



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

**ETANERSEPT UYGULANAN FARELERDE
AKUT *Bartonella henselae* ENFEKSİYON MODELİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Levent AKSOY**

**DANIŞMAN
Prof.Dr. Çağrı ERGİN**

DENİZLİ – 2018



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

**ETANERSEPT UYGULANAN FARELERDE
AKUT *Bartonella henselae* ENFEKSİYON MODELİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Levent AKSOY**

**DANIŞMAN
Prof.Dr. Çağrı ERGİN**


Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 16.03.2017 tarih
2017TPF006 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ-2018

TEZ ONAY

Prof. Dr. Çağrı ERĖİN danışmanlığında Dr. Levent AKSOY tarafından yapılan “Etanercept uygulanan farede akut *Bartonella henselae* enfeksiyon modeli” başlıklı tez çalışması 14/08/2018 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. İlknur KALELİ



Üye : Prof. Dr. Çağrı ERĖİN



Üye : Prof. Dr. Neriman AYDIN



Yukarıdaki imzaların adığeen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.14/08/2018

Prof. Dr. Osman ifti

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜRLER

Öncelikle Cumhuriyetimizin kurucusu ve önderi Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK ve silah arkadaşlarına, Şehitlerimize ve Gazilerimize minnet ve şükranlarımı sunarım.

Bilim ve yaşam alanındaki birikimini paylaşarak ileri yaştaki çiraklık yolculuğumu keyifli bir paylaşımına dönüştüren usta dost tez danışmanım Prof. Dr. Çağrı ERGİN'e, bu yolculukta her koşulda bilgisini, sevgisini ve desteğini bizden hiç esirgemeyen, kendisini yakından tanıma şansını bulduğum Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlknur KALELİ'ye,

İnsana, edebiyata ve adalete olan sevgisi nedeni ile hiç bitmeyen öğretim sevdası ve annelik güdülleri ile bu yolculuğun koruyucu mimarlarından Prof. Dr. Melek DEMİR'e, hayata ve bilime bakışı ile bizi aydınlatan Prof. Dr. Nural Cevahir'e,

Bu yolculukta hem ağabey hem de hocam olarak her zaman yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ŞENGÜL'e

Zorlandığım zamanlarda "Varsa bir sorun, o zaman sorun" cümlesi ile desteğini ve dostluğunu esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Ergun METE'ye,

Varlığı ile her zaman bir adım yakınımda olan kardeşim Zeliha Sedef ÖNER ve ailesine,

Prof. Dr. İ.Veyssel FENKÇİ başta olmak üzere Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi akademi camiasına, asistan arkadaşlarıma, tüm hastane personeline,

Tez çalışmalarımda destekleriyle Prof.Dr. Veli Çobankara ve Romatoloji ekibine, Dr. Neşe DEMİRKAN, Doç. Dr. Nilay ŞEN TÜRK ve Patoloji laboratuvarı çalışanlarına, Doç. Dr. Murat KUTLU, Nesrin BULUŞ, Alev ERKAN ve Vet.Hek.Barbaros ŞAHİN, Vet. Hek. Bekir ÇELEBİ ve Uzm. Dr Demet YUMUŞAK

Çırağın derdini, tasasını, yükünü en çok taşıyan başta Ali ÜZAN olmak üzere tüm Merkez Laboratuvar çalışanı DOSTLARIMA,

Yaşamıma dokunmuş Şefika ÇELİKTAŞ, M.İlhan AKŞİT başta olmak üzere tüm öğretmenlerime ve Klimud ailesine,

Bu günlere kadar beni taşıyan anne ve babam Halime ve Yusuf AKSOY'a, Nazire- Yaşar ÖZKAYA'ya, can dostum Mehmet KÜNARLIOĞLU'na,

Hayatı paylaştığım en büyük desteğim eşim Kevser AKSOY'a

Canımdan öte canlarım Cem ve Sena AKSOY ve hayat sana TEŞEKKÜRLER

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEZ ONAY	Error! Bookmark not defined.
TEŞEKKÜRLER.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	xi
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
<i>BARTONELLA</i> TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ	3
<i>BARTONELLA</i> TÜRLERİNİN EPİDEMİYOLOJİSİ	4
PATOGENEZ.....	5
Yaşam Döngüsü ve Enfeksiyon Stratejisi	5
Bağışıklık Kaçağı ve İmmünomodülasyon.....	8
Virulans Faktörleri	9
<i>Bartonella henselae</i> 'nın KLİNİK TABLOLARI	15
Kedi Tırmığı Hastalığı.....	16
Peliozis	17
Basiller Anjiyomatoz.....	18
Kardiyak Tutulum	18
Nedeni Bilinmeyen Ateş.....	20
<i>Bartonella</i> türüyle ilişkili otoimmün hastalıklar	20
<i>BARTONELLA</i> TÜRLERİNİN SAPTANMASI, İZOLASYONU VE TANIMLANMASI	26
Örnek Alınması, Taşınması ve Saklanması	26

MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ	27
KÜLTÜR.....	28
TANIMLAMA YÖNTEMLERİ.....	30
Biyokimyasal Yöntemler	30
Gaz-Likid Kromatografisi	30
Moleküler Yöntemler	31
Serolojik Yöntemler	31
Histopatolojik İnceleme.....	33
TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR-ALFA (TNF- α).....	34
ETANERSEPT	35
Farmakolojik Özellikleri	35
Endikasyonlar	36
Kontrendikasyonlar	37
Uyarılar/Önlemler	38
Yan Etkiler.....	39
GEREÇ VE YÖNTEM	41
Deney Hayvanları ve Çalışma Grupları	41
<i>Bartonella henselae</i> ATCC 49882 (Houston-1).....	41
Deney Modelinin Uygulanması.....	41
Mikrobiyolojik İnceleme	42
Histopatolojik İnceleme	43
İstatistik Analizler.....	45
BULGULAR	46
TARTIŞMA.....	54
SONUÇ.....	61
KAYNAKLAR.....	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

ANA	: Anti nükleer antijen
ASAS	: Uluslararası spondiloartrit Değerlendirme Topluluğu (The Assessment of Spondyloarthritis International Society)
BASDAI	: Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi (Bath Ankylosan Spondilitis Disease Activity Index)
BA	: Basiller anjiyamatöz
BCNE	: Kan kültürü negatif endokardit
Beps	: <i>Bartonella</i> efektör proteinleri
BID	: Bep intracellular delivery
BHI	: Beyin-kalp infüzyonu
BP	: Basiller peliozis
Brps	: <i>Bartonella</i> tekrar proteinleri
CDC (Centers for Disease Control and Prevention)	: Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri
CD	: Yüzey farklılaşma antijenleri (Cluster of Differentiation)
Cfa	: CAMP benzeri faktör ototransporter
DsDNA (Double stranded DNA)	: Çift iplikli DNA
ECM (Extra Cellular Matrix)	: Hücre dışı matriks
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
ETA	: Etanersept
FDA	: Amerikan İlaç ve Besin Dairesi (Food and Drug Administration)
FIC	: cAMP tarafından indüklenen filament domainleri

Fha	: Filamentöz hemaglutininler
GM-CSF	: Granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör
HAI	: Histolojik aktivite indeksi
H&E	: Hematoksilen-Eozin
hem	: Fe ²⁺ -PPIX
hemin	: Fe ³⁺ -PPIX
HIF-1	: Hipoksi ile indüklenen faktör-1
HIV	: İnsan immünyetmezlik virüs
Hbp	: Hemin bağlayıcı protein
HUVEC	: İnsan umbilikal ven endotelyal hücreleri
IAL	: İnvazyonla ilişkili lokus
ICAM-1	: Hücre içi adezyon molekülü-1
IFA	: İmmün fluoresans antikor
Ig	: İmmünglobülin
IFN-γ	: İnterferon-γ
IL-10	: İnterlökin-10
KTH	: Kedi tırmığı hastalığı
LPS	: Lipopolisakkarit
NF-κB	: Nükleer faktör kappa Beta
OMP	: Dış zar proteinleri
PAMP	: Patojen ile ilişkili moleküler patern
PBS	: Fosfatla tamponlanmış solusyon
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RA	: Romatoid Artrit
SC	: Subkutan
TAA	: Trimerik ototransporter adhezinler
TLR	: Toll like reseptör (T4SS)
TNF	: Tümör nekrozis faktörü
T4SS	: Tip 4 sekresyon sistemi
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1.	Warthin-Starry gümüş boyama ile <i>B. henselae</i>	28
Şekil 2	1/64 dilüsyonda <i>Bartonella henselae</i> antikorlarının immünfluoresans mikroskopi ile negatif (solda) ve pozitif (sağda) görünüşleri (400X)...	46
Şekil 3	Deri üzerinde nodüler lezyon	Error! Bookmark not defined.
Şekil 4	Karaciğerde makroskopik görünümde kistik yapılar	Error! Bookmark not defined.
Şekil 5.	Rat karaciğer. Grup 1; PBS verilen.....	51
Şekil 6.	Rat karaciğer. Grup 2; <i>Bartonella henselae</i> verilen.....	51
Şekil 7.	Rat karaciğer. Grup 3; <i>Bartonella henselae</i> ve etanersept verilen grup.	51
Şekil 8.	Rat dalak. Grup 1; PBS verilen grup.	52
Şekil 9.	Rat dalak. Grup 2; <i>Bartonella henselae</i> verilen grup.	52
Şekil 10.	Rat dalak. Grup 3; <i>Bartonella henselae</i> ve etanersept verilen grup.	52
Şekil 11.	Rat reaktif lenf nodu. Grup 1; PBS verilen grup (H&E, x100).....	53
Şekil 12.	Rat reaktif lenf nodu. Grup 2; <i>Bartonella henselae</i> verilen grup (H&E, x100).	53
Şekil 13.	Rat reaktif lenf nodu. Grup 3; <i>Bartonella henselae</i> ve etanersept verilen grup (H&E, x100).	53

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No:

- Tablo 1.** Karaciğer dokusunda Modifiye HAI kriterlerine göre histopatolojik değerlendirme..... 50
- Grafik 1.** Organlara göre sadece *Bartonella henselae* (Grup 2) ve *Bartonella henselae* + ETN (0,4 mg/kg SC) verilen Grup 3'te kültürde üreyen bakterilerin koloni sayılarının karşılaştırılması **Error! Bookmark not defined.**

ÖZET

ETANERSEPT UYGULANAN FARELERDE AKUT *Bartonella henselae* ENFEKSİYON MODELİNİN İNCELENMESİ

Dr.Levent AKSOY

Çoğunlukla immünitesi bozulmuş hastalarda görülen bartonelloz, anjiyomatöz deri lezyonlarıyla karakterize, sistemik tutulumun da eşlik edebildiği, *Bartonella* türü bakterilerin etken olduğu zoonotik bir hastalıktır. Risk gruplarının saptanması ve epidemiyolojisi üzerindeki çalışmaların gerçekleşmesi ile son yıllarda önem kazanmıştır.

Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) önemli bir proinflamatuvar sitokin olup, kronik inflamatuvar yanıtın devam etmesi sonucunda; romatolojik hastalıklar başta olmak üzere, otoimmün, sistemik inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde yer almaktadır. Son 10 yılda TNF- α blokeri ilaç kullanımı artmıştır. Antiinflamatuvar etkilerinin yanı sıra, anti-TNF- α ilaçlarının kullanımı, enfeksiyon riskinin artması ile de ilişkilidir. TNF- α aktivitesinin engellenmesi, granüloamatöz inflamasyonu baskılar. Seroprevalans araştırmaları toplum içinde sessiz seyreden bartonelloz bulunduğunu göstermektedir. Bu projenin amacı immünitesi TNF- α inhibitörü etanersept etkisi altında olan deneklerde *Bartonella henselae*. enfeksiyonunun seyrinin doku düzeyinde reaksiyonunun araştırılmasıdır.

Araştırma, 3 farklı grupta Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda yürütüldü. Grup 1'e 100 μ L fosfatla tamponlanmış tuzlu su (PBS) SC, Grup 2'ye deneyin 0. ve 30. günlerinde $\sim 1 \times 10^6$ cfu/ml *Bartonella henselae* SC ve Grup 3'e ise 0. Ve 30. günlerinde $\sim 1 \times 10^6$ cfu/ml *Bartonella henselae* SC ve deneyin 1. Ve 5. gününde etanersept 0,4 mg/kg SC uygulandı. Enfeksiyon oluşum kontrolü IFAT (immüfloresan antikor tekniği) ile doğrulandı. 60. günde deney sonlandırıldı. Karaciğer, dalak ve lenf nodu dokularından kültür ve histopatolojik incelemeler yapıldı.

Makroskopik incelemede Grup 3'te bir örnekte deride nodüler lezyon, Grup 3'te iki karaciğer örneğinde kistik yapılar gözlemlendi. Grup 1 ve Grup 2'de birer adenom (Grup 1 için %11,1, Grup 2 için %14,3) saptandı ($p>0,05$). Karaciğer dokusunda Grup 2'de bir farede (%14,3), Grup 3'te beş farede (%83,3) mikrogranülom yapısı görüldü ($p<0,05$). Grup 2'de bir (%14,3) ve Grup 3'de bir (%16,7) farede nekrotize granülom vardı. Grup 2'deki bir farede (%14,3) pleomorfik hepatositler, Grup 3'te bir örnekte hemanjiyom mevcut idi.

Doku kültürlerinde gruplar arasında fark saptanmadı ($p>0,05$).

Histopatolojik incelemede ETN verilen grupta karaciğer dokusunda, granülom, interfaz hepatit parametrelerinde farklılık saptandı ($p<0,05$). Dalakta ekstramedüller hematopoez, ETN verilen grupta ETN verilmeyen gruba göre daha fazlaydı ($p<0,05$). Lenf nodunda histopatolojik inceleme kriterleri açısından gruplar arası farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Sonuç olarak etanersept etkisi altındaki *Bartonella hensela* ile enfekte farelerde enfeksiyon modelinin oluştuğu gösterildi. Etanersept verilen deneklerde histopatolojik olarak tespit edilen granülom oluşumunu artırdığı sonucuna ulaşıldı. Etanersept kullanacak hastalarda bartonellozis reaktivasyonunun ve ağır klinik tabloların oluşabileceği dikkate alınmalı ve bu konuda hasta değerlendirmelerinde duyarlı yaklaşılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Bartonella henselae*, TNF- α , etanersept, granülom, immünsüpresyon.

SUMMARY

EXAMINATION OF ACUTE *Bartonella henselae* INFECTION MODEL IN RATS WITH ETANERCEPT

Dr. Levent AKSOY

Bartonellosis, which is mostly seen in immunocompromised patients, is a zoonotic disease that is caused by Bartonella bacteria, which can be accompanied by characterization and systemic involvement of angiomatous skin lesions. It has gained importance in recent years with the identification of risk groups and the increased work on epidemiology.

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) is an important proinflammatory cytokine and as a result of chronic inflammatory response, rheumatologic diseases, especially autoimmune, systemic inflammatory diseases are in the pathogenesis. The use of TNF- α blocking drugs has increased in the last 10 years. In addition to antiinflammatory effects, the use of anti-TNF- α drugs is also associated with an increased risk of infection. Inhibition of TNF- α activity suppresses granulomatous inflammation. Seroprevalence studies show that there is silent bartonellosis in the community. The objective of this project is to investigate the tissue-level reaction of the course of *Bartonella henselae* infection in subjects with an immunosuppressive effect of the TNF- α inhibitor etanercept.

The research was carried out in 3 different groups at Pamukkale University Medical Faculty Experimental Surgery Application and Research Center Laboratory. Group 1 received 100 μ L phosphate buffered saline (PBS) SC. In group 2, $\sim 1 \times 10^6$ cfu / ml Bartonella henselae SC was given on days 0 and 30 of the experiment. Group 3 received $\sim 1 \times 10^6$ cfu / ml Bartonella henselae SC on days 0 and 30 and etanercept 0.4 mg / kg SC on day 1 and 5 of the experiment. Infection control was confirmed by IFAT (immunofluorescent antibody technique). On the 60th day the experiment was terminated. Culture and histopathological examinations were performed on liver, spleen and lymph node tissues.

Macroscopic examination of the specimens from subjects revealed nodular skin lesions in one specimen in Group 3, and cystic structures in two liver specimens in Group 3. One adenoma was detected in Group 1 and Group 2 (11,1% for Group 1 and 14,3% for Group 2) ($p > 0,05$). Microgranuloma structure was observed in one sample of Group 2 (14,3%) and in five samples of Group 3 (83,3%) in liver tissue ($p < 0,05$). There was necrotizing granulomas in one (14,3%) in group 2 and one (16,7%) in group 3. Pleomorphic hepatocytes in one group 2 (14,3%) and hemangiomas in one group 3.

There was no difference between groups in tissue cultures ($p > 0,05$).

There was a difference in the liver, granulomas, interphase hepatitis parameters in ETN group ($p < 0,05$). Extramedullary hematopoiesis in the spleen was higher in the group receiving Etanercept than in the group without Etanercept ($p < 0,05$). Histopathologic examination criteria in lymph node were not different between the groups ($p > 0,05$).

As a result, infection with *Bartonella hensela* under the influence of etanercept was shown to occur in infected mice. The results obtained in the subjects with etanercept increased histopathologically detected granuloma formation. It should be taken into account that bartonellosis reactivation and severe clinical manifestations may occur in patients who will use etanercept and should be approached sensitively in patient evaluations.

Key words: *Bartonella henselae*, TNF- α , etanercept, granuloma, immunosuppression.

GİRİŞ

Bartonelloz, ilk defa 1983'te Stoler ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Çoğunlukla immünitesi bozulmuş hastalarda görülen bartonelloz, anjiyomatöz deri lezyonlarıyla karakterize, sistemik tutulumun da eşlik edebildiği, *Bartonella* türü bakterilerin etken olduğu zoonotik bir hastalıktır. I. Dünya Savaşı'nda siper ateşi olarak bilinen, günümüzde *Bartonella* olarak sınıflandırılan bakterilerin neden olduğu hastalıklar, 1990'ların başlarında AIDS hastalarında ve kentsel bölgelerdeki evsiz hastalarda fırsatçı enfeksiyonlar olarak ortaya çıkarak tekrar gündeme gelmiştir (1). Bu fırsatçı enfeksiyonlar sıklıkla immünitesi baskılanmış kişilerde görülmesine karşın, immünitesi normal olan kişilerde de olabilmektedir. *Bartonella* türü küçük, zayıf boyanan, Gram-negatif, aerobik, oksidaz negatif bakterilerdir. Risk gruplarının saptanması ve epidemiyolojisi üzerindeki çalışmaların artması ile son yıllarda önem kazanmıştır. Çeşitli ülkelerdeki farklı risk gruplarında anti-*Bartonella* antikor seropozitifliği %50'yi aşan oranlarda bildirilmiştir (1,2).

Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) önemli bir proinflamatuvar sitokin olup, kronik inflamatuvar yanıtın devam etmesi sonucunda; romatolojik hastalıklar başta olmak üzere, otoimmün, sistemik inflamatuvar hastalıklar oluşur. Juvenil romatoid artrit, romatoid artrit, psöriyatik artrit, ankilozan spondilit (AS), psöriyazis, Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi otoimmün sistemik inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde suçlanmaktadır (3-5).

Son 10 yılda TNF- α blokeri ilaç kullanımı artmıştır (4). Bu etkilerin yanı sıra, anti-TNF- α ilaçlarının kullanımı, enfeksiyon riskinin artması ile de ilişkilidir. TNF- α aktivitesinin engellenmesi, granüloamatöz inflamasyonu baskılar (5). Bu durumda anti-TNF- α ilaçlar bu mekanizmayı bozarak tüberküloz başta olmak üzere, fırsatçı enfeksiyonların gelişme riskini artırmaktadırlar (4,6). TNF- α inhibitörleri alan hastalar, atipik mikobakteriler, *Mycobacterium avium intracellulare*, *Mycobacterium kansasii* ve *Mycobacterium marinum* ile enfeksiyon dahil olmak üzere, fırsatçı enfeksiyonlar açısından risk altında olarak düşünülmelidir. Tüm TNF- α inhibitörleri ile histoplazmoz , pnömositoz, aspergilloz, koksidiodomikoz,

sporotrikoz, nokardiyoz, listeriyoz ve sitomegalovirüs enfeksiyonu gibi fungal ve diğler fırsatçı enfeksiyonlar gözlenmiştir (7).

Toplumda farklı hastalık gruplarında TNF- α inhibitörleri kullanılmaktadır. Aynı zamanda yapılan seroprevalans araştırmaları toplum içinde sessiz seyreden bartonelloz bulunduğunu göstermektedir. Bu projenin amacı immünitesi TNF- α inhibitörlerinin etkisi altında olan farelerdeki *Bartonella henselae* enfeksiyonunun seyrinin doku düzeyinde reaksiyonunun araştırılmasıdır.

GENEL BİLGİLER

BARTONELLA TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ

Bartonella sp. dünyada oldukça yaygın görülen, hayvanlar ve vektörler ile ilişkilendirilen zoonotik bir patojendir (8). *Bartonella*; alem “Bacteria”; phylum “Proteobacteria”, sınıf “Alfa proteobacteria”, takım “Rhizobiales”, familya “Bartonellaceae”, tür “*Bartonella*” olarak sınıflandırılmaktadır (9).

Bartonella ismi, ilk defa 1909 yılında *Bartonella bacilliformis*'i eritrosit içinde tanımlayan Barton AL tarafından verilmiştir, yakın zamandaki sınıflamaya kadar bu türdeki tek üye olarak kabul edilmiştir (9,10). *Bartonella henselae* (*Rochalimaea henselae*) 1992'de izole edilmiş, *Rochalimaea* ve *Bartonella* türlerinin *Rickettsiye* türüne göre birbirleriyle daha yakından ilişkili olduğu, her iki türün *Rhizobiaceae* ve “alfa proteobacteria” içinde ilişkilendirilebileceği gösterilmiştir (11). *Rochalimaea* türleri *Rickettsiaceae*'den çıkarılmış ve *Rochalimaea* türünde yer alan türleri (*Rochalimaea quintana*, *R. vinsonii*, *R. henselae* ve *R. elizabethae*) *Bartonella* türü olarak yeniden sınıflandırılmıştır. *Grahamella* ve *Bartonella* türlerini içeren *Bartonellaceae* ailesi *Rickettsiales* düzeninden çıkarılmıştır (9). *Rickettsiales* takımından ayrılan *Bartonellaceae* ailesi de içindeki tek tür *Bartonella* türleridir. *Bartonellaceae* ailesinde *Bartonella* ve *Grahamella* türleri yer almaktayken sonraki araştırmalar ile *Grahamella*'nın beş türü *Bartonella* türleri olarak yeniden sınıflandırılmıştır (10,12).

Bartonella türlerine son yıllarda sürekli yeni izole edilen türler eklenmekte, 35 tür ve üç alt türü bulunmaktadır. Bugüne kadar tanımlanan türlerden onüç tür ve alttürün insan için patojen olduğu bilinmektedir. Bu tür ve alttürlerin insanda enfeksiyon yaptığı bildirilenler; *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *B. henselae*, *B. elizabethae*, *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, *B. vinsonii* subsp. *arupensis*, *B. grahamii*, *B. koehlerae*, *B. tamiae*, *B. alsatica*, *B. ancashensis*, *B. clarridgeiae*, *B. mayotimensis*, *B. Rochalimae*'dir. İzole edilen diğer *Bartonella* türleri ise *B. vinsonii* subsp. *vinsonii*, *B. vinsonii* subsp. *yucatanensis*, *B. birtlesii*, *B. tribocorum*, *B. acomydis*, *B. bovis*, *B. capreoli*, *B. schoenbuchensis*, *B. chomelii*, *B. rattimassilensis*, *B. phoceensis*, *B. weissii*, *B. apis*, *B. callosciuri*, *B. doshiae*, *B. dromedarii*, *B.*

florenciae, *B. fuyuanensis*, *B. heixiaziensis*, *B. jaculi*, *B. japonica*, *B. melophagi*, *B. naantaliensis*, *B. peromysci*, *B. pachyuromydis*, *B. phoceensis*, *B. queenslandensis*, *B. rattaaustraliani*, *B. silvatica*, *B. senegalensis*, *B. talpae*, *B. taylorii*, *B. tribocurum*, *B. washoensis* ve *B. australis*'dir (1,13).

Dört kısma ayrılan *Bartonella* türlerinde; soy (Lineage) 1'de *B. bacilliformis* yer almakta olup, eski soy grubundadır. Soy 2'de genellikle patojen olmayan *B. bovis*, *B. chomeli* yer alır. Soy 3'te ise *B. clarridgeiae*, ve *B. rochalimae* yer almaktadır. Soy 4, *B. henselae*, *B. grahamii*, *B. quintana*, *B. tribocorum* ve diğerlerinden oluşur. Soy 2-4 modern soylar olarak adlandırılmaktadır (14, 15).

BARTONELLA TÜRLERİNİN EPİDEMİYOLOJİSİ

Bartonella sp. tipik olarak kalıcı ve subklinik enfeksiyonlar oluşturdukları çok sayıda memeli konakçının vektör kaynaklı hemotropik bakterileridir (9). Çeşitli *Bartonella* türleri, insanlar ve evcil hayvanlar da dahil olmak üzere birçok tesadüfi konakçının patojenleri olarak kabul edilmektedir (10). *Bartonella* türlerinin kediler, kemirgenler ve insanlar da dahil olmak üzere omurgalı konak rezervuarları ile ilişkisi uzun zamandır bilinmektedir. Ancak deniz memelileri, deve gibi karasal otoburlar, aslanlar, ayılar ve tilkileri de içeren vahşi etçiller de dahil olmak üzere sürekli olarak genişleyen yeni hayvan rezervuarları bildirilmiştir (8). Son yıllarda risk gruplarının saptanması ve epidemiyolojisi önem kazanmıştır. *Bartonella* bakterisi pire, bit, kene, kum sineği gibi hematojen artropod vektörlerle konaktan konağa taşınmaktadır (11).

Yapılan çalışmalar *B. henselae*'nın dünya genelinde kedilerde en yaygın *Bartonella* türü olduğu ortaya koymaktadır. Kediler (*Felis catus*) üç farklı zoonotik *Bartonella* türü için (*B. henselae*, *B. clarridgeiae* ve *B. koehlerae*) rezervuardır (22). Yaygın olarak enfekte kediler bu *Bartonella* türlerinin subklinik kalıcı taşıyıcılarıdır (19).

B. henselae, *B. clarridgeiae* ve *B. koehlerae* türlerinden elde edilen DNA dizileri dünya çapında kedilerden toplanan kanlarda yaygın olarak saptanmıştır (20). Kedi piresi (*Ctenocephalides felis*) *Bartonellae* türünün ana vektörü olarak kabul edilir. Kedi pireleri, *B. henselae*'yı bağırsaklarında barındırmakta ve dışkıları ile

salgılayarak *Bartonella* bakterisini kediler arasında taşımaktadırlar. Kontamine tırnaklar ile tırmalama veya kedilerin kendilerini yalamaları esnasında pire dışkılarının diş aralarına yerleşerek, ısırma sırasında da insanlara taşıma sıklığı artmaktadır. Kedilerde *Bartonella* sp. prevelansının, pire istilası seviyesine, konak bolluğuna, mevsime ve cinsiyete bağlı olarak değiştiği, doğal ve yerleşim alanları arasında farklılık göstermediği rapor edilmiştir (26). Nadiren de olsa köpeklerden insanlara geçiş tanımlanmıştır (22).

Kedi tırmığı hastalığı (KTH) insidansındaki önemli bölgesel değişim pire bolluğu ile ilgilidir (23).

Çeşitli ülkelerde risk gruplarında ve sağlıklı bireylerde *Bartonella spp.* seropozitifliği %0,2-40 arasında değişmektedir (24-26). KTH her yaşta ve her iki cinsiyette de görülebilmesiyle birlikte, yaş dağılımını araştıran çalışmalarda olguların yarısından fazlasının 20 yaş altında, %33-43'ünün 21 yaş ve üstünde, %17'sinin 41 yaş ve üstünde olduğu bildirilmektedir. Hatta on yaşından küçük çocuklarda daha sık görüldüğü bildirilmektedir (27, 28).

PATOGENEZ

Yaşam Döngüsü ve Enfeksiyon Stratejisi

Bartonella bakterisi enfeksiyon döngüsü, kan emici eklem bacaklılar yoluyla bir memeli rezervuarın inokülasyonu ile başlatılır. İnokule *Bartonella* bakterisi birincil bir niş içinde bakteri ve / veya konakçıyı yetkin hale getirmek için bir ikamet süresi geçirmelidir. Birincil nişten itibaren, *Bartonella* bakterisi kan dolaşımına geçer. Adezyondan devamlı invazyona ve sürekli vektör iletimini sağlayan hücre içi kalıcılığa kadar uzanan bir dizi basamakta eritrositleri enfekte eder. Enfeksiyon döngüsünün patojen-konak uyumunun spesifik yollarından kaynaklı, türlerden türlere belirli farklılıklar görülse de, genel olarak bu enfeksiyon döngüsünün genel çerçevesi *Bartonella* türü üyeleri arasında korunmaktadır. Özellikle rezervuar konakçı enfeksiyonu için kalıcı bakteriyemi sadece rezervuar konakçı modelleri kullanıldığında elde edilmiştir (14, 29-31). Non-rezervuar konakçıları *Bartonella*

türleri ile enfekte etme girişimleri, ne kanıtlanabilir intraeritrositik bakteriyemi ne de kalıcı enfeksiyonla sonuçlanmıştır (32-34).

Bartonella bakterisinin intravenöz inokülasyonu, kırmızı kan hücrelerinin ani enfeksiyonuna yol açmaz. Bakterilerin veya konakçının eritrosit kolonizasyonunu sağlamak için bir şekilde *Bartonella* sp.'nin kan enfeksiyonu evresi öncesinde bir niş içinde kalarak korunması gerekmektedir (31). *Bartonella* bakterisi ile intravenöz veya intradermal inokülasyonu takiben, bakteriler konakçı doğal bağışıklık sisteminden kaçınırlar. Bu durum, TLR (Toll like reseptör)'nin, *Bartonella* türlerinin lipopolisakkaridinin azaltılmış endotoksik aktivitesiyle sonuçlanan, bakterilerin dış membranı üzerindeki lipopolisakkariti tanımlayamamasına bağlanmıştır (35). İlâveten, *B. quintana*, anti-inflamatuar interlökin-10'un (IL-10) aşırı üretimi ve TLR4 gibi proinflamatuar faktörleri antagonize ederek konakçı inflamatuvar yanıtı baskılama stratejileri kullanır (36,37).

Bartonella sp. enfeksiyonları sırasında sık görülen lenf nodu tutulumu, lenfatik sistem yoluyla bu taşınmanın olabileceğini gösterebilir. *Bartonella* sp. enfeksiyon stratejisinin bir parçası olarak migratuar hücrelerin olası bir rolü de *B. henselae*'nin en az 3 gün boyunca makrofaj etkilerinden korunabilmesidir (38). Bu hücreler de endositik yoldan farklı bir hücre içi niş oluşturabilir (39).

Bir dizi in vitro çalışma, *B. henselae*'nin endotelial hücreler, endotelial progenitör hücreler, epitelyal hücreler, hematopoietik progenitör hücreler, monositler / makrofajlar, mikroglial hücreler ve hatta kene hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerini enfekte edebildiğini göstermiştir (40-46).

İn vitro olarak *Bartonella* sp.'nin endotelial hücreler başta olmak üzere çekirdekli konakçı hücrelerle etkileşimi hücrel invazyon, nükleer faktör kapp B (NF- κ B) ve hipoksi ile indüklenen faktör-1 (HIF-1) sinyallemesinin aktivasyonu, apoptozun inhibisyonu ve mitojenik uyarım gibi bir dizi önde gelen fenotipi ortaya çıkarmıştır (47,48).

B. henselae'nin insan endotelial hücrelerine girişi, görünüşte fermuar benzeri bir mekanizma kullanan tek bir bakteri olarak veya invazom denen büyük agregatlar

halinde iki karşılıklı yolla olur (44, 49). Fermuar benzeri mekanizmadaki tek bakteri veya küçük konglomeraların alınması, asitleşmeyi ve lizozomlarla kaynaşmayı bozan, ancak perinükleer boşlukta biriken *B. henselae* içeren vakuoller (BCV) ile gerçekleşir (39).

B. henselae'nin insan embriyosunu in vitro olarak hem VirB / VirD4 Tip 4 sekresyon sistemine (T4SS) bağlı invazom oluşturarak intraselüler invazyonu hem de VirB / VirD4 T4SS'den bağımsız bir mekanizma ile endotel hücrelerini işgal ettiği gösterilmiştir (40,50,51).

B. henselae enfeksiyonu sırasında vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) üretimi, *Bartonella* adezin A (BadA) gerektirdiği ve hipoksi ile indülenen faktör (HIF-1) bağımlı mekanizma yolu ile gerçekleştiği gösterilmiştir (47,52). Apoptosisin inhibisyonunun, *Bartonella* efektör proteinlerinin (Beps), yani BepA'nın *B. henselae*'nin VirB / VirD4 T4SS'si tarafından verilmesi sonucu olduğu gösterilmiştir (56). Bu nedenle, *B. henselae* vakalarında, bu bakterinin neden olduğu anjiyogenik konak yanıtı için BadA ve VirB / VirD4 T4SS'nin koordineli çalışmalarının gerekli olduğu düşünülmektedir (53). *B. henselae*'daki bu özgün konak yanıtını açıklamak için bir parakrin anjiyogenik döngü modeli ileri sürülmüştür (54).

Bartonella sp.'nin anjiyogenik özellikleri, endotel hücrelerin doğrudan mitojenik, antiapoptotik uyarımı ve doğrudan etkilerle sinerjize olan otokrin ve parakrin sitokin sekresyonunun tetiklenmesine göre ayrılabilir. *B. henselae*'nin anjiyogenik özellikleri, Ca⁺² salınımına bağlı bir faktör ve muhtemelen temasa bağlı NF-κβ'yi içeren proinflamatuvar aktivasyonu yolları ile meydana gelmektedir (55,58).

Enfekte eritrositlerin oranı, sıçanlarda *B. tribocorum* ve insanlarda *B. quintana* vakalarında %1, *B. henselae* ile enfekte edilmiş kedilerde yaklaşık %5 bulunmuştur (31,57-59). Doğada *Bartonella* türünün bakteriyemi süresi bilinmemektedir (60).

Bağışıklık Kaçağı ve İmmünomodülasyon

Bartonella sp. enfeksiyonunun gizli stratejisinin bir parçası olarak pasif kamuflaj ve aktif aldatma yoluyla bir konakçı bağışıklık yanıtının ortaya çıkarılmasını karakteristik olarak önler. Bu iki taraflı “anti-immünoloji” stratejisi, bakterilerin hem doğuştan gelen hem de uyarlanabilir bağışıklıktan korunduğu ve vektör iletimi için yetkin bir bölgede kaldığı, intraeritrositik nişin kolonizasyonunu amaçlamaktadır. Kısacası lipopolisakkaridler (LPS) veya flagella gibi patojen ile ilişkili moleküler paternlerin (PAMP) saklanması ve modifiye edilmesi, *Bartonella* sp.’nin patojen bir bakteri olarak tanınmasını önler (61,62).

Bartonella sp. tarafından interlökin-10 (IL-10) sekresyonunun uyarılması, bağışıklık modülasyonunun önemli bir parçası olduğunu kuvvetli bir şekilde göstermektedir. Her ne kadar ortaya çıkan düşük seviyedeki inflamasyon, bazı durumlarda konakçıda akut patolojiye karşı koyabilse de, yüksek IL-10 salgılanmasının etkilerinin, *Bartonella* bakterisi açısından avantajlı olduğu için asemptomatik, kalıcı bir enfeksiyon seyrini büyük ölçüde desteklediği rapor edilmiştir (63-65). *B. henselae*, farelerde, kedilerde ve insanlarda in vitro veya in vivo olarak IL-10 salgılanmasını artırdığı göstermiştir (65-67).

Belirli antikörlerin üretimi, *Bartonella* bakterisinin kan akımından temizlenmesinde büyük rol oynamaktadır. Ancak tekrarlayan bakteriyemi oluşumu, bu antikörlerin birincil nişteki potansiyel hücre içi bakterilerin yok edilmesine uygun olmadığını belirlemektedir (64,68,69). *Bartonella* sp.’nin rezervuar konakçılardan tamamen yok edilmesinde hem hücresel hem de humoral bağışıklık gereklidir. Patojen, bu tür bir bağışıklık tepkisini etkin bir şekilde engeller (59-70).

B. henselae ile farelerin enfeksiyonlarını araştıran çeşitli çalışmalar, bakterilerin bakteriyemiye neden olmadığını ve patojeni güvenilir bir şekilde ortadan kaldıran interferon- γ (IFN- γ) salgılanmasıyla bir T helper 1 (Th1) tepkisi oluşturduğunu bildirmiştir (65,71-73).

Modern türlerin rezervuar konakçı enfeksiyonları, bakteriler elimine edildikten sonra re-enfeksiyonun önlenmesine neden olan antikör aracılı koruyucu

bir bağıklık kurar gibi görünmektedir (74,75). Ancak bu bağıklık *Bartonella* türlerine karşı belirgin çapraz koruma sağlamamaktadır (76).

İnsanda *B. henselae* intraselüler gelişmektedir. Bakterinin yüzeyindeki demet şeklindeki Tip 4-like pili elektron mikroskop ile gözlemlenmiş ve hücreye tutunma ile virulansda önemli bir faktör olduğu tahmin edilmiştir. Ayrıca besiyerine yapışmada da önemli bir rol oynamaktadır. *B. henselae* klinik örnekten ilk izolasyonda besiyerine kuvvetlice yapışır ancak bu özellik pasajlardan sonra kaybolabilir. Araştırmacılar bakteri ve hücreler arasındaki etkileşimi sağlayan ve bakteriyi oksidatif yıkımdan koruyan *HtrA* genini tanımlamışlardır. *B. henselae* kompleman yolunu aktive ederek doku makrofajlarının yüzeyindeki spesifik antijenlerin ekspresyonuna neden olur, lenfositlere bağlanır ve polimorfonükleer lökositlerin oksidatif fonksiyonunu azaltır (19).

B. henselae anjiyogenik bir faktör salgılamaktadır ve bu faktör bakteriyel invazyon dışında endotelial hücre proliferasyonunu uyarmaktadır (54). Kempf ve ark. *B. henselae*'nın EA.hy926 hücrelerini VEGF üretmek için uyardığını ispatlamıştır. Bu hücreler sırasıyla endotelial hücrelerin proliferasyonunu stimüle etme ve *B. henselae*'yı üretme kabiliyetine sahiptir (77).

Virulans Faktörleri

Her bakteri, konak hücrede invazyon, kolonizasyon, replikasyon ve hayatta kalma gereksinimlerine özel olarak uyarlanmış virulans faktörleri taşır. *Bartonella* türlerinin bakteriyel virulans stratejileri, konakta hastalığa neden olmamak, sürekli yayılım ve proliferasyonu teşvik etmek için evrimleşmiştir. *Bartonella* türlerinin enfeksiyonunu kolaylaştıran iki ana virulans faktörü, Trimerik ototransportör adezinlerin [Trimeric autotransporter adhesins (TAA)] ve T4SS] varlığıdır (78).

Bartonella türündeki moleküler biyolojisiindeki sürekli ilerlemeler ve bu türün postgenomik çağa girmesi, virulansa katıldığı varsayılan bakteriyel faktörlerin sayısını büyük ölçüde artırmıştır, ancak moleküler patogenez ve bunların birçoğunun özel fonksiyonu hakkında çok az şey bilinmektedir (79).

Trimerik ototransporter adhezinler (TAA)

Gram-negatif bakterilerin TAA'ları, tip V sekresyon sistemleri olarak kabul edilen bir protein ailesidir. Gram-negatif bakterilerin iyi bilinen virülans faktörleridir ve tipik olarak hücre yüzeylerinde, hücre dışı matriste (ECM) veya dolaşımdaki faktörler üzerinde konakçı proteinlere bağlanarak patogeneze katkıda bulunurlar. *B. henselae*'da BadA, *B. quintana*'da Vomps ve *B. vinsonii*'de *Bartonella* tekrar proteinleri (Brps) TAA protein ailesine dahildir (50, 80, 81).

BadA, *B. henselae* yüzeyinde yaklaşık 240 nm uzunluğunda filamanlar oluşturan 328 kDa'lık bir monomerdir. BadA'da baş kısmının, otoaglutinasyon ve hücre dışı matrikse bağlanmada, sap bölgesinin ise fibronektin yapışmasında gerekli olduğu gösterilmiştir (82).

BadA'nın *B. henselae* moleküler patogenezindeki temel rolü; bakteriyel otoaglutinasyon, hücrelerin yanı sıra hücre dışı matrikse adhezyon, fagositozun inhibisyonu ve hedef hücrelerde bir proanjiyojenik transkripsiyon programının uyarılmasıdır (15, 47, 83, 84). Deneysel kanıtlar, endotelial hücrelerdeki BadA aracılı adhezyonun, β 1-integrinleri hedefleyebileceğini ve kollajenler, laminin ve fibronektin gibi ECM proteinleri aracılığıyla köprülenmeyi içerdiğini göstermektedir (82,83). Bununla tutarlı olarak, *B. henselae*'nın, ECM'nin ve hyaluronat, laminin ve vitronektin gibi diğer bileşenlerinin, BadA-bağımlı bir şekilde bağlandığı gösterilmiştir (85,86).

Mukoid kolonilerden *B. henselae*'nın yüksek pasajlı faz varyantları, kuru, gömülü kolonilerden elde edilen düşük pasajlı bakterilere göre Hep-2 hücrelerine daha az bağlanma göstermektedir (42). *B. henselae*'nın pasajlanma sayısı az olan izolatları oldukça agregatif ve yapışık bir fenotipe sahiptir. Tekrarlanan pasajlarla koloni fenotipindeki değişimlerin sonucundaki *B. henselae*'nın yapışmasındaki azalma BadA ifadesinin kaybı ile ilişkilidir (42,47).

Sadece BadA1 pozitif suşları pro-anjiyogenik konak cevabını başlattığı için, konak hücre VEGF üretimi için *B. henselae*'nın BadA proteininin gerekli olduğu gösterilmiştir (77). *B. henselae* aracılı üretimi, hipoksi indüksiyonu ve HIF-1 aktivasyonu gerektirir (52).

BadA'ya yanıt olarak değiştirilmiş gen ekspresyon modelinin, *B. henselae*'nin temasa bağlı antiapoptotik ve mitojenik etkilerinin bir kısmı olduğu görülmektedir.

T4SS çoğu prokaryotlar grubu ve nükleoprotein kompleksi formundaki plazmidler başta olmak üzere genetik materyalin interbakteriyel transferi sağlayan konjugasyonlar arasında aracılık yapan yaygın makromoleküler yapılarıdır. *Bartonella*'nın VirB/D4 T4SS'i, bu türün en önemli virülans faktörlerinden birini oluşturur ve soy 3 ve 4'n tamamında bulunur (14,87).

Tirozin fosforilasyon motifleri, bakteriyel efektör proteinleri arasında yaygın bir özelliktir ve genellikle hedef hücrede fosforilasyon üzerine konak sinyal kaskadlarını yıkararak enfeksiyonu teşvik eder. *Bartonella* efektrlerinin FIC (cAMP tarafından indüklenen filament) domainleri ve tirozin fosforilasyon motiflerinin aksine, *B. henselae* BepA'nın "Bep intracellular delivery" (BID) alanı, bu efektör proteinin ayırt edici özelliği olan güçlü antiapoptotik ve proanjyogenik fenotipin ortaya çıkarılması için yeterli bulunmuştur (53).

B. henselae'nin Houston-1 suşunun, birincil niş sırasında enfeksiyon gibi in vivo olarak nükleer konakçı hücrelerin manipülasyonuna karşılık gelebilen insan endotelial hücreleri olan bir enfeksiyon modelinde geniş bir VirB/Bep-bağımlı hücresel fenotip dizisi ortaya çıkardığı bulunmuştur (87). Bu fenotipler, apoptozisin inhibisyonu, NF- κ B yoluyla proinflamatuvar sinyallemenin aktivasyonu, anjiyogenezin modülasyonu ve invazom formasyonu sırasında aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesidir (48,49).

Bartonella enfeksiyonlarında in vivo olarak belirli bir invazyon formasyonuna yönelik bir rolün doğrudan bir kanıtı olmamasına rağmen, basiller anjiyomatosis (BA) lezyonlarında proliferatif endotelial hücrelerin çevresindeki bakteriyel agregatlara benzerlik çarpıcıdır (50).

Bartonella efektör proteinlerinin aktiviteleri yoluyla endotelial hücrelerin proinflamatuvar aktivasyonu, dış zar proteinleri (OMP'ler) veya *B. henselae*'nin BadA gibi birçok virülans faktörüne bağlı olan NF- κ B'nin VirB/D4'ten bağımsız aktivasyonuna ek olarak gelir. (48). NF- κ B aktivasyonundaki VirB/D4'e bağlı artış,

proinflamatuar etkinin *Bartonella*'nın anjiyogenik aktivitesi ile örtüşebileceği veya bir parçası olabileceği fikrini destekleyen, hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1) yüzey ekspresyonunun, E-selektin ve IL-8 salgılanmasını indükler (15).

GroEL, HtrA, Omp89 ve diğer membrana bağlı proteinlerin de protein katlanması veya bozunmasında rol oynadığı düşünülmektedir (47, 89, 90). GroEL'in tekrar tarif edilen, mitojenik ve antiapoptotik faktör olduğunu ileri sürülmektedir (91). *Bartonella* türündeki GroEL'in, proliferatif sinyallemeyle doğrudan tetiklediği ve/veya IL-8 gibi otokrin veya parakrin mitojenleri gibi davranan faktörlerin salgılanmasını indükleyeceği düşünülmektedir (92).

Trw T4SS

VirB/D4 T4SS'ye ek olarak, lineage 4 türü, Trw T4SS'yi eritrositlere yapışmaya aracılık eden soya spesifik bir virülans faktörü olarak barındırır (93). Flajeli olmayan *Bartonella* türlerinde flajelin eritrosit adhezyonundaki rolünü Trw sistemi üstlenir (98). Trw T4SS *Bartonella* türlerindeki diğer tip IV sekresyon sistemleri ile yakından ilişkili değildir. Bununla beraber, diğer sistemlerden bağımsız farklı olarak gelişmiştir (87).

Filamentöz hemagglutininer (Fha)

B. henselae dahil olmak üzere bazı *Bartonella* türlerinin genomunda kodlanmış bir tip V salgılama sistemi proteinleridir. *B. henselae*'de BadA ekspres edilmediğinde, yapışma için Fha proteinlerinin destekleyici bir rol oynayabileceği öne sürülmüştür (138). Yine de, *Bartonella* bakterisinde yapışma ve virülansında Fha proteinlerinin işlevi yeteri kadar açıklanamamıştır (94).

Deformin

Deformin ısıya, çeşitli proteazlara, α -amilaza ve pH değerinin 2 ila 9.5 aralığındaki değişimlerine dirençli, küçük (1.4-kDa), suda çözünen ancak amfifilik olan, bakterinin salgıladığı bir faktördür (95).

B. henselae'nin invazyonunda membran deformasyonu gösterilmiştir (96). Deforminin hemotropideki rolü nedeniyle daha fazla araştırma gerekmektedir.

İnvazyonla ilişkili lokus

IalA ve IalB'yi kodlayan invazyonla ilişkili lokus (İal), *Bartonella* türünün esansiyel bir virülans faktörüdür. Eritrosit invazyonunda kritik bir rol alırken, adhezyon için rol almaz (93,97).

Hemolizinler

B. bacilliformis ile enfeksiyonların akut fazındaki tedavi edilmemiş hastalarda yüksek mortalite oranlarına neden olan, ağır hemolitik anemiden sorumludur. Kohemolizin aktivitesini, yani presitabilize eritrositlerin zarlarını bozma kapasitesini barındıran Cfa (CAMP benzeri faktör ototransporter) olarak adlandırılan, *B. henselae*'nin bir oto-taşıyıcısı için daha fazla katkı vermektedir (98).

Lipopolisakkaritler (LPS)

Bartonella spp.'nin sahip olduğu LPS molekülü, diğer Gram-negatif bakterilerin aksine TLR4'ü zayıf bir şekilde aktive eder ve düşük düzeyde endotoksisite gösterir (99).

B. bacilliformis, *B. henselae* ve *B. quintana* LPS'lerinin memelilerde spesifik bir humoral bağışıklık yanıtı oluşturmadığı gösterilmiştir (100,101).

“Kuru agar-çukur” ve “düzgün olmayan agar-çukurcuk” kolonileri arasındaki dimorfizm, *B. henselae*, *B. schoenbuchensis* ve *B. bacilliformis* gibi çeşitli *Bartonella* türleri için bildirilmiştir (42,102,103). Bu fenomenin moleküler temeli hiç ortaya çıkarılmamış olsa da, faz değişiminin neden olduğuna inanılmaktadır (104).

Hemin bağlayıcı protein (Hbp)

Hem *Bartonella* bakterisinin hayatta kalması için gereklidir. Arthropod vektörünün bağırsaklarında, *Bartonella* türleri, memeli konakçının kan dolaşımına sınırlı olan, toksik konsantrasyonlarda heme maruz kalırlar. Bu nedenle, hemin bağlayıcı proteinlerin (Hbps) multigen ailesinin rollerinden biri, *B. henselae* için kedi piresinde olduğu gibi, vektörde sağkalımı kolaylaştırmaktır. *Bartonella* sp.'nin demir alımı için, kullandığı HbpA, bakteriyel büyüme için gerekli olan hemini bağlamaktadır (95).

Hbps için, muhtemelen besleyici bir rezervuar olarak hizmet eden hem ile bakterinin kaplanması kolaylaştırmak, reaktif oksijen türlerine karşı antioksidan bariyer sağlamak, daha uygun bir mikroaerofilik ortam sağlamak için bakterinin etrafındaki oksijen seviyelerinin düşürülmesi, fibronektin, heparin ve insan umbilikal ven endotel hücrelerini (HUVEC) bağlamak için bir adhezin olarak işlev görmesi gibi fonksiyonları gösterilmiştir (106-108).

BatR/BatS den oluşan iki bileşenli sistemin, çeşitli virülans genleri içeren büyük bir *regulonun* ekspresyonunu yönlendiren ve insan kanının hafif bazik pH'ında indüklenen *Bartonella* bakteri virülansının ana düzenleyicilerinden birisi olduğu gösterilmiştir (109).

Bartonella sp.'nin dış zar proteini olan OMP43, *B. henselae* ile endotel hücreleri arasındaki etkileşimde adhezin olarak işlev görür, fibronektini bağlar (47).

B. henselae'nin bir başka adhesini, fibronektini bağladığı gösterilen bir çinko metalloproteaz domain içeren bir immünojenik yüzey proteini olan Omp89'dur (84,110)

Pap31, doza bağımlı bir şekilde fibronektin, heparin ve insan umbilikal ven endotel hücrelerine (HUVEC) bağlandığı gösterilen bir başka *B. henselae* proteindir. Başlangıçta bir bakteriyofaj proteini olarak tanımlanan bu proteinin, daha sonra, paralog bir hemin bağlayıcı protein ailesinin bir üyesi olduğu gösterilmiştir (106).

***Bartonella henselae*'nın KLİNİK TABLOLARI**

İnsanlardaki *Bartonella* enfeksiyonlarının büyük çoğunluğu, *B. bacilliformis*, *B. henselae* veya *B. quintana*'ya atfedilmekle birlikte potansiyel insan patojenlerinin listesi artmaya devam etmektedir. Potansiyel patojen *Bartonella* türlerinin insan hastalıkları ile ilişkisi, bazı türler için literatürdeki önemli bilgilere ve çok sınırlı bilgiye veya hatta diğer türler için tek vaka raporlarına dayanır. *Bartonella* türlerinin hastalıklı dokulardan izolasyonu bazı raporlarda açıklanırken, diğerlerinde seroloji veya moleküler tanımlar etiyojik rolü desteklemektedir. Dolayısı ile her bir *Bartonella* türünün insan hastalığı ile ilişkisinin gücü değişken olarak kabul edilmelidir. Hayvanlarda bulunan herhangi bir *Bartonella* türünün insanları enfekte edebileceği akıldan çıkarılmamalıdır (1,2,111).

Bartonella türleri insanlara insan vücut biti, kedi piresi, tatarcık ve kenelerin kan emmesi ile ya da rezervuar hayvanların tırmalaması, ısırması sonucu travmaya bağlı olarak bulaşır. Dolaşım sistemine geçen *Bartonella* sp. ikincil odaklara gider, bu odaklar kalp kapakçıkları, karaciğer (KC), dalak ve derinin damarsal yapılarıdır (79,112). *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 (57,79).

Bartonellae türü bakteriler eritrositlerde invazyon ve lizis oluşturma, persistan bakteriyemi ve küçük damarların endotel hücrelerinde proliferasyona neden olma gibi patojenite özelliklerine sahiptir (113). *Bartonella* türlerine karşı yanıt kişilerin bağışıklık durumuna göre değişmektedir. İmmünitesi sağlam bireylerde granüloamatöz ve süpüratif bir tablo oluşurken, immün yetmezlikli hastalarda sıklıkla vasküloproliferatif cevap oluşmaktadır (114).

Bartonella bakterileri çok sayıda enfeksiyona neden olmaktadır. Sıklıkla KTH, Carrion hastalığı, siper ateşinin yanısıra; endokardit, nedeni bilinmeyen ateş ve tekrarlayan bakteriyemi gibi klinik tablolar yaygın tanımlanmıştır. Bunların yanında tekrarlayan ve sebebi bilinmeyen ateş, bakteriyemi, retinit, optik nörit, BA, hepatik peliosis, LAP, pulmoner, hepatik, meningoensefalit, ensefalit, myokardit, perikardit, osteomyelit, kutanöz vaskülit gibi pek çok klinik tablolada etkindir (2,115).

Kedi Tırmığı Hastalığı

Kedi tırmığı hastalığı (KTH) insan ve çok sayıda hayvan türünde bulunan, kedi tırmalması ya da ısırığıyla bulaşan, tüm dünyada görülen zoonotik bir hastalıktır. KTH ile ilgili ilk rapor Parinaud ve ark. tarafından 1889 yılında kedi ile temas sonrası bir hastada oluşan konjunktivit ve bölgesel lenfadenopatilerin gözlemlenmesi sonucu sunulmuştur (116). KTH'nın dünya çapında en sık görülen bartonelloz olduğu düşünülmektedir ve genellikle kendi kendini sınırlayan pediatrik bir hastalıktır (117).

Etken ilk olarak 1988'de bir hastanın lenf düğümlerinden KTH izole edildi ve *Afipia felis* olarak adlandırıldı (118). *Bartonella henselae*, ilk olarak 1992'de insan immünyetmezlik virüs (HIV) ile enfekte olan ateşli bir hastadan izole edildi (119). Yapılan çalışmalar, KTH'nın en yaygın etiyolojik ajanı olarak *B. henselae* olduğu, az sayıda KTH olgusunda *B. clarridgeiae*'nin de bulunabileceği rapor edilmiştir (120-123). Hem *B. henselae* hem de *B. clarridgeiae* enfekte kedilerden pençe yaraları veya ısırıkları yoluyla insanlara fiziksel olarak bulaşır (121). *B. henselae*, evcil ve yabancı kedileri (*Felis catus*) sıklıkla enfekte ederek uzun süreli bakteriyemiye neden olur (122). Ek olarak, kedi pireleri (*Ctenocephalides felis*), *B. henselae* için klasik vektör olarak hizmet eder ve muhtemelen *B. clarridgeiae*'nin bulaşmasında da rol oynarlar (123).

Hastalığın geçişi tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen daha çok pire ile enfekte tırnaklarla 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 (124-126). Kediler arası bulaşma esas olarak kedi piresi ile gerçekleşir, ancak *Ixodes* cinsinden keneler başta olmak üzere diğer eklembacaklılar, muhtemel vektörler olarak önerilmiştir (x7,120).

KTH tipik olarak enfekte bir kedi tarafından yaralanmadan bir hafta sonra inokülasyon bölgesinde gelişen granümatöz deri lezyonları (papüller veya püstüller) olarak kendini gösterir. Deri lezyonları, histiyositler, lenfositler ve dev hücrelerle sınırlanmış nekroz alanları içerir. Lenfadenit, hemen hemen tüm hastalarda, enfeksiyondan yaklaşık 2 hafta sonra ortaya çıkan bölgesel, tek taraflı

lenfadenopati ile birlikte. Etkilenen lenf düğümleri yumuşar, şişer ve süpüre olabilir. Deri papülleri gibi, lenf nodu lezyonları da foliküler hiperplazi ile birlikte lenfosit infiltrasyonu ve dev hücreli granümatöz mikroapselerdir. Deri ve lenf nodu tutulumuna ek olarak, KTH'li hastalar hafif ateş, halsizlik, anoreksiya ve gastrointestinal semptomlar ile ortaya çıkabilir. Lenfadenopati tipik olarak 2 - 8 hafta içinde kendiliğinden düzelir (127). Atipik KTH; merkezi sinir sistemi (ensefalopati, meningioensefalit), kemik (artralji, artrit), kalp (endokardit), kas (miyalji), akciğer, KC veya dalak (hepatosplenomegali) ve göz [(Parinaud'un oküloglandüler sendromu (POGS), nöroretinit)] ile ilgili komplikasyonlar olarak görülür (120). Yakın zamandaki bir olgu sunumu, optik sinir granülomu olarak ortaya çıkan KTH'nin genişleyen bir oküler tutulum spektrumunu da ortaya koymaktadır (128).

KTH genellikle kendi kendini sınırlayan bir hastalıktır. *B. henselae*'nın in vitro olarak birçok antimikrobik ajana duyarlı olmasına rağmen, antimikrobiyallerin KTH tedavisinde kullanımı yararlı olmamıştır. KTH'nin süpüratif komplikasyonlarının tedavisinde sadece aminoglikozitler, özellikle de gentamisin etkili olarak gösterilmiştir (129).

Peliosis

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, anjiyomatöz nodüller eşlik edebilir (124,130).

Basiller peliosis hepatis (BP)'nin etkeni *B. henselae*'dir (142). BP lezyonları, birkaç milimetreden 3 cm'ye kadar değişen boyutlarda karaciğerde multipl vasküler, hemorajik parenkimatöz ve kistik lezyonlarla karakterizedir. Peliosis, tek başına veya gastrointestinal rahatsızlık, ateş, titreme ile birlikte, BA, bakteriyemi kombinasyonu olarak sendrom halinde meydana gelebilir. BP karaciğer, dalak ve lenf nodları dahil olmak üzere tek veya çok sayıda organı içerebilir. Histolojik olarak, peliosis lezyonları BA olgusunda olduğu gibi dilate kılcal damarlar, vasküler hiperplazi ve inflamatuvar hücreleri gösterir (131,132). Warthin-Starry gümüş boyası ile boyamada,

doku bölümleri *Bartonella* bakterisini içerir (133). Karaciğerdeki BP hepatomegali yapar ve hastalar tipik olarak gama-glutamiltansferaz ve alkalik fosfataz gibi karaciğer enzimlerinin yüksek serum seviyelerini gösterirler (134). Peliosis kaynaklı karaciğer yetmezliğinden ölüm de bildirilmiştir (134,135). Son yıllarda, KC ve splenik peliosis HIV enfeksiyonu ile belirgin bir şekilde ilişkilendirilmiştir (120,133).

Basiller Anjiyomatoz

Basiller anjiyomatoz (BA) ilk olarak 1983'te tanımlanmıştır, *B. henselae* ve *B. quintana*'nın neden olduğu yaygın vasküler proliferasyon ile sonuçlanan bakteriyel enfeksiyondur. *İn-vitro* çalışmalarda bu hastalıktaki etkenlerin, yeni kan damarlarının oluşumunu ve endotelial hücrelerin çoğalmasını ve göçünü etkilediği gösterilmiştir (135,138).

BA da kemik tutulumu bulunan olgularda genellikle ağrısız, litik radius ve tibiada yerleşen üzerinde selülit bulunabilen lezyonlar saptanmıştır. Periton ve anüste de benzer lezyonlar tarif edilmiştir (127,137). BA tanısında histopatolojik deri veya diğer organ biyopsilerinin incelenmesinde anjiyoproliferatif lezyonlar ve Whartin-Starry boyası ile kümeler halinde bakterilerin görülmesi ile konmaktadır (133,138). BA'nın çoğunlukla immün yetmezlikli hastalarda gelişmesi nedeniyle tanıda serolojik testlerin kullanımı sınırlıdır (1).

Visseral tutulumda basiller hepatik peliyoz veya dissemine vasküler lezyon oluşabilir. BA lezyonları konjunktiva, orbita, kalp, diyafram, biliyer sistem, kaslar, karaciğer, dalak, lenf nodları, genital yol, santral sinir sistemi, solunum yolları ve gastrointestinal sistemin mukozal yüzeyinde de gösterilmiştir (120,139,140)

Kardiyak Tutulum

B. quintana, *B. henselae*, *B. elizabethae* ve *B. vinsonii*'ye ait iki alt türü olan *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* ve *B. vinsonii* subsp. *arupensis* insanlarda endokardit ile ilişkili olarak bulunmuştur (18). *Bartonella* türleri %28 oranında kan kültürü negatif endokarditlerden izole edilmektedir. Bu türler, çoğunlukla *B. quintana* ve *B. henselae*'dir (13,141).

Endokardit, miyokardit ve perikardit bartonelloz ile ilişkili olarak bildirilmiştir. *Bartonella* sp. 1993'te ilk Spach ve arkadaşları tarafından enfektif endokarditin bir ajanı olarak bildirildi (142). O zamandan beri kan kültürü negatif enfektif endokarditler içinde *Bartonella* türünün kapladığı yer ve enfeksiyonun ciddi doğası (%7-12 ölüm oranı) nedeni ile *Bartonella* türünün önemi gittikçe artmaktadır (143). *Bartonella* sp. endokarditi için risk faktörleri, kediler ve kedi piresi ile hasta temasını, bit istilası ve kapak cerrahisi geçmişini içerir (144). *B. henselae* endotelial hücreler için tropizm gösterir ve *B. quintana*'ya benzer şekilde endotelde çoğalır. Patojenik mekanizmalar arasında *B. henselae* ve *B. quintana*'da ifade edilen *Bartonella* adhezin A (BadA) ve TAA bulunmaktadır (51,87,145). İnsan ile ilişkili enfektif endokardit vakalarına neden olan *Bartonella* türleri şunlardır; *B. alsatica* (146,147), *B. elizabethae* (148), *B. henselae* (149,150), *B. koehlerae* (144), *B. quintana* (82,142,143), *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* (152,153) ve *B. vinsonii* subsp. *arupensis* (154). *Bartonella* sp. endokarditi hem immünkompetan, hem de immünsüpre bireylerde rapor edilmiştir. Birçok endokardit hastasında halsizlik, yorgunluk, ateş ve splenomegali gibi diğer sık görülen bartonellozis semptomları vardır (144). Bartonelloz sırasında miyokardit nadir olmakla birlikte *B. henselae* ile enfeksiyon sırasında ve *B. quintana* endokarditi vakasında rapor edildi (154,157). Miyokardit vakalarının, akut dissemine enfeksiyon ile tipik olarak birliktelik gösterdiği rapor edilmiştir (158). Perikardit ve bartonelloz birlikteliği, *B. quintana* ve *B. henselae* enfeksiyonları ile birlikte sadece iki kez gözlenmiştir (148,162).

Bartonella sp.'nin tüm endokardit vakalarının %3-4'ünü oluşturduğu düşünülmektedir (161). Endokardit vakalarının çoğunluğunu *B. quintana* ve *B. henselae* oluştururken, diğer bazı *Bartonella* türlerinin de endokardite neden olduğu gösterilmiştir (148,162). *Bartonella* sp. endokarditi olan hastaların çoğunluğu, diğer subakut bakteriyel endokardit vakalarına benzer klinik tablolara sahiptir. Klinik tablodaki ateş, halsizlik ve kilo kaybı gibi spesifik olmayan semptomlar baskındır. Halen *Bartonella* türlerinin neden olduğu endokardit tanısı için kesin kriterler bulunmamaktadır (161).

Nedeni Bilinmeyen Ateş

Çoğunlukla iki hafta veya daha fazla süren, hiçbir semptom veya belirti vermeyen klinik bir hastalıktır. Çocuklarda nedeni bilinmeyen ateş etyolojisinde *B. henselae* sıklığı artmaktadır. *B. henselae*'nin neden olduğu KTH'li çocuklar kliniğe nedeni bilinmeyen ve uzun süren ateş sebebiyle başvurmaktadır (163).

B. henselae, çocuk ve yetişkinlerde serolojik olarak nedeni bilinmeyen ateşin nedeni olarak gösterilmiştir. Tsukahara ve arkadaşları, bir hastada uzun süreli nedeni bilinmeyen ateş varsa ve özellikle kedi ve köpek sahibi ise ya da kedi ve köpek teması öyküsü varsa, lenfadenopatiye bakılmaksızın *B. henselae* enfeksiyonunun düşünülmesi gerektiğini bildirmektedirler (163,164).

Bartonella türüyle ilişkili otoimmün hastalıklar

Çocuklarda artmış ve hastalık aktivitesiyle yükselen *B. henselae* için yüksek serum titreleri ile ilişkili juvenil artrit ve miyozit bildirilmiştir (165,166). Nedensel ilişki kanıtlanmamış olmasına rağmen, *B. henselae* için seropozitiflik oranları, lökositoklastik vaskülit ve Henoch-Schönlein purpurası (167) ve aynı zamanda Coombs-pozitif otoimmün hemolitik anemi olgularında tanımlanmıştır (168). HLA-B27 seropozitifliği ile ilişkili üveit vakaları da *Bartonella* tarafından oküler tutulumu olduğu kabul edilen *B. henselae* ile enfekte hastalarda tarif edilmiştir (169). *Bartonella* türlerinin otoimmün bozukluklarla olan ilişkisinin büyük ölçüde seroloji tabanlı testlerle sınırlı olduğu ve çapraz reaksiyon gösteren antikolar tarafından tehlikeye sokulabileceğine dikkat edilmelidir.

Ateroskleroz ve Bartonella henselae

Chlamydomphila pneumoniae, *Helicobacter pylori*, sitomegalovirüs ve periodontal patojenleri içeren birçok enfeksiyöz ajanın aterosklerotik vasküler hastalığa katkıda bulunduğu bildirilmiştir (170). *B. henselae*'nin insan CD34⁺ hematopoetik progenitör hücrelerini kontamine ettiği gösterilmiştir ve bu hücrelerin enfeksiyonlarda birincil niş olarak rol oynayabileceği önerilmiştir (43). Sonraki bir başka çalışmada, *B. henselae* ile enfekte olan endotelial progenitör hücrelerin hasarının, nitrik oksit tarafından karşılandığı L-arginin uygulamasında gösterilmiştir

(134). Endotelyal progenitör hücrelerin *B. henselae* ile enfeksiyonunun hem bu hücrelerin sayısını hem de işlevselliğini azaltabileceği öne sürülmüştür (171). Bunu yaparken, endotelyal progenitör hücrelerin doğal onarım rolü azalacak ve dolaylı olarak aterosklerotik plağın büyümesine dolaylı olarak katkıda bulunacaktır (172).

Bakteriyemi

Bartonella bakterisi hemotrofik bir parazitik strateji kullandığı için, tüm türler kuşkusuz doğal ve tesadüfi konakçı türlerinde bir bakteriyemik durum oluştururlar. Eritrosit invazyonu ve intraeritrositik bakteriyemi, *Bartonella* türleri tarafından bir rezervuar konakçının inokülasyonunun ayırt edici özelliklerinden biridir. (15,31). Eritrositlerin invazyonu ve bakteriyel konakçılarda semptomları tetikleyecek olan bağışıklık tepkilerinin immün sistemden kaçırılmasında *Bartonella* türlerinin çeşitli moleküler mekanizmaları kullandığı gösterilmiştir (1,79). Kalıcı bakteriyemi vakaları, *B. henselae* (118,174-176), *B. koehlerae* (177), *B. rochalimae* (178), *B. quintana* (139,179) ve *B. vinsonii* subsp. *arupensis* (180) ile enfekte olmuş hastalarda bildirilmiştir.

Diğer Klinik Tablolar ve Komplikasyonlar

En sık nörolojik ve göz komplikasyonları görülmektedir. *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 (181).

Bartonella'ların oluşturduğu göz enfeksiyonları sıklıkla unilaterale nöroretinit şeklindedir. Nöroretinite en sık *B. henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae* ve *B. grahamii* neden olur. Nadir olarak retina ya da optik diskin fokal inflamatuvar tutulumu da görülebilir (182). İlk kez 1889 yılında tanımlanan ateş, bölgesel LAP ve foliküller konjonktivitten oluşan POGS en yaygın görülen göz komplikasyonudur (117,183).

Son zamanlarda immünokompetan bir kedinin serum ve göz sıvısında organizma antikorlarının saptanmasına dayanarak *Bartonella* sp. enfeksiyonunun

kedilerde üveit nedeni olduğu bildirilmiştir (184). Genel olarak bakıldığında *Bartonella* sp. enfeksiyonlarının kedilerde, üveit, koryoretinit, konjunktivit, keratit, blepharitis; insanlarda, üveit, nöroretinit, konjunktivit, diskiform keratit, blepharitis, POGS yaptığı tespit edilmiştir (185).

İnsan hastalığı ile ilişkilendirilmiş yukarıda bahsedilenlerin dışında farklı *Bartonella* türleri ile rapor edilmiş hastalıklar aşağıdadır.

Siper Ateşi

Bartonella quintana: *B. quintana*, bit kaynaklı siper ateşinin sebebidir; Bakteriemi, BA, kronik lenfadenopati ve endokarditin de etkeni olarak kabul edilmektedir. İnsan rezervuarı olan *Bartonella* sp.'nin iki türünden biridir. Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'daki evsiz ve marjinal popülasyonlardaki vektör kaynaklı enfeksiyonların en sık nedeni olarak *B. quintana* belirlenmiştir (186). Endokardite neden olan en yaygın *Bartonella* türü *B. quintana*'dır (1).

Hendek ateşi (Siper ateşi, 5 günlük veya quintan ateş, shinbone nezlesi, Wolhynia ateşi ve His-Werner hastalığı olarak da bilinir), *B. quintana*'nın neden olduğu ve insan vücuduna insan vücut biti (*Pediculus humanus*) ile kişiden kişiye taşınan dünya çapında yaygın bir hastalıktır.

Hastalık I. ve II. Dünya Savaşları sırasında olağan bir durumdu ve birlikler arasında çeşitli salgınlardan sorumluydu. II. Dünya Savaşı'ndan sonra yaklaşık beş yıl boyunca, gelişmekte olan ülkelerde sadece düzensiz olarak siper ateşi gözlemlenmiştir. Daha sonra, 1990'ların ortalarında, *B. quintana* yoksul kentsel alanlarda evsizlerde daha yeni bir salgın ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (187). Evsiz insanlar, siper ateşi için savaş sırasındaki askerler veya tutukluların etkilendiği malnutrisyon, kötü hijyen, bit istilası, alkol kötü kullanımı, soğuk havaya uzun süre maruz kalma ve immünsüprese durum gibi aynı risk faktörlerini paylaşmaktadır (188,189).

Özellikle pretibial bölgede, yüksek dereceli ateş, retro-orbital baş ağrısı, kas ağrısı ve kemik ağrısı ani bir başlangıç ile karakterizedir. Klasik olarak beş günlük tekrarlayan ateş, yani diğer adı, Latince'de "febris quintana" olarak tarif edilir.

Hastalık kronik bir seyir izleyebilir ve birkaç hafta sürebilir; bu süre boyunca bakteremi yaygındır ve kardiyak tutulum, sinsi endokardit başlangıcı ile seyrini komplike hale getirebilir (190).

Oroya Ateşi ve Verruga Peruana

Carrion hastalığı olarak adlandırılan *B. bacilliformis* enfeksiyonunun akut semptomları Oroya ateşi ve kronik semptomları verruga peruana olarak bilinir. *B. bacilliformis* enfeksiyonunun kronik formu, verruga peruana adı verilen deride anjiyogenik lezyonlara neden olur. Carrion hastalığının çeşitli klinik prezentasyonu, vektör iletiminde rezervuar durumunu korumak adına, insan konakçıda immüniteden kaçmayı kolaylaştırmak için *B. bacilliformis* ile uyum sağlamayı gerektirir (191). Coğrafi olarak yüksek And'larla sınırlı, hayatı tehdit eden hemolitik anemi ve antibiyotik tedavisinin yokluğunda enfekte hastaların %80'inden fazlasında ölümlerle sonuçlanabilen Oroya ateşinin görülme sıklığı pediatrik popülasyonda endişe verici bir hızla artmaktadır (190).

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 hâkim olan tablo hemolitik anemidir. Ağır vakalarda, hepatosplenomegali, perikardiyal efüzyon, miyokardit, endokardit, deliryum, konvülsiyon, koma, akut solunum sıkıntısı ve multiorgan yetmezliği oluşabilir. Oroya ateşi 1-4 hafta sürer. Tedavi edilmemiş vakalarda mortalite oranı %44-88 arasında değişir. Yatarak tedavi edilen hastalarda ise bu oran %0.7 olarak bulunmuştur (29,193).

Bartonella alsatica: Başlangıçta yabani tavşanların kanından izole edilen *B. alsatica* (200), önceden kapak lezyonu var olan kan kültürü negatif endokardit (BCNE) tanılı bir hastadan izole edildi (147,194). Takip eden bir yayında, tavşan yetiştiricisi olan bir hastada BCNE'nin ikinci bir olgusunda *B. alsatica* yer alırken, insanlara *B. alsatica*'nın aktarılmasında tavşanların rezervuar görevi görebileceği öne sürülmektedir (146).

Bartonella ancashensis: Peru'nun Ancash bölgesindeki verruga peruana'lı iki hastadan izole edilen *B. ancashensis* yakın zamanda tespit edilen yeni bir *Bartonella*

türüdür (195). Başlangıçta *B. bacilliformis* ile enfekte olduğu düşünülen bu hastaların izolatlarının, moleküler analiz ile ayrı yeni bir tür olduğu gösterildi.

***Bartonella clarridgeiae*:** Kediler ile ilişkili olan *B. clarridgeiae*, KTH tablosundaki immün sistemi baskılanmış iki farklı hastadan izole edildi (121,196). Bildirilen semptomlar arasında şiddetli baş ağrısı, ateş, lenfadenopati, titreme, terleme ve halsizlik yer almaktadır (196).

***Bartonella elizabethae*:** Suşları Asya'daki küçük memelilerden izole edilen *B. elizabethae*'in insan hastalığına neden olduğu bildirilmiştir (197). Daly ve ark. endokarditli bir hastadan izole etmişlerdir (147). Tayland'da ise *B. elizabethae* enfeksiyonunun insan serolojik kanıtı bildirilmiştir (198). Klinik özellikler arasında baş ağrısı, letarji, kas ağrısı, konjunktival yetersizlik ve anemi sayılabilir. *B. elizabethae* enfeksiyonu kanıtı olan hastaların yaklaşık %70'inde sıçan maruziyeti, diğerlerinde ise kedi maruziyeti bildirilmiştir (199).

***Bartonella grahamii*:** *B. grahamii*'nin ilk insan izolatu, nöroretinit tablosundaki immün yetmezlik virüsü-negatif bir hastaydı (200). Kemirgenlerde en sık görülen türlerden biri olarak bildirilmiştir (201). İmmün sistemi baskılanmış bir hastada KTH benzeri hastalığın etkeni olarak bildirilmiştir (202).

***Bartonella koehlerae*:** BCNE bir hastadan rezeke edilen kalp kapakçık dokusunda *B. koehlerae* tespit edildiği rapor edilmişti (151). *B. koehlerae* ile kalıcı enfeksiyon sonucu depresyon ve anksiyete, baş ağrıları, eklem sertliği ve halüsinasyonları olan, antibiyotik tedavisinden sonra düzelen bir vaka bildirilmiştir (203).

***Bartonella mayotimonensis*:** *B. mayotimonensis*, Iowa'da bir çiftlikte yaşayan infektif endokarditli bir hastanın aort kapak dokusundan izole edildiği rapor edilmiştir. Hastanın, hastalığının öncesinde bir kedi sahibi olduğu ve fare dışkılarına muhtemel maruziyeti öyküsünden öğrenilmiştir (111).

***Bartonella rochalimae*:** *B. rochalimae*'nin, Peru gezisi dönüşünden iki hafta sonra başlayan bir hastada bakteriyemi, ateş ve splenomegali tablosu bildirilmiştir. Yapılan analizlerin sonucunda yeni bir tür olarak tespit edilen etkenin ismi,

rickettsial hastalıkların etyolojisi üzerine çalışan Brezilyalı araştırmacı Henrique da Rocha Lima onuruna *Bartonella rochalimae* olarak verilmiştir (178).

Bartonella tamiae: Tayland'da ateşi olan hastalardan *B. tamiae*' nin üç izolatu elde edilmiştir (204). Akar ve kenelerde *B. tamiae* DNA'sının tespiti, bu vektörlerin *Bartonella* türlerinin aktarımı için muhtemel vektörler olarak işlev görebileceğini öne sürülmüştür (205).

Bartonella vinsonii: *B. vinsonii*, endokardit, artrit, nörolojik hastalık ve vazoproliferatif neoplazi hastalarından izole edilmiştir (206,207). *B. vinsonii* subsp. *arupensis* (154) ve *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* olmak üzere her ikisi de endokardit ile ilişkili bulunmuştur (152,153).

Tedavi

İntraeritrositik çoğalma ve birincil niş içerisinde devam etme yeteneği gibi patojenik ve virülans mekanizmalarına sahip olan *Bartonella* türleri, genel olarak konakçı bağışıklık sisteminden kurtulmak ve antimikrobiyal maddelere karşı koyabilmek için önemli bir kapasiteye sahiptir (31,124,125). Daha önce yapılan çalışmalarda, çeşitli *Bartonella* türlerinin, penisilinler, beta-laktamlar, makrolitler ve aminoglikozitler dahil olmak üzere çeşitli antibiyotik sınıflarına yaygın olarak in vitro duyarlılığı bildirilmiştir (193,208-210). Bununla birlikte, sonraki çalışmalar ve klinik deneyimler *Bartonella* sp. enfeksiyonlarının tedavi başarısızlıklarının, duyarlılığın düşük MIC değerlerinde olmasına rağmen önemli bir sorun olduğunu göstermiştir (193). Ayrıca, *Bartonella* türlerine karşı test edilen antimikrobiyal sınıfların birkaçı, gentamisin gibi aminoglikozidler haricinde sadece bakteriyostatik özellikler sergiler (211).

BARTONELLA TÜRLERİNİN SAPTANMASI, İZOLASYONU VE TANIMLANMASI

Örnek Alınması, Taşınması ve Saklanması

Bartonella türlerinin izolasyonu için kan, lenf nodu aspiratı, lenf dokusu, iç organlardan veya deriden alınan biyopsi örnekleri kullanılabilir. Sistemik tutulumun eşlik etmediği olgularda, başarılı bir izolasyon için lenf nodu örnekleri kan örneklerine tercih edilir. Nadiren insanda bakteriyemi yaptığı için kandan izolasyonu zordur. KTH düşünülen hastada lenf nodu örneklerinin erken dönemde ve antibiyoterapi öncesi alınması ve en kısa sürede işleme başlanması bakterinin izolasyon şansını artırır (13,212).

Süpüratif lenfadenopatilerden alınan örneklerde canlı mikroorganizma miktarının azlığı nedeni ile izolasyon olasılığı düşüktür. Bakteriyemi oluşumu bu hastaların genellikle immünsüpresif olmaları nedeni ile invaziv bakteriyel sürece bağlıdır (213,214).

Kan örneğinden *Bartonella* türlerinin izolasyonu için izolatörlü kan lizis tüpleri veya etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içeren tüpler kullanılmalıdır. *Bartonella* örneklerinin 24 saat içinde besiyerlerine ekimleri yapılacaksa izolatör sistemli kan lizis tüpleri, EDTA'lı tüplerden daha duyarlıdır. Eğer örnekler uzun süre saklanacaksa -70°C'de dondurulmalı, daha sonra oda ısısında eritilerek ekim yapılmalıdır (215,216).

Organizmaların büyümesi sırasında karbondioksit (CO₂) üretmemesi veya az miktarda üretmesi nedeniyle, otomatize kan kültürü sistemlerindeki *Bartonella* türlerinin tespiti zordur. Üremeyi kolaylaştırmak için otomatize veya yarı otomatize sistemlerde en az iki haftalık uzun inkübasyon süresi uygulanmalıdır. Bu şişeler içine inoküle edilmiş örneklerin, bir haftalık inkübasyonundan sonra, hazırlanan yaymaların akridin oranj fluoresans boyama ile incelenmesi bakteri üremesini saptayabilir (217,218).

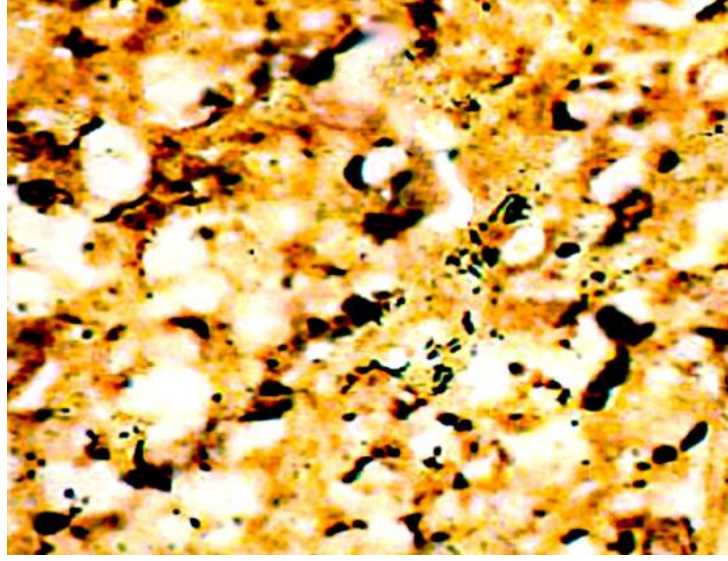
Alınan doku örnekleri homojenize edildikten sonra kültürü yapılabildiği gibi, bu örnekler ile moleküler testler de çalışılabilir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) amplifikasyonu için taze doku örnekleri uygun olmakla birlikte, parafinde saklanmış doku örnekleri de bu amaçla kullanılabilir (212,213).

MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

B. henselae, 1-2 x 0.5-0.6 µm boyutlarında, Gram-negatif, hafif kıvrık, titreme hareketi yapan, pleomorfik, genellikle kokobasil morfolojide, mikroaerofilik, fakültatif hücre içi bir bakteridir. Flajeli olmayan *B. henselae* titreme hareketi yapar. *B. bacilliformis* ve *B. clarridgeiae*'de flagella ile hareket sağlanırken, *B. tribocorum*'da fimbriya benzeyen polar yapılar görülmüştür. Otoaglutinasyon özelliğinden dolayı Gram boyamada bir araya toplanarak kümeler halinde görülmektedir (22,119,175). Akridin orange, kültürdeki *Bartonella* türlerini spesifik olmayan şekilde saptamak için kullanılmıştır (218).

Kanın yayma preparatlarında eritrositler içinde tek tek veya kümeler halinde yuvarlak, elips, silindir, düz veya eğri basiller olarak görünürler. Doku kesitlerinde Whartin Starry gümüş boyası ile kümeler halinde görünürler. Eritrositik formları birçok anilin boyası ile parlak beyaz olarak görülür. Asidorezistan boyanma özellikleri yoktur (13).

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında standart kullanılan Gram boyama ile saptanamayan bakteriler, deri ve visseral organ lezyonlarının biyopsi kesitlerinde Warthin-Starry gümüş boyama (Şekil 1) ile gösterilebilmiştir (175).



Şekil 1. Warthin-Starry gümüş boyama ile *B. henselae*

KÜLTÜR

Bartonella türleri, protoporfirin IX (PPIX) veya hem (Fe^{2+} -PPIX) sentezleyemezler. Hem için esansiyel gerekliliklerini hemin (Fe^{3+} -PPIX), hemoglobin ve konak eritrositi gibi yaygın hem kaynaklarından sağlar. *Bartonella* türü, birçok patojenin aksine, konakta bulunan laktoferrin, transferin gibi zengin hem kaynaklarının moleküllerini kullanamaz. Çeşitli sıvı ortamların *Bartonella* türünün çoğalmasını kolaylaştırdığı bilinmekle beraber, yarı katı agarlar rutin üreme ve kontaminasyonu izlem için güvenilir substratları sağlar (119,219). Kalp infüzyon agar, Columbia agar, brucella agar veya trypticase soy agar gibi agar tabanlarına eklenen hemoglobin, eritrositler veya hemin gibi ekler *Bartonella* bakterisinin büyüme gereksinimlerini karşılar. *B. henselae* izolasyonu için kalp infüzyon agar, triptik soy besiyerine defibrinize tavşan, at veya koyun kanı eklenerek hazırlanmalıdır. Optimal büyüme için ortamın pH değeri 7,0-7,5 olmalıdır.

Çoğu patojenik *Bartonella* türü rutin olarak 35-37°C'de, %5CO₂ açısından zengin, nemli ortamda ürerken, *B. bacilliformis* daha düşük bir sıcaklıkta (25-30 °C) ürer.

Bartonella türünün yavaş büyüme hızı, kültüre edilmiş izolat gerektiren tanımlamayı zorlaştırabilir. Kolonilerin görülebilir olması birkaç gün (*B.*

bacilliformis ve *B. elizabethae*) ile 4-8 hafta (*B. henselae*, *B. quintana*, *B. koehlerae*) aralığında sürebilir. Primer izolasyonda, *Bartonella* türleri başlangıçta beyaz, büyüklük ve şeklinde çeşitlilik gösteren küçük yapışkan koloniler olarak görünmektedir. İlk izolasyonda üreme, bazen 45 güne kadar uzasa da, genellikle 5-15 günde görülebilir. 45 günlük inkübasyondan sonra üreme yoksa negatif olarak kabul edilir. *B. henselae* ilk izolasyonda beyazımsı, kuru, karnıbahar görünümünde, agara gömülmüş ve koloni kaldırıldığında agarda izi kalan R tipi koloni oluşturmaktadır. Bazen ilk izolasyonda çığ damlası gibi, yumuşak, agara gömülmeyen, agar üzerinde kayan S tipi koloni görünümü de sergileyebilir, hatta bu iki form aynı anda aynı plakta görülebilir. İlk izolasyonda üreme uzun zaman alırken, tekrarlayan pasajlarda üreme süresi 3-7 güne düşmekte ve koloni morfolojisi S tipi koloniye, koloni rengi kremden paslı görünüme dönüşmektedir (104). Kanlı agardaki hemolitik olmayan kolonilerin karamel kokusuna benzer bir kokusu vardır. *B. elizabethae* kolonileri %5'lik tavşan kanı eklenmiş kalp infüzyon agarda büyüyen kolonilerin etrafında hafif veya parsiyel hemolizler görülebilmemesinin dışında *B. henselae*'ya benzemektedir. *B. bacilliformis* kolonileri başlangıçta düzgün, küçük, saydamdır ve subkültürlerde de aynı şekilde kalırlar. Bu nedenle kolonileri diğer türlerden farklıdır (212).

İnsanlarda kültür için karaciğer, dalak, lenf nodu ve deri biyopsi örnekleri kullanılabilir (124).

Doğrudan kültür işleminin zorluklarından dolayı hücre kültürü yöntemleri de izolasyonda kullanılmaktadır. Diğer örneklerle birlikte endotel hücre kültürü hem izolasyon oranını arttırdığı, hem de izolasyon süresini kısalttığı için oldukça yararlıdır ancak sık kullanılan bir yöntem değildir (22). İnsan endotel hücreleri, Vero hücreleri, HeLa, L929 fare fibroblast içeren shell-vial veya flask içine kokültivasyon gibi farklı hücre kültür tipleri denenmektedir (138,220).

İzolasyon ve saf kültürden sonra şüphelenilen *Bartonella* türünün tanımlanması için aşağıda açıklanan tekniklerden yararlanılır.

TANIMLAMA YÖNTEMLERİ

Son yıllara kadar *Bartonella* türlerinin oluşturduğu enfeksiyonların tanımlanması için özgül olarak geliştirilmiş tanı yöntemleri olmadığından klinik bulgular ile tanı konulmuştur. *Bartonella* sp. enfeksiyonlarının tanısında rutin laboratuvar testleri spesifik ve anlamlı değildir. Enfeksiyon varlığında lökosit sayısı normal veya artmış, trombosit sayısı artmış, azalmış veya normal olabilir. Beyin omurilik sıvısı incelemesi normal olabileceği gibi hafif bir protein artışı gözlenebilir (22).

Biyokimyasal Yöntemler

Bartonella türlerine uygulanan standart biyokimyasal testlerdeki potansiyel bir problem, büyüme ortamında normalde heminin olmamasıdır. Bununla beraber, *Bartonella* türü için standart biyokimyasal testlerde asit ve gaz oluşumu yoktur. Oksidaz testi *B. quintana* ve *B. vinsonii* için değişken ya da zayıf pozitif reaksiyon dışında genellikle negatiftir. Katalaz testi, indol üretimi, nitrat redüksiyonu ve üreaz aktivitesi negatiftir. Ayrıca, hippurate hidrolizi, alkalen fosfataz, tetrasyonat redüktaz, pirazinamidaz, tributirin, o-nitrofenil-β-D-galaktosid, eskülin hidrolizi ve arginin dihidrolaz için testlerin hepsi negatiftir (15,221,222). Voges-Proskauer (VP) testleri tüm patojen türler için negatiftir ancak daha önce *Grahamella* türleri olarak belirlenmiş *B. grahamii*, *B. taylorii*, *B. doshiae*, *B. peromysci* ve *B. talpae* dahil olmak üzere *Bartonellae* için pozitifdir (222). *B. quintana*'nın süksinat kullanımı gösterilmiştir. Çeşitli amino asitler ve peptidlere karşı peptidase aktivitesi patojenik *Bartonella* türlerinde gözlenmiştir ve L-prolin ve L-lisin hidrolizi için farklı sonuçlar bazı patojenik türlerin ayırt edilmesinde yardımcı olabilir (176,179,221,222).

Gaz-Likid Kromatografisi

Welch ve ark. 1992 yılında *B. henselae*'nin tanımlanmasında gaz-likid kromatografisini kullanmıştır (132). *Bartonella* türleri hücre sel yağ asitlerinin içeriğindeki farklılıklar nedeni ile gaz-likid kromatografik analizi ile tanımlanabilir (223). Tüm *Bartonella* türleri, küçük bir miktarda C13:1 ve C17:0 yağ asitleri ile

birlikte, %50'den daha büyük miktarda C18:1 izoasitleri, %16-25 C18:0 ve %16-22 C16:0 içermektedir (224).

Moleküler Yöntemler

Kültürde üretilmesi zor olan *Bartonella* bakterisi için direkt klinik örneklerden hızlı tanı, kültürden etkenin tanımlanması ve izolatların tür tayininin yapılması amacıyla PCR hassas ve spesifik bir yöntemdir (130). Tarihsel olarak, şüpheli *Bartonella* bakterisinden 16S rRNA geninin tüm kısımlarını veya bir kısmını amplifiye etmek için PCR kullanılmıştır. Fakat *Bartonella* spp. genom olarak yüksek oranda korunduğu için, 16S RNA geninin bir tür tanımlama aracı olarak kullanımı sınırlıdır (225,226). *B. henselae*'nın 16S rRNA gen dizisine göre iki genotipi vardır. *B. henselae* Houston-1 suşu *B. henselae* tip-I, *B. henselae* Marseille suşu ise *B. henselae* tip-II olarak adlandırılmaktadır. KTH olan olgulardan izole edilen suşların çoğu *B. henselae* tip-I olarak belirlenmiştir (227).

Türlerin tanımlanması için çeşitli PCR tabanlı gen tanımlama stratejileri; sitrat sentaz (*gltA*), serin proteaz (*htrA*), riboflavin sentaz (*ribC*), divisome protein (*ftsZ*), NADH dehidrogenaz gama alt birimi (*nuoG*), RNA polimeraz beta alt birimi (*rpoB*), protein A / Pap31 (*hbpA / pap31*), tmRNA (*ssrA*) ve 16 S-23 S rRNA dahili transkripsiyonlu spacer (*ITS*) genleri kullanılarak tarif edilmiştir (15,120).

Benzerlikleri yüksek olan *Bartonella* türleri arasındaki saptama başarısını ve farklılaşmasını en üst düzeye çıkarmak için, çok lokuslu bir sekanslama yaklaşımı önerilmektedir.

Serolojik Yöntemler

Bartonella sp. enfeksiyonlarının klinik tanısında, kültür ve moleküler yöntemlerin pahalı zaman alıcı ve belli merkezlerde uygulanabilir olması nedeniyle, seroloji en çok tercih edilen tanı yöntemidir. *Bartonella* türlerine karşı oluşan antikorların saptanması için sıklıkla indirekt immünfluoresans antikor (IFA) ve enzyeme-linked immünosorbent assay (ELISA) yöntemleri kullanılmaktadır (228).

İmmünfloresan Yöntem

B. henselae doku örneklerinde immünfloresan (IF) yöntemle saptanabilmektedir. IF yöntemin duyarlılığı değişken olmakla birlikte özgülüğün yüksek olması tanı problemi olan olgularda önem kazanmasını sağlamaktadır (229).

Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), referans test olarak 1995 yılında immünfloresan yöntemlerin BA tanısında kullanılabilirliğini kabul etmiştir. Bu testin duyarlılığı değişken olmakla beraber özgülüğünün yüksek olması tanı değerini artırmaktadır (230).

Regnery ve ark. *B. henselae* için indirekt immünfluoresans antikor tekniği (IFAT) geliştirmişler ve KTH olan hastaların %88'inde *B. henselae* antikor titrelerinin 1/64 olduğunu tespit etmişlerdir (235). Bu çalışmada Vero hücreleri ile kokültivasyon kullanılmıştır. Benzer şekilde HeLA hücreleri de kullanılabilir (220,231).

Bartonella türleri için IFA testinin duyarlılığı %84-88, özgülüğü %94-96 olarak bildirilmiş, ELISA yönteminin ise IgM \geq 1/250 titreleri için duyarlılığının %83-95, özgülüğünün %95'e ulaştığı belirtilmektedir (36).

Uygun anamnez ve klinik bulgu ve belirtilerin varlığında, IgM için > 1/16 ve IgG için > 1/64 titreleri veya en az 2 hafta arayla toplanan akut faz ile konvelesan faz serumları arasında IgG için titrasyondaki 4 kat artış KTH kesin tanısı için pozitif bir titre olarak kabul edildi (123,228). Hastalarda ilk başvuru anında çok yüksek düzeyde IgG antikorlarının varlığı, IgG antikorlarının uzun süre yüksek düzeylerde kalabilmesi ve bazı hastalarda antikor yanıtının gelişmemesi enfeksiyonun serolojik olarak tanısını güçleştirebilir (214).

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 (2). *B. henselae* izolatlarındaki yüzeydeki TAA'ların antijenik olması ve farklı izolatların TAA genlerinin değişken ifadesi testin özgülük ve

duyarlılığında geniş varyasyonlara neden olmuştur (231,232). *B. henselae* ve *B. quintana* ile belki de diğer *Bartonella* türleri arasında önemli bir çapraz reaksiyon nedeniyle IFA, türe özgü olarak kabul edilemez (233).

KTH şüpheli olgularda *B. henselae* antikorlarının negatif bulunması durumunda, etkenin *B. clarridgeiae* veya *A. felis* olabileceği düşünülmelidir (213).

Enzim İmmün Ölçüm Yöntemi (EIA, ELISA)

Enzimle bağlanmış immünosorbent testi (ELISA), solid faz antijeni olarak agarda üretilmiş olan *B. henselae* bakterilerini kullanılarak, spesifik IgG, IgA ve IgM'nin tespiti için geliştirilmiştir. ELISA PCR ve IFA'nın karşılaştırıldığı çalışmalar yapılmıştır. IgM, PCR ve ELISA testleri ile duyarlılık yönünden karşılaştırılmıştır. ELISA'da IgM duyarlılık %71,4, PCR'da %80,6 olarak saptanmıştır (231,234-236).

Histopatolojik İnceleme

Bartonella bakterisi, kanın yayma preparatlarında eritrositler içinde tek tek veya kümeler halinde yuvarlak, elips, silindir, düz veya eğri basiller olarak görünürler. Doku kesitlerinde Whartin Starry gümüş boyası ile kümeler halinde görünürler. Eritrositik formları birçok anilin boyası ile parlak beyaz olarak görülür. Asidorezistan boyanma özellikleri yoktur (17).

Dokudaki *Bartonella* bakterileri Giemsa veya Gimenez ile iyi, ama safranin ile zayıf boyanır (119). Warthin-Starry gümüş, Giemsa ve Gimenez boyaarı *Bartonella* türleri için spesifik değildir (120,237). Etkilenen dokuların immünohistokimyasal boyamasında, çeşitli derecelerde başarıya sahip olan hem monoklonal hem de poliklonal antikorları kullanımı, Warthin-Starry gümüş boyasından daha yüksek özgüllük sağlamıştır (238).

Histopatolojik incelemede KTH'da granüler formasyon, mikroapseler ve foliküler formasyonlar vardır. Hücre infiltrasyonları nötrofiller, makrofajlar, plazma hücreleri, lenfositler, epiteloid, eozonofil ve nekrotik hücreler görülebilir (137,239,240). BA hastalarının histopatolojik incelemesinde yeni vasküler

proliferasyonların görülmesi tanıda önemlidir (2,239). BP'de karakteristik olarak karaciğer ve dalak parankiminde içi kanla dolu lezyonlar bulunur. "Stellate" (nötrofillerle ve dev hücrelerle çevrelenmiş nekroz alanları) abseleri vardır. Elektron mikroskopik inceleme ile doku örneklerinde bakteri saptanabilir (120).

TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR-ALFA (TNF- α)

Tümör nekroz faktör (TNF), polipeptit bir sitokindir. TNF- α ve TNF- β olmak üzere iki çeşittir. TNF- α kaşektin olarak da bilinen klasik formdur. TNF- β ise lenfosit olarak bilinmektedir (241).

TNF- α 'nın birçok düzeyde etkileri vardır; programlı hücre ölümünde (apoptozis) önemli bir rol üstlenir, çok sayıda inflamatuvar ve immünregülatuvar aktiviteye aracılık eder. TNF- α birçok adezyon molekülünün endotelial ekspresyonunu arttırmak suretiyle nötrofil, lenfosit ve monosit gibi hücrelerin inflamasyon alanına göç etmesini sağlar. Bu sitokin aynı zamanda proinflamatuvar rol üstlenen IL1, IL6, IL8, GM-CSF (granülosit-makrofaj koloni stimülan faktör) ve diğer inflamasyon mediatörlerinin (prostoglandinler, lökotrienler, platelet aktive edici faktör) sentezini uyarır. TNF- α , makrofaj ve fibroblastları, kıkırdak ve doku hasarına sebep olan kollajenaz stromelinin gibi matriks metalloproteinazları sentezlemek üzere uyarabilir. Tüm bunlara ilave olarak TNF- α direk olarak ağrı, ateş ve kaşeksiye neden olabilir (242).

TNF- α karaciğer rejenerasyonu sırasında Kupffer hücrelerinin senteziyle oluşturulur. Fakat TNF- α 'nın aşırı ekspre edilmesi sonucunda hepatositler hiperplazi gösterirler ve karaciğer ağırlığının vücut ağırlığına göre ihtiyaçtan daha fazla artmasına sebep olurlar (243). TNF- α 'nın normal konsantrasyonlarda bulunmasının doku onarımı, doku yenilenmesi, antitümoral immünite gibi yararları bulunmaktadır (244). TNF- α 'nın yüksek seviyelerde olması doku yaralanmaları, doku hasarı, septik şok, sitotoksite, ateş, adrenal hemoraji, gastrointestinal nekroz gibi bazı olumsuz durumlara neden olabilmektedir (245). Kronik olarak TNF- α düşük seviyede ise anoreksiya, kilo kaybı, lipit tüketimi, protein katabolizması, insülin direnci gibi sorunlar görülebilmektedir (244).

Romatoid Artrit (RA), ankilozan spondilit (AS) ve psöriyatik artrit tedavisinde klinik kullanımda olan beş anti-TNF- α ajanı bulunmaktadır. Bunlar kimerik anti-TNF- α olan infliksimab, solübl TNF-R bileşeni olan etanersept ve insan anti-TNF- α antikoru olan eskiden D2E7 olarak bilinen adalimumab, golimumab ve TNF-spesifik, pegilasyonlu Fab-antikör fragmanı olan sertolizumab pegol'dür. Wegener granülamatozis, Behçet hastalığı, sarkoidoz, akut ve kronik graft versus host hastalığı, Kawasaki hastalığı, Dev hücreli arterit gibi hastalıklarda endikasyon dışı kullanımları mevcuttur. Tümünün TNF inhibitörü olmasına rağmen aralarında bir takım farklılıklar bulunmaktadır (7,246). Çalışma dahilinde etanersept açıklanacaktır.

ETANERSEPT

İki p75 TNF-R ekstrasellüler yapının insan IgG1'in kristalize olabilen Fc parçasına bağlanmasıyla oluşur. Oluşan molekül hem TNF- α hem de TNF- β olarak bilinen lenfotoksin- α (LT- α)'yı yüksek affinite ve spesifitede bağlayan dimerik, solübl TNF-R'dir. Etanerseptteki TNF-R yapıları, TNF trimerinin üzerindeki reseptör bağlayıcı üç bölgeden ikisine bağlanır ve TNF'nin işlevlerini bloke ederek proinflamatuvar yanıtı engellemiş olur (247).

Yarı ömrü (3-6 gün) kısa olduğundan dolayı haftada bir 50 mg ya da haftada iki kez 25 mg subkutan olarak uygulanması önerilmektedir (248,249). İlaça karşı antikör gelişimi çok nadir görülmektedir (249).

Haftada iki kez 25 mg dozunda subkutan (SC) hazır injeksiyon tarzında uygulanır. Yaklaşık 50 saat sonra pik konsantrasyon değerine ulaşır. İmmünglobülin yapısından dolayı yarılanma ömrü 3-4,8 gün arasındadır. Klirensinin retikuloendotelial sistem tarafından Fc bağlanması suretiyle olabileceği düşünülmele birlikte dolaşımdan nasıl temizlendiği açık değildir (247).

Farmakolojik Özellikleri

TNF- α , inflamasyonun erken sitokin yanıtlarındandır (251). İnflamasyonun başlamasına neden olan herhangi bir uyarıdan sonraki dakikalar içinde TNF- α salınımı başlar, 1 saatte pik yapar ve 3-4 saat sonra salınım durur (252). TNF- α

düzeylerindeki kısa süreli yükselme, ardışık sekonder reaksiyonlara yol açar ve bunların etkileri, TNF- α serumdan kaybolduktan uzun süre sonra da devam eder. Bu sekonder etkilerin çoğu, muhtemelen TNF- α ile sinerjistik etkisi olan diğer sitokinlerin salınımına bağlıdır (253,254).

Etanersept, rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmiş, insan tümör nekrotize edici faktör reseptör p75 (TNFR2/p75) ve insan IgG1-Fc proteininin birleştirilmesi ile elde edilen bir füzyon proteindir. Etanersept, TNF'nin kompetitif inhibitörü olarak hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasını engeller ve biyolojik aktivitesini önler (255).

Etanersept, SC enjeksiyonundan sonra yavaş absorbe olur, tek dozda 48 saat içinde maksimum konsantrasyona ulaşır. Mutlak biyoyararlanımı %76 dır. Haftada iki defa alınan dozda beklenen sabit konsantrasyonları tek doz alımında gözlenen iki kat fazla olur. Hastalara ve gönüllülere radyoaktif işaretli etanersept uygulandığında idrardan radyoaktivitenin itrah olduğu saptanmasına rağmen akut böbrek ve karaciğer yetersizliklerinde etanersept dozunda bir birikme olduğu saptanmamıştır. Karaciğer ve böbrek yetersizliklerinde özel bir doz ayarı yapılmasına gerek yoktur. Farmakokinetik açıdan kadın ve erkek arasında bir fark yoktur (256).

Endikasyonlar

Etanersept, yetişkinlerde metotreksat dahil (kontrendike değil ise), hastalığı modifiye edici antiromatizmal ilaçlara yeterli cevap alınamayan durumlarda tek başına veya metotreksat ile birlikte aktif romatoid artrit kontrolünde kullanılır. Etanersept, önceden metotreksat ile tedavi edilmemiş yetişkinlerde ciddi, aktif ve ilerleyen romatoid artrit kontrolünde kullanılır. Etanersept ayrıca, metotreksata yeterli cevap alınamayan veya metotreksatı tolere edemeyen 4-17 yaş arası çocuklarda aktif poliartiküler tip juvenil kronik artrit tedavisinde endikedir. Yetişkinlerde hastalığı modifiye edici antiromatizmal ilaçlara yeterli cevap alınamayan durumlarda aktif ve ilerleyen psöriatik artrit tedavisi için kullanılır. Etanersept, erişkinlerde konvansiyel tedaviye yeterli cevap alınamayan ağır aktif ankilozan spondilitin tedavisinde endikedir. Etanersept, yetişkinlerde siklosporin,

metotreksat veya PUVA (Psoralen ultraviyole A) gibi sistemik tedaviler ile cevap alınamayan, bu ilaçların kontrendike olduğu veya bu tedavileri tolere edemeyen hastalarda, orta şiddette veya şiddetli psöriazis vulgaris tedavisinde kullanılır (257-260)

Anti-TNF- α tedavilerinin kullanımı konulu kullanım kılavuzu 2006 yılında Uluslararası spondiloartrit Değerlendirme Topluluğu [The Assessment of Spondyloarthritis International Society, (ASAS)] tarafından yeniden düzenlenmiş olup, endikasyon parametreleri; 1984 New York kriterlerine göre AS tanısı almak, Aksiyel tutulum için en az 3 ay süreyle maksimum dozda en az 2 non-steroid anti-inflamatuar ilaçlara dirençli hastalar veya yan etki gelişmesi, en az 4 hafta aktif hastalık ve Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivite İndeksi [Bath Ankylosan Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI)] skorunun >40 olması ve anti-TNF- α tedavi için uzman görüşü olarak belirlenmiştir (261).

Kontrendikasyonlar

TNF- α adezyon moleküllerinin ekspresyonunu regüle eder, kandan sinoviyuma lökosit hareketini düzenler. Prostaglandin ve nitrik oksit gibi proinflamatuar sitokin ekspresyonunu artırır, sinovial fibroblast ve kondrositlerden kartilaj niteliğini bozan matriks metalloproteinaz ve diğer enzimlerin salınımını stimüle eder, apoptoz regülasyonuna katkıda bulunur. Osteoklastların aktivasyon ve diferansiyasyonunu stimüle ederek kemik rezorbsiyonunda rol alır (262).

İlacın etken maddesine veya içindeki diğer maddelere aşırı hassasiyet ile sepsis veya sepsis riskinin bulunduğu durumlarda kullanılmamalıdır. Aktif tüberküloz, kronik veya lokalize enfeksiyonlar dahil olmak üzere aktif enfeksiyonu bulunan hastalarda etanersept tedavisine başlanmamalıdır. Anti-TNF- α tedavilerinin kullanımı konulu kullanım kılavuzu 2006 yılında ASAS tarafından yeniden düzenlenmiş olup, kontrendikasyon parametreleri belirlenmiştir (263).

AS'de anti-TNF- α tedavi kontrendikasyonları ise; aktif tüberküloz, aktif enfeksiyon, yüksek enfeksiyon riski, kronik bacak ülseri, son 1 yıl içinde septik artrit/protez enfeksiyonu, inatçı veya nükseden akciğer enfeksiyonu, daimi üriner

kateter, canlı atenüe aşısı uygulanması, gebelik ve laktasyon, lupus veya multipl skleroz, malignite veya premalignite varlığı, optik nörit ve demyelinizan hastalıklar mutlak kontrendikasyonlardır. Konjestif kalp yetmezliği HIV, hepatit B ve C mutlak kontrendikasyon olmamakla beraber, anti-TNF- α kullanımı konusunda dikkatli olunmalıdır (263,264).

Etanersept, TNF- α 'yı bağlayıp biyolojik aktivitesini bloke ederek antiinflamatuvar ve immünregülatör etki gösterir. Ayrıca yapılan son çalışmalarda, etanersept'in beyin inflamatuvar cevabını engelleyerek lökosit infiltrasyonu sonucu oluşan sekonder beyin ve spinal kord hasarını engellediği gösterilmiştir (265,266).

Uyarılar/Önlemler

Ciddi allerjik veya anafilaktik reaksiyonlar görülmesi durumunda etanersept kullanımına derhal son verilmelidir. TNF'nin inflamasyona aracılık etmesi ve hücreli bağışıklık sistemini düzenlemesi nedeniyle, etanersept dahil anti-TNF tedavileri, vücudun enfeksiyonlara ve kanser gelişmesine karşı savunmalarını etkileyebilir. TNF antagonistleri ile yapılan kontrollü klinik çalışmalarda, TNF antagonisti alan hastaların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında, lenfoma sıklığında artış gözlenmiştir. Ancak, lenfoma oluşumu ender olarak görülmüştür ve plasebo hastalarının takip periyodu TNF antagonisti tedavisi uygulanan hastalarinkinden kısadır (267-268).

Geçmişinde kan diskrazisi bulguları olup etanersept tedavisi görmekte olan hastalara dikkat edilmelidir. Etanersept kullanmakta olan tüm hastalar kan diskrazisi veya enfeksiyonların (sürekli ateş, boğaz ağrısı, çürük, kanama, solukluk) muhtemel belirti ve semptomlarının gelişimine karşı uyarılmalı ve derhal medikal yardım istenmelidir. Bu tip hastalar acil olarak tüm kan sayımları dahil incelenmeli; eğer kan diskrazisi tespit edilir ise etanersept kullanımı durdurulmalıdır (271).

Etanersept ile tedavi, otoimmün antikorların oluşmasına neden olabilir. Etanersept kullanan psöriatik artrit hastalarının çoğunluğu, polisakkarid pnömokok aşılara etkili B-hücre bağışıklık yanıtı verebilmektedir. Fakat bu hastalıkların toplam antikor titreleri oldukça düşüktür ve etanersept kullanmayan hastalar ile

kıyaslandığında az sayıda hastada antikor düzeyinde iki kat artış görülmüştür. Canlı aşilar, etanersept ile birlikte verilmemelidir (272,273). Etanersept tedavisine başlamadan önce, mümkün olduğu oranda pediatrik hastaların geçerli lokal bağışıklama takvimine uygun olarak tüm aşiların tamamlanması önerilmektedir (273).

Multiple skleroz hastalarında etanersept tedavisini değerlendiren klinik çalışmalar yokluğuna rağmen, bu hastalarda diğer TNF antagonistleri ile yapılan klinik çalışmalarda hastalığın aktivitesinde artış görülmüştür (274-275). Konjestif kalp yetmezliği bulunan hastalarda etanersepti kullanırken dikkatli uygulanmalıdır. Etanersept de dahil olmak üzere anti-TNF ajanlar alan kronik virüs taşıyıcısı hastalarda hepatit B virüsünün (HBV) yeniden aktive olduğu bildirilmiştir (276).

Yan Etkiler

Enfeksiyonlar: Anti-TNF- α ilaç kullanımı esnasında *Mycobacterium tuberculosis*, *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus* spp. ve *Listeria* spp. Gibi granülomatoz enfeksiyonlar ortaya çıkabilir. Bunlar içinde tüberküloz (Tbc) en sık olarak karşımıza çıkan enfeksiyondur. Tbc basillerine karşı oluşturulan immün yanıtta TNF- α çok merkezli yer almaktadır. Hastada ciddi düzeyde enfeksiyon veya sepsis gözlenirse etanersept uygulaması derhal durdurulmalıdır. Kronik veya lokalize enfeksiyonlar dahil aktif enfeksiyonu olan hastalarda etanersept tedavisi uygulanmamalıdır. Sık sık tekrarlayan veya kronik enfeksiyon öyküsü olan hastalar ile, diyabet gibi hastanın enfeksiyonlara direncini azaltan durumlarda etanersept kullanımı düşünülüyorsa azami dikkat göstermelidir (7,277,278).

Kanser gelişimi: TNF'nin inflamasyona aracılık etmesi ve hücrel bağışıklık sistemini düzenlemesi nedeniyle, etanersept dahil anti-TNF tedavileri, vücudun enfeksiyonlara ve kanser gelişmesine karşı savunmalarını etkileyebilir. Etanersept tedavisinin kanser gelişimi ile, aktif ve/veya kronik enfeksiyonlar üzerindeki etkileri henüz bilinmemektedir (267).

Otoimmün hastalıklar; infliksimab ile yapılan bir yıllık randomize kontrollü bir çalışmada hastaların %53'ünde anti nükleer antijen (ANA) ve %10'unda anti-

dsDNA geliştiği saptanmış, ancak sadece 1 olguda Sistemik Lupus Eritamazus (SLE) benzeri klinik tablo ortaya çıkmıştır. Diğer bir çalışmada ise etanersept ile oluşan SLE benzeri klinik bulguların ilacın kesilmesi ile 1-4 ay içinde kaybolduğu rapor edilmiştir (279,280).

Amerikan İlaç ve Besin Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) verilerine göre 270.000 anti-TNF kullanan hastadan 47'sinde konjestif kalp yetmezliği geliştiği veya mevcut kalp yetmezliği bulgularının arttığı rapor edilmiştir (281).

Alerjik reaksiyonlar, otoantikor oluşumu gibi bağışıklık sistem hastalıkları sık görülmektedir. Nadir olarakta, ciddi alerjik/anafilaktik reaksiyonlar görülmektedir (261).

Tüm bu belirtilerin yanısıra, sıklıkla; ateş, kaşıntı, döküntü, ürtiker, nadir olarakta; karaciğer enzimlerinde yükselme, otoimmün hepatit, subakut deri lupus eritematozus, diskoid lupus eritematozus, lupus benzeri sendrom, konjestif kalp yetmezliği, kutanöz vaskulit, nöbet, multipl skleroz veya optik nörit ve transvers myelit gibi belirtilerin görüldüğü bilinmektedir (261).

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney Hayvanları ve Çalışma Grupları

Araştırmada BALB/c fareler kullanıldı. Deney fareleri Pamukkale Üniversitesi Deneysel Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarı'ndan temin edildi. Bu araştırma Pamukkale Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 28/10/2015 tarih ve 2015/25 no ile onaylanmıştır.

Çalışmada kullanılan fareler aşağıda tanımlandığı şekilde 3 gruba ayrıldı.

Grup 1: (n=10) Kontrol grubu, 100 µL fosfatla tamponlanmış tuzlu su (PBS) subkutan (SC) olarak verildi.

Grup 2: (n=10) *Bartonella henselae* enfeksiyon kontrol grubu 0. ve 30. günlerde SC olarak $\sim 1 \times 10^6$ cfu/ml *Bartonella henselae* (Houston-1) ATCC 49882 verildi.

Grup 3: (n=10) *Bartonella henselae* enfeksiyon ve etanersept grubu 0. ve 30. günlerde SC olarak $\sim 1 \times 10^6$ cfu/ml *Bartonella henselae* (Houston-1) ATCC 49882 + 1. ve 5. günlerde 0,4 mg/kg etanersept SC olarak verildi.

***Bartonella henselae* ATCC 49882 (Houston-1)**

Deney hayvanlarında bartonelloz oluşturmak amacı ile kullanılacak olan *Bartonella henselae* (Houston-1) ATCC 49882 standart kökeni Sağlık Bakanlığı Ulusal Referans Merkez Laboratuvarlarından temin edilmiştir.

Deney Modelinin Uygulanması

Deney hayvanlarında enfeksiyon ve antikor oluşturmak için Karem ve ark. tanımladığı yöntem uygulandı (72).

Bartonella henselae (Houston-1) ATCC 49882 at kanlı agar ekilerek 37°C de %5 CO₂'li ortamda üretildi. Üreyen bakteriler laminar akım altında, beyin-kalp infüzyonu (BHI) içinde süspansiyon edildi. Hazırlanan süspansiyon santrifüj edildikten sonra dip çökeleği PBS içinde yeniden süspansiyon edildi. Deney farelerine maske ile metoksifluran (başlangıç konsantrasyonu %4, idame konsantrasyon %0,5-1) anestezi uygulandı. Deney hayvanları her grupta on tane BALB/c fare olmak üzere üç farklı gruba ayrıldı. Deneyin başlangıç gününde (0. gün) Grup 1'e 100 µL PBS SC

verilirken, Grup 2. ve Grup 3'e *B. henselae* kökeni, $\sim 10^6$ koloni oluşturan ünite (CFU)/ml bakteri içecek şekilde SC yol ile verildi. İlk enjeksiyondan 30 gün sonra tekrar aynı doz ($\sim 10^6$ cfu/ml) bakteri SC olarak Grup 2. ve Grup 3'e verildi. Grup 3'teki deneklere deneyin 1. ve 5. gününde, anti-TNF- α blokeri etanersept 0,4 mg/kg dozunda SC olarak uygulandı.

Deney 60. günde sonlandırıldı. Deneyin 60. gününde steril olarak deneklerden intrakardiyak kan alındı. Alınan kan steril biyokimya tüplerine aktarıldı. 4000 rpm (rotate per minute) 15 dakika santrifüj edilen serum örneklerinde *Bartonella henselae* IgG varlığı daha önce tanımlanmış olan yöntemle araştırıldı. Konjugat olarak FTIC işaretli anti- *Bartonella henselae* IgG immünfloresan boya (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Almanya) üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanıldı. Örneklerde *Bartonella henselae* IgG antikor varlığı immünfloresan mikroskopta çift kör olarak IgG için 1/64 dilüsyon pozitif kabul edildi.

Mikrobiyolojik İnceleme

Farelere kansızlaştırma yolu ile ötenazi yapıldı. Dokuların mikrobiyolojik incelemesi için; deneyin 60. gününde farelerden alınan karaciğer, dalak ve lenf nodu örnekleri steril kaplara aktarıldı. Denekler kişisel önlemler alındıktan sonra kırmızı poşetlere konarak ve prosedüre uygun şekilde imha edildi. Mikrobiyolojik analiz için alınan karaciğer, dalak ve lenf nodu tartıldı. Steril 10 ml serum fizyolojik içeren steril petrilere konuldu. Organlar, bakteriyel yük ölçümü için, 20 numara steril bistürilerle kıyma şeklinde küçük parçalara ayrıldı. Steril enjeksiyon pistonu ile bastırılarak homojenize edildi. 0.1 ml'lik homojenizat steril salin ile 1:10 dilüe edildi. Hazırlanan dilüsyondan 10 μ L alınarak at kanlı agara ekim yapıldı. Besiyerleri 37°C ve %5 CO₂'li etüvde bir hafta inkübe edildi. Bir hafta sonunda üremeler değerlendirildi ve gram doku başına üreyen bakteri miktarı log 10 olarak hesaplandı. Kantitatif bakteriyel yük ölçümü log fazı ile belirlendi.

Histopatolojik İnceleme

Dokuların histopatolojik incelemesinde; deneyin 60. gününde farelerin karaciğer, dalak ve lenf nodu aseptik olarak alınarak, %10 formolinde fikse edildi. Patoloji laboratuvarında örnekler parafin bloklara gömüldü. Bu bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin (H&E), Masson Trikrom ve Retikülin boyaları ile boyandı. Karaciğer çatı yapısı ve ve fibrozisin gösterilmesi için Masson Trikrom ve Retikülin boyama kullanıldı. İki patoloji uzmanınca çift kör olarak aşağıda belirtilen histopatolojik kriterler ile histopatolojik inceleme yapıldı.

Dokuların histopatolojik incelemesinde Ishak sınıflamasında modifiye histolojik aktivite indeksi (HAI) kriterleri kullanıldı. (282,283).

Karaciğerden alınan örneklerin incelenmesinde;

Grade değerlendirme kriterleri

(1) Periportal ya da periseptal interface hepatit değerlendirme kriterleri

0-Yok,

1-Hafif (fokal, az miktarda portal alanda),

2-Hafif/orta (fokal, çok sayıda portal alanda),

3-Orta (%50'den daha az, portal alanda),

4-Ciddi (%50'den daha fazla, portal alanda)

(2) Konfluent nekroz değerlendirme kriterleri.

0-Yok,

1-Fokal konfluent nekroz,

2-Bazı alanlarda zone 3 nekroz,

3-Birçok alanda zone 3 nekroz,

4-Zone 3 nekroz + genellikle porta santral köprüleşme,

5-Zone 3 nekroz + çok sayıda porta santral köprüleşme,

6-Panasiner ya da multi asiner nekroz değerlendirme kriterleri.

(3) Fokal (spoty) litik nekroz, apopitoziste fokal inflamasyon.

0-Yok,

1- <2 fokus (x10 luk büyütmede),

2- 2-4 fokus (x10 luk büyütmede),

3- 5-10 fokus (x10 luk büyütmede),

4- >10 fokus (x10 luk büyütmede)

(4) Portal inflamasyon değerlendirme kriterleri

0-Yok,

1-Hafif, bazı ya da tüm portal alanlarda,

2-Orta, bazı ya da tüm portal alanlarda,

3-Orta ya da belirgin, tüm portal alanlarda,

4-Belirgin, tüm portal alanlarda.

Stage değerlendirme kriterleri

0-Fibrozis yok,

1-Bazı portal alanlarda fibröz genişleme, kısa fibröz septa var ya da yok,

2-Birçok portal alanda fibröz genişleme, kısa fibröz septa var ya da yok,

3-Birçok portal alanda fibröz genişleme, genellikle porta-portal köprüleşme,

4-Birçok portal alanda fibröz genişleme, belirgin porta-portal ve porta-santral köprüleşme,

5- Belirgin porta-portal ve/veya porta-santral köprüleşme ve nodül (inkomplet siroz),

6-Siroz.

Dalak ve lenf nodundan alınan örneklerde histolojik aktivite değerlendirme kriterleri;

1-Ekstramedüller hematopoez değerlendirme kriterleri

0-Yok, 1-Hafif, 2-Orta, 3-Şiddetli

2-Lenfoid doku azalması değerlendirme kriterleri

0-Yok, 1-Hafif, 2-Orta, 3-Şiddetli

3-Granülom oluşumu değerlendirme kriterleri

0-Yok, 1-Mikrogranülom, 2-Makrogranülom

4-Kırmızı pulpada nötrofil infiltrasyonu değerlendirme kriterleri

0-Yok, 1-Var

İstatistiki Analizler

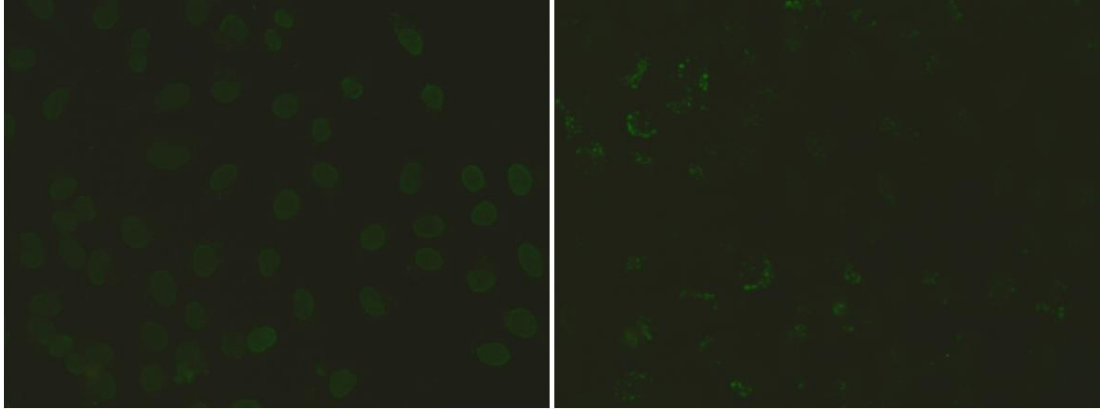
Araştırmadan elde edilen veriler Minitab 16.0 (Köln, Almanya) programları ile istatistiki analize alındı. Gruplararası nonparametrik veri analizlerinde Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistik hata payı 0,05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

Üç grupta alınan onar denekle başlayan araştırma, Grup 1’de 9, Grup 2’de 7 ve Grup 3’te 6 denek ile tamamlandı.

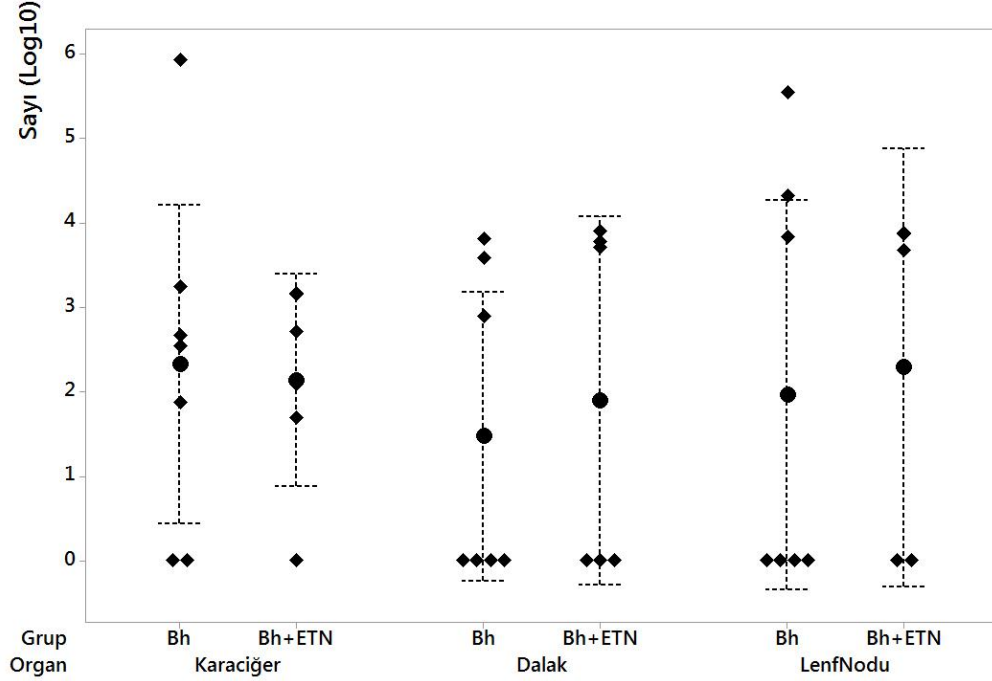
Araştırmanın 60. gününde *B. henselae* verilen Grup 2 ve Grup 3’ten intrakardiyak alınan serum örneklerinin anti-*B. henselae* IgG 1/64 dilüsyonda değerlendirilmesinde; Grup 1 deneklerinde negatif, Grup 2 ve Grup 3’teki tüm deneklerde pozitif olarak değerlendirildi. Şekil 2’de immünfluoresans antikor yöntemi ile çalışılan serum örneklerinde 1/64 dilüsyonda negatif ve pozitif reaksiyon görülmektedir (Şekil 2).

Şekil 2 *Bartonella henselae* antikorlarının immünfluoresans mikroskopisi ile 1/64 dilüsyonda negatif (solda) ve pozitif (sağda) görünüşleri (400X).



Araştırmanın 60. gününde *B. henselae* verilen Grup 2’den alınan 21 örneğin ikisinin (% 9,5), Grup 3’ten alınan 18 örneğin ikisinin (%11,1) kültürlerinde *Enterobacteriaceae* üyeleri ve küf kontaminasyonu görüldü. *B. henselae* verilen Grup 2 ve *B. henselae* ile ETN verilen Grup 3’ten alınan karaciğer, dalak ve lenf nodu örneklerinden yapılan kültürlerde *B. henselae* koloni sayısı, gruplar arasında fark göstermedi ($p>0,05$) (Grafik 1).

Grafik 1 Sadece *Bartonella henselae* (Grup 2) ve *Bartonella henselae* + ETN (0,4 mg/kg SC) verilen Grup 3'te kültürde üreyen bakterilerin koloni sayılarının karşılaştırılması



($p > 0,05$ (bar=Standart sapma; ◆: olgular; ●: ortanca değer, Bh: *Bartonella henselae*)

Araştırmanın 60. gününde kontrol grup olarak sadece PBS verilen Grup 1, *B. henselae* verilen Grup 2 ve *B. henselae* ile ETN verilen Grup 3'ten alınan karaciğer, dalak ve lenf nodu örneklerinin histopatolojik değerlendirilmesinde; PBS verilen gruptan farklı olarak Grup 2 ve Grup 3'te daha fazla mikrogranülom yapısı saptandı ($p < 0,05$). Grup 2 deki bir örnekte pleomorfik hepatosit hücreleri görüldü. İstatistiki anlamlılık saptanmadı ($p > 0,05$).

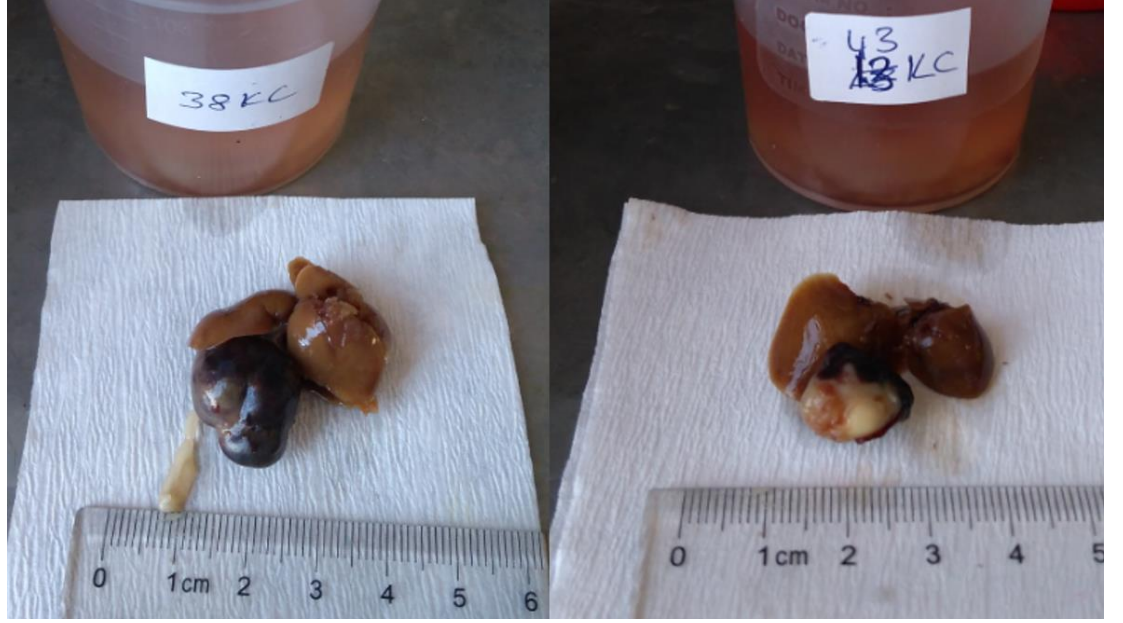
Deneklerden alınan örneklerin makroskopik incelemesinde Grup 3'ten alınan bir örneğin deri yapısı üzerinde nodüler bir lezyon görüldü (Şekil 3). Lezyon histopatolojik olarak viral papillom (Verrü) olarak değerlendirildi. İstatistiki anlamlılık saptanmadı ($p>0,05$)

Şekil 3 Deri üzerinde nodüler lezyon



Grup 3'ten alınan karaciğer örneklerinin makroskopik incelemesinde iki örnekte kistik yapılar gözlemlendi (Şekil 4).

Şekil 4 Karaciğerde makroskopik görünümde kistik yapılar



Dalak ve lenf nodlarının dış yüzeyinde ise makroskopik olarak patolojik görünüm izlenmedi.

Grup 1 ve Grup 2'de birer adenom (Grup 1 için %11,1, Grup 2 için %14,3) saptandı ($p>0,05$). Grup 1 de makroskopik incelemede karaciğer dokusunda granülom görülmedi. Grup 2'de bir (Şekil 4; %14,3) ve Grup 3'de bir (Şekil 4; %16,7) denekte nekrotize granülom görüldü. Nekrotize granülom makroskopide 1,3 x 1,0 x 0,8 cm boyutunda, solid nodüler görünümde, kahve mor renkli idi. Kesi yüzü solid, krem, kahve, mor renkli yapıda idi (Şekil 4).

Karaciğer dokusundan yapılan mikroskopik patolojik incelemede Grup 1'de granülom görülmedi. Karaciğer dokusundan yapılan patolojik incelemede Grup 2'de bir örnekte (Şekil 6; %14,3), Grup 3'te beş örnekte (Şekil 7; %83,3) mikrogranülom yapısı görüldü ($p<0,05$). Mikroskopik incelemede Grup 1'de (Şekil 5) nekrotize granülom görülmedi. Grup 2'de (Şekil 6) bir (%14,3) ve Grup 3'de (Şekil 7) bir (%16,7) denekte nekrotize granülom görüldü. Grup 2'deki bir örnekte (%14,3)

pleomorfik hepatositler görüldü. Grup 3'te bir örnekte mikrogranülomun yanısıra hemanjiyom mevcut idi.

Gruplararası nonparametrik veri analizlerinde Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistik hata payı 0,05 olarak kabul edildi (Tablo 1).

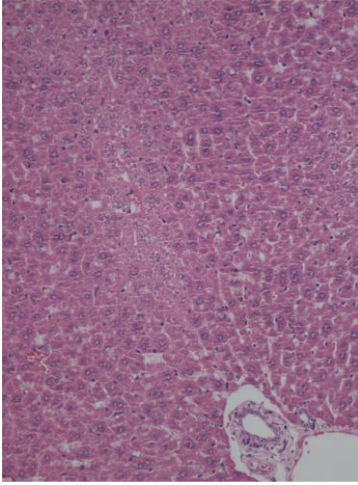
Tablo 1 Karaciğer dokusunda Modifiye HAI kriterlerine göre histopatolojik değerlendirme

	Grup1 ortanca	Grup 2 ortanca	Grup 3 ortanca	p
Portal inflamasyon* (0-4)	0	1	2	0,004**
İnterfaz hepatit* (0-4)	0	1	1	0,066**
Fokal litik nekroz* (0-3)	1	1	2	0,227
Konfluent nekroz* (0-6)	0	2	3	0,003**
Fibrozis* (1-6)	0	0	0	0,920
Modifiye HAI	1	5	8	0,002**
Granülom varlığı* (0-1)	0	0	1	0,002**

* : parantez içi sayılar sınıflandırma aralığı alt-üst değerleridir.

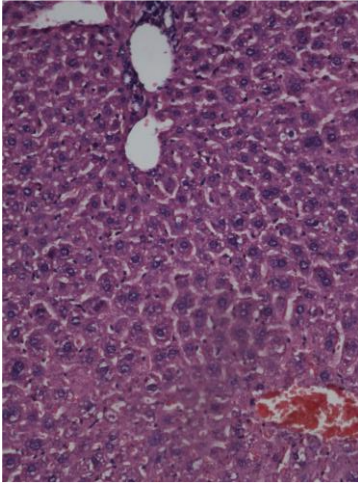
** : $p < 0,05$; istatistiksel olarak gruplar arasında en az bir grup diğerlerinden farklıdır.

Tablo 1’de grup içi farklılık saptanan parametrelerin, gruplar arası değerlendirilmeleri sonucunda; portal inflamasyon parametresinde Grup 1 ve Grup 3 arasında fark görüldü ($p<0,05$). Grup 3’ün İnterfaz hepatiti parametresi diğer gruplardan daha yüksek değerlendirildi ($p<0,05$). Konfluent nekroz parametresi hem Grup 2’de hem de Grup 3’de Grup 1’den, modifiye HAI skoru hem Grup 2’de hem de Grup 3’te Grup 1’den yüksek bulundu ($p<0,05$). Granülom varlığı Grup 3’te diğer gruplardan daha fazla idi ($p<0,05$).



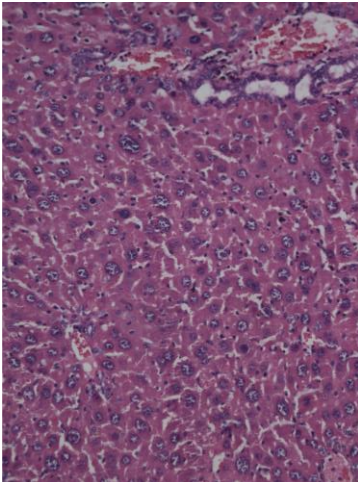
Şekil 5. Rat karaciğer. Grup 1; PBS verilen.

Zon 2 nekroz, (H&E, x200).



Şekil 6. Rat karaciğer. Grup 2; *Bartonella henselae* verilen.

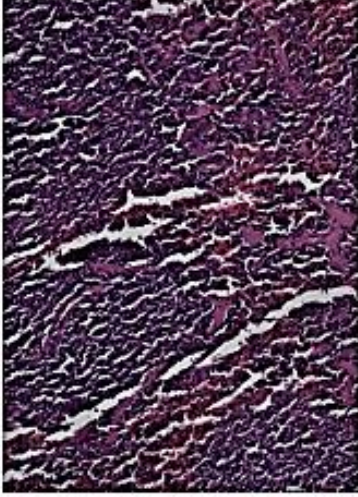
Zon 3 nekroz, portal inflamasyon ve konfluent nekroz (H&E, x200).



Şekil 7. Rat karaciğer. Grup 3; *Bartonella henselae* ve etanercept verilen grup.

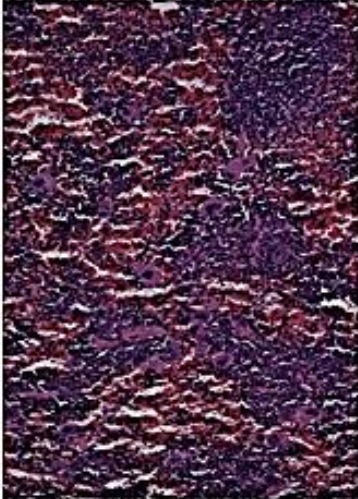
Fokal litik nekroz, portal inflamasyon, konfluent nekroz ve interfaz hepatit (H&E, x200)

Dalak örneklerinin incelemesinde sadece ekstramedüller hematopoezde hem Grup 2’de hem de Grup 3’te Grup 1’e göre artış saptanmıştır (Şekil 8-10; $p<0,05$). Grup 3’teki artış, Grup 2’deki artışa göre istatistiki anlamlı olarak fazladır (Şekil 9-10; $p<0,05$).



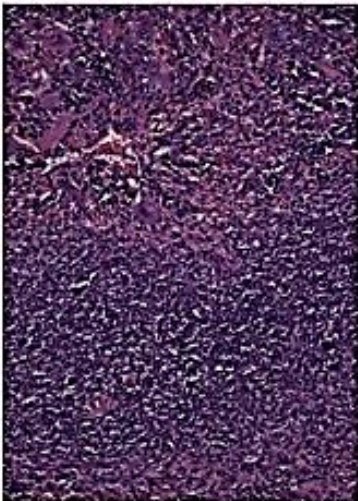
Şekil 8. Rat dalak. Grup 1; PBS verilen grup.

Ekstramedüller hematopoez ve hemosiderin birikimi (H&E, x200).



Şekil 9. Rat dalak. Grup 2; *Bartonella henselae* verilen grup.

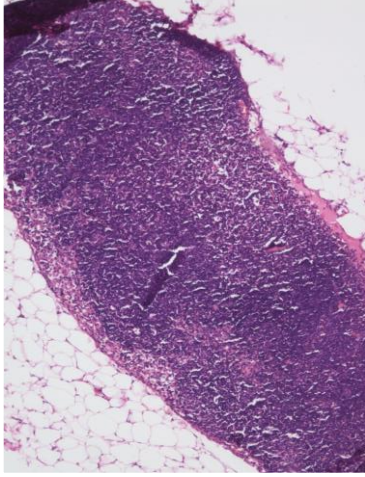
Ekstramedüller hematopoez, hemosiderin birikimi ve lenfoid doku azalması (H&E, x200).



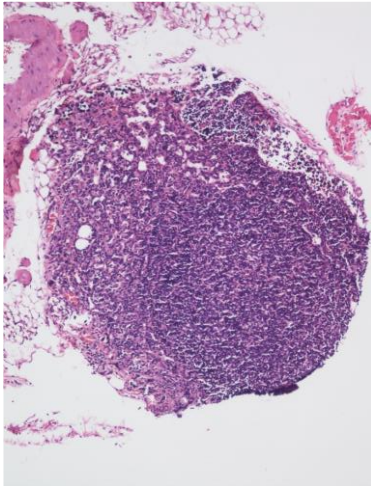
Şekil 10. Rat dalak. Grup 3; *Bartonella henselae* ve etanersept verilen grup.

Ekstramedüller hematopoez, hemosiderin birikimi ve nötrofil birikimi (H&E, x200).

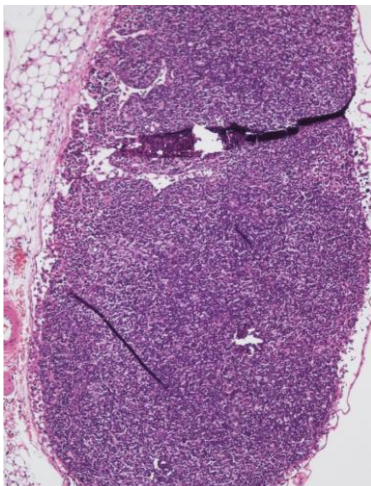
Lenf nodu dokusundan yapılan incelemelerde Grup 2 ve Grup 3'te nonspesifik histopatolojik değişimler görülmüştür. Bununla beraber lenf örnekleri arasında histopatolojik incelemede kullanılan parametrelere göre farklılık saptanmamıştır (Şekil 11-13; $p>0,05$).



Şekil 11. Rat reaktif lenf nodu. Grup 1; PBS verilen grup (H&E, x100).



Şekil 12. Rat reaktif lenf nodu. Grup 2; *Bartonella henselae* verilen grup (H&E, x100).



Şekil 13. Rat reaktif lenf nodu. Grup 3; *Bartonella henselae* ve etanersept verilen grup (H&E, x100).

TARTIŞMA

Bu araştırmada *B. henselae* ile enfekte deneklerde etanerseptin doku düzeyinde etkisi incelendi.

Bartonella spp. seropozitifliği çeşitli ülkelerde ve farklı risk gruplarında değişiklik göstermektedir. Çin’de tarım çalışanlarında %9,6, Yunanistan’da sağlıklı popülasyonda yapılan çalışmada bu oran %19,8, Portekiz’de veterinerlerde anti-*Bartonella* spp. antikor seropozitifliği %53,3 olarak saptanırken, Şili’de hayvanlarla teması olanlarda %10,3 olarak saptanmıştır (284-287). Bölgemizde üniversitemiz hastanesi kan bankasına başvuran gönüllü kan vericilerinde bu oran %6,0 olarak bulunmuş; tavşan besleyiciliği, kene ısırığı hikâyesi ve öğrenci olmak bağımsız risk faktörleri olarak saptanmıştır (288). Yine bölgemizdeki saha taramasında ise *Bartonella henselae* seropozitifliği %12,5, veterinerlerdeyse %29,6 olarak bulunmuştur (289). Aydın ve Denizli illerindeki veteriner ve hayvan yetiştiricilerinin bir kısmını içeren bir diğer çalışmada seropozitiflik %22,2 bulundu. Seroprevalans veterinerlerde %29,6, hayvan yetiştiricilerinde ise %19 olarak rapor edildi (290). Aydın ilinde yapılan bir çalışmada *Bartonella henselae* seroprevalansının evcil hayvan sahibi olanlarda, sokak kedisi yada köpeği sahibi olanlara göre daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir (291). Aynı çalışmada seroprevalans evcil kedilerde barınak kedilerine göre daha yüksek bulunduğu rapor edilmiştir (291). Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hastanesi Kan Bankası’na başvuranlarda *Bartonella henselae* seropozitifliği %3.3 iken, aynı ilde yapılan 18-90 yaş arası sağlıklı bireylerde seroprevalans %6.1 olarak bildirilmiştir (292,293). Çeşitli ülkelerde risk gruplarında ve sağlıklı bireylerde *Bartonella spp.* seropozitifliği %0.2-40 arasında değişmektedir (24-26). KTH her yaşta ve her iki cinsiyette de görülebilmesiyle birlikte, yaş dağılımını araştıran çalışmalarda %33-43’ünün 21 yaş ve üstünde, %17’sinin 41 yaş ve üstünde olduğu bildirilmektedir (27-28).

Etanersept 2000 yılından itibaren romatoloji, dermatoloji ve oftalmoloji gibi immün sistem hastalıkları ile sık karşılaşılan bölümlerde kullanılan bir ilaçtır (7). ABD verilerine göre tüm biyolojik ajanlar içinde kullanım oranı %48’dir (294). Zaman içinde kullanımın artması ile birlikte tüberküloz, kriptokokkoz, histoplazmoz,

nokardiyoz gibi fırsatçı enfeksiyon etkenleri, etanersept kullanımı esnasında ağır klinik tabloları ortaya çıkartmıştır (295,296). Son yıllarda ise ETN kullanan dört hastada KTH ve *B. henselae* ile ilişkilendirilen granülamatöz sistemik hastalık bildirilmiştir (297-301). Benzer şekilde Wallis ve ark. ETN kullanımı esnasında granülamatöz doku reaksiyonunu 11/100000 olarak rapor etmiştir (295).

Anti-TNF- α kullanımı ve granülamatöz reaktivasyonun incelendiği bir çalışmada, ilk 90 günde tüberküloz reaktivasyonu infliksimab (IFX) ile yüzbinde 95 kişi, ETN kullanan hastalarda ise 11 kişi olarak rapor edilmiştir. İnsanlarda tedavinin 90. gününde reaktivasyon en çok IFX alanlarda gözlenmiştir (295). Wallis ve ark.'nın çalışmasında sadece infliksimab kullanımı ile bartonellozis reaktivasyonu bir olguda bildirilmiştir (295). Ancak ETN ile benzer bir bulgu literatürde bulunmamıştır. Anti-TNF- α kullanılarak *M. tuberculosis* ile yapılan deneysel bir çalışmada aşırı bakteriyel üreme artışı saptanmıştır (302).

Seroprevalans araştırmaları toplum içinde sessiz seyreden bartonelloz bulunduğunu göstermektedir. TNF- α blokerlerinin endikasyonları ve kullanımı artmaktadır. TNF- α inhibitörlerinden birisi olan IFX kullanan hastalarda tüberküloz olgularının artması literatürde yer almaktadır. Literatür tarandığında TNF- α blokerleri ve *Bartonella henselae* enfeksiyonunu araştıran deneysel bir çalışma bulunamamıştır. *Bartonella henselae* enfeksiyonlarının granülamatöz değişikliklere yol açtığı bilinmektedir. ETA' nın granülamatöz doku üzerindeki etkilerinin diğer TNF- α blokerlerinden farklı olması ve kullanımının yaygın olması nedeni ile bu çalışmada TNF- α blokeri olarak seçilmiştir. *Bartonella* sp. enfeksiyonlarının deneysel modelinde BALB/c farelerinin uygunluğu çalışmalar ile gösterilmiştir (303).

Bu projenin amacı immünitesi TNF- α inhibitörü etanersept etkisi altında olan farelerde *Bartonella* sp. enfeksiyonunun seyrinin doku düzeyinde reaksiyonunun araştırılmasıdır.

Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention, 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 (230). Regnery ve ark. *B. henselae* için indirekt immünfluoresans antikor tekniği (IFAT) geliştirmişler ve KTH olan hastaların %88'inde *B. henselae* antikor titrelerinin 1/64 olduğunu tespit etmişlerdir (228). Bu çalışmada Vero hücreleri ile kokültivasyon kullanılmıştır. Benzer şekilde HeLA hücreleri de kullanılabilir (220,231).

Bartonella türleri için IFA testinin duyarlılığı %84-88, özgüllüğü %94-96 olarak bildirilmiş, ELISA yönteminin ise IgM $\geq 1/250$ titreleri için duyarlılığının %83-95, özgüllüğünün %95'e ulaştığı belirtilmektedir (36). Bu nedenlerle projemizde enfeksiyon modelinin değerlendirilmesinde literatürle de uyumlu olarak IFA kullanılmıştır. Literatürle uyumlu olarak *Bartonella henselae* IgG antikor değerlendirilmesinde sınır değer 1/64 dilüsyon olarak belirlenmiştir. Çalışmada farklı dilüsyonların çalışılmamış olması nedeni ile dilüsyon ile enfeksiyon şiddeti ve diğer parametreler arasında değerlendirme yapılması mümkün olmamıştır.

IFA değerlendirmelerinde Grup 1'de tüm farelerde negatif, Grup 2 ve Grup 3'teki tüm farelerde 1/64 dilüsyonda *Bartonella henselae* IgG antikor pozitif bulundu. Antikor oluşumunun saptandığı IFA değerlendirmelerimizin sonuçları literatürle uyumlu olup, enfeksiyon modelinin geçerliliğini ortaya koymuştur. Antikor oluşumu için Karem ve ark. iki doz *Bartonella henselae* SC verilerek 90 günlük sürede antikor oluşumunu göstermişlerdir. Serolojik açıdan bakıldığında tek doz *B. henselae* verilen araştırmalarda antikorların 42. günde pik yaptığı, fakat 52 günden sonra seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (71). IgG antikor oluşumu bizim çalışmamızda iki doz ve 60 günlük deney sürecinde gösterilmiştir.

Çalışmamızda kültürlerde üreme açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur (Grafik 1; $p > 0,05$). Literatürdeki araştırmaların çoğunluğunda kültürde üreme sağlanamamıştır (29,141,229,303). Bunun nedenleri arasında intermittan bakteriyemi karakteri ve uzun süreli inkübasyon gerektirmesi sayılabilir

(29). Çalışmaların çoğunda in-vitro at kanlı agarda ortalama 2-3 haftada üremenin gerçekleştiği bildirilmiştir. En az 45 günlük bir inkübasyon süresi tamamlanmadan kültür negatif kabul edilmemesi gerektiğini bildiren görüşlerde mevcuttur (29). Çelebi'nin makalesinde de belirtildiği üzere bu kadar uzun süreli inkübasyonda kontaminasyondan kaçınılması çok zordur (22). Sunulan çalışmada, kültüre edilen 39 örnekten, 4 (%10)'ünde kontaminasyon saptanmış, bu veriler bakteri üremesindeki sayısal kümülatif değerlendirmelerden dışlanmıştır (Grafik 1). Çalışmamızda petri kontrollerindeki kontaminasyon nedeni olarak sonuçları etkileyebileceğini öngördüğümüzden, bir haftalık inkübasyon periyodundaki üreme sonuçları ile değerlendirme yapılmak durumunda kalındı.

Çalışmamızda deneklere *B. henselae* SC yolla verilmiştir. Bulgularda belirtildiği şekilde KC ve dalakta bakteri varlığı kültürle gösterilebilirken lenf nodlarından yapılan kültürlerde az sayıda üreme olması (2/6, %33,3; Grafik 1) literatürde de sıkça karşılaşılan sonuçlardandır.

B. henselae deneklere SC yolla verildiğinde intravenöz yola göre daha şiddetli lenf nodu reaksiyonuna neden olduğu bir çalışmada rapor edilmiştir (303). Yine aynı çalışmada bakterinin sonifikasyon veya ısı ile inaktive edilerek verilmesinin, canlı bakteriye göre lenf nodu reaksiyonunu intakt protein veya bakteriyel yapılar nedeniyle artırdığı gösterilmiştir (44). Bir başka çalışmada 10^6 cfu/ml enfeksiyon için yeterli görülmeyle beraber, 10^7 cfu/ml sayısında bakterinin deneklere verilmesi önerilmiştir (303). Bakterinin farelere sistemik (intravenöz ya da intraperitoneal) yolla verildiğinde birkaç gün ile bir hafta arasında lenf nodunda elimine olduğu bildirilmiştir. Subkutan yolla verildiğinde ise 20 güne kadar lenf nodunda saptandığı rapor edilmiştir (303). Uzun süreli lenfadenopatiye yol açmasının nedeni olarak yukarıdaki veriler ileri sürülmüştür. *B. henselae* ile enfekte C57BL/6 farelerde subkutan yolla verildiğinde lenf nodlarında hiçbir granülom yapısı gözlenmediği rapor edilmiştir (67). *B. henselae* ile farelerin subkutan enfeksiyonunda lenfadenopatiye sadece mononükleer hücrelerin artışıyla aynı zamanda hücresel bileşimin B hücresi popülasyonunun nispi bir artışının etkisi olduğunu göstermişlerdir (67). Guptil ve Regnath'ın yaptıkları iki ayrı çalışmada farelerde enfeksiyon modeli için *B. henselae*'nin subkutan yolla deneğe verilmesinin

uzun süreli bakteriyemiye ve lenf nodlarında daha güçlü bir reaksiyona neden olduğu gösterilmiştir (29,73). Bu nedenle çalışmamızda deneysel enfeksiyon modeli oluşturulmasında etkenin veriliş yolu olarak SC yol seçilmiştir. Çalışmamızdaki kültürlerde üreme azlığı literatürle uyumludur.

Literatürdeki deneysel araştırmaların çoğunluğunda, KTH ve *B. henselae* birlikteliğine yönelik lenf nodu taraması yapılmıştır (7, 29, 210, 304). Vermı ve ark. tarafından dendritik hücrelerin *B. henselae* ile enfeksiyonunun, KTH lenfadenopati patogeneğinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (7). KTH için karakteristik olan nötrofil ve B-hücreden zengin granülomların oluşumuna katkıda bulunan anti-inflamatuvar sitokinlere (IL-10 vb.) ve kemokinlere (CXCL13 vb.) bağlı reaksiyonlar gösterilmiştir (7). Histopatolojik olarak, *B. henselae* enfeksiyonunda karaciğer ve dalakta mikroapselerin olduğu farklı araştırmalar vardır (29,303,305-309). Granülomların bulunduğu lenf nodlarından alınan kültürlerde çok düşük bir izolasyon oranı Angelakis ve ark. tarafından rapor edilmiştir (210). Rolain ve ark. ise KTH olan hastaların lenf nodu biyopsilerinin histolojik incelemelerinde, bakteri görülmediğini ve nekrotizan lenfadenit varlığını bildirmişlerdir (304). Kedilere intraperitoneal yolla *B. henselae* verilen bir araştırmada ise, mezenterik lenf nodlarından antikor sekresyonunun hiçbir zaman olmadığı belirlenmiştir (29). Karem ve ark. çalışmalarında farelere intraperitoneal yolla *B. henselae* verildiğinde 6 saat sonra karaciğerde bakteriyi göstermişlerdir (71). Bu araştırmada mezenterik lenf nodlarında PCR ile bakterinin saptanmasını takiben, dokuda fagositoz ile ortamdan temizlendiği belirtilmiştir (71). Bu veriler lenf nodlarında hümorale ve hücresele immünitenin birlikte yer aldığını göstermektedir. Lenf nodlarındaki hümorale ve hücresele immünite birlikteliğinin, çalışmamızdaki lenf nodlarından yapılan kültürlerde bakterinin üretilmesine engel olduğu düşünülmektedir.

Literatür incelendiğinde, *Bartonella* türünün de yer aldığı kültürde üremesi zor olan bakterilerle veya invaziv kıymetli örneklerle yapılan çalışmalarda PCR kullanımının yaygın olduğu görülmektedir (169,179,181-183).

Kedilerle yapılan bir çalışmada, *B. henselae* enfeksiyonundan iki hafta sonra karaciğer parankiminde küçük bir nekroz ve sinüzoidlerde nötrofil artışı

gösterilmiştir. İntravenöz olarak enfeksiyon oluşturulan bu modelde, 4 hafta sonrasında kapsülde enfeksiyon ve küçük nekroz odakları mevcut olduğu bildirilmiştir. 8 haftanın sonunda karaciğerde granülatöz inflamasyon patolojik olarak iki denekte gösterilmiştir (29). Araştırmamızda *B. henselae* verilen ikinci grupta, serolojik yanıt oluşmasına rağmen, karaciğer dokusu düzeyinde iki denek dışında inflamatuvar sistemik yanıt oluşmadığı tespit edilmiştir. Regnath ve ark. sıçan ile gerçekleştirdikleri bir çalışmada *B. henselae* deneyinde sıçanda 4 haftada karaciğerde granülatöz yapı oluştuğunu bildirmişlerdir (73). Araştırmamızdan elde etmiş olduğumuz verilerin farklılığı, kullandığımız denek cinsinden ve bireysel sistemik immün yanıtının farklılığından kaynaklanabilir. Ayrıca kullandığımız farelerin aynı genetik soydan olmaması çalışmamızın bir diğer kısıtlılığıdır. Gerek Regnath (73) gerekse Guptil'in (29) çalışmalarında da kültürde üreme olmayan ve doku düzeyinde patolojik değişiklik göstermeyen denekler mevcut idi. Çalışmamızda Grup 2 ve Grup 3'te birer denekte nekroz varlığı ve Grup 2'deki diğer bir denekte ise pleomorfik hepatosit oluşumu aslında sürecin bazı deneklerde başladığını göstermekte, deney süresinin daha da uzatılması gerektiğini düşündürmektedir. Grup 3'te ise ETN'nin immünsüpresyon etkisi ile bakteriyel aşırı üreme "overgrowth" oluşarak patolojik değişikliklerin daha kısa sürede gerçekleştiği öne sürülebilir.

Literatürde seroloji negatif olan, dokuda ise histopatolojik değişim saptanan ve PCR ile bakıldığında bakteri varlığı gösterilen olgular mevcuttur (284,141,155,310). Bakterinin kandan izole edilemediği veya serolojisi negatif olan, fakat gerek boyama gerekse PCR yöntemi ile dokuda *B. henselae*'nin gösterildiği vakalar da bildirilmiştir (1,143,144,216,226). Ayrıca bakterinin immünomodülasyon stratejisi göz önüne alındığında bu bulgu olağan kabul edilmelidir (1,79). Çalışmamızda Grup 2 ve Grup 3'teki deneklerde IFA ile antikor varlığı gösterilmiştir (Şekil 2). Bakterinin varlığına dönük olarak gerek Warthin-Starry boyamasının teknik sorunlarla yapılamaması gerekse PCR kullanılmaması çalışmamızın kısıtlılıkları arasındadır.

Çalışmamızda Grup 3'te altı deneğin beş tanesinde (%83.3) mikrogranülom yapısının görülmesi, literatürdeki etanerseptin granülom formasyonuna etkileri ile uyumludur. Granülom yapısına olan etkilerinin diğer TNF- α blokerlerine göre daha

az olmasının nedenleri arasında, moleküler yapısı nedeni ile TNF'yi tamamen bloke edememesi, antikora bağlanmasının daha zayıf bir şekilde olması ve revers etkisinin olmaması sayılabilir. ETN'in Crohn hastalığı, Wegener granülamatozisi gibi granülamatöz hastalıklarda kullanımının olmaması da bu bulguyu destekleyen bir diğer sonuçtur (311,312).

Çalışmamızda gruplar arasında dalakta anlamlı bir histopatolojik değişim görülmemiştir. Literatür tarandığında Guptil ve ark. kediler üzerinde *B. henselae* ile yaptıkları bir enfeksiyon modeli çalışmasında bazı deneklerde histopatolojik olarak enfeksiyonun iki hafta sonra dalakta marjinal zon genişlemesi, 4. haftada dalakta mikroapse ve granülom oluşumu, 8. haftada dalakta granülom yapısı gözlenmesi olarak rapor etmişlerdir (29). Bazı deneklerde ise hiçbir değişim saptayamamışlardır.

Enfeksiyonun 4-8 haftasında periferik lenf nodlarının büyüdüğü, patolojik incelemede lenfoid hiperplazi olduğu bildirilmiştir. Sonuçlarımızda lenf nodlarında anlamlı bir patolojik değişim gözlenmemiştir. Literatürde histopatolojik incelemelerde granülom yapısı ve mikroapse varlığının gösterilmesi ise önemli kabul edilmektedir. Bununla birlikte sistemik enfeksiyonların erken döneminde lenf nodlarının granülamatöz reaksiyon göstermediği olgular rapor edilmiştir (129).

Dalak ve lenf nodunda histopatolojik açıdan *B. henselae* verilen grupta anlamlı bir değişikliğin olmaması kronik enfeksiyon bulgularının oluşumu için deney süresinin uzatılması yararlı olabilir. Guptil ve ark. yapmış olduğu çalışmada bazı deneklerde değişim görmemiş olmaları bu görüşü desteklemektedir (29).

Sonuç olarak etanersept etkisi altındaki akut *Bartonella hensela* ile enfekte farelerde enfeksiyon modelinin oluştuğu gösterildi. Etanersept verilen deneklerde histopatolojik olarak tespit edilen granülom oluşumunu artırdığı sonucuna ulaşıldı. Etanersept kullanacak hastalarda bartonelloz reaktivasyonunun ve ağır klinik tabloların oluşabileceği dikkate alınmalı ve bu konuda hasta değerlendirmelerinde duyarlı yaklaşılmalıdır.

SONUÇ

Çalışmamızın sonuçları aşağıda verilmiştir.

- 1- Etanersept etkisi altındaki akut *Bartonella hensela* ile enfekte farelerde kültür ve IFA pozitiflikleri ile enfeksiyon modelinin oluştuğu gösterildi.
- 2- Grup 1’de IFA negatif bulunmuş, Grup 2 ve Grup 3’teki tüm deneklerde anti-*Bartonella henselae* antikor pozitifliği IFA ile gösterilmiştir. Bu gruptaki deneklerde enfeksiyon modeli gerçekleştirmiştir.
- 3- Karaciğer dokusundan yapılan kültürlerde üreyen koloni sayıları açısından Grup 2 ve Grup 3 ile Grup 1 arasında anlamlı bir fark görüldü (Grafik 1; $p<0,05$).
- 4- Karaciğer dokusundan yapılan kültürlerde üreyen koloni sayıları açısından Grup 2 ile Grup 3 ile arasında anlamlı bir fark görülmedi (Grafik 1; $p>0,05$).
- 5- Dalak dokusundan yapılan kültürlerde Grup 2 ve Grup 3 arasında kültürde üreyen koloni sayıları açısından anlamlı bir fark bulunmadı (Grafik 1; $p>0,05$).
- 6- Lenf nodu dokusundan yapılan kültürlerde üreyen koloni sayıları açısından Grup 2 ve 3 arasında kültürde üreme açısından anlamlı bir fark bulunmadı (Grafik 1; $p>0,05$).
- 7- Dokuların makroskopik incelemesinde Grup 3’ten alınan bir örneğin deri yapısı üzerinde nodüler bir lezyon görüldü. Histopatolojik olarak viral papillom (Verrü) olarak değerlendirildi (Şekil 3). İstatistiki anlamlılık saptanmadı ($p>0,05$).
- 8-Deneklerden alınan örneklerin makroskopik incelemesinde Grup 3’ten alınan iki karaciğer örneği üzerinde kistik yapılar gözlemlendi (Şekil 4).
- 9- Karaciğer dokularının histopatolojik incelemesinde portal inflamasyon parametresinde Grup 1 ve Grup 3 arasında fark görüldü (Şekil 5,7; $p<0,05$).
- 10- Karaciğer dokularının histopatolojik incelemesinde interfaz hepatiti parametresinde Grup 3 ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulundu (Şekil 5-7; $p<0,05$).

11- Karaciğer dokularının histopatolojik incelemesinde konfluent nekroz parametresi hem Grup 2’de hem de Grup 3’de Grup 1’den yüksek bulundu (Şekil 5-7; $p<0,05$).

12- Karaciğer dokularının histopatolojik incelemesinde granülom varlığı açısından Grup 3 ile diğer gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark vardır (Şekil 5-7; $p<0,05$).

13- Karaciğer dokularının histopatolojik incelemesinde modifiye HAI skoru hem Grup 2’de hem de Grup 3’te Grup 1’den yüksek bulundu (Şekil 5-7; $p<0,05$).

14- Dalak örneklerinin histopatolojik incelemesinde sadece ekstramedüller hematopoezde hem Grup 2’de hem de Grup 3’te Grup 1’e göre artış saptanmıştır (Şekil 8-10; $p<0,05$).

15- Dalak örneklerinin histopatolojik incelemesinde sadece ekstramedüller hematopoez açısından Grup 3’teki artış, Grup 2’deki artışa göre istatistiki anlamlı olarak fazladır (Şekil 9-10; $p<0,05$).

16- Lenf nodu dokusundan yapılan incelemelerde Grup 2 ve Grup 3’te nonspesifik histopatolojik değişimler görülmüştür (Şekil 11-13)

17- Lenf nodu örnekleri arasında histopatolojik incelemede kullanılan parametrelere göre farklılık saptanmamıştır (Şekil 11-13; $p>0,05$).

18- Etanersept insanda haftada iki doz olarak kullanılması nedeniyle deneyde kullanımının dozlaması ileri çalışmalarda göz önüne alınmalıdır.

19- İleride yapılacak çalışmalarda etanerseptin yanısıra immünoşüpresyon yapan infliksimab vb bir başka TNF- α blokerleri, sitokin inhibitörlerinin de çalışılması önerilir.

20- *Bartonella* türleri ile ilgili ileri çalışmalarda kültür negatif deneklerde PCR ile moleküler onaylamanın kullanımı önerilir.

21- Deneysel fare enfeksiyon model çalışmalarında denekler aynı genetik soydan ve aynı yaşta alınmalıdır.

22-Etanersept verilen deneklerde histopatolojik olarak tespit edilen granülom oluşumunu artırdığı sonucuna ulaşıldı.

23- Etanersept kullanacak hastalarda bartonelloz reaktivasyonunun ve ağır klinik tabloların oluşabileceği dikkate alınmalı ve bu konuda hasta değerlendirmelerinde duyarlı yaklaşılmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1.Okaro U, Addisu A, Casana B, Anderson BB. *Bartonella* species, an emerging cause of blood-culture-negative endocarditis. Clin Microbiol Rev. 2017;30:709–46.
- 2.Anderson BE, Neuman MA. *Bartonella* spp. as emerging human pathogens. Clin Microbiol Rev. 1997;10:203–19.
- 3.Shim H. One target, different effects: a comparison of distinct therapeutic antibodies against the same targets. Exp Mol Med. 2011;43:539–49.
- 4.Nordgaard-Lassen I, Dahlerup JF, Tjellesen L. Guidelines for screening, prophylaxis and critical information prior to initiating anti-TNF-alpha treatment. Dan Med J. 2012;59:C4480.
- 5.Male D BJ, Roth DB, Roitt I. Immunology. Ankara: Palme Yayıncılık. 2008;485–7.
- 6.John H, Buckley C, Koh L, Obrenovic K, Erb N, Rowe I. Regional survey of tuberculosis risk assessment in rheumatology outpatients commencing anti-TNF- α treatment in relation to British Thoracic Society guidelines. Clin Med. 2009;9:225–30.
7. Cessak G, Kuzawińska O, Burda A, Lis K, Wojnar M, Mirowska-Guzel D. TNF inhibitors mechanisms of action, approved and off-label indications. Pharmacol Rep. 2014;66:836–44.
- 8.Slater LN, Welch DF, Min KW. *Rochalimaea henselae* causes bacillary angiomatosis and peliosis hepatis. Archiv Int Med. 1992;152:602–6.
- 9.Brenner DJ, O'Connor SP, Winkler HH, Steigerwalt AG. 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. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 1993;43:777–86.
- 10.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 Evol Microbiol. 1995;45:1–8.
- 11.Relman DA, Lepp PW, Sadler KN, Schmidt TM. Phylogenetic relationships among the agent of bacillary angiomatosis, *Bartonella bacilliformis*, and other alpha Proteobacteria. Mol Microbiol. 1992;6:1801–7.

12. Ristic R, Kreier J. Family II. Bartonellaceae. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer. 1984;1:717–9.
13. Aydın N. *Bartonella* türleri. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2008;3:2266–73.
14. Engel P, Salzburger W, Liesch M, Chang CC, Maruyama S, Lanz C, et al. Parallel evolution of a type IV secretion system in radiating lineages of the host-restricted bacterial pathogen *Bartonella*. PLoS Genet. 2011;7:e1001296.
15. Harms A, Dehio C. Intruders below the radar: molecular pathogenesis of *Bartonella* spp. Clin Microbiol Rev. 2012;25:42–78.
16. Dehio C. *Bartonella*-host-cell interactions and vascular tumour formation. Nat Rev Microbiol. 2005;3:621–631.
17. Chomel BB, Kasten RW. Bartonellosis, an increasingly recognized zoonosis. J Appl Microbiol. 2010;109:743–50.
18. Hertig MP. Phlebotomus and Carrion's disease. Am J Trop Med. 1942;22(Suppl):1–80.
19. Bouchouicha R, Durand B, Monteil M, Chomel BB, Berrich M, Arvand M, et al. Molecular epidemiology of feline and human *Bartonella henselae* isolates. Emerg Infect Dis. 2009;15:813–16.
20. Tsai YL, Chang CC, Chuang ST, Chomel BB. *Bartonella* species and their ectoparasites: selective host adaptation or strain selection between the vector and the mammalian host? Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2011;34:299–314.
21. Cevitanes A, Altet L, Chirife AD, Proboste T, Millán J. Drivers of *Bartonella* infection in micromammals and their fleas in a Mediterranean peri-urban area. Vet Microbiol. 2017;203:181–8.
22. Çelebi B. *Bartonella henselae* ve enfeksiyonları. Mikrobiyol Bul. 2008;42:163–75.
23. Nelson CA, Moore AR, Perea AE, Mead PS. Cat scratch disease: U.S. clinicians' experience and knowledge. Zoonoses Public Health. 2018;65:67–73.
24. Numazaki K. Prevalence of *Bartonella* infection among patients with fever. Afr J Biotechnol. 2003;2:390–1.
25. McGill S, Wesslén L, Hjelm E, Holmberg M, Auvinen MK, Berggren K, et al. *Bartonella* spp. seroprevalence in healthy Swedish blood donors. Scand J Infect Dis. 2005;37:723–30.

26. Loutit JS. *Bartonella* infections: diverse and elusive. *Hosp Pract*. 1998;33:37–49.
27. Sander A, Posselt M, Böhm N, Ruess M, Altwegg M. Detection of *Bartonella henselae* DNA by two different PCR assays and determination of the genotypes of strains involved in histologically defined cat scratch disease. *J Clin Microbiol*. 1999;37:993–7.
28. Hamilton DH, Zangwill KM, Hadler JL, Cartter ML. Cat-scratch disease--Connecticut, 1992–1993. *J Infect Dis*. 1995;172:570–3.
29. Guptil L, Slater L, Wu CC, Lin TL, Glickman LT, Welch DF, et al. Experimental infection of young specific pathogen-free cats with *Bartonella henselae*. *J Infect Dis*. 1991;176:206–16.
30. Kosoy MY, Saito EK, Green D, Marston EL, Jones DC, Childs JE. Experimental evidence of host specificity of *Bartonella* infection in rodents. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2000;23:221–38.
31. Schulein R, Seubert A, Gille C, Lanz C, Hansmann Y, Piémont Y, et al. Invasion and persistent intracellular colonization of erythrocytes. A unique parasitic strategy of the emerging pathogen *Bartonella*. *J Exp Med*. 2001;193:1077–86.
32. Chomel BB, Henn JB, Kasten RW, Nieto NC, Foley J, Papageorgiou S, et al. Dogs are more permissive than cats or guinea pigs to experimental infection with a human isolate of *Bartonella rochalimae*. *Vet Res*. 2009;40:27.
33. Infante B, Villar S, Palma S, Merello J, Valencia R, Torres L, et al. BALB/c Mice resist infection with *Bartonella bacilliformis*. *BMC Res*. 2008;Notes. 1:103.
34. Kabeya H, Tsunoda E, Maruyama S, Mikami T. Immune responses of immunocompetent and immunocompromised mice experimentally infected with *Bartonella henselae*. *J Vet Med Sci*. 2003;65:479–84.
35. Zahringer U, Lindner B, Knirel YA, van den Akker WM, Hiestand R, Heine H, et al. Structure and biological activity of the short-chain lipopolysaccharide from *Bartonella henselae* ATCC 49882T. *J Biol Chem*. 2004;279:21046–54.
36. Popa C, Abdollahi-Roodsaz S, Joosten LAB, Takahashi N, Sprong T, Matera G, et al. *Bartonella quintana* lipopolysaccharide is a natural antagonist of Toll-like receptor 4. *Infect Immun*. 2007;75:4831–7.

37. Matera G, Liberto MC, Quirino A, Barreca GS, Lamberti AG, Iannone M, et al. *Bartonella quintana* lipopolysaccharide effects on leukocytes, CXC chemokines and apoptosis: a study on the human whole blood and a rat model. *Int Immunopharmacol.* 2003;3:853–64.
38. Kordick DL, Brown TT, Shin K, Breitschwerdt EB. Clinical and pathologic evaluation of chronic *Bartonella henselae* or *Bartonella clarridgeiae* infection in cats. *J Clin Microbiol.* 1999;37:1536–47.
39. Kyme PA, Haas A, Schaller M, Peschel A, Iredell J, Kempf VA. Unusual trafficking pattern of *Bartonella henselae* -containing vacuoles in macrophages and endothelial cells. *Cell Microbiol.* 2005;7:1019–34.
40. 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;110:2141–54.
41. Salvatore P, Casamassimi A, Sommese L, Fiorito C, Ciccodicola A, Rossiello R, et al. Detrimental effects of *Bartonella henselae* are counteracted by L-arginine and nitric oxide in human endothelial progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:9427–32.
42. Batterman HJ, Peek JA, Loutit JS, Falkow S, Tompkins LS. *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* adherence to and entry into cultured human epithelial cells. *Infect Immun.* 1995;63:4553–6.
43. Mändle T, Einsele H, Schaller M, Neumann D, Vogel W, Autenrieth IB, et al. Infection of human CD34 progenitor cells with *Bartonella henselae* results in intraerythrocytic presence of *B. henselae*. *Blood.* 2005;106:1215–22.
44. Musso T, Badolato R, Ravarino D, Stornello S, Panzanelli P, Merlino C, et al. Interaction of *Bartonella henselae* with the murine macrophage cell line J774: infection and proinflammatory response. *Infect Immun.* 2001;69:5974–80.
45. Munana KR, Vitek SM, Hegarty BC, Kordick DL, Breitschwerdt EB. Infection of fetal feline brain cells in culture with *Bartonella henselae*. *Infect Immun.* 2001;69:564–9.

46. Billeter SA, Diniz PP, Battisti JM, Munderloh UG, Breitschwerdt EB, Levy MG. Infection and replication of *Bartonella* species within a tick cell line. *Exp Appl Acarol.* 2009;49:193–208.
47. Riess T, Andersson SG, Lupas A, Schaller M, Schafer A, Kyme P, et al. *Bartonella* adhesin a mediates a proangiogenic host cell response. *J Exp Med.* 2004;200:1267–78.
48. Schmid MC, Schulein R, Dehio M, Denecker G, Carena I, Dehio C. The VirB type IV secretion system of *Bartonella henselae* mediates invasion, proinflammatory activation and antiapoptotic protection of endothelial cells. *Mol. Microbiol.* 2004;52:81–92.
49. Scheidegger F, Ellner Y, Guye P, Rhomberg TA, Weber H, Augustin HG, et al. Distinct activities of *Bartonella henselae* type IV secretion effector proteins modulate capillary-like sprout formation. *Cell Microbiol.* 2009;11:1088–101.
50. Dehio C. Recent progress in understanding *Bartonella*-induced vascular proliferation. *Curr Opin Microbiol.* 2003;6:61–5.
51. Dehio C. *Bartonella* interactions with endothelial cells and erythrocytes. *Trends Microbiol.* 2001;9:279–85.
52. Kempf VA, Lebedziejewski M, Alitalo K, Walzlein JH, Eehalt U, Fiebig J, et al. Activation of hypoxia-inducible factor-1 in bacillary angiomatosis: evidence for a role of hypoxia-inducible factor-1 in bacterial infections. *Circulation.* 2005;111:1054–62.
53. Lu YY, Franz B, Truttmann MC, Riess T, Gay-Fraret J, Faustmann M, et al. *Bartonella henselae* trimeric autotransporter adhesin BadA expression interferes with effector translocation by the VirB/D4 type IV secretion system. *Cell Microbiol.* 2013;15:759–78.
54. Resto-Ruiz SI, Schmiederer M, Sweger D, Newton C, Klein TW, Friedman H, et al. Induction of a potential paracrine angiogenic loop between human THP-1 macrophages and human microvascular endothelial cells during *Bartonella henselae* infection. *Infect Immun.* 2002;70:4564–70.
55. McCord AM, Cuevas J, Anderson BE. *Bartonella*-induced endothelial cell proliferation is mediated by release of calcium from intracellular stores. *DNA Cell Biol.* 2007;26:657–63.

56. McCord AM, Resto-Ruiz SI, Anderson BE. Autocrine role for interleukin-8 in *Bartonella henselae*-induced angiogenesis. *Infect Immun*. 2006;74:5185–90.
57. Kordick DL, Breitschwerdt EB. Intraerythrocytic presence of *Bartonella henselae*. *J. Clin. Microbiol*. 1995;33:1655–6.
58. Rolain JM, La Scola B, Liang Z, Davoust B, Raoult D. Immunofluorescent detection of intraerythrocytic *Bartonella henselae* in naturally infected cats. *J Clin Microbiol*. 2001;39:2978–80.
59. Rolain JM, Foucault C, Guieu R, La Scola B, Brouqui P, Raoult D. *Bartonella quintana* in human erythrocytes. *Lancet*. 2002;360:226–8.
60. Chomel BB, Carlos ET, Kasten RW, Yamamoto K, Chang CC, Carlos RS, et al. *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* infection in domestic cats from The Philippines. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;60:593–7.
61. Merrell DS, Falkow S. Frontal and stealth attack strategies in microbial pathogenesis. *Nature*. 2004;430:250–6.
62. Finlay BB, McFadden G. Anti-immunology: evasion of the host immune system by bacterial and viral pathogens. *Cell*. 2006;124:767–82.
63. Couper KN, Blount DG, Riley EM. IL-10: the master regulator of immunity to infection. *J Immunol*. 2008;180:5771–7.
64. Marignac G, Barrat F, Chomel B, Vayssier-Taussat M, Gando C, Bouillin C, et al. Murine model for *Bartonella birtlesii* infection: new aspects. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2010;33:95–107.
65. Kabeya H, Yamasaki A, Ikariya M, Negishi R, Chomel BB, Maruyama S. Characterization of Th1 activation by *Bartonella henselae* stimulation in BALB/c mice: Inhibitory activities of interleukin-10 for the production of interferon-gamma in spleen cells. *Vet Microbiol*. 2007;119:290–6.
66. Papadopoulos NG, Gourgiotis D, Bossios A, Fretzayas A, Moustaki M, Karpathios T. Circulating cytokines in patients with cat scratch disease. *Clin Infect Dis*. 2001;33:e54–6.
67. Vermi W, Facchetti F, Riboldi E, Heine H, Scutera S, Stornello S, et al. Role of dendritic cell-derived CXCL13 in the pathogenesis of *Bartonella henselae* B-rich granuloma. *Blood*. 2006;107:454–62.
68. Koesling J, Aebischer T, Falch C, Schulein R, Dehio C. Antibody-mediated cessation of hemotropic infection by the intraerythrocytic mouse pathogen *Bartonella grahamii*. *J Immunol*. 2001;167:11–4.

69. O'Reilly KL, Parr KA, Brown TP, Tedder-Ferguson B, Scholl DT. Passive antibody to *Bartonella henselae* protects against clinical disease following homologous challenge but does not prevent bacteremia in cats. *Infect Immun*. 2001;69:1880–2.
70. Kabeya H, Sase M, Yamashita M, Maruyama S. Predominant T helper 2 immune responses against *Bartonella henselae* in naturally infected cats. *Microbiol Immunol*. 2006;50:171–8.
71. Karem KL, Dubois KA, McGill SL, Regnery RL. Characterization of *Bartonella henselae*-specific immunity in BALB/c mice. *Immunology*. 1999;97:352–8.
72. Karem KL. Immune aspects of *Bartonella*. *Crit Rev Microbiol*. 2000;26:133–45.
73. Arvand M, Ignatius R, Regnath T, Hahn H, Mielke ME. *Bartonella henselae*-specific cell-mediated immune responses display a predominantly Th1 phenotype in experimentally infected C57BL/6 mice. *Infect Immun*. 2001;69:6427–33.
74. Greene CE, McDermott M, Jameson PH, Atkins CL, Marks AM. *Bartonella henselae* infection in cats: evaluation during primary infection, treatment, and rechallenge infection. *J Clin Microbiol*. 1996;34:1682–5.
75. Yamamoto K, Chomel BB, Kasten RW, Hew CM, Weber DK, Lee WI, et al. Infection and re-infection of domestic cats with various *Bartonella* species or types: *B. henselae* type I is protective against heterologous challenge with *B. henselae* type II. *Vet Microbiol*. 2003;92:73–86.
76. Yamamoto K1, Chomel BB, Kasten RW, Chang CC, Tseggai T, Decker PR, et al. Homologous protection but lack of heterologous-protection by various species and types of *Bartonella* in specific pathogen-free cats. *Vet Immunol Immunopathol*. 1998;65: 191–204.
77. Kempf VA, Volkmann B, Schaller M, Sander CA, Alitalo K, Riess T, et al. Evidence of a leading role for VEGF in *Bartonella henselae*-induced endothelial cell proliferations. *Cell Microbiol* 2001;3:623–32.
78. Depluvere S, Devos S, Devreese B. The role of bacterial secretion systems in the virulence of Gram-negative airway pathogens associated with cystic fibrosis. *Front Microbiol*. 2016;7:1336.
79. Minnick MF, Battisti JM. Pestilence, persistence and pathogenicity: infection strategies of *Bartonella*. *Future Microbiol*. 2009;4:743–58.
80. Zhang P, Chomel BB, Schau MK, Goo JS, Droz S, Kelminson KL, et al. A family of variably expressed outer membrane proteins (Vomp) mediates adhesion and autoaggregation in *Bartonella quintana*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:13630–5.

81. Gilmore RD, Jr, Bellville TM, Sviat SL, Frace M. The *Bartonella vinsonii* subsp. *arupensis* immunodominant surface antigen *BrpA* gene, encoding a 382-kilodalton protein composed of repetitive sequences, is a member of a multigene family conserved among *Bartonella* species. *Infect Immun.* 2005;73:3128–36.
82. Kaiser PO, Riess T, Wagner CL, Linke D, Lupas AN, Schwarz H, et al. The head of *Bartonella* adhesin A is crucial for host cell interaction of *Bartonella henselae*. *Cell Microbiol.* 2008;10:2223–34.
83. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature.* 2000;407:242–8.
84. Dabo SM, Confer AW, Saliki JT, Anderson BE. Binding of *Bartonella henselae* to extracellular molecules: identification of potential adhesins. *Microb Pathog.* 2006;41:10–20.
85. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science.* 1989;246:1306–9.
86. Müller NF, Kaiser PO, Linke D, Schwarz H, Riess T, Schäfer A, et al. Trimeric autotransporter adhesin-dependent adherence of *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana* and *Yersinia enterocolitica* to matrix components and endothelial cells under static and dynamic flow conditions. *Infect Immun.* 2011;79:2544–53.
87. Dehio C. Infection-associated type IV secretion systems of *Bartonella* and their diverse roles in host cell interaction. *Cell Microbiol.* 2008;10:1591–8.
88. Scheidegger F, Quebatte M, Mistl C, Dehio C. The *Bartonella henselae* VirB/Bep system interferes with vascular endothelial growth factor (VEGF) signalling in human vascular endothelial cells. *Cell Microbiol.* 2011;13:419–31.
89. Riess T, Raddatz G, Linke D, Schafer A, Kempf VA. Analysis of *Bartonella* adhesin A expression reveals differences between various *B. henselae* strains. *Infect Immun.* 2007;75:35–43.
90. Rodriguez-Barradas MC, Bandres JC, Hamill RJ, Trial J, Clarridge JE, Baughn RE, et al. In vitro evaluation of the role of humoral immunity against *Bartonella henselae*. *Infect Immun.* 1995;63: 2367–70.
91. Galdiero M, de l'Ero GC, Marcatili A. Cytokine and adhesion molecule expression in human monocytes and endothelial cells stimulated with bacterial heat shock proteins. *Infect Immun.* 1997;65:699–707.

92. Sasu S, LaVerda D, Qureshi N, Golenbock DT, Beasley D. *Chlamydia pneumoniae* and chlamydial heat shock protein 60 stimulate proliferation of human vascular smooth muscle cells via toll-like receptor 4 and p44/p42 mitogen-activated protein kinase activation. *Circ Res.* 2001;89:244–50.
93. Vayssier-Taussat M, Le Rhun D, Deng HK, Biville F, Cescau S, Danchin A, et al. The Trw type IV secretion system of *Bartonella* mediates host-specific adhesion to erythrocytes. *PLoS Pathog.* 2010;6:e1000946.
94. O'Rourke F, Schmidgen T, Kaiser PO, Linke D, Kempf VA. Adhesins of *Bartonella* spp. *Adv Exp Med Biol.* 2011;715:51–70.
95. Derrick SC, Ihler GM. Deformin, a substance found in *Bartonella bacilliformis* culture supernatants, is a small, hydrophobic molecule with an affinity for albumin. *Blood Cells Mol Dis.* 2001;27:1013–9.
96. Iwaki-Egawa S, Ihler GM. Comparison of the abilities of proteins from *Bartonella bacilliformis* and *Bartonella henselae* to deform red cell membranes and to bind to red cell ghost proteins. *FEMS Microbiol Lett.* 1997;157:207–17.
97. Saenz HL, Engel P, Stoeckli MC, Lanz C, Raddatz G, Vayssier-Taussat M, et al. Genomic analysis of *Bartonella* identifies type IV secretion systems as host adaptability factors. *Nat Genet.* 2007;39:1469–76.
98. Litwin CM, Johnson JM. Identification, cloning, and expression of the CAMP-like factor autotransporter gene (*cfa*) of *Bartonella henselae*. *Infect Immun.* 2005;73:4205–13.
99. Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, Cross MJ. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell Signal.* 2007;19:2003–12.
100. Chenoweth MR, Greene CE, Krause DC, Gherardini FC. Predominant outer membrane antigens of *Bartonella henselae*. *Infect Immun.* 2004;72:3097–105.
101. Minnick MF. Identification of outer membrane proteins of *Bartonella bacilliformis*. *Infect Immun.* 1994;62:2644–8.
102. Dehio C, Lanz C, Pohl R, Behrens P, Bermond D, Piémont Y, et al. *Bartonella schoenbuchii* sp. nov., isolated from the blood of wild roe deer. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001;51:1557–65.
103. Walker TS, Winkler HH. *Bartonella bacilliformis*: colonial types and erythrocyte adherence. *Infect Immun.* 1981;31:480–6.
104. Kyme P, Dillon B, Iredell J. Phase variation in *Bartonella henselae*. *Microbiology.* 2003;149:621–9.

105. Carroll JA, Coleman SA, Smitherman LS, Minnick MF. Hemin binding surface protein from *Bartonella quintana*. *Infect Immun*. 2000;68:6750–7.
106. Dabo SM, Confer AW, Anderson BE, Gupta S. *Bartonella henselae* Pap31, an extracellular matrix adhesin, binds the fibronectin repeat III13 module. *Infect Immun*. 2006;74:2513–21.
107. Battisti JM, Sappington KN, Smitherman LS, Parrow NL, Minnick MF. Environmental signals generate a differential and coordinated expression of the heme receptor gene family of *Bartonella quintana*. *Infect Immun*. 2006;74:3251–61.
108. Battisti JM, Smitherman LS, Sappington KN, Parrow NL, Raghavan R, Minnick MF. Transcriptional regulation of the heme binding protein gene family of *Bartonella quintana* is accomplished by a novel promoter element and iron response regulator. *Infect Immun*. 2007;75:4373–85.
109. Quebatte M, Dehio M, Tropel D, Basler A, Toller I, Raddatz G, et al. The BatR/BatS two-component regulatory system controls the adaptive response of *Bartonella henselae* during human endothelial cell infection. *J Bacteriol*. 2010;192:3352–67.
110. Chenoweth MR, Greene CE, Krause DC, Gherardini FC. Predominant outer membrane antigens of *Bartonella henselae*. *Infect Immun*. 2004;72:3097–105.
111. Lin EY, Tsigrelis C, Baddour LM, Lepidi H, Rolain JM, Patel R, et al. Candidatus *Bartonella mayotimonensis* and endocarditis. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:500–3.
112. Billeter S, Levy M, Chomel BB, Breitschwerdt E. Vector transmission of *Bartonella* species with emphasis on the potential for tick transmission. *Med Vet Entomol*. 2008;22:1–15.
113. Brouqui P, Raoult D. *Bartonella quintana* invades and multiplies within endothelial cells in vitro and in vivo and forms intracellular blebs. *Res Microbiol*. 1996;147:719–31.
114. Resto-Ruiz S, Burgess A, Anderson BE. The role of the host immune response in pathogenesis of *Bartonella henselae*. *DNA and cell biology*. 2003;22:431–40.
115. Guptill L. Bartonellosis. *Vet Microbiol*. 2010;140:347–59.

116. Jerris RC, Regnery RL. Will the real agent of cat-scratch disease please stand up? *Annu Rev Microbiol.* 1996;50:707–25.
117. Lamas C, Curi A, Bóia M, Lemos E. Human bartonellosis: seroepidemiological and clinical features with an emphasis on data from Brazil—a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008;103:221–35.
118. Brenner DJ, Hollis DG, Moss CW, English CK, Hall GS, Vincent J, et al. Proposal of *Afipia* gen. nov., with *Afipia felis* sp. nov. (formerly the cat scratch disease bacillus), *Afipia clevelandensis* sp. nov. (formerly the Cleveland Clinic Foundation strain), *Afipia broomeae* sp. nov., and three unnamed genospecies. *J Clin Microbiol.* 1991;29:2450–60.
119. Regnery RL, Anderson BE, Clarridge JE, Rodriguez-Barradas M, Jones DC, Carr JH. Characterization of a novel *Rochalimaea* species, *R. henselae* sp. nov., isolated from blood of a febrile, human immunodeficiency virus-positive patient. *J Clin Microbiol.* 1992;30:265–74.
120. Minnick MF, Anderson B. *Bartonella*, In Tang Y-W, Liu D, Poxton I, Schwartzman J, Sussman M, Williams H, Versteeg-Buschman L (ed), *Molecular medical microbiology*, 2nd ed. Elsevier, New York, NY, 2015:1911–39
121. Kordick DL, Hilyard EJ, Hadfield 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;35:1813–8.
122. Massei F, Gori L, Macchia P, Maggiore G. The expanded spectrum of Bartonellosis in children. *Infect Dis Clin North Am.* 2005;19:691–711.
123. 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.
124. Jacomo V, Kelly P, Raoult D. Natural history of *Bartonella* infections (an exception to Koch's postulate). *Clinical and diagnostic laboratory immunology.* 2002;9:8–18.
125. Breitschwerdt EB, Kordick DL. *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:428–38.
126. 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.

127. Klotz SA, Lanas V, Elliott SP. Cat-scratch Disease. *Am Fam Physician*. 2011;83:152–5.
128. Galindo-Bocero J, Sánchez-García S, Álvarez-Coronado M, Rozas-Reyes P. Parinaud's oculoglandular syndrome: A case report. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2017;92:37–9.
129. Bass JW, Vincent JM, Person DA. The expanding spectrum of *Bartonella* infections: II. Cat-scratch disease. *Ped Infect Dis J*. 1997;16:163–79.
130. Rolain JM, Brouqui P, Koehler JE, Maguina C, Dolan MJ, Raoult D. Recommendations for treatment of human infections caused by *Bartonella* species. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:1921–33.
131. Marullo S, Jaccard A, Roulot D, Mainquene C, Clauvel JP. Identification of the *Rochalimaea henselae* 16 S rRNA sequence in the liver of a French patient with bacillary peliosis hepatitis. *J Infect Dis*. 1992;166:1462.
132. 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;30:275–80.
133. Perkocha LA, Geaghan SM, Yen TS, Nishimura SL, Chan SP, Garcia-Kennedy R, et al. Clinical and pathological features of bacillary peliosis hepatitis in association with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1990;323:1581–6.
134. Spach DH, Koehler JE. 1998. *Bartonella*-associated infections. *Infect Dis Clin North Am*. 12:137–155.
135. 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 Eng J Med*. 1997;337:1876–83.
136. LeBoit PE, Berger TG, Egbert BM, Beckstead JH, Yen TS, Stoler MH. Bacillary angiomatosis: the histopathology and differential diagnosis of a pseudoneoplastic infection in patients with human immunodeficiency virus disease. *Am J Surg Pathol*. 1989;13:909–20.
137. Florin TA, Zaoutis TE, Zaoutis LB. Beyond cat scratch disease: widening spectrum of *Bartonella henselae* infection. *Pediatrics*. 2008;121:e1413–25.
138. LeBoit PE, Berger TG, Egbert BM, Beckstead JH, Yen TS, Stoler MH. Epithelioid haemangioma-like vascular proliferation in AIDS: manifestation of cat-scratch disease bacillus infection? *Lancet*. 1988;1:960–3.
139. 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;327:1625–31.

140. Koehler JE, Tappero JW. Bacillary angiomatosis and bacillary peliosis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 1993;17:612–24.
141. 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 infectious diseases*. 2007;7:30.
142. Spach DH, Callis KP, Paauw DS, Houze YB, Schoenknecht FD, Welch DF, et al. Endocarditis caused by *Rochalimaea quintana* in a patient infected with human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol*. 1993;31:692–4.
143. Raoult D, Fournier PE, Vandenesch F, Mainardi JL, Eykyn SJ, Nash J, et al. Outcome and treatment of *Bartonella* endocarditis. *Arch Intern Med*. 2003;163:226–30.
144. Fournier PE, Lelievre H, Eykyn SJ, Mainardi JL, Marrie TJ, Bruneel F, et al. Epidemiologic and clinical characteristics of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae* endocarditis: a study of 48 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2001;80:245–51.
145. Seubert A, Schulein R, Dehio C. 2002. Bacterial persistence within erythrocytes: a unique pathogenic strategy of *Bartonella* spp. *Int J Med Microbiol*. 291:555–60.
146. Jeanclaude D, Godmer P, Leveiller D, Pouedras P, Fournier PE, Raoult D, et al. *Bartonella alsatica* endocarditis in a French patient in close contact with rabbits. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15(Suppl. 2):110–1.
147. Raoult D, Roblot F, Rolain JM, Besnier JM, Loulergue J, Bastides F, et al. First isolation of *Bartonella alsatica* from a valve of a patient with endocarditis. *J Clin Microbiol*. 2006;44:278–9.
148. 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;31:872–81.
149. Raoult D, Fournier PE, Drancourt M, Marrie TJ, Etienne J, Cosserat J, et al. Diagnosis of 22 new cases of *Bartonella* endocarditis. *Ann Intern Med*. 1996;125:646–52.
150. 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;347:441–3.

151. Avidor B, Graidy M, Efrat G, Leibowitz C, Shapira G, Schattner A, et al. *Bartonella koehlerae*, a new cat-associated agent of culture-negative human endocarditis. *J Clin Microbiol.* 2004;42:3462–8.
152. 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;38:1698–700.
153. Olarte L, Ampofo K, Thorell EA, Sanderson S, Doby E, Pavia AT, et al. *Bartonella vinsonii* endocarditis in an adolescent with congenital heart disease. *Ped Infect Dis J.* 2012;31:531–4.
154. Fenollar F, Sire S, Raoult D. *Bartonella vinsonii* subsp *arupensis* as an agent of blood culture-negative endocarditis in a human. *J Clin Microbiol.* 2005;43:945–7.
155. Meininger GR, Nadasdy T, Hruban RH, Bollinger RC, Baughman KL, Hare JM. Chronic active myocarditis following acute *Bartonella henselae* infection (cat scratch disease). *Am J Surg Pathol.* 2001;25:1211–4.
156. Pipili C, Katsogridakis K, Cholongitas E. Myocarditis due to *Bartonella henselae*. *South Med J.* 2008;101:1186.
157. Moncriol A, Benard F, Fenollar F, Ribeiri A, Bonnet M, Collart F, et al. Fatal myocarditis-associated *Bartonella quintana* endocarditis: a case report. *J Med Case Rep.* 2009;3:7325.
158. Shah SS, McGowan JP. Rickettsial, Ehrlichial and *Bartonella* infections of the myocardium and pericardium. *Front Biosci.* 2003;8:e197–201.
159. Levy PY, Fournier PE, Carta M, Raoult D. Pericardial effusion in a homeless man due to *Bartonella quintana*. *J Clin Microbiol.* 2003;41:5291–3.
160. Takeda N, Ishiwada N, Fukasawa C, Furuya Y, Tsuneoka H, Tsukahara M, et al. Pediatric pneumonia, pleural effusion, and pericarditis following cat scratch disease and serological crossreactions among *Bartonella henselae* and *Rickettsia japonica* determined by indirect fluorescence antibodies. *Kansenshogaku Zasshi.* 2007;81:206–9.
161. Edouard S, Nabet C, Lepidi H, Fournier PE, Raoult D. *Bartonella*, a common cause of endocarditis: a report on 106 cases and review. *J Clin Microbiol.* 2015;53:824–9.
162. Houpiikian P, Raoult D. Blood culture-negative endocarditis in a reference center: etiologic diagnosis of 348 cases. *Medicine (Baltimore).* 2005;84:162–73.

163. Jacobs RF, Schutze GE. *Bartonella henselae* as a cause of prolonged fever and fever of unknown origin in children. Clin Infect Dis. 1998;26:80–4.
164. Tsukahara M, Tsuneoka H, Iino H, Murano I, Takahashi H, Uchida M. *Bartonella henselae* infection as a cause of fever of unknown origin. J Clin Microbiol. 2000;38:1990–1.
165. Tsukahara M, Tsuneoka H, Tateishi H, Fujita K, Uchida M. *Bartonella* infection associated with systemic juvenile rheumatoid arthritis. Clin Infect Dis. 2001;32:E22–3.
166. Al-Matar MJ, Petty RE, Cabral DA, Tucker LB, Peyvandi B, Prendiville J, et al. Rheumatic manifestations of *Bartonella* infection in 2 children. J Rheumatol. 2002;29:184–6.
167. Robinson JL, Spady DW, Prasad E, McColl D, Artsob H. *Bartonella* seropositivity in children with Henoch-Schonlein purpura. BMC Infect Dis. 2005;5:21.
168. Van Audenhove A, Verhoef G, Peetermans WE, Boogaerts M, Vandenberghe P. 2001. Autoimmune haemolytic anaemia triggered by *Bartonella henselae* infection: a case report. Br J Haematol. 115:924–5.
169. Kerkhoff FT, Rothova A. *Bartonella henselae* associated uveitis and HLA-B27. Br J Ophthalmol. 2000;84:1125–9.
170. Chatzidimitriou D, Kirmizis D, Gavriilaki E, Chatzidimitriou M, Malisiovas N. Atherosclerosis and infection: is the jury still not in? Future Microbiol. 2012;7:1217–30.
171. Salvatore P, Casamassimi A, Sommese L, Fiorito C, Ciccodicola A, Rossiello R, et al. Detrimental effects of *Bartonella henselae* are counteracted by L-arginine and nitric oxide in human endothelial progenitor cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105:9427–32.
172. Salvatore P, Zullo A, Sommese L, Colicchio R, Picascia A, Schiano C, Mancini FP, Napoli C. Infections and cardiovascular disease: is *Bartonella henselae* contributing to this matter? J Med Microbiol. 2015;64:799–809.
173. 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;30:275–80.
174. Lucey D, Dolan MJ, Moss CW, Garcia M, Hollis DG, Wegner S, et al. Relapsing illness due to *Rochalimaea henselae* in immunocompetent hosts:

- implication for therapy and new epidemiological associations. *Clin Infect Dis*. 1992;14:683–8.
175. 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;323:1587–93.
 176. 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;31:2381–6.
 177. Mascarelli PE, Iredell JR, Maggi RG, Weinberg G, Breitschwerdt EB. *Bartonella* species bacteremia in two patients with epithelioid hemangioendothelioma. *J Clin Microbiol*. 2011;49:4006–12.
 178. Eremeeva ME, Gerns HL, Lydy SL, Goo JS, Ryan ET, Mathew SS, et al. Bacteremia, fever, and splenomegaly caused by a newly recognized *Bartonella* species. *N Engl J Med*. 2007;356:2381–7.
 179. Maurin M, Roux V, Stein A, Ferrier F, Viraben R, Raoult D. Isolation and characterization by immunofluorescence, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, western blot, restriction fragment length polymorphism-PCR, 16 S rRNA gene sequencing, and pulsed-field gel electrophoresis of *Rochalimaea quintana* from a patient with bacillary angiomatosis. *J Clin Microbiol*. 1994;32:1166–71.
 180. Welch DF, Carroll KC, Hofmeister EK, Persing DH, Robison DA, Steigerwalt AG, et al. Isolation of a new subspecies, *Bartonella vinsonii* subsp. *arupensis*, from a cattle rancher: identity with isolates found in conjunction with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* among naturally infected mice. *J Clin Microbiol*. 1999;37:2598–601.
 181. Baylor P, Garoufi A, Karpathios T, Lutz J, Mogelof J, Moseley D. Transverse myelitis in 2 patients with *Bartonella henselae* infection (cat scratch disease). *Clin Infect Dis*. 2007;45:e42–5.
 182. Accorinti M. Ocular Bartonellosis. *Int J Med Sci*. 2009;6:131–2.
 183. Carithers HA. Cat-scratch disease: an overview based on a study of 1,200 patients. *Am J Dis Child*. 1985;139:1124–33.
 184. Lappin M, Black J. *Bartonella* spp infection as a possible cause of uveitis in a cat. *J Am Vet Med Assoc*. 1999;214:1205–7.
 185. Chomel BB, Wey AC, Kasten RW, Stacy BA, Labelle P. Fatal case of endocarditis associated with *Bartonella henselae* type I infection in a domestic cat. *J Clin Microbiol*. 2003;41:5337–9.

186. Leibler JH, Zakhour CM, Gadhoke P, Gaeta JM. Zoonotic and vector-borne infections among urban homeless and marginalized people in the United States and Europe, 1990–2014. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016;16:435–44.
187. Brouqui P, Lascola B, Roux V, Raoult D. Chronic *Bartonella quintana* bacteremia in homeless patients. *N Engl J Med.* 1999;340:184–9.
188. Ohl ME, Spach DH. *Bartonella quintana* and urban trench fever. *Clin Infect Dis.* 2000;31:131–5.
189. Brouqui P, Stein A, Dupont HT, Gallian P, Badiaga S, Rolain JM, et al. Ectoparasitism and vector-borne diseases in 930 homeless people from Marseilles. *Medicine (Baltimore).* 2005;84:61–8.
190. Maurin M, Raoult D. *Bartonella (Rochalimaea) quintana* infections. *Clin Microbiol Rev.* 1996;9:273–92.
191. Henriquez-Camacho C, Ventosilla P, Minnick MF, Ruiz J, Maguina C. Proteins of *Bartonella bacilliformis*: candidates for vaccine development. *Int J Pept.* 2015;2015:702784.
192. Huarcaya E, Maguina C, Torres R, Rupay J, Fuentes L. Bartonellosis (Carrion's disease) in the pediatric population of Peru: an overview and update. *Braz J Infect Dis.* 2004;8:331–9.
193. Rolain J, Brouqui P, Koehler J, Maguina C, Dolan M, Raoult D. Recommendations for treatment of human infections caused by *Bartonella* species. *Antimicrob Agents and Chemother.* 2004;48:1921–33.
194. Heller R, Kubina M, Mariet P, Riegel P, Delacour G, Dehio C, et al. *Bartonella alsatica* sp. nov., a new *Bartonella* species isolated from the blood of wild rabbits. *Int J Syst Bacteriol.* 1999;49:283–8.
195. Mullins KE, Hang J, Jiang J, Leguia M, Kasper MR, Ventosilla P, et al. Description of *Bartonella ancashensis* sp. nov., isolated from the blood of two patients with verruga peruana. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2015;65:3339–43.
196. Margileth AM, Baehren DF. Chest-wall abscess due to cat-scratch disease (CSD) in an adult with antibodies to *Bartonella clarridgeiae*: case report and review of the thoracopulmonary manifestations of CSD. *Clin Infect Dis.* 1998;27:353–7.
197. Colton L, Kabeya H, Kosoy M. Experimental infection of three laboratory mouse stocks with a shrew origin *Bartonella elizabethae* strain: an evaluation of bacterial host switching potential. *Infect Ecol Epidemiol.* 2012;2.

198. Bhengsri S, Baggett HC, Peruski LF, Morway C, Bai Y, Fisk TL, et al. *Bartonella* seroprevalence in rural Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2011;42:687–92.
199. Kosoy M, Bai Y, Sheff K, Morway C, Baggett H, Maloney SA, et al. Identification of *Bartonella* infections in febrile human patients from Thailand and their potential animal reservoirs. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;82:1140–5.
200. Kerkhoff FT, Bergmans AM, van Der Zee A, Rothova A. Demonstration of *Bartonella grahamii* DNA in ocular fluids of a patient with neuroretinitis. *J Clin Microbiol*. 1999;37:4034–8.
201. Birtles RJ, Laycock G, Kenny MJ, Shaw SE, Day MJ. Prevalence of *Bartonella* species causing bacteraemia in domesticated and companion animals in the United Kingdom. *Vet Rec*. 2002;151:225–9.
202. Oksi J, Rantala S, Kilpinen S, Silvennoinen R, Vornanen M, Veikkolainen V, et al. Cat scratch disease caused by *Bartonella grahamii* in an immunocompromised patient. *J Clin Microbiol*. 2013;51:2781–4.
203. Breitschwerdt EB, Mascarelli PE, Schweickert LA, Maggi RG, Hegarty BC, Bradley JM, et al. Hallucinations, sensory neuropathy, and peripheral visual deficits in a young woman infected with *Bartonella koehlerae*. *J Clin Microbiol*. 2011;49:3415–7.
204. Kosoy M, Morway C, Sheff KW, Bai Y, Colborn J, Chalcraft L, et al. *Bartonella tamiae* sp. nov., a newly recognized pathogen isolated from three human patients from Thailand. *J Clin Microbiol*. 2008;46:772–5.
205. Kabeya H, Colborn JM, Bai Y, Lerthusnee K, Richardson JH, Maruyama S, et al. Detection of *Bartonella tamiae* DNA in ectoparasites from rodents in Thailand and their sequence similarity with bacterial cultures from Thai patients. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2010;10:429–34.
206. 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;13:938–41.
207. Breitschwerdt EB, Maggi RG, Nicholson WL, Cherry NA, Woods CW. *Bartonella* sp. bacteremia in patients with neurological and neurocognitive dysfunction. *J Clin Microbiol*. 2008;46:2856–61.
208. Rolain JM, Maurin M, Mallet MN, Parzy D, Raoult D. Culture and antibiotic susceptibility of *Bartonella quintana* in human erythrocytes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:614–9.
209. Gould FK, Denning DW, Elliott TS, Foweraker J, Perry JD, Prendergast BD, et al. Guidelines for the diagnosis and antibiotic treatment of endocarditis in

- adults: a report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:269–89.
210. Angelakis E, Raoult D. Pathogenicity and treatment of *Bartonella* infections. *Int J Antimicrob Agents.* 2014;44:16–25.
 211. Rolain JM, Maurin M, Raoult D. Bactericidal effect of antibiotics on *Bartonella* and *Brucella* spp.: clinical implications. *J Antimicrob Chemother.* 2000;46:811–4.
 212. Fenollar F, Raoult D. Molecular genetic methods for the diagnosis of fastidious microorganisms. *APMIS.* 2004;112:785-807.
 213. 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.
 214. Windsor J. Cat-scratch disease: epidemiology, aetiology and treatment. *Br J Biomed Sci* 2001;58:101-10.
 215. Brenner SA, Rooney JA, Manzewitsch P, Regnery RL. Isolation of *Bartonella (Rochalimaea) henselae*: effects of methods of blood collection and handling. *J Clin Microbiol.* 1997;35:544–7.
 216. La Scola B, Raoult D. Culture of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae* from human samples: a 5 year experience (1993 to 1998). *J Clin Microbiol.* 1999;37:1899–905.
 217. Dougherty MJ, Spach DH, Larson AM, Hooton TM, Coyle MB. Evaluation of an extended blood culture protocol to isolate fastidious organisms from patients with AIDS. *J Clin Microbiol.* 1996;34: 2444–7.
 218. Larson AM, Dougherty MJ, Nowowiejski DJ, Welch DF, Matar GM, Swaminathan B, et al. Detection of *Bartonella (Rochalimaea) quintana* by routine acridine orange staining of broth blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1994;32:1492–6.
 219. Maggi RG, Duncan AW, Breitschwerdt EB. Novel chemically modified liquid medium that will support the growth of seven *Bartonella* species. *J Clin Microbiol.* 2005;43:2651–5.
 220. Ergin C, Akkaya Y, Kiris Satilmis O, Yilmaz C. Comparison of the indirect immunofluorescence assay performance of *Bartonella henselae* antigens obtained by co-cultivation in Vero and HeLa cells. *Mikrobiyol Bul.* 2011;45:461–7.
 221. Kordick DL, Swaminathan B, Greene CE, Wilson KH, Whitney AM, O'Connor S, et al. *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* subsp. nov., isolated from dogs;

- Bartonella vinsonii* subsp. *vinsonii*; and emended description of *Bartonella vinsonii*. Int J Syst Bacteriol. 1996;46:704–9.
222. 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 *Bartonella henselae* from human immunodeficiency viruspositive patient and unique *Bartonella* strain from his cat. J Clin Microbiol. 1995;33:2107–13.
 223. Angelakis E, Billeter SA, Chomel BB, Raoult D. Potential for tick –borne Bartonellosis. Emerg Infect Dis. 2010;16:385–91.
 224. Daly JS, Worthington MG, Brenner DJ, et al. *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. isolated from a patient with endocarditis. J Clin Microbiol. 1993;31:872–81.
 225. Kosoy M, Hayman DT, Chan KS. *Bartonella* bacteria in nature: where does population variability end and a species start? Infect Genet Evol. 2012;12:894–904.
 226. La Scola B, Zeaiter Z, Khamis A, Raoult D. Gene-sequencebased criteria for species definition in bacteriology: the *Bartonella* paradigm. Trends Microbiol. 2003;11:318–21.
 227. Maruyama S, Nakamura Y, Kabeya H, Tanaka S, Sakai T, Katsube Y. Prevalence of *Bartonella henselae*, *Bartonella clarridgeiae* and the 16S rRNA gene types of *Bartonella henselae* among pet cats in Japan. J Vet Med Sci. 2000;62:273–9.
 228. Regnery RL, Olson JG, Perkins BA, Bibb W. Serological response to “*Rochalimaea henselae*” antigen in suspected cat-scratch disease. Lancet. 1992;339:1443–5.
 229. Rolain J, Gouriet F, Enea M, Aboud M, Raoult D. Detection by immunofluorescence assay of *Bartonella henselae* in lymph nodes from patients with cat scratch disease. Clin Diagn Lab Immunol. 2003;10:686-91.
 230. 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;186:983–90.
 231. Bergmans A, Peeters M, Schellekens J, Vos M, Sabbe L, Ossewaarde J, et al. Pitfalls and fallacies of cat scratch disease serology: evaluation of *Bartonella henselae*-based indirect fluorescence assay and enzyme-linked immunoassay. J Clin Microbiol. 1997;35:1931–7.

232. Vermeulen MJ, Verbakel H, Notermans DW, Reimerink JH, Peeters MF. Evaluation of sensitivity, specificity and cross-reactivity in *Bartonella henselae* serology. *J Med Microbiol*. 2010;59:743–5.
233. Dalton MJ, Robinson LE, Cooper J, Regnery 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;155:1670–6.
234. 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;16:648–52.
235. 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: 627–34.
236. 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;28:147–52.
237. Litwin CM, Anderson B, Tsolis R, Rasley A. The Bartonellaceae, Brucellaceae, and Francisellaceae, In Detrick B, Schmitz JL, Hamilton RG (ed), *Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology*, 8th ed. ASM Press, Washington, DC; 2016:473–81.
238. Caponetti GC, Pantanowitz L, Marconi S, Havens JM, Lamps LW, Otis CN. Evaluation of immunohistochemistry in identifying *Bartonella henselae* in cat-scratch disease. *Am J Clin Pathol*. 2009;131:250–6.
239. Maguina C, Humberto G, Palmira V. Bartonellosis. *Clin Dermatol*. 2009;27:271–280.
240. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. 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.
241. Kirillova I, Chaisson M, Fausto N. Tumor necrosis factor induces DNA replication in hepatic cells through nuclear factor kappaB activation. *Cell Growth Differ*. 1999;10:819–28.
242. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Eng J Med*. 1996;334:1717–25.

243. Yamada Y, Fausto N. Deficient liver regeneration after carbon tetrachloride injury in mice lacking type 1 but not type 2 tumor necrosis factor receptor. *Am J Pathol.* 1998;152:1577.
244. Papadakis KA, Targan SR. The role of chemokines and chemokine receptors in mucosal inflammation. *Inflamm Bowel Dis.* 2000;6:303–13.
245. Shohami E, Ginis I, Hallenbeck JM. Dual role of tumor necrosis factor alpha in brain injury. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1999;10:119–30.
246. Mitoma H, Horiuchi T, Tsukamoto H, Ueda N. Molecular mechanisms of action of anti-TNF- α agents - Comparison among therapeutic TNF- α antagonists. *Cytokine.* 2018;101:56–63.
247. Mohler KM, Torrance D, Smith C, Goodwin R, Stremmer K, Fung V, et al. Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors are effective therapeutic agents in lethal endotoxemia and function simultaneously as both TNF carriers and TNF antagonists. *J Immunol.* 1993;151:1548–61.
248. Ma X, Xu S. TNF inhibitor therapy for rheumatoid arthritis (Review). *Biomedical Rep.* 2013;1:177–84.
249. Meier FM, Frerix M, Hermann W, Müller-Ladner U. Current immunotherapy in rheumatoid arthritis. *Immunotherapy.* 2013;5:955–74.
250. Vivar N, Van Vollenhoven RF. Advances in the treatment of rheumatoid arthritis. *F1000 Prime Rep.* 2014;6:31.
251. Wang H, Yang H, Czura CJ, Sama AE, Tracey KJ. HMGB1 as a late mediator of lethal systemic inflammation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:1768–73.
252. Ulloa L, Tracey KJ. The ‘cytokine profile’: a code for sepsis. *Trend Mol Med.* 2005;11:56–63.
253. Cybulsky M, Colditz I, Movat H. The role of interleukin-1 in neutrophil leukocyte emigration induced by endotoxin. *Am J Pathol.* 1986;124:367.
254. Everaerd B, Brouckaert P, Shaw A, Fiers W. Four different interleukin-1 species sensitize to the lethal action of tumour necrosis factor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989;163:378–85.
255. White C, Ghezzi P, Dinarello C, Caldwell S, McMurtry I, Repine J. Recombinant tumor necrosis factor/cachectin and interleukin 1 pretreatment decreases lung oxidized glutathione accumulation, lung injury, and mortality in rats exposed to hyperoxia. *J Clin Invest.* 1987;79:1868–73.

256. Okusawa S, Gelfand JA, Ikejima T, Connolly R, Dinarello C. Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits. Synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition. *J Clin Invest.* 1988;81:1162–72.
257. van der Heijde D, Burmester G, Melo-Gomes J, Codreanu C, Mola EM, Pedersen R, et al. The safety and efficacy of adding etanercept to methotrexate or methotrexate to etanercept in moderately active rheumatoid arthritis patients previously treated with monotherapy. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:182–8.
258. Lovell D, Brunner HI, Ruperto N, Zuber Z, Keane C, Harari O, et al. Efficacy and safety of tocilizumab in patients with polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis: results from a phase 3, randomised, double-blind withdrawal trial. *Ann Rheum Dis.* 2015;74:1110–7.
259. Mease PJ, Goffe BS, Metz J, VanderStoep A, Finck B, Burge DJ. Etanercept in the treatment of psoriatic arthritis and psoriasis: a randomised trial. *Lancet.* 2000;356:385–90.
260. Coates LC, Kavanaugh A, Mease PJ, Soriano ER, Laura Acosta-Felquer M, Armstrong AW, et al. Group for research and assessment of psoriasis and psoriatic arthritis 2015 treatment recommendations for psoriatic arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2016; 68:1060–71.
261. Braun J, Davis J, Dougados M, Sieper J, van der Linden S, van der Heijde D, et al. First update of the international ASAS consensus statement for the use of anti-TNF agents in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2006;65: 316–20.
262. Weaver A. The impact of new biologicals in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43:iii17–23.
263. Zochling J, Van Der Heijde D, Dougados M, Braun J. Current evidence for the management of ankylosing spondylitis: A systematic literature review for the ASAS/EULAR management recommendations in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:423–32.
264. Proft F, Poddubnyy D. Ankylosing spondilitis and axial spondyloarthritis: recent insights and impact of new classification criteria. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2018;10:129–39.
265. Chio CC, Lin JW, Chang MW, Wang CC, Kuo JR, Yang CZ, et al. Therapeutic evaluation of etanercept in a model of traumatic brain injury. *J Neurochem.* 2010;115:921–9.
266. Campbell SJ, Jiang Y, Davis AE, Farrands R, Holbrook J, Leppert D, et al. Immunomodulatory effects of etanercept in a model of brain injury act through attenuation of the acute-phase response. *J Neurochem.* 2007;103:2245–55.

267. Bongartz T1, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA*. 2006;295:22758–5.
268. Brown SL, Greene MH, Gershon SK, Edwards ET, Braun MM. Tumor necrosis factor antagonist therapy and lymphoma development: twenty-six cases reported to the Food and Drug Administration. *Arthritis Rheum*. 2002;46:3151–8.
269. Parakkal D, Sifuentes H, Semer R, Ehrenpreis ED. Hepatosplenic T-cell lymphoma in patients receiving TNF- α inhibitor therapy: expanding the groups at risk. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2011;23:1150–6.
270. Lopez-Olivo MA, Tayar JH, Martinez-Lopez JA, Pollono EN, Cueto JP, Gonzales-Crespo MR, et al. Risk of malignancies in patients with rheumatoid arthritis treated with biologic therapy: a meta-analysis. *JAMA*. 2012;308:898–908.
271. Hastings R, Ding T, Butt S, Gadsby K, Zhang W, Moots RJ, et al. Neutropenia in patients receiving anti-tumor necrosis factor therapy. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2010;62:764–9.
272. Romero-Mate A, Garcia-Donoso C, Cordoba-Guijarro S. Efficacy and safety of etanercept in psoriasis/psoriatic arthritis: an updated review. *Am J Clin Dermatol*. 2007;8:143–155.
273. Mease PJ, Ritchlin CT, Martin RW, Gottlieb AB, Baumgartner SW, Burge DJ, et al. Pneumococcal vaccine response in psoriatic arthritis patients during treatment with etanercept. *J Rheumatol*. 2004;31:1356–1361.
274. Mohan N, Edwards ET, Cupps TR, Oliverio PJ, Sandberg G, Crayton H, et al. Demyelination occurring during anti-tumor necrosis factor alpha therapy for inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum*. 2001;44:2862–9.
275. Longbrake EE, Parks BJ, Cross AH. Monoclonal antibodies as disease modifying therapy in multiple sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2013;13:390
276. Mori S, Fujiyama S. Hepatitis B virus reactivation associated with antirheumatic therapy: risk and prophylaxis recommendations. *World J Gastroenterol*. 2015;21:10274–89.
277. Gardam MA, Keystone EC, Menzies R, Manners S, Skamene E, Long R, et al. Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. *Lancet Infect Dis*. 2003;3:148–55.
278. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2001;344:907–16.

279. Charles P, Smeenk R, De Jong J, Feldmann M, Maini R. Assessment of antibodies to double-stranded DNA induced in rheumatoid arthritis patients following treatment with infliximab, a monoclonal antibody to tumor necrosis factor α : Findings in open-label and randomized placebo-controlled trials. *Arthritis Rheum.* 2000;43:2383–90.
280. Mohan AK, Edwards ET, Coté TR, Siegel JN, Braun MM. Drug-induced systemic lupus erythematosus and TNF- α blockers. *Lancet.* 2002;360:646.
281. Wolfe F, Michaud K. Heart failure in rheumatoid arthritis: rates, predictors and the effect of anti-tumor necrosis factor therapy. *Am J Med.* 2004;116:305–11.
282. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol.* 1995 Jun;22:696-9.
283. Stanek C, Reinhardt N, Diesing AK, Nossol C, Kahlert S, Panther P, et al. A chronic oral exposure of pigs with deoxynivalenol partially prevents the acute effects of lipopolysaccharides on hepatic histopathology and blood clinical chemistry. *Toxicol Lett.* 2012;215:193–200.
284. Mathieu S, Vellin JF, Poujol D, Ristori JM, Soubrier M. Cat scratch disease during etanercept therapy. *Joint Bone Spine.* 2007;74:184–6.
285. Scolfaro C, Leunga GG, Bezzio S, Chiapello N, Riva C, Balbo L, et al. Prolonged follow up of seven patients affected by hepatosplenic granulomata due to cat-scratch disease. *Eur J Pediatr.* 2008;167:471–3.
286. Schiffmann A, Pers YM, Lukas C, Combe B, Morel J. Mesenteric and splenic cat-scratch disease during etanercept therapy. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48:1461–2.
287. Orden AO, Nardi NN, Vilaseca AB, Colombini AC, Barrios NG, Vijnovich Barón A. Cat scratch disease during etanercept therapy in a rheumatoid arthritis patient. *Reumatol Clin.* 2017 27. pii: S1699-258X(17)30027-X.
288. Kunz S, Oberle K, Sander A, Bogdan C, Schleicher. Lymphadenopathy in a novel mouse model of *Bartonella*-induced cat scratch disease results from lymphocyte immigration and proliferation and is regulated by interferon-alpha/beta. *Am J Pathol.* 2008;172:1005–18.
289. Plessner HL, Lin PL, Kohno T, Louie JS, Kirschner D, Chan J, et al. Neutralization of tumor necrosis factor (TNF) by antibody but not TNF receptor fusion molecule exacerbates chronic murine tuberculosis. *J Infect Dis.* 2007;195:1643–50.

290. Rolain JM, Lepidi H, Zanaret M, Triglia JM, Michel G, Thomas PA, et al. Lymph node biopsy specimens and diagnosis of cat-scratch disease. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:1338–44.
291. Aydın N, Korkmazgil B, Kirkan S, Telli M, Eyigör M, Aksoy AM et al. Seroprevalance of *Bartonella henselae* in risky human population, cats and dogs. The 8.th International conference on *Bartonella* emerging pathogens 10-13 october 2017 Beijing, China.
292. Aydın N, Bülbül R, Telli M, Gültekin B. Seroprevalance of *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* in blood donors in Aydın province, Turkey. *Mikrobiyol Bul.* 2014;48:477–83.
293. Aydın N, Aksoy AM, Erol M, Eyigör M. Seroprevalance and risk factors for *Bartonella henselae* in Aydın, Turkey. The 8.th International conference on *Bartonella* emerging pathogens 10-13 october 2017 Beijing, China.
294. Gu T, Shah N, Deshpande G, Tang DH, Eisenberg DF. Comparing biologic cost per treated patient across indications among adult US managed care patients: A retrospective cohort study. *Drugs Real World Outcomes.* 2016;3:369–381.
295. Wallis RS. Tumour necrosis factor antagonists: structure, function, and tuberculosis risks. *Lancet Infect Dis.* 2008;8:601–11.
296. Tsiodras S, Samonis G, Boumpas DT, Kontoyiannis DP. Fungal infections complicating tumor necrosis factor alpha blockade therapy. *Mayo Clin Proc.* 2008;83:181-94.
297. Daybell D, Paddock CD, Zaki SR, Comer JA, Woodruff D, Hansen KJ, et al. Disseminated infection with *Bartonella henselae* as a cause of spontaneous splenic rupture. *Clin Infect Dis.* 2004;39:21–4.
298. Mathieu S, Vellin JF, Poujol D, Ristori JM, Soubrier M. Cat scratch disease during etanercept therapy. *Joint Bone Spine.* 2007;74:184–6.
299. Scolfaro C, Leunga GG, Bezzio S, Chiapello N, Riva C, Balbo L, et al. Prolonged follow up of seven patients affected by hepatosplenic granulomata due to cat-scratch disease. *Eur J Pediatr.* 2008;167:471–3.
300. Schiffmann A, Pers YM, Lukas C, Combe B, Morel J. Mesenteric and splenic cat-scratch disease during etanercept therapy. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48:1461–2.
301. Orden AO, Nardi NN, Vilaseca AB, Colombini AC, Barrios NG, Vijnovich Barón A. Cat scratch disease during etanercept therapy in a rheumatoid arthritis patient. *Reumatol Clin.* 2017 27. pii: S1699-258X(17)30027-X.
302. Plessner HL, Lin PL, Kohno T, Louie JS, Kirschner D, Chan J, et al. Neutralization of tumor necrosis factor (TNF) by antibody but not TNF

- receptor fusion molecule exacerbates chronic murine tuberculosis. *J Infect Dis.* 2007;195:1643–50.
303. Kunz S, Oberle K, Sander A, Bogdan C, Schleicher. Lymphadenopathy in a novel mouse model of *Bartonella*-induced cat scratch disease results from lymphocyte immigration and proliferation and is regulated by interferon-alpha/beta. *Am J Pathol.* 2008;172:1005–18.
 304. Rolain JM, Lepidi H, Zanaret M, Triglia JM, Michel G, Thomas PA, et al. Lymph node biopsy specimens and diagnosis of cat-scratch disease. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:1338–44
 305. Chiaraviglio L, Duong S, Brown DA, Birtles RJ, Kirby JE. An immunocompromised murine model of chronic *Bartonella infection*. *Am J Pathol.* 2010;176:2753–63.
 306. Kojima M, Nakamura S, Kurabayashi Y, Itoh H, Yoshida K, Asano S, et al. Suppurative lesions without prominent epithelioid cell response in abscess-forming granulomatous lymphadenitis. *Pathol Res Pract.* 1995;191:1072–7.
 307. Facchetti F, Agostini C, Chilosi M, Mombello A, Grigolato P, Van den Oord JJ. Suppurative granulomatous lymphadenitis: immunohistochemical evidence for a B-cell-associated granuloma. *Am J Surg Pathol.* 1992;16:955–961.
 308. Kojima M, Nakamura S, Hosomura Y, Shimizu K, Kurabayashi Y, Itoh H, et al. Abscess-forming granulomatous lymphadenitis: histological typing of suppurative granulomas and clinicopathological findings with special reference to cat scratch disease. *Acta Pathol Jpn.* 1993;43:11–7.
 309. Prudent E, Lepidi H, Audoly G, La Scola B, Fourier PE, Edouard S. *Bartonella henselae* is usually not viable in lymph nodes of patients with cat scratch disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36:2207–13.
 310. Lamps LW, Gray GF, Scott MA. The histologic spectrum of hepatic cat scratch disease: a series of six cases with confirmed *Bartonella henselae* infection. *Am J Surg Pathol.* 1996;20:1253-9
 311. Sandborn WJ, Hanauer SB, Katz S, Safdi M, Wolf DG, Baerg RD, et al. Etanercept for active Crohn's disease: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology.* 2001;121:1088-94
 312. Utz JP, Limper AH, Kalra S, Speck U, Scott JP, Vul-Pavlovic Z, et al. Etanercept for the treatment of stage II and III progressive pulmonary sarcoidosis. *Chest.* 2003;124:177-85.