

BİYOLOJİK SİLAH OLARAK BAKTERİLER: “Kategori A ajanlar”

Selçuk KILIÇ¹

ÖZET

Ölümcül, kolayca elde edilebilen ve düşük maliyet ile büyük miktarlarda üretilen, aerosol formda stabil olan, kolayca geniş alanlara yayılabilen ve insandan insana bulaşan bakteriyel patojenler biyolojik savaş veya biyoterrorizm ajanı olarak kullanılabilirler. Biyolojik silah ajanları yayılım özellikleri ve oluşturdukları hastalık tablosunun şiddeti ve ölüme bağlı olarak CDC tarafından üç kategoriye ayrılmıştır. Şarbon, veba ve tularemi etkeni olan bakteriler aerosol yolla şiddetli akciğer enfeksiyonuna neden olarak çoğunlukla ölümcül seyreden hastalık tablosu oluşturdukları için en yüksek risk grubu olarak tanımlanan Kategori A'da yer almaktadırlar. Bu derlemede Kategori A'da yer alan bu bakteriyel ajanların mikrobiyolojik özellikleri, biyolojik silah potansiyeleri, oluşturdukları klinik belirtiler, tanı, korunma ve tedavileri gözden geçirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik silah, şarbon, veba, tularemi

BACTERIA AS AGENTS OF BIOLOGICAL WEAPONS: “Category A agents”

SUMMARY

Bacterial pathogens that are lethal, relatively easily obtained and inexpensive to produce in large quantities, stable in aerosol with the ability to be dispersed over wide areas, communicable from person to person can be used as weapons of biological warfare or bioterrorism. Biological warfare agents can be separated into three categories by Center of Diseases Control and prevention, depending on how easily they can be spread and the severity of illness or death they cause. Bacterial pathogens that are considered the highest risk in category A agents in regard to their microbiology, potential for weaponization, and the clinical features, diagnosis, prevention, and treatment of the diseases that they cause has been reviewed.

Key Words: Biowarfare agent, anthrax, plaque, tularemia

GİRİŞ

Bulaşıcılığı yüksek, kolay üretilen, aşı ve tedavisi kullanıcı tarafından kolaylıkla kendi yandaşlarına uygulanabilecek hemen hemen tüm mikroorganizmalar biyolojik saldırı amaçlı kullanılabilirler (1). Biyolojik silah olarak kullanılmış veya kullanılma potansiyeline sahip olan önemli mikroorganizmalar ve toksinler, Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) tarafından kullanım kolaylığı, yayılımı, oluşturacağı hastalık ve ölüm sayısına

dayanak üç bölümde kategorize edilmiştir (Tablo 1) (2).

Aerosol yolla hastalık oluşturma potansiyeli taşıyan, çevresel koşullara oldukça dayanıklı olan, çoğu toplumların duyarlı olduğu, yüksek morbidite/mortalite oranına sahip, insandan insana bulaşabilen, gelişmiş ülkelerde nadir görüldüğü için tanı ve tedavi güçlüğü olan, üzerinde biyolojik silah çalışmaları yapılan mikroorganizma veya toksinler en yüksek

¹Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hast.Arş.Müd., Ankara

Yazışma Adresi: Uzm.Dr.Selçuk KILIÇ, R.S.Hıfzıssıhha Merk. Bşk., Salgın Hast.Arş. Müd., Bakteriyel Zoonozlar Arş. Lab., Cemal Gürsel C.No:18, 06100 Sıhhiye-Ankara
Tel: +90 312 458 21 69 Fax: +90 312 458 24 08 e-posta: selcuk.kilic@rshm.gov.tr; mdskilic2003@yahoo.com

risk/öncelik grubunu (Kategori A) oluştururlar (1,2). A grubundaki bakteriyel biyolojik silah ajanlarından aerosol yolla bulaşan ve önemli mortalite/morbidite özellikleri nedeniyle *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis* ele alınacaktır.

ŞARBON

Şarbon, *Bacillus anthracis* tarafından oluşturulan, esas olarak ot yiyen (koyun, keçi, sığır gibi) hayvanların hastalığı olup, insanlara genel olarak direkt temas, nadiren enfekte etlerin yenmesi veya sporların solunması ile bulaşabilen zoonotik bir enfeksiyondur (3, 4). Bilinen en eski hastalıklardan biri olan şarbon, çoğu gelişmiş ülkelerde eradike edilmiştir (4). Hayvan yetiştirilen ve hayvan postlarının işlendiği kırsal alanlarda varlığını sürdürmesi ve son yıllarda yaşanan biyoterörizm olaylarında kullanılması nedeniyle hala önemini korumaktadır (4, 5).

A- Mikrobiyolojik Özellikleri

B.anthraxis, 1-1.5x3-5 µm boyutlarında, Gram pozitif, hareketsiz, sporlu, aerop bir bakteridir. Bakteri, aerobik ortamda rutin besiyerlerinde kolayca üreyebilmektedir (6). *B.anthraxis*, koyun kanlı ağarda 2-5 mm çapında, hemoliz oluşturmayan, düz veya hafif konveks, beyaz-gri renkli, yüzeyi granüle, düzensiz kenarlı, R-tipinde koloniler oluşturmaktadır ve bu koloni görünümü “medusa başı” olarak adlandırılmaktadır (5, 6). Yoğun üremeye bağlı olarak hafif bir hemoliz görünümü oluşabilirse de, bu gerçek bir β-hemoliz değildir. Bu kolonilerden yapılan Gram preparatlarda; büyük, kalın ve düzgün kenarlı sonlanan, bambu kamışı gibi art arda dizili Gram pozitif basiller şeklinde görülmektedir (3, 5, 6, 7).

Bakteri; besiyerlerinde santral veya subterminal yerleşimli oval veya yuvarlak, bakteri hücresinde şişlik oluşturmayan sporlar oluşturur (7,8). Spor formu, atmosferik düzeyde CO₂'e maruz kalmadıkça oluşmamaktadır. Bu nedenle, vücuttaki CO₂ düzeyleri sporulasyonu inhibe

Tablo 1. CDC biyolojik silah ajanlar sınıflandırmasındaki bakteriyel etkenler (2)

Kategori	Ajanlar	Özellikleri
A	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus anthracis</i> • <i>Yersinia pestis</i> • <i>Francisella tularensis</i> 	“Ulusal güvenlik açısından yüksek risk oluşturan biyolojik ajanlar” <ul style="list-style-type: none"> • Ortamda kolayca yayılabilmesi ve insandan insana bulaşma özelliği ile ikincil-üçüncül vakaların gelişmesi • Yüksek mortalite ve halk sağlığını tehdit potansiyeli • Halk arasında panik ve sosyal karışıklıklara neden olması • Halk sağlığı açısından özel hazırlıklar gerektirmesi
	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Coxiella burnetti</i> • <i>Brucella sp.</i> • <i>Burkholderia mallei</i> • <i>Salmonella sp.</i> • <i>Shigella dysenteriae</i> • <i>E.coli O157:H7</i> • <i>Vibrio cholerae</i> • <i>Rickettsia prowazekii</i> • <i>Chlamydia psittaci</i> • <i>Listeria monocytogenes</i> • <i>Campylobacter jejuni</i> • <i>Yersinia enterocolitica</i> 	“İkincil öneme sahip ajanlar” <ul style="list-style-type: none"> • Orta dereceli yayılım. • Orta düzeyde morbidite ve düşük mortalite • Spesifik CDC tanı kriterleri ile surveyans sisteminin geliştirilmesine ihtiyaç
C	<ul style="list-style-type: none"> • Çoğul ilaç dirençli tüberküloz 	<ul style="list-style-type: none"> • Kolay elde edilebilir olması • Üretim ve yayılımının kolay olması • Yüksek morbidite ve mortalite potansiyeli • Yüksek halk sağlığını tehdit potansiyeli

etmektedir. Vejetatif hücreler, periferik yayma ve kanın Gram preparatlarında kapsüllü, 2-4 hücreli, kısa zincir formasyonunda görülürler. Kanlı besiyerlerinden yapılan preparatlarda uzun zincirler oluşturan kapsülsüz bakteri yumakları halinde gözlenirler (5, 7, 8). Kapsül oluşumunu indüklemek için NaHCO₃ (%0.7 oranında) eklenmiş nütriyent agar veya diğer temel besiyerlerinde %5 CO₂'li ortamda inkübe edilmelidir (5,8).

Bakteri, hayvan veya insan vücudunda vejetatif hale geçer, yani sporları kaybolur. *B.anthraxis*'in, patogenezinde kapsül ve protein yapısındaki toksinleri önemli rol oynamaktadır. Kapsül ve toksinini kaybeden bakteri virülansını da kaybeder (3, 4, 9).

B- Dayanıklılık

Bakterinin vejetatif formu, 60-70°C'da 30 dakikada ölürken, sporlar normal doğa koşullarında toprakta çok uzun yıllar (50-60 sene) canlılığını koruyabilmektedirler (3,10). Bakterinin spor formları, vejetatif formun aksine, sıcak, soğuk, ultraviyole, kuruluk, yüksek ve düşük pH, kimyasal dezenfektanlar ve diğer bakterilerin metabolik ürünlerine son derece dayanıklıdır (3, 5). *B.anthraxis* sporları, basınçlı buharda 120°C de 15 dakikada, kuru ısıda 140°C'de 30 dakikada ve 180°C'de 2 dakikada inaktive olurlar. Pratikte kullanılan dezenfektanlara dirençli olan şarbon sporları %0.1 sublimde içinde 70 saat, %3 formolde 3 gün canlı kalabilir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda formaldehid (%10'luk formol, 15 dakika), gluteralehid (%2-4), hidrojen peroksit ve perasetik asit basillere oldukça etkilidir. 1/10 oranında sulandırılmış evde kullanılan çamaşır suyu sporların çevreden temizlenmesi için etkili bir ajandır (3, 5, 6, 11).

