scratch disease encephalopathy: a cause of status epilepticus in school-aged children. *J Pediatr* 1999; 134: 635-638.
88. Hmaimess G, Kadhim H, Saint Martin C, Abu Serieh B, Mousny M, Sébire G. Cat scratch disease presenting as meningo myelo radiculopathy. *Arch Dis Child* 2004; 89: 691-693.
89. Carithers HA. Cat-scratch disease. An overview based on a study of 1,200 patients. *Am J Dis Child* 1985; 139: 1124-1133.
90. Grando D, Sullivan JL, Flexman JP, Watson MW, Andrew JH. *Bartonella henselae* associated with Parinaud's oculoglandular syndrome. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 1156-1158.
91. Maurin M, Eb F, Etienne J, Raoult D. Serological cross-reactions between *Bartonella* and *Chlamydia* species implications for diagnosis. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2283-2287.
92. Dreier J, Vollmer T, Freytag CC, Bäumer D, Körfer R, Kleesiek K. Culture negative endocarditis caused by *Bartonella* spp: 2 case reports and a review of the literature. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 61: 476-483.

93. Raoult D, Roblot F, Rolain JM, Besnier JM, Loulergue J, Bastides F, et al. First isolation from a valve of patient with endocarditis. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 278-279.
94. Mallatack JJ, Jaffe R. Granulomatous hepatitis in three children due to cat scratch disease without peripheral adenopathy. An unrecognized cause of fever of unknown origin. *Am J Dis Child* 1993; 147: 949-953.
95. Jacobs RF, Schutze GE. *Bartonella henselae* as a cause of prolonged fever of unknown origin in children. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 80-84.
96. Dzelalija B, Petrovec M, Zupanc TA. Probable atypical cat scratch disease presenting as isolated posterior pancreatic duodenal lymphadenitis and abdominal pain. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 912-914.
97. Vorou RM, Papavassilou VG, Tsiodras S. Emerging zoonoses and vector-borne infections affecting humans in Europe. *Epidemiol Infect* 2007; 135: 1231-1247.
98. Finkelstein JL, Brown TP, O'Reilly KL, Wedincamp J Jr, Foil LD. Studies on the growth of *Bartonella henselae* in the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *J Med Entomol* 2002; 39: 915-919.
99. Koehler JE, Glaser CA, Tappero JW. *Rochelima* *henselae* infection: A new zoonosis with the domestic cat as reservoir. *JAMA* 1994; 16: 531-535.
100. Gouriet F, Lepidi H, Habib G, Collart F, Raoult D. From cat-scratch disease to endocarditis, the possible natural history of *Bartonella henselae* infection. *BMC Infect Dis* 2007; 7: 30.
101. Jackson AL, Perkins AB, Wenger DJ. Cat scratch disease in the United States analysis of three National databases. *Am J Pub Health* 1993; 83: 1707-1711.

102. Sander A, Posselt M, Böhm N, Ruess M, Altwegg M. Detection of *Bartonella henselae* DNA by two different PCR assay and determination of the genotypes of strains involved in histologically defined cat-scratch disease. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 993-99.
103. Costa PS, Brigatte EM, Greco BD. Antibodies to *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana* and *Ehrlichia chaffeensis* among healthy population in Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100: 853-859.
104. Comer JA, Flynn C, Regnery RL, Vlahov D, Childs JE. Antibodies to *Bartonella* species in inner-city intravenous drug users in Baltimore. *Arch Intern Med* 1996; 156: 2491-2495.
105. Comer JA, Diaz T, Vlahov D, Monterroso E, Childs JE. Evidence of Rodent-associated *Bartonella* and *Rickettsia* infections among intravenous drug users from central and east Harlem, New York City. *Am J Trop Med* 2001; 65: 855-860.
106. Chang CC, Lee CC, Maruyama S, Lin WJ, Pan MJ. Cat scratch disease in veterinary-associated populations and in its cat reservoir Taiwan. *Vet Res* 2006; 37: 565-577.
107. Kumasaka K, Arashima Y, Yanai M, Hosokawa N, Kawano K. Survey of veterinary professionals for antibodies to *Bartonella henselae* in Japan. *Rinsho Byori* 2001; 49: 906-910.
108. Kikuchi E, Maruyama S, Sakai T, Tanaka S, Yamaguchi F, Hagiwara T, et al. Serological investigation of *Bartonella henselae* infections in clinically cat-scratch disease suspected patients, patients with cardiovascular diseases, and healthy veterinary students in Japan. *Microbiol Immunol* 2002; 46: 313-316.



109. Noah DL, Kramer CM, Verbsky MP, Rooney JA, Smith KA, Childs JE. Survey of veterinary professionals and other veterinary conference attendees for antibodies to *B. henselae* and *B. quintana*. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 210: 342-344.
110. Hambuch TM, Handley AS, Ellis B, Chamberlin J, Romero S, Regnery R. Population genetic analysis of *B. bacilliformis* isolates from areas of Peru where Carrion's disease is endemic and epidemic. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3675-3680.
111. Amano Y, Rumbela J, Knobloch J, Olson J, Kron M. Bartonellosis in Ecuador serosurvey and current status of cutaneous verrucous disease. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 57: 174-179.
112. Breitschwerdt EB, Maggi RG, Duncan AW, Nicholson WL, Hegarty BC, Woods CW. Bartonella species in blood of immunocompetent persons with animal and arthropod contact. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 938-941.
113. Maruyama S, Boonmar S, Morita Y, Sakai T, Tanaka S, Yamaguchi F, Kabeya H, Katsube Y. Seroprevalence of Bartonella henselae and Toxoplasma gondii among healthy individuals in Thailand. *J Vet Med Sci* 2000; 62: 635-637.
114. Al-Majali AM, Al-Qudah KM. Seroprevalence of Bartonella henselae and Bartonella quintana infections in children from Central and Northern Jordan. *Saudi Med J* 2004; 25: 1664-1669.
115. Tea A, Alexiou-Daniel S, Arvanitidou M, Diza E, Antoniadis A. Occurrence of Bartonella henselae and Bartonella quintana in a healthy Greek population. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 68: 554-556.

116. Antoniou M, Economou I, Wang X, Psaroulaki A, Spyridaki I, Papadopoulos B, et al. Fourteen year seroepidemiological study of zoonoses in a Greek village. *Am J Trop Med* 2002; 66: 80-85.
117. Pandak N, Rode DO, Cabrajal, Kriskof Z, Kotarac S. Prevalence of *B.henselae* antibodies in children and blood donors in Croatia. *Infection* 2009; 37: 166-167.
118. Pons I, Santfeliu I, Cardenosa N, Nogueras MM, Font B, Segura F. Serological evidence of *B.henselae* infection in healthy people in Catalonia, Spain. *Epidemiol Infect* 2008; 10: 1-5.
119. Massei F, Messina F, Gori L, Macchia P, Maggiore G. High prevalence of antibodies to *Bartonella henselae* among Italian children without evidence of cat-scratch disease. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 145-148.
120. Numazaki K, Ueno H, Yokoo K, Muramatsu Y, Chiba S, Morita C. Detection of serum antibodies to *Bartonella henselae* and *Coxiella burnetii* from Japanese children and pregnant women. *Microbes Infect* 2000; 2: 1431-1434.
121. Koehler JE, Sanchez MA, Tye S, Garrido-Rowland CS, Chen FM, Maurer T, et al. Prevalence of *Bartonella* infection among human immunodeficiency virus-infected patients with fever. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 559-566.
122. Zhang L, Shan A, Mathew B, Yin J. Rickettsial seroepidemiology among farm workers, Tianjin, People's Republic of China. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 938-940.

123. Holmberg M, McGill S, Ehrenborg C, Wesslén L, Hjelm E, Darelid J, et al. Evulation of human seroactivity to Bartonella species in Sweeden. J Clin Microbiol 1999; 37: 1381-1384.
124. McGill S, Wesslén L, Hjelm E, Holmberg M, Auvinen MK, Berggren K, et al. Bartonella spp. seroprevalence in healty Swedish blood donors. Scan J Infect Dis 2005; 37: 723-730.
125. Freaan J, Arndt S, Spencer D. High rate of Bartonella henselae infection in HIV positive outpatiens in Johannesburg, South Africa. Am J Trop Med Hyg 2002; 96: 549-550.
126. Kaçar N, Taşlı L, Demirkan N, Ergin C, Ergin S. HIV-negative case of bacillary angiomatosis with chronic hepatitis B. J Dermatol 2010; 37: 722-725.
127. Aydoğan İ, Parlak AH, Alper M, Aksoy KA. Bacillary angiomatosis in an HIV seronegative patient. Turkderm 2004; 38: 71-74.
128. Karakaş M, Baba M, Homan S, Akman A, Acar MA, Memişoğlu HR, Gümürdülü D. A case of bacillary angiomatosis presenting as leg ulcers. J Eur Acad Dermatol Venereol 2003; 17: 65-67.
129. Turgut M, Alabaz D, Karakaş M, Kavak M, Aksaray N, Alhan E, et al. Bacillary angiomatosis in an immunocompetent child with a grafted traumatic wound. J Dermatol 2004; 31: 844-847.
130. Saatçi AO, Öner HF, Kargı A, Kavukcu S. Unilateral neuroretinitis and peripaillary serous retinal detachment in Cat-Scratch Disease. Korean J Ophthalmol 2002; 16: 43-46.

131. Yilmaz C, Ergin C, Kaleli I. Investigation of *Bartonella henselae* seroprevalence and related risk factors in blood donors admitted to Pamukkale University Blood Center. *Mikrobiyol Bul* 2009; 43: 391-401.
132. Bermond D, Heller R, Barrat F, Delacour G, Dehio C, Alliot A, et al. *Bartonella birtlesii* sp. nov., isolated from small mammals (*Apodemus* spp.) *Int J Syst Evol Microbiol* 2000; 50: 1973-1979.
133. Cherry NA, Maggi RG, Cannedy LA, Breitschwerdt BE. PCR detection *B. bovis* and *B. henselae* in the blood of beef cattle. *Vet Microbiol* 2009; 135: 308-312.
134. Namekata MS, Clifford DL, Kasten RW, Henn JB, Garcelon DK, Coonan TJ, et al. Seroprevalence of *Bartonella* spp. in the endangered island fox (*Urocyon littoralis*). *Vet Microbiol* 2009; 136: 184-187.
135. Inoue K, Kabeya H, Shiratori H, Ueda K, Kosoy MY, Chomel BB, et al. *Bartonella japonica* sp. nov. and *Bartonella silvatica* sp. nov., isolated *Apodemus* mice. *Int J Evol Microbiol* 2010; 60: 759-763.
136. Maggi GR, Kosoy M, Mintzer M, Breitschwerdt BE. Isolation of *Candidatus Bartonella melophagi* from human blood. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 66-68.
137. Saisongkroh W, Wootta W, Sawanpanyalert P. "Candidatus *Bartonella thailandensis*": A new genotype of *Bartonella* identified from rodents. *Vet Microbiol* 2009; 139: 197-201.
138. Al-Majali MA. Seroprevalence of and risk factors for *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* infections among pet cats in Jordan. *Prev Vet Medici* 2004; 64: 63-71.

139. Çelebi B, Kılıç S, Aydın N, Tarhan G, Carhan A, Babur C. Investigation of *Bartonella henselae* in cats in Ankara Turkey. *Zoonoses Public Health* 2009; 56: 169-175.
140. Gallego LS, Bradley J, Hegarty B, Sigmon B, Breitschwerdt E. *Bartonella henselae* IgG antibodies are prevalent in dogs from southeastern USA. *Vet Res* 2004; 35: 585-595.
141. Gallego LS, Llull J, Osso M, Hegarty B, Breitschwerdt E. A serological study of exposure to arthropod-borne pathogens in dogs from northeastern Spain. *Vet Res* 2006; 37: 231-244.
142. Chang CC, Kasten RW, Chomel BB, Simpson DC, Hew CM, et al. Coyotes (*Canis latrans*) as the reservoir for a human pathogenic *Bartonella* spp.: Molecular epidemiology *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* infection in coyotes from central coastal California. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4193-4200.
143. Breitschwerdt BE, Maggi GR. A confusing case of canine vector-borne disease: clinical signs and progression in a dog co-infected with *Ehrlichia canis* and *Bartonella vinsonii* ssp. *berkhoffii*. *Parasit Vectors* 2009; 2: 1-4.
144. Regnery RL, Anderson BE, Clarridge JE, Rodriguez-Barradas MC, Jones DC, et al. Characterization of a novel *Rochalimaea* species, *R.henselae* sp. nov. isolated from blood of a febrile, HIV positive patient. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 265-274.
145. Koehler JE, Quinn FD, Berger TG, LeBoit PE, Tappero JW. Isolation of *Rochalimaea* species from cutaneous and osseous lesions of bacillary angiomatosis. *N Engl J Med* 1992; 325: 1625-1631.

146. Lucey D, Dolan MJ, Moss CW, Garcia M, Hollis DG, Wegner S, et al. Relasing illness due to *R.henselae* in immuncompenent hosts implication for therapy and new epidemiological associations. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 683-688.
147. La Scola B, Raoult D. Culture of *Bartonella quintana* and *Bartonella hensela* from human samples: a 5 year experience (1993 to 1998). *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1899-1905.
148. Drancourt M, Birtles R, Chaumentin G, Vandenesch F, Etienne J, Raoult D. New serotype of *Bartonella henselae* in endocarditis and cat scratch disease. *Lancet* 1996; 347: 441-443.
149. Chamberlin J, Laughlin L, Gordon S, Romero S, Solórzano N, Regnery RL. Serodiagnosis of *Bartonella bacilliformis* infection by indirect immunofluorescence antibody assay test development and application in an area of bartonellosis endemicity. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4269-4271.
150. Zbinden R, Höchli M, Nadal D. Intracelullar location of *Bartonella hensela* cocultivated with vero cells and used for an indirect fluorescent-antibody test. *Clin Diag Lab Microbiol* 1995; 2: 693-695.
151. Cadenas MB, Maggi RG, Diniz PP, Breitschwerdt KT, Sontakke S, Breithschwerdt EB. Identifacition of bacteria from clinical samples using *Bartonella alpha* probacteria growth medium. *J Microbiol Method* 2007; 71: 147-155.
152. Riess T, Dietrich F, Schmidt KV, Kaiser PO, Schwarz H, Schäfer A, et al. Analysis of a novel insect Cell culture medium–based growth medium for *Bartonella* species. *App Env Microbiol* 2008; 74: 5224-5227.

153. Dehio C, Meyer M, Berger J, Schwarz H, Lanz C. Interaction of *Bartonella henselae* with endothelial cells results in bacterial aggregation on the cell surface and the subsequent engulfment and internalisation of the bacterial aggregate by a unique structure, the invasome. *J Cell Sci* 1997; 110: 2141-2154.
154. Avidor B, Kletter Y, Abulafia S, Golan Y, Ephros M, Giladi M. Molecular diagnosis of cat-scratch disease a two-step approach. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1924-1930.
155. Welch DF, Hensel DM, Pickett DA, San Joaquin VH, Robinson A, Slater LN. Bacteremia due to *Rochalimaea henselae* in a child: practical identification of isolates in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2381-2386.
156. Regnery RL, Olson JG, Perkins BA, Bibb W. Serological response to "Rochalimaea henselae" antigen in suspected cat-scratch disease. *Lancet* 1992; 339: 1443-1445.
157. Maillard R, Vayssier-Taussat M, Bouillin C, Gandoin C, Halos L, Chomel B, et al. Identification of *Bartonella* strains isolated from wild and domestic ruminants by a single step PCR analysis of the 16S - 23S intergenic spacer region. *Vet Microbiol* 2004; 98: 63-69.
158. Houpikian P, Raoult D. 16S/23S rRNA Intergenic Spacer Region for phylogenetic analysis, identification and subtyping of *Bartonella* species. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2768-2778.
159. Matar GM, Swaminathan B, Hunter SB, Slater LN, Welch DF. Polymerase chain reaction-based restriction fragment length polymorphism analysis of a fragment of the ribosomal operon from *Rochalimaea* species for subtyping. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1730-1734.

160. Barbian KD, Minnick MF. A bacteriophage-like particle from *Bartonella bacilliformis*. *Microbiology* 2000; 146: 599-609.
161. Bergmans AM, Peeters MF, Schellekens JF, Vos MC, Sabbe LJ, Ossewaarde JM, et al. Pitfalls and fallacies of cat-scratch disease serology: Evaluation of *Bartonella henselae*-based indirect immunofluorescence assay and enzyme-linked immunoassay. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1931-1937.
162. Maurin M, Rolain JM, Raoult D. Comparison of in-house and commercial slides for detection by immunofluorescence of immunoglobulins G and M against *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana*. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 1004-1009.
163. Zbinden R, Michael N, Sekulovski M, Von Graevenitz A, Nadal D. Evaluation of commercial slides for detection of immunoglobulin G against *Bartonella henselae* by indirect immunofluorescence. *Eur J Clin Microbiol* 1997; 16: 648-652.
164. Vermeulen MJ, Herremans M, Verbakel H, Bergmans AM, Roord JJ, van Dijken PJ, et al. Serological testing for *Bartonella henselae* infections in the Netherlands: Clinical evaluation of immunofluorescence assay and ELISA *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; 13: 627-634.
165. Herremans M, Bakker J, Vermeulen MJ, Schellekens JF, Koopmans MPI. Evaluation of an in-house cat scratch disease IgM ELISA to detect *Bartonella henselae* in a routine laboratory setting. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28: 147-152.
166. Sun J, Fu G, Lin J, Song X, Lu L, Liu Q. Seroprevalence of *Bartonella* in Eastern China and analysis of risk factors. *BMC Infect Dis* 2010; 10: 121-125.



167. Sander A, Posselt M, Oberle K, Bredt W. Seroprevalence of antibodies to *Bartonella henselae* in patients with cat scratch disease and in healthy controls: evaluation and comparison of two commercial serological tests. *Clin Diagn Lab Immunol* 199; 5: 486-490.
168. Chomel BB, Kasten RW, Sykes JE, Boulouis HJ, Breitschwerdt EB. Clinical impact of persistent *Bartonella* bacteremia in humans and animals. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 990: 267-278.
169. Zarkovic A, McMurray C, Deva N, Ghosh S, Whitley D, Guest S. Seropositivity rates for *Bartonella henselae*, *Toxocara canis* and *Toxoplasma gondii* in New Zealand blood donors. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007; 35: 131-134.
170. Ferrés GM, Abarca VK, Prado DP, Montecinos PL, Navarrete CM, Vial C PA. Prevalence of *Bartonella henselae* antibodies in Chilean children, adolescents and veterinary workers. *Rev Med Chil* 2006; 134: 863-867.
171. McGill S, Wesslen L, Hjelm E, Holmberg M, Rolf C, Friman G. Serological and epidemiological analysis of the prevalence of *Bartonella* spp. antibodies in Swedish elite orienteers 1992-93. *Scand J Infect Dis* 2001; 33: 423-428.
172. Juncker-Voss M, Prosl H, Lussy H, Enzenberg U, Auer H, Lassnig H, et al. Screening for antibodies against zoonotic agents among employees of the Zoological Garden of Vienna, Schönbrunn, Austria. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2004; 117: 404-409.
173. Cimolai N, Benoit L, Hill A, Lyons C. *Bartonella henselae* infection in British Columbia: evidence for an endemic disease among humans. *Can J Microbiol* 2000; 46: 908-912.

174. Ellis BA, Rotz LD, Leake JA, Samalvides F, Bernable J, Ventura G, et al. An outbreak of acute bartonellosis (Oroya fever) in the Urubamba region of Peru, 1998. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61: 344-349.
175. Kamoi K, Yoshida T, Takase H, Yokota M, Kawaguchi T, Mochizuki M. Seroprevalence of *Bartonella henselae* in patients with uveitis and healthy individuals in Tokyo. *Jpn J Ophthalmol* 2009; 53: 490-493.