C- Hastalık Kaynağı ve Bulaşma Yolları

Hastalık insanlara enfekte hayvanlardan direkt veya indirekt yolla; genellikle deriden, nadiren sindirim sistemi ve solunum sistemi yoluyla bulaşır. Bulaş kaynaklarına göre şarbon h a s t a l ı ğ ı üç ana başlık altında sınıflandırılabilir (6, 7, 11).

1. Endüstriyel şarbon
2. Tarımsal şarbon
3. Laboratuvar kaynaklı şarbon:

Endüstriyel kökenli şarbon, *B.anthraxis* sporları ile kontamine keçi kılı, yün deri, post ve kemik gibi hayvansal ürünlerin, sanayide işlenmesi esnasında oluşur. Sporların deriye bulaşması ile deri şarbonu, sporların solunması ile de akciğer şarbonu gelişir. Gelişmiş ülkelerden bildirilen şarbon olguları, genellikle hastalığın bulunduğu ülkelerden ithal edilen hayvansal ürünlerden kaynaklanmaktadır. Hayvansal ürünlere uygulanan dekontaminasyon işlemleri ile hastalık riski oldukça azalmıştır (4, 5, 7).

Tarımsal kökenli şarbon, ölen hastalıklı hayvanların kesilmesi, derisinin yüzülmesi, etinin kıyılması sonucu, direkt temasla deri şarbonu veya etlerinin yenilmesi ile sindirim sistemi şarbonu şeklinde gelişmektedir. Ülkemizde görülen şarbon olguları genellikle tarımsal kökenlidir. Hayvancılıkla uğraşanlar, kasap ve veteriner hekimler şarbon yönünden risk grubunda yer almaktadırlar (6, 9, 11, 12) .

Laboratuvar kaynaklı şarbon enfeksiyonu nadirdir. Biyogüvenlik düzeyi uygun olmayan laboratuvarlarda çalışılması veya biyogüvenlik kurallarına uyulmaması sonucunda aerosolizasyon ile enfeksiyon gelişebilir (5, 6, 9). Şarbon insandan insana bulaşma çok nadirse de enfekte yara ve akıntı ile direk temas sonucu bulaşma riski bulunabileceği bildirilmiştir (7,11,13).

Enfeksiyon sineklerle de mekanik olarak bulaşabilir. Zimbabwe'de 1979-1980 yıllarında çıkan büyük epidemide ahır ve at sineklerinin de büyük rol oynadığı belirtilmektedir (6,7,11).

Şarbon dünyada görülme sıklığı giderek azalan enfeksiyon hastalıklarından birisidir. Dünyada her yıl 20.000-100.000 arasında insan olgusunun görüldüğü tahmin edilmektedir (4). En sık olarak Orta Doğu, Hindistan Yarımadası, Asya, Afrika ve Latin Amerika'da görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde son 20 yıl içindeki insan şarbon olguları oldukça azalmıştır (6, 7, 11). Şarbon ülkemizde de görülen bir hastalıktır. Görülme sıklığı dünya ile paralel olarak gittikçe azalmaktadır. 1990'lı yıllarda her yıl bildirilen vaka sayısı 300'ün altına düşmüştür. 2000'lerde yılda 100-150 insan şarbon olgusu görüldüğü tahmin edilmektedir.

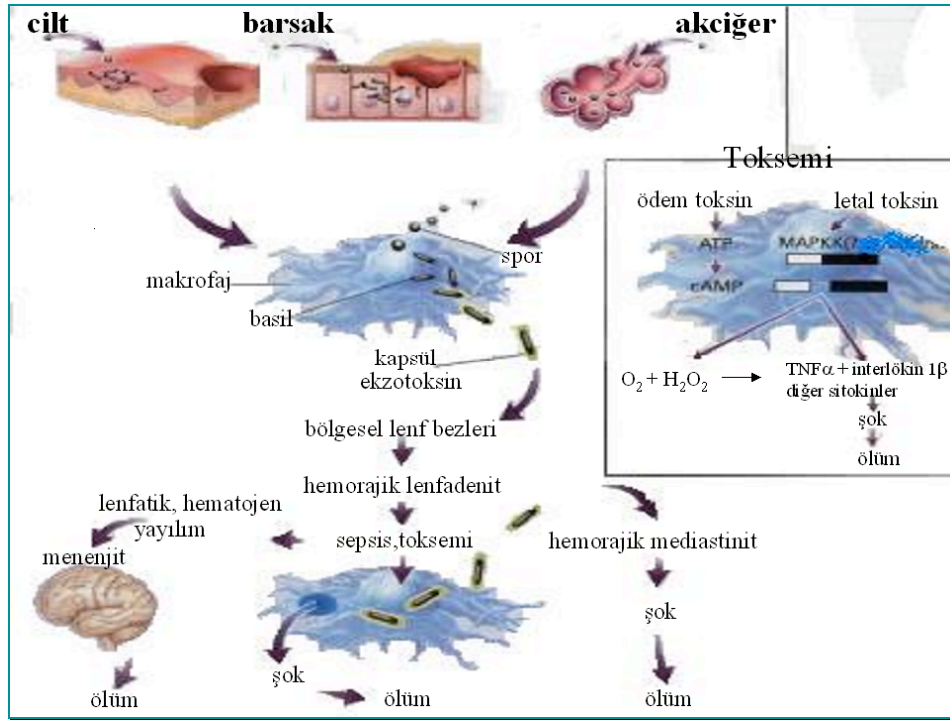
D- Patogenez

Şarbon insanlara, çoğunlukla enfekte hayvanların kemik veya tüyleriyle temas sonrasında deriden, nadiren enfekte hayvan etlerinin pişirilmeden yenilmesiyle gastrointestinal sistemden (GİS) veya sporların solunum ile akciğerlere ulaşması ile bulaşır. Sporlar, organizmaya girdikten sonra vejetatif hale geçer (3, 4, 10). Basilin kapsülü bakterinin fagosite edilmesini önler ve vejetatif hale geçen basiller girdiği dokuda çoğalarak ekzotoksin üretmeye başlarlar. Basilin patojenliği büyük ölçüde protein yapısındaki ekzotoksine bağlıdır (Şekil 1) (5, 7).

B.anthraxis'in polisakkarit yapıda somatik antijen, polipeptid yapıda kapsül ve kompleks protein yapıda toksin olmak üzere üç antijenik yapısı vardır. *B.anthraxis*'in ana virülans faktörleri, pXO1 ve pXO2 plazmidlerince kodlanan kapsüller polipeptid ve toksindir (6, 7, 9, 11).

pXO2 plazmidi (95.3 kbp ve 60 KDa molekül ağırlığı) poli-D-glutamik asit yapıdaki kapsül sentezinden sorumlu üç geni (cap A, cap B ve cap C) kodlamaktadır (5,14). Polipeptid kapsül, fagositoz ve opsonizasyona karşı koruyucu özellik göstermektedir. Patogenezde enfeksiyonun başlangıç safhasında kapsül önemli iken, ilerleyen safhalarda toksinler daha önemli rol oynamaktadır. pXO2 plazmidi sadece virülen suşlarda bulunur. Eğer bakteri pXO2 plazmidi içermiyorsa avirülandır ve bu suşlar (attenüe) aşı üretiminde kullanılmıştır. Kapsül, zayıf antijenik olduğu için immünojen değildir, oluşan anti-kapsüller antikorlar organizmayı enfeksiyondan korumazlar (3, 7, 14).

Kompleks yapıdaki ekzotoksinler, pOX1 plazmidi (184 kbp, 110 KDa) tarafından kodlanmaktadır. *B.anthraxis* toksini, protektif antijen (PA), ödem faktörü (EF) ve letal faktör (LF) olarak isimlendirilen üç protein içermektedir (6, 14). Üç ekzotoksininden (PA, LF, ÖF) hiçbirinin tek



Şekil 1. *B.anthraxis*'in fizyopatolojisi (7)

başına toksik etkisi yoktur. Temel komponent PA'dır. Birbirleri ile sinerjik etki göstererek patojenezde rol oynarlar. Sonuçta toksinler, belirgin bir ödem cevabı ve doku nekrozu oluştururlar. *B.anthraxis*'in patojenezinde rol oynayan ekzotoksinlerin özellikleri Tablo 2'de gösterilmiştir (3, 5, 7, 9 14).

Tablo 2. *B.anthraxis*'in ekzotoksinlerinin özellikleri (6, 7, 9, 14)


Protektif antijen (PA)

- Konak hücreye bağlanarak, Letal Faktör ve Ödem Faktör'ün hücre içine girişine yardımcı
- Kuvvetli immünojen
- Doğal enfeksiyon ve aşılama ile PA'ya karşı antikor gelişimi

Letal faktör (LF)

- Fosfokinaz enzimini parçalayan Çinko bağımlı metalloproteaz olup, doku ölümüne neden olma.
- Virulansda rol oynayan ana toksin
- Mitojenle aktive olmuş protein kinaz (MAPK) yolunun inhibisyonu
- Oksijen radikalleri ve makrofaj stimülasyonu (TNF alfa ve IL-1-6 salınımı)
- Zayıf immünojen
- Temel ölüm nedeni

Ödem faktör (ÖF)

- Ca²⁺ ve kalmodulin bağımlı, adenilat siklaz fonksiyonu
- cAMP  membran permeabilitesinde bozulma ve ödem gelişimi
- Makrofaj ve nötrofillerdeki ATP rezervini azaltarak, fagositozu önleme
- Zayıf immünojen

E. Biyolojik Silah Olarak Önemi

B.anthraxis;

- Üretiminin kolay ve maliyetinin ucuz olması,
- Sporlarının diğer potansiyel biyolojik silah ajanları ile karşılaştırıldığında çevre koşullarına oldukça dayanıklı olması ve kolayca taşınabilmesi,
- Sporlarının solunum yoluyla alınmasıyla ölüm oranı oldukça yüksek olan akciğer şarbonuna neden olması,
- Sporlarının su ve gıdalarla alınmasıyla ölümcül sindirim sistemi şarbonunun gelişmesi,
- Sporlarının toprakta uzun süre (40 yıl ve daha uzun) kalması,
- İnsan ve ot yiyen hayvanlar için hastalık

riski oluşturması nedeniyle kullanılması en olası biyolojik ajandır (1-3, 5, 7, 9-13).

Biyolojik silah olarak aerosol formda ortama verilebileceği gibi, gıda veya küçük su kaynaklarına yönelik sabotaj amacı ile de kullanılabilir. Biyoterörizm ile ilişkili *B.anthraxis* enfeksiyonlarının çoğunlukla akciğer şarbonu şeklinde karşımıza çıkması beklenmektedir (5, 10, 13, 15). Bu özellikleri ile şarbon CDC ve ABD Askeri Enfeksiyon Hastalıkları Araştırma Enstitüsü (USAMRIID) tarafından en yüksek risk grubunun birinci sırasında yer almaktadır (2, 3, 5).

Tarihsel olarak, I. Dünya Savaşından itibaren çeşitli devletlerin "Biyolojik Savunma Programı'nın" en önde gelen biyolojik savaş ajanı olmuştur. Almanya, ABD, İngiltere, Kanada, Japonya, eski Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği (SSCB), Güney Afrika Cumhuriyeti ve Irak tarafından biyolojik silah olarak geliştirilmiştir (16). Bu süreç içinde en önemli olay 1979 yılında SSCB'deki Sverdlovsk Kentinde meydana gelmiştir. 19 nolu askeri üsteki mikrobiyoloji laboratuvarında meydana gelen bir kaza sonucu havaya karışan şarbon sporları nedeniyle 79 kişi hastalanmış ve 64'ü ölmüştür. 17 kişi ise deri şarbonu gelişmiştir. Gerçek hasta ve ölüm sayısının resmi olarak açıklanan bu sayıdan çok daha yüksek olduğu da iddia edilmektedir (1, 5, 16). Bir diğer önemli gelişme ise; ABD'de 11 Eylül 2001 tarihindeki terörist saldırılardan sonra bir medya kuruluşu, Senato üyeleri, Dışişleri Bakanlığı, Anayasa Mahkemesi ve diğer kamu kuruluşlarına içinde şarbon tozu bulunan mektupların gönderilmesidir. Bu olaylar sonucunda ABD'de 11'i akciğer ve 11'i deri şarbonu olmak üzere toplam 22 olgu görülmüş ve akciğer şarbonu görülen 11 olgunun beşi yaşamını yitirmiştir (2, 17, 18).

F- Klinik Tablo

Şarbon sporlarının vücuda giriş yerine göre, deri, akciğer ve sindirim sistemi şarbonu olarak üç klinik formda hastalık tablosu görülür. Bu yerleşim bölgelerinin herhangi birinden lenfo-hematojen yolla yayılım sonucu dördüncü bir klinik form olan şarbon sepsisi ve menenjit gibi ölümcül tablolar da gelişebilir (4, 7, 9,11).

a) Deri şarbonu : Şarbon olgularının %95'ini deri şarbonu oluşturmaktadır. Deri üzerinde herhangi bir sıyrık veya kesiden giren sporlar vejetatif forma geçerler. Şarbon sporlarının deriye girmesi ile hastalık belirtilerinin ortaya çıkması arasında geçen süre 1-7 gün arasında değişir (3, 6). Etkenin giriş yerinde hafif bir yanma ve kaşıntı hissiyle birlikte hızla ufak bir makül ve papül oluşur. Papül 24-48 saat içinde 1-3 cm büyüklüğünde etrafı kabarıklık ve eritemli bir hemorajik vezikül haline gelir. Vezikül zamanla patlayarak seroanjinöz sıvı drene olur ve genellikle belirgin ödemli, siyah tabanlı bir eskar teşekkül eder (1, 3, 4, 7). Vezikül çoğunlukla tektir, ancak bazen primer vezikül çevresinde bir veya birden fazla veziküller de görülebilir. Bu sekonder veziküller zamanla primer lezyonla birleşirler. Lezyon genellikle el sırtı gibi derialtı bağ dokusu az olan kısımlarda organizmanın savunma mekanizmaları ile sınırlandırılır ve yayılım görülmez. Bazı olgularda bölgesel nekroz fazla olabilir ve bu durum "püstüla maligna" olarak tanımlanmaktadır (Tablo 3) (5, 9, 11, 20, 21).

Tablo 3. Deri şarbonunun klinik belirti ve semptomları (1, 3, 4, 6, 7)

- Olguların %90'ında vücudun açık yerlerinde, en sık el, kol, boyun ve yüzde lezyonlar
- Papülden hızla veziküler forma dönüşen ödemle çevrili yüzeyden kabarıklık olmayan siyah renkli "Eskar" gelişimi
- Lezyon boyutuyla orantısız ödem gelişimi
- Lezyonların (ilk başlangıçta) genellikle ağrısız olması ve ateş, halsizlik gibi yapısal semptomlarla birlikte seyretmesi
- Çoğunlukla bölgesel LAP
- Lezyondan alınan örneğin Gram preparatında PNL azlığı

Deri şarbonunda bölgesel lenfadenopati (LAP) ile hafif ateş ve baş ağrısı gibi sistemik semptomlar da görülebilir (3, 5, 24). Lezyon üzerinde teşekkül eden krut 1-2 haftada düşer ve yerinde bir nedbe dokusu bırakır. Deri şarbonu genellikle ellerde gelişirse de vücudun herhangi bir yerinde görülebilir. Etken, vücuda baş boyun bölgesi gibi gevşek bağ dokulu bir bölgeden girerse, enfeksiyon lokalize kalmaz ve kolayca

yayılır. Bu bölgelerde asfiksiye neden olabilecek şiddetli ödem (malign ödem) görülür. Klinik tablo daha ağır seyirlidir ve ölümlerle sonlanabilir (6, 7, 9, 11). Bazen basiller lokal makrofajlarca fagosite edilip bölgesel lenf nodlarına ve oradan da dolaşıma geçerek menenjit, pnömoni ve şarbon sepsisi gibi tümüyle fatal seyirli klinik tablolara yol açarlar (4, 5, 7). Püstüla maligna vakalarında lezyona cerrahi müdahale uygulanması etkenin dolaşım sistemine girmesine ve ölümlerle sonuçlanabilen ağır sepsis sendromu gelişmesine neden olabilir (3, 6, 21).

b) Akciğer şarbonu : *B.anthraxis* spor oluşturma özelliği sonucu dezenfektanlara, ısı ve nem değişikliklerine direnebilir ve dış ortamda uzun yıllar canlı kalabilir. Biyolojik silah olarak şarbon basili, hedef kitlelere karşı dayanıklı olan spor şeklinin aerosol formda ortama verilmesi ve etkenin solunum yoluyla alınmasıyla kullanılmaktadır (1, 3, 5, 12, 15).

Akciğer şarbonu tipik olarak bifazik seyirli bir enfeksiyondur ve inhale edilen spor sayısına (8.000-50.000 spor) bağlı olarak 1-6 günlük bir kuluçka döneminden sonra hafif ateş, kırgınlık, nefes darlığı ve göğüs sıkışması gibi grip benzeri yakınmalar ile I. Evre başlar (9, 22). Akciğerde makrofajlar tarafından fagosite edilerek mediastinal ve hiler lenf bezlerine taşınan bakteriler burada 60 güne kadar uzayabilen ortalama 6 günde germinasyona başlarlar (5, 13, 21, 25). Bakterinin vejetatif forma geçtiği ve aşırı miktarda toksinlerin üretildiği I. Evreyi takiben, remittant ya da intermittant karakterde 39-40°C'ye çıkan ateş, dispne, öksürük, hemoptizi, taşikardi, solunum yetersizliği ve siyanoz gelişimiyle II. Evre başlar ve 24-36 saat içinde ölümlerle sonuçlanır (17-23).

Akciğer şarbonunun klinik, patolojik ve radyolojik özellikleri Tablo 4'de verilmiştir. I. Evrede bakteri henüz lenf düğümlerinde iken olgulara uygulanacak yoğun tedavi kurtarıcıdır. Bakteri ilk önce mediastinal lenf bezlerine geldiği için ana tutulum bölgesi mediastinumdur. Ödem ve letal faktör, inhalasyon şarbonu için tipik olan masif hemorajik mediastinite neden olur. Akciğer şarbonunun mortalitesi çok yüksektir. Bir gramın milyonda biri kadar şarbon basilininin

solunum yoluyla alınması o kişinin ölümüne yol açabilir (3, 5,17-23).

Tablo 4. Akciğer şarbonunun klinik, patolojik ve radyolojik belirtileri (17-25)

BELİRTİLER
• İlk evre: Sinsi başlangıç (1-4 gün) Halsizlik-yorgunluk, miyalji, kuru öksürük, göğüste sıkışma hissi ve ateş
• İkinci evre: Hızlı ilerleme (24 saat) Akut dispne, siyanoz, stridor, terleme, ateş, mediastinal hemoraji, meningismus, septik şok ve koma
• Fizik muayene Oskültasyonda krepitan raller ve plevral epanşmana ait bulgular
• Patoloji Hemorajik mediastinit, diffüz hemorajik lenfadenit, mediastinumda ödem, leptomeningeal ödem ve hemoraji, pulmoner ödem, plevral effüzyon ve hemorajik menenjit
• Radyoloji Mediastinal genişleme, plevral effüzyon ve pnömoni*
* Nadiren

c) Gastrointestinal şarbon : Enfekte hayvan etinin yeterince pişirilmeden yenmesi ile sindirim sistemine giren şarbon sporları terminal ileum ve çekum bölgesine yerleşir (1, 4, 21). Hastalık belirtileri genellikle 2-5 gün sonra ortaya çıkar (3,6). Mukozada gangrenöz karakterde lezyonlar oluşur, bölgesel (mezenterik) lenf bezlerinde tutulum ve hemorajik lenfadenit gelişir. Tüm bağırsak ödemlidir ve peritonit görülebilir. Hastada akut batın sendromu, ateş, bulantı, kusma, şiddetli karın ağrısı, distansiyon, kanlı ishal, batında hemorajik asit ve sepsise ait bulgular oluşabilir. Genellikle klinik ağır seyreder, hastalığın başlangıcından sonra, 2-4 gün içinde hemorajik asit, sepsis, septik şok ve ölümle sonuçlanır (1, 3, 4-7, 9, 11). Daha seyrek olarak lezyonlar orafarinkste de görülebilir ve hastada yutma güçlüğü, boğaz ağrısı oluşur, servikal LAP gelişebilir. Şarbon yaraları, sindirim kanalının her yerinde görülebilir (4, 6, 7, 21).

Akciğer veya intestinal şarbon olguları sıklıkla şarbon sepsisi ile birlikteyken deri şarbonunda

sepsis nadirdir. Sepsis esnasında basillerin meninklere yerleşmesi ağır hemorajik menenjit tablosuna yol açar (7, 11, 15, 19, 20).

G- Tanı

Deri şarbonunda tanı klinik olarak kolayca konulurken, diğer formların tanısını koymak oldukça zordur (1, 19, 21). Hastanın mesleği, enfekte bir hayvan veya hayvan ürünüyle teması gibi anamnez bilgileri tanıya yardımcıdır. Şarbonun biyolojik saldırı sonucu geliştiğini düşündüren bazı ipuçları bulunmaktadır (Tablo 5) (3, 4-6, 21, 24).

Tablo 5. Şarbon sporlarının salınımı durumunda vaka tanımları (21)

- >1 akciğer şarbonu olarak doğrulanmış vaka,
- Hayvan veya hayvan tüyleri ile rutin olarak temas öyküsü olmayan "deri şarbonu" olarak doğrulanmış >1 vakanın varlığı,
- Zaman ve özellikle rüzgar yönünü takip eden belli bir coğrafik bölge ile ilişkili olan bir alanda >2 şüpheli şarbon vakasının varlığı.

Kesin tanı, lezyonda etkenin görülmesi ve üretilmesi ile konur. Deri şarbonunda sağlam deri ile lezyon sınırındaki demarkasyon hattından hazırlanan materyalin Gram boyaması ile tek veya 2-3'ü uç uca gelmiş, keskin köşeli Gram pozitif çomaklar görülür (8, 26). Akciğer şarbonunda balgam ve plevral effüzyondan, bağırsak şarbonunda ise dışkıdan ve periton sıvısından direkt preparat yapılabilir. Deri şarbonunda şüpheli olgulardan deri ve akciğer şarbonundan şüphelenilenlerde plevral effüzyon, plevral biyopsi ve mediastinal lenf nodlarından immünohistokimyasal inceleme (IHK) yöntemi için biyopsi örneği alınabilir (24, 26- 29).

Şarbon tanısında en yararlı mikrobiyolojik yöntem kan kültürüdür. Kan dışında; plevral sıvı, plevral veya bronşiyal biyopsi veya deri örneğinden kültür yapılabilir (5, 7, 8). Akciğer şarbonu olgularında Gram preparat ve balgam kültürü, belirgin bir pnömoni yoksa tanıya yardımcı değildir (8, 21). Menenjit olgularında, BOS'tan direkt boyama ve kültür yapılabilir (26, 27).

Şarbon tanısında serolojik yöntemlerden de yararlanılabilir, ancak 2-4 hafta arayla alınan akut ve konvelesan serum örneklerinde PA'ya karşı gelişen antikorların saptanması şüpheli olgu veya temaslılarda tanının retrospektif olarak doğrulanmasını sağlamaktadır. Bu nedenle epidemiyolojik amaçla kullanılmalıdır (5, 6, 8, 26). İmmünokromatografik yöntem hasta serumlarında *B.anthraxis* PA'sını saptamada oldukça güvenilir ve duyarlı bir yöntemdir (5, 6). İmmünomagnetik elektrokemilüminesan tekniğiyle 0.1-1.0 pg/ml gibi oldukça düşük konsantrasyonlardaki antijenler saptanabilmektedir (30).

Hastalık veya sporlar ile temas sonrası alınan nazal örneklerin tanısız değerleri tam olarak bilinmemektedir. Negatif sonuçlar hastaların etkenle temas etmediklerini kesin olarak göstermez (26, 31).

B.anthraxis'in hızlı doğrulanması direkt floresan antikor (DFA) ve gamma fajı liziz yöntemi ile yapılabilir (8, 26-29). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi doğrulayıcı tanısız testlerle erken dönemde tanı konulabilir. Klinik ve çevresel örneklerde PCR yöntemi ile plazmid kaynaklı kapsül ve toksin virülans genlerini saptamak amacıyla çok farklı ticari sistemler geliştirilmiştir (31-34). Ayrıca, çevresel örneklerde hızlı tanı için immünokromatografik assay yöntemi kullanılarak sporların varlığı 5-15 dakika içinde saptanabilir. Bu yöntem ile en az 10^4 spor tespit edebilmektedir (3,5).

Akciğer şarbonunda, otopside torasik hemorajik nekrotizan lenfadenit ve mediastinit, plevral efüzyon ve %50 olguda hemorajik menenjit saptanır. Genellikle, pnömoni bulguları görülmez (17-23).

H- Tedavi

Şarbon tedavisinde seçilecek ilk ilaç penisilin ve türevleridir. Genetik manipülasyon yapılmamışsa antibiyotik dirençliliği olan bir bakteri değildir (6, 35). Penisilin allerjisi olanlarda, eritromisin, tetrasiklinler, kloramfenikol ve birinci kuşak sefalosporinler alternatif olarak seçilebilecek antibiyotiklerdir (1, 3, 6, 7). İn vitro siprofloksasinin de etkili olduğu gösterilmiştir. Buna karşın bakteri geniş spektrumlu (3. kuşak) sefalosporinlere ve

trimethoprim-sulfametoksazole dirençlidir (24,35).

Biyoterör amaçlı kullanılan şarbon basillerinin genetik değişikliklerle ilk seçenek olan penisiline dirençli hale geçirilmiş olabileceği varsayımıyla, 11 Eylül sonrasındaki şarbon olgularında siprofloksasin profilaksisi ve tedavisi tercih edilmiştir (3, 10, 21). Ancak, ABD'de biyoterörizm amaçlı kullanılan *B.anthraxis* izolatlarının penisilin, doksisisiklin ve siprofloksasine duyarlı oldukları saptanmıştır (35). Siprofloksasin veba ve tularemi gibi biyolojik terör amacıyla kullanılacak diğer bakteriyel ajanlara karşı da etkili olduğu için profilakside önerilen ilk seçenektir (3, 10, 11).

Deri şarbonu, şarbonun en ılımlı ve tedaviyle en kolay iyileşebilen şeklidir (1, 4, 6). Tedavi edilmeyen olgularda %10-20 oranında ölümlerle sonuçlanırken, uygun tedavi ile bu oran %1'in altına inmektedir. Deri şarbonunda 5-7 gün süre ile 1.600.000 Ü/gün prokain penisilin verilebilir. Malign ödem veya şarbon sepsisi olasılığı düşünülen olgularda gerekirse bu doz artırılır, 20-24 milyon ünite kristalize penisilin intravenöz yolla uygulanır (3, 5, 21, 35).

Deri şarbonunda malign püstül olgularında yaraya dokunmamak ana prensiptir. Lokal, antibiyotik içeren merhemlerin hiçbir etkisi yoktur. Sekonder enfeksiyonları engellemek için yaraya %0.1 rivanol gibi iritasyon yapmayan solüsyonlarla lokal pansuman yapılması ve gazlı bezle kapatılması yeterlidir. Bu işlemler yapılırken çevre ve sağlık personeli enfekte edilmemelidir (3, 5, 10, 21).

Pulmoner ve GİS şarbonu olgularında yüksek doz penisilin veya semisentetik penisilinler verilmeli, ayrıca şok ile mücadele edilmelidir. GİS şarbonu olgularında ölüm %25-75 arasında iken, akciğer şarbonunda bu oran daha yüksektir (%55-%90) (1, 3, 5, 7, 11, 20, 25).

I- Korunma

a) Aşı ve kemoproflaksi : Temas öncesi şarbonu korumak için aşı ve kemoproflaksi olmak üzere iki tür uygulama söz konusudur (3, 5, 21)

İnsanlarda kullanım için ABD Gıda ve İlaç Ajansı (FDA) tarafından lisanslı BioPort firması

(Lansing, Michigan) tarafından üretilen asellüler şarbon aşısı mevcuttur. Aşının insanları deri şarbonundan koruduğu sınırlı da olsa gösterilebilmiştir, ancak akciğer şarbonundan koruma düzeyi bilinmemektedir. *Rhesus* maymunları ile yapılan çalışmalarda iki doz aşılama sonrası bile çok iyi bir koruma sağladığı gözlenmiştir (1, 3, 5, 7, 9, 36, 37).

Aşının;

1. Laboratuvarlarda doğrudan mikroorganizma ile çalışanlara,
2. İthal hayvan derisi veya tüyleri ile çalışanlara,
3. Hastalığın sık görüldüğü coğrafyada potansiyel enfekte hayvan/hayvan ürünleri ile uğraşanlara,
4. Bakteriye maruz kalma riski yüksek veya biyolojik silah olarak kullanımı olası bölgelerde görevlendirilecek askeri personele uygulanması önerilmektedir.

Şarbon aşısı, ABD Ordusunda, 2 milyon civarındaki askeri personel ve ailesine görev aşısı (deployment vaccine) olarak uygulanmıştır (3, 10). Aşılama iki hafta ara ile üç doz subkutanöz yapılmasını takiben 6., 12. ve 18. aylarda ek enjeksiyonlar olmak üzere toplam altı dozdan oluşmaktadır. Daha sonra yıllık rapel dozlar önerilmektedir. Aşılananlarda enjeksiyon bölgesinde hafif hassasiyet ve kızarıklık gözlenebilir. Ciddi lokal reaksiyonlar nadirdir ve genellikle önkolda yaygın şişlik şeklindedir. Sistemik reaksiyonlar aşılananların %0.2'sinden daha azında oluşur (3, 5, 12, 21).

Bir diğer atenué aşısı eski SSCB'de geliştirilmişse de insanlar üzerinde kullanımına dair yeterli bilimsel kanıt mevcut değildir. Hayvanlara yönelik hazırlanmış şarbon aşısı insanlarda kullanılmamalıdır (4, 5, 10, 37).

Şarbonun biyolojik silah olarak kullanılması söz konusu değilse, insanlarda profilaktik antibiyotik kullanımı sınırlıdır. Sadece hayvanlar için hazırlanan canlı spor aşısının yanlışlıkla enjekte edildiği kişilere ve kontamine et yienlere uygulanmaktadır. Bu durumda profilaktik amaçla 5-7 gün penisilin verilmeli ve şahıslar 10 gün gözlem altında tutulmalıdır (3, 5-7, 21).

Şarbonun biyolojik silah olarak kullanılması durumunda temaslılara kemoproflaksi ve aşı

uygulanmalıdır. İnhalasyon yolu ile temas kuşkusu olanlara uygulanması önerilen kemoproflaksi Tablo 6'da verilmiştir.

Daha önce aşılınmış bireylerde aşılama şemasının tamamlanmış olup olmadığı önemlidir. Daha önce aşı uygulanmamış bireye, derhal aşı başlanır ve ilk üç doz uygulanır. Deneysel çalışmalar, antibiyotik ile birlikte üç doz aşı uygulamasının etkili olduğunu ve antibiyotik kullanım süresinin 60 günden 30 güne indirilmesini sağladığını göstermiştir. Eğer aşı için kontrendikasyon varsa, 60 gün süreyle kemoproflaksi uygulanmalıdır (1, 3, 5, 11, 20, 21).

b) İzolasyon ve karantina: Akciğer şarbonu insandan insana bulaşmadığı için hastaların izolasyonu gerekli değildir (4, 6, 13). Enfekte vücut sıvılarıyla (özellikle, deri şarbonunda direkt temasla) ile bulaşma riski bulunduğu hastayla temastan sonra ellerin yıkanması, klinik örnekler, hasta sekresyonları ve çıkartlarına eldivensiz dokunmama, müdahale esnasında sıçrama riskini ortadan kaldırmak için tek kullanımlık maske ve gözlük kullanımı, tüm vücudu örten önlük giyilmesi gibi standart korunma önlemleri alınmalıdır (1, 3, 5, 21, 26).

c) Arındırma, dezenfeksiyon ve sterilizasyon: Şarbon sporlarının biyolojik silah olarak kullanımında alınacak önlemler aşağıdaki gibi özetlenebilir (1, 3, 5, 10, 21, 25)

• Havadan kitlesel uygulamaya hedef olmuş kişide önlemler: Temaslılarda cilt dekontaminasyonu gereksizdir. Giysileri plastik poşete konulup kapatılmalı ve kendisi en yakın yerde yalnızca su ve sabun kullanarak duş almalıdır. Penisilin/siprofloksasin/doksisiklin ile 60 günlük antibiyotik profilaksisi gereklidir.

• Sporlarla direkt ve yoğun temas durumunda önlemler: Şüpheli posta materyali gibi sporlarla direkt ve yoğun temas durumunda, vücudun temas bölgesi (eller) %0.5 sodyum hipoklorit gibi bir sporisidal/bakterisidal solüsyon ile yumuşak bir fırçayla arındırılmalı ve bol suyla durulanmalıdır. Gözler su/serum fizyolojikle yıkanmalı, profilaktik antibiyotik başlanmalıdır. Sporlarla kontamine olan materyallerin üzerleri sporisidal

solüsyonla ıslatılmış petlerle kapatılmalı ve oda/bölüme giriş çıkış engellenmelidir.

• Hasta çıkartıları ve sekresyonu ile kontamine olan malzemelere dezenfeksiyon-sterilizasyon işlemi uygulanmalıdır. Dayanıklı yüzeylerde % 5 NaOCl, hassas yüzeyler ile insanlardaki arındırma işleminde 1/10 oranında sulandırılmış NaOCl (%0.5) kullanılabilir. Ancak deri şarbonunda yara altında bol miktarda spor bulunabildiği için kullanılan malzemelerin yakılarak veya yüksek doz antiseptiklerle (örneğin klorin veya gluteraldehit) dekontamine edilmesi gerekir. Kontamine materyaller otoklav

da sterilize edilebilir (3, 5, 8, 13). Aerosolizasyon oluşturmayacak şekilde kuaternal NH₄ bileşikleriyle dezenfeksiyon işlemi yapılabilir (26).

d) Defin işlemleri: Ceset torbası sıkıca kapatıldıktan sonra %5 NaOCl ile dekontamine edilmeli ve defin işleminde cesetin üzerine kireç kaymağı dökülmelidir. Otopside kişisel koruyucu kıyafet ile koruyucu gözlük ve maske gibi ekipmanlar kullanılmalıdır. Otopside kullanılan tüm tıbbi malzemeler basınçlı buhar ile steril edilmeli veya yakılmalıdır (3, 5, 10).

Tablo 6. Şüpheli veya doğrulanmış akciğer ve GİS şarbonunda tedavi ve temas sonrası kemoproflaksi önerileri (21)

		Vakalarının tedavisi (60 gün)	Temas sonrası kemoproflaksi (60 gün)
Erişkin Hamile	İlk seçenek	Siprofloksasin: 400 mg IV bid, takiben 500 mg per os bid	Siprofloksasin: 500 mg per os bid
Emzirme kesildikten sonra	Siprofloksasine alternatif	- Ofloksasin: 400 mg IV bid takiben 400 mg per os bid - Levofloksasin: 500 mg qqd günde tek doz, takiben 500 mg qqd	- Ofloksasin: 400 mg per os bid - Levofloksasin: 500 mg IV
	İlk seçenek tedaviye alternatif ve bu antibiyotiklere duyarlı olduğu kanıtlanırsa Proflekside ilk seçenek ajanlara alternatif	- Doksisiklin: 100 mg IV bid takiben 100 mg bid per os - Penisilin G: 2.4-3 milyon U IV, q.q.4h - Amoksisilin: 1g IV 3 tid, takiben 500 mg per os tid	- Doksisiklin: 100 mg bid per os - Amoksisilin: 500 mg per os tid
Çocuk	İlk Seçenek	Siprofloksasin: 10-15 mg/kg IV bid takiben 10-15 mg/kg per os bid - Doksisiklin: . >8 yaş ve > 45 kg: erişkin dozu . >8 yaş ve < 45 kg or < 8 yaş: 2.2 mg/kg IV bid takiben 2.2 mg/kg per os bid (maks. 200 mg/d) - Penisilin G: . > 12 yaş: 2.4-3 milyon U IV, q.q.4h . < 12 yaş: 30 mg/kg IV, qid	Siprofloksasin: 10-15 mg/kg per os bid - Doksisiklin: . >8 yaş ve > 45 kg: erişkin dozu . >8 yaş ve < 45 kg or < 8 yaş: 2.2 mg/kg per os bid (maks 200 mg/g) - Amoksisilin: 80 mg/kg/g per os tid
	Proflekside ilk seçenek ajanlara alternatif	- Amoksisilin 80 mg/kg/g IV tid, takiben 80 mg/kg/day per os daily tid	

IV : Damardan
tid : Günde üç kez

per os : Oral
qid : Günde dört kez

qqd : Günde bir
q.q.4h : 4 saatte bir

bid : Günde iki kez

VEBA

Vebe, *Yersinia pestis*'in oluşturduğu fatal seyirli akut bakteriyel bir enfeksiyondur (4). Dünyada bilinen en eski ve en tehlikeli zoonozlardan birisidir. *Y.pestis* doğada 200'den fazla serbest yaşayan kemirgende bulunabilir. Ana rezervuarları sıçan, sincap, bayır sıçanları, yabani tavşanlar ile bu hayvanlardaki bit-pire gibi ektoparazitlerdir (1, 4, 5).

Y.pestis, 1894 yılında Pastör Enstitüsü'nden bakteriyolog Alexandre Yersin tarafından, Hong Kong'daki bir vebe epidemisi sırasında keşfedilmiştir (38). *Y.pestis*, tarih boyunca neden olduğu üç büyük pandemi ile önemli kayıplara yol açmıştır. Vebe ile ilgili ilk kayıtlar, MS. 542 yılında Mısır'da başlayan ve kısa sürede tüm Avrupa'ya yayılan pandemiye aittir. Altmış yıl süren bu pandemide Kuzey Afrika, Avrupa, Orta ve Güney Asya'da nüfusun %50-60'ının (yaklaşık 100 milyon kişi) hayatını kaybettiği tahmin edilmektedir. Vebanın asıl korku yarattığı ve kara ölüm olarak adlandırıldığı ikinci büyük pandemi, 1346'da başlamış ve Avrupa nüfusunun dörtte birini oluşturan 20 ila 30 milyon kişinin ölümüne neden olmuştur. 1894 yılında Çin ve Hindistan'ı etkileyen üçüncü pandemi 12 milyondan fazla insanın ölümüyle sonuçlanmıştır. Bugün için gelişen hijyen koşulları, halk sağlığı uygulamaları ve antimikrobiyal tedavi olanakları vebanın neden olabileceği pandemi riskini ortadan kaldırırken, küçük ölçekli salgınlar dünya genelinde hala görülmeye devam etmektedir (3, 5, 38-41).

Vebe, temel olarak bubonik formda Afrika, Asya, Güney Amerika ve ABD'nin Güney-Batı sındaki kırsal bölgelerde görülmektedir (39). Tüm dünyada yılda 1000-6000 (ortalama 1500 olgu/yıl) arasında vaka görüldüğü tahmin edilmektedir (5, 40). 1997 yılında DSÖ'ye 14 ülkeden 274'ü ölümlerle sonlanan 5419 vaka bildirilmiştir (42).

A- Mikrobiyolojik Özellikleri

Y.pestis, Enterobacteriaceae ailesinde *Yersinia* genusunda yer alan Gram-negatif, hareketsiz, fakültatif anaerob, sporsuz bir bakteridir (8). Mikroorganizma; 1.5x0.7 µm boyutunda, kısa ve oval kokobasil morfolojisindedir. Enfekte dokulardan Wright, Giemsa ve Wayson

gibi boyalar ile bakterinin iki ucu koagüle ve ortası açık renkte gözlenir (bipolar, kutupsal boyanma özelliği veya çengelli iğne görünümü). Klinik örneklerden yapılan preparatlarda tek tek veya ikişer ikişer bir arada bulunurlar (8, 38, 39).

Y.pestis'in belirgin bir kapsülü bulunmamasıyla birlikte bakterinin dış yüzeyinde virülanlarla ilgili olduğu kabul edilen sümüksü bir tabaka yer almaktadır (39). Laktozu fermente etmeyen, üreaz ve indol negatif olan *Y.pestis* kanlı, MacConkey (MAC) ve deoksikolat agar gibi besiyerlerinde 28°C'de yoğun olarak ürer (26-28). Klinik örnekler için kanlı, çukolata veya beyin kalp infüzyon agar ve floralı ortamlardan alınan örnekler için MAC veya Cefsulidin Irgasan Novobiyosin (CIN) agar kullanılabilir. Kültürler 28-35°C'de %5 CO₂'li ortamda birkaç gün inkübe edilmelidir. Genellikle, 48 saatlik inkübasyondan sonra, gri-beyaz renkli, 1-2 mm çapında küçük, opak, mukoid S tipi koloniler oluşturur (38-41).

B- Dayanıklılık

Y.pestis, spor oluşturmadığı için dış ortam koşullarına çok dayanıklı değildir. Güneş ışığına ve ısıya karşı oldukça duyarlı olduğu için konak dışında uzun süre varlığını devam ettiremez (4,13). Ancak suda, nemli toprakta ve hububat içerisinde haftalarca canlı kalabilir. Donma noktasına yakın sıcaklıklarda aylarca hatta yıllarca canlılığını sürdürebilir. Ayrıca kurumuş balgam, pire dışkısı ve ölü vücudunda da bir süre canlılığını devam ettirebilir. Kimyasal dezenfektanlardan %0.5 fenolde 10-15 dakika ve 55°C'de 15 dakikada ölür (3, 5, 10, 38, 39, 41).

C- Hastalık Kaynağı ve Bulaşma Yolları

Y.pestis genellikle fare piresi (*Xenopsylla cheopis*) ısırığı ile insanlara bulaşırsa da, enfekte doku ile direkt temas veya akciğer tutulumu olan insan veya hayvanların solunum yollarından kaynaklanan aerosol ile de bulaşabilir. Diğer ektoparazitler de (deve piresi, bit, kene, mite ve kan emen diğer insektler) bakterinin insanlara aktarılmasında rol oynayabilirler (3-5, 39). Bir fare piresi kan emerken enfekte konaktan 300 kadar bakteriyi alır ve 3-9 gün içinde pireda bakteriler

çoğalır. Bir pire 20.000 kadar bakteriyi kan emerken yeni konağa verebilir (39-41).

Enfekte hayvanların derilerinin yüzülmesi sırasında direkt temas ve tavşan gibi enfekte hayvanların etlerinin tüketilmesi ile de hastalık gelişebilir. Akciğer tutulumunda damlacık yolu ile insandan insan bulaşma görülebilir (5, 38-41).

D- Patogenez

Y.pestis CO92 suşunun genomu yakın zamanda çözülmüştür. Bakterinin 4.653.728 bp uzunluğunda olan kromozomunda virülans faktörlerini eksprese eden üç tane plazmid bulunmaktadır. *Y.pestis*'in pCD1(pYV), pPCP1 (pPst) ve pMT1 (pFra) plazmidleri bir araya geldiklerinde, virülans ve patojenitesinden sorumlu proteinleri kodlayan HPI denen bir patojenlik adası oluştururlar (39-41). Bu üç plazmid tarafından kodlanan faktörler, bakterinin konak hücreye bağlanmasını, yapısal proteinlerini konağa aktarmasını ve bakterinin yayılmasını sağlarlar (43).

Y.pestis'in virülansını belirleyen faktörler şunlardır (39-41, 43, 44);

a) F1 antijeni: pMT1 plazmidi kapsül protein (fraksiyon 1) ve fare toksin genlerini içermektedir. Kapsülün bakterinin monositler tarafından fagositozunu önlediği kabul edilmektedir. Protein yapısında immünojenik bir molekül olan F1 antijenine karşı gelişen antikorlar koruyucudur.

b) Dış membran proteinleri (Yops): Uygun ısı ve Ca²⁺ iyon varlığında pCD1 plazmidi Yops virulon ve Ysc (veya Yersinia SeCretion) olarak isimlendirilen tip III sekresyon aparatını kodlamaktadır. Bakterinin iç ve dış membranlarında por oluşturan 29 farklı Ysc proteini vardır. Bakteri bir kez ökaryotik hücre ile temas ettiğinde dönüşümcü Yops ökaryotik hücrede por oluşturur. Etkileyici Yops bakteri ve ökaryotik hücre arasında oluşan kanallardan sitoplazmaya geçer. Hücreye giren en az altı farklı etkileyici Yops fagositoz, inflamasyonu inhibe ederken, makrofajlarda apoptozu indükler. Virülans için önemli olan bu proteinleri içermeyen bakteriler retikuloendotelial sistemde (RES) hızla temizlenmektedir.

c) VW antijenleri: pYV veya pCD1 plazmidi tarafından kodlanan V antijeni sitoplazmada bulunur ve tip III sekresyon aparatını ile ilişkilidir. W antijeni ise kapsül yapısında yer almaktadır. Düşük Ca²⁺ içeren ortamda sentezlenen bu antijenler bakterinin fagosite edilmesini engellemektedir. V antijeninin konak immün sisteminde baskılayıcı etkisi olabilir.

d) Dış membran protein "plazminojen aktivatör (Pla)": pPCP1 plazmidi tarafından kodlanan bir proteaz olan Pla koagülasyon ve kompleman aktivasyon yolu ile etkileşerek etkenin konakta yayılmasını sağlar.

e) Hemin depolama yeteneği: Bakteri tarafından Fe depolanması ve bakteri yüzeyini örterek konak savunma mekanizmalarından kurtularak konakta yayılmayı sağlar.

Enfeksiyonun oluşması için bir mutlaka bulunması gereken bu faktörler bakteri tarafından 37°C sıcaklıkta üretilirler. Bu nedenle, bakterinin yaşam çemberinde önemli yer tutan rezervuarlarında sentezlenemezler (39).

Y.pestis kanda bulunan monositlerin içinde yaşayabilir ve antijenlerini üretebilirse de, nötrofilin içinde yaşayamaz. Doğal ya da edinilmiş bağışıklık veya antijenlerine karşı üretilen opsonizan antikorlar yoluyla (40).

Y.pestis esas olarak bir kemirgen patojenidir. İnsanlar; etkeni enfekte fare pireleri tarafından ısırılarak alan tesadüfi konakçıdır. Mikroorganizma, pirelerin intestinal sisteminde canlı olarak kalır ve çoğalarak proventrikülerinde tıkanmaya neden olur. Bu tıkanma nedeniyle regürjitasyon gelişir ve pire emdiği kanın bir kısmını çıkartarak bakteriyi yeni konağa aktarır (4, 39, 40). Piredeki çoğalma esnasında kapsüller tabakasını kaybeden bakterilerin çoğu insanda PNL'leri tarafından fagosite edilerek öldürülür. Az sayıdaki mikroorganizma dokulardaki makrofajlar tarafından fagosite edilmesine rağmen öldürülemez. Bu şekilde makrofaj içinde korunur ve virülans faktörlerini sentezler. Makrofajın bakteri tarafından öldürülmesiyle serbest kalan bakteriler YopH and YopE gibi protein yapıları ile PNL fagositozuna dirençlidirler. Hızla lenf nodlarına ulaşan bakteriler, hastalığa siyah bubo adını veren şiş, kızarıklık, hassas ve hemorajik

LAP'ların gelişimine neden olurlar (5, 40, 41, 43).

İlk ısırmayı takiben birkaç saat içinde kan dolaşımına geçen bakteriler, RES ve akciğere ulaşırlar. Akciğerde şiddetli bakteriyel pnömoni gelişir ve etken öksürük ile büyük miktarlarda dış ortama atılır. Toplu yaşam, kötü hijyen ve hayvanlarla yakın temas nedeniyle epidemik olarak en sık görülen bubonik veba, baskın akciğer formuna dönüşebilir (4, 38).

E- Biyolojik Silah Olarak Önemi

Y.pestis biyolojik saldırı için iyi bir adaydır. Aerosol formda kullanıldığında primer akciğer vebası şeklinde oldukça büyük salgınlara neden olabilir. Kemirici popülasyonu enfekte edilerek de hastalığın insanlara yayılması sağlanabilir (3, 5, 10, 43).

Y.pestis dış ortam koşullarına oldukça duyarlıdır ve aerosol yolla salındığında dış ortamda yalnızca bir saat canlı kalabilir. Ancak kemirgenlerde oral, intradermal, subkutanöz ve IV yolla enfeksiyon gelişimi için 1-10 bakteri yeterlidir (3, 40, 43). İnsanlarda ise solunum yolu ile enfeksiyon gelişimi için 100-20000 bakteriye gerek olduğu tahmin edilmektedir (5, 19, 39).

Veba etkeni olan *Y.pestis*'in dünyanın hemen hemen tüm bölgelerinde görülmesi, kültür ortamında kolaylıkla üretilebilir olması, aerosol şeklinde yayılabilmesi ve bunun sonucunda yüksek morbidite ve mortalitesi olan pnömomik formda hastalığa yol açması biyolojik silah olarak kullanılan ajanlar listesinin başında yer almasına neden olmaktadır (1-3, 43). *Y.pestis* insanların tamamında hastalık oluşturabilir ve hastalığın geçirilmesi kısa süreli bir immünite yaratmaktadır. Ayrıca pnömoni formundaki epidemilerde sekonder yayılım yani insandan insana bulaşma ihtimali olması, biyolojik silah ajanı olarak seçiminde ön plana çıkmasını sağlamaktadır (3, 5, 39-41, 43).

ABD 1950 ve 1960'lı yıllarda *Y.pestis* ile saldırı amaçlı biyolojik silah olarak ilgilenmiş ve üretimini gerçekleştirmiştir. Ancak, biyolojik silah programının 1970'lerin başında sonlandırılması ile bu yöndeki çalışmalarının durduğu bilinmektedir (16). Bununla birlikte, eski SSCB'de 10'dan fazla enstitüde binlerce bilim adamı tarafından

veba üzerinde biyolojik silah amacıyla çalışıldığı, ayrıca biyolojik silah programı olan diğer ülkelerde de vebanın bu amaçla kullanıldığı bilinmektedir (3, 5, 16).

İlk kez, İkinci Dünya Savaşı sırasında Japon Ordusu'nun 731. üniti tarafından veba ile enfekte pirelerin Çin şehirlerinin üzerine defalarca atıldığı bilinmektedir (3,16, 43). Ancak bu yaklaşımın ne kadar etkili olduğu belirlenmemiştir. Yalnız, mikroorganizmanın daha kesin ve etkili olan aerosol formuna dönüştürülmesinin ABD ve SSCB tarafından gerçekleştirildiği bilinmektedir. Vebanın siviller açısından ciddi tehlike olarak algılanması 1995 yılında Ohio'da *Y.pestis*'i posta yolu ile yaymak üzere iken yakalanan Larry Wayne Harris'ten sonra olmuştur (16).

50 kg'lık *Y.pestis*, normal iklim koşullarında 500.000 kişinin yaşadığı yerleşim alanına 2 km'lik bir uçuşla havadan bırakılacak olursa 10 km'lik alana yayılacağı, 55.000 kişinin ölümüne ve 100.000'den fazla kişinin de etkilenmesine neden olacağı bildirilmiştir (3, 5).

F- Klinik Tablo

Etkenin konağa giriş yoluna göre bubonik veba, veba sepsisi ve akciğer (pnömonik) veba olmak üzere üç ana tablo karşımıza çıkmaktadır. Bu formların dışında, nadir olarak veba menenjit, farengial veba veya deri bulguları ile seyreden klinik tablolar görülebilir (1, 4, 38). ABD'de olguların %85-90'ında bubonik veba, %10-15'inde primer septik form ve %1'inde akciğer formu görüldüğü belirlenmiştir (Tablo 7) (19, 20).

Y.pestis biyolojik savaş ajanı olarak aerosol formda kullanıldığında akciğer vebası şeklinde karşımıza çıkar. Enfekte pirelerin kullanıldığı durumda ise bubonik ve septik form görülmektedir (3, 43).

a) Bubonik veba : Enfekte pire ısırığı veya ciltteki hasarlı bölgelerin enfekte hayvanların doku ve vücut sıvıları ile teması sonucu meydana gelir (1,12). İki ile on gün arasındaki inkübasyon süresini takiben ateş, titreme, baş ağrısı, eklem ağrısı, miyalji, halsizlik, bir veya birden fazla bölgede lenf bezlerinde büyüme ve ağrı gibi semptomlar ortaya çıkar. Bunlara bulantı, kusma, karın ağrısı sıklıkla eşlik eder (13, 15). Bubonlar

1-10 cm büyüklüğünde, cildi iten oval şişlikler olup, sıklıkla inguinal, aksiller ve servikal bölgede görülürler. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde

Tablo 7. Vebanın klinik karakteristikleri (25, 38-41, 43)

KLİNİK TANIMLAMA

- İnkübasyon süresi: 1-6 gün

Pnömonik (akciğer) Veba

- Ani başlayan şiddetli baş ağrısı, halsizlik, yüksek ateş, kusma, abdominal ağrı, diyare, göğüs ağrısı ve hemoptizi.
- Akciğer grafisinde multilober konsolidasyon, kavite veya bronkopnömoni.
- Septik şokla birlikte hızla solunum yetmezliği gelişimi

Bubonik Veba

- Ateş (38.5-40°C), titreme, baş ağrısı, güçsüzlük ve bubo.
- Sıcak, eritematöz, ve yapışkan deriyle çevrili etrafında ödemli bubo.

Septisemik Veba

- Septik şok, vaskülitte birlikte DIC, meningokoksemyi taklit eden siyanotik peteşi, purpura ve geniş ekimozlar,
- Küçük arterlerde tromboza bağlı vücudun uç bölgelerinde gangren (kara ölüm),
- Multi-organ yetmezliği
- Olguların %5'inde menenjit gelişimi.

ÖN TANI

- Örneklerin boyanması (Gram, Giemsa, Wright, Wayson vb. ile immünohistokimyasal)
- ELISA, DFA ve PCR

TANI

- Klinik örneklerden *Y.pestis*'in izolasyonu.
- *Y.pestis* F1 antijenine karşı gelişen spesifik antikorların gösterilmesi: çift serum örneğinde antikor titresinde belirgin (4 kat) artışın varlığı veya
- Aşı öyküsü olmayan bir bireyde tek örnekte $\geq 1:128$ titrede antikor varlığı
- Klinik örneklerden F1 antijeninin DFA yöntemiyle gösterilmesi.

TEDAVİ

- Akciğer vebası: negatif basınçlı odada izolasyon (mümkünse)
- İlk seçenek olarak gentamisin veya streptomisin ve alternatif olarak siprofloksasin
- Menenjit gelişen olgularda kloramfenikol kullanılmalı.
- Akciğer vebalı olgu ile yakın temas edenlerde (<2mt) doksisisiklin ve siprofloksasin ile 7 gün süreyle kemoproflaksi uygulmalıdır.
- Diğer antibiyotikler (kloramfenikol, sulfadiyazin, TMP-SMX vb) kullanılabilir.

ortaya çıkan vaskülit ve trombüsler nedeniyle hemoraji ve nekrozlar ortaya çıkar (1, 3-5, 39).

Bubonik vebanın toksik semptomlar olmaksızın, sadece LAP veya lokalize karbonküllerle seyreden hafif formu "Pestis minör" olarak tanımlanmaktadır. Bubonik vebalı hastaların %23'ünde sekonder septisemi, %9'unda sekonder akciğer vebası görülebilir. Tedavi edilmediğinde olgu-fatalite hızı %60 iken, tedavi edilenlerde %5'den azdır (3, 40, 41, 43).

b) Akciğer vebası : Primer olarak aerosollerin inhalasyonu veya sekonder olarak hemotijen yol ile yayılım sonucu oluşur. Primer akciğer vebasında, birkaç saat ile 1-2 gün arasında değişen bir inkübasyon süresini takiben yüksek ateş, baş ağrısı, myalji, güçsüzlük ve akciğer belirtileri (göğüs ağrısı, prodüktif bir öksürük, takipne, dispne, hipotansiyon ve solunum güçlüğü) gelişir (4, 13, 23). Başlangıçta tek bir lob tutulmuş iken, hızla akciğerin diğer lobları da olaya katılır ve ARDS gelişir. İlk dönemde mukoid olan balgam, daha sonra çok sayıda bakteri içeren ince kanlı bir forma dönüşür. Göğüs grafisinde sıklıkla bilateral alveolar infiltrasyon görülür. Son evrede kalp-dolaşım bozukluğu nedeniyle şok gelişir (5, 15, 19, 23). Hastalara ilk 18 saat içinde tanı konulamaz veya uygun tedavi başlanamaz ise genellikle 1-6 gün içinde kaybedilir. Erken tedaviyle bile ölüm oranı yaklaşık %10-20'dir (3, 5, 10, 40, 43).

c) Septisemik veba: Tedavi edilmemiş bubonik veya akciğer vebasının bir komplikasyonu olarak LAP gibi herhangi bir belirti olmaksızın gelişir (1, 4). Klinik belirti ve bulgular diğer Gram negatif bakteri septisemilerinden ayırt edilemez. Tedavi edilmezse %100 fataldir (1, 5, 13, 39).

d) Diğer formlar: Veba menenjiti, bubonik vebanın yetersiz tedavi edilmesine bağlı bir komplikasyon olarak gelişir. Farengial veba oldukça nadirdir ve bakteri ile oral veya aerosol yolla temas sonucunda gelişir. Fizik muayenede, tonsillerde hipertrofi, ön servikal LAP ve parotiste şişlik gözlenir. Nadir bir form olan primer kutanöz veba, deri ve müköz membranlarda püstül, karbonkül ve nekrotik odaklarla karakterizedir (4, 38-41).

Hastalığı takiben uzun süreli fakat kalıcı olmayan bir başışıklık gelişir (38, 43).

G- Tanı

Vebanın, özellikle pnömoni formunun nadir görülmesi, hastalığa tanı konulmasının önündeki en önemli engeldir. Bu nedenle hızlı bir ilerleme gösteren LAP veya akciğer bulguları varlığında veba olasılığının düşünülmesi tanıya olanak sağlar (1, 24, 25).

Bugün için hava yolu ile yapılabilecek biyolojik silah saldırılarını tespit edebilecek erken uyarı sistemleri genellikle askeri amaçlı olduğu için kullanımları yaygın değildir (3, 5, 10). Hastalığın görülmediği bir bölgede doğrulanmış tek bir vaka veya hayvanlarla temas öyküsü olmayan doğrulanmış tek vaka yada özellikle coğrafik olarak ilişkili belirli bir rüzgar yönünde, zaman ve yer olarak bağlantılı >2 şüpheli vakanın varlığı biyolojik saldırı yönünde ipuçlarıdır (3, 13, 15, 43).

Y.pestis'in yüksek bulaşıcılığı nedeniyle Biyogüvenlik düzey (BGD)-3 laboratuvar koşullarında çalışılması gereklidir (8, 26). Hızlı seyir gösterdiği ve fatal seyrettiği için en kısa zamanda tanı konulmalıdır. Şüpheli olgularda, boyama ve kültür için kan, solunum yolu örnekleri (balgam, BAL, bronşiyal yıkama, trakeal ve bronşiyal aspirat, akciğer doku biyopsisi gibi), BOS veya lenf bezi aspiratı gibi örnekler alınmalıdır. Otopsi için lenfoid, akciğer ve kemik iliği örnekleri alınabilir (5, 8, 26, 27).

Alınan örneklerden hazırlanan yaymalar, Gram, Wright-Giemsa veya Wayson boyaları ile boyanarak bipolar boyanma özelliği açısından değerlendirilir. Bipolar boyanma özelliği en belirgin olarak Wright-Giemsa boyasında saptanırken, Gram boyamada belirgin olmayabilir (8, 38). Bu boyama yöntemleri spesifik olmadığı için F1 kapsüleri antijenine karşı floresan boyama yöntemi geliştirilmiştir (28,29). Gram boyama gram reaksiyonu ve morfolojiyi değerlendirmek için mutlaka uygulanmalıdır (39). Kesin tanı, bakterinin izolasyonu veya moleküler yöntemlerle genetik materyalin gösterilmesi ile konulabilir. Bu amaçla alınan örnekler kanlı agar, beyin kalp infüzyon agara (BHI) veya florali ortamdan alınan örnekler ise MAC veya CIN agara örnekler

ekilmelidir. Üreyen kolonilerden lam aglütinasyon ve spesifik faj lizisi ile *Y.pestis*'in kesin tanısı konulabilir. Ancak, bu doğrulayıcı testler sadece az sayıdaki referans merkezlerinde uygulanabilmektedir (3, 8, 26, 27).

Klinik örneklerde F1 antijeninin DFA ve ELISA ile saptanması hızlı bir ön tanı yöntemidir. Ancak vebanın erken tanısı için kullanılabilecek antijen saptama, ELISA ve immün boyama yöntemleri gibi hızlı laboratuvar tanı yöntemleri rutin kullanıma sunulmuş değildir (27-30, 38, 41).

Formalin ile tespit edilmiş doku örneklerinde hematoksilen-eosin, gümüşleme ve Giemsa boyası ile etken gösterilebilir, ancak basilin spesifik tanımlanması immün histokimyasal boyama, DFA veya PCR ile mümkündür (29, 38).

Biyolojik saldırı olasılığında şüpheli yerden alınan toz, kağıt, mendil ve toprak gibi çevresel örneklerden PCR ile *Y.pestis*'in DNA'sı araştırılabilir (30-34). Toz gibi çevresel örneklerde hızlı tanı amacıyla immünokromatografik assay yöntemiyle etken 5-15 dakika içinde tespit edilebilir. Çevresel ve hayvan dokuları gibi kontamine örneklerden deney hayvanlarına inokülasyon yapılarak, ölen hayvanların kan ve doku örneklerinden histopatolojik ve kültür yöntemiyle bakteri aranabilir (3, 5, 26, 27, 38, 43).

Y.pestis'in serolojik tanısında hastalığın 5-10. gününden itibaren kapsüleri F1 antijenine karşı gelişen antikorlar, lateks aglütinasyon, pasif hemaglütinasyon (PHA), CF, ELISA ve RIA yöntemiyle saptanabilir. Klasik teknik olan PHA yönteminde, 1:10'un üzerindeki titrelere veba tanısını destekleyen önemli bir bulgudur (3, 5, 43, 39, 41).

Enfeksiyonun hızla gelişmesi ve fatal seyirli olması nedeniyle serolojik testler sadece tanıyı destekleyicidir ve genellikle epidemiyolojik amaçlı kullanılmaktadır. Epidemiyolojik ve klinik olarak veba düşünülen şüpheli/olası vakalarda 1-2 hafta arayla alınan serum örneklerinde antikor titre artışının gösterilmesi tanıyı destekler. Ancak, bazı durumlarda F1 antijeni yeterli miktarda oluşmadığı için belirgin bir antikor yanıtı oluşmayabilir (10, 39, 40, 43).

Diğer laboratuvar incelemelerinde; özgün olmayan PNL hakimiyeti, beyaz küre yüksekliği,

hafif dissemine intravasküler koagülopati bulgusu olarak değerlendirilebilecek fibrin yıkım ürünlerinin yüksekliği ve multi organ yetmezliğine bağlı AST, ALT, bilirubin, BUN ve kreatin yükseklikleri görülebilir (4, 5, 19, 23, 25).

H- Tedavi

Eğer tedavi uygulanmazsa mortalitesi yüksek olduğu için, şüpheli temas durumunda veya şüpheli vakalarda hemen tedaviye başlanmalıdır (1, 4). *Y.pestis*'e karşı aminoglikozitler (streptomisin veya gentamisin), doksisiklin, kloramfenikol, siprofloksasin, sulfadiazin, TMP-SMZ etkilidir (5, 38). Tedavide ilk tercih olarak 10-14 gün süreyle streptomisin veya gentamisin verilir. Alternatif olarak günümüzde siprofloksasin önerilmektedir. Doksisiklinden ikinci seçenek olarak kullanılabilir. Menenjit gelişen olgularda kloramfenikol kullanılmalıdır. Tedavide B-laktamlar etkisizdir (39-41, 43).

Korunma

a) Aşı ve kemoproflaksi: Formaldehid ile inaktive tüm hücre aşısı 1946 ile 1998 yılları arasında kullanılmıştır. İnaktive *Y.pestis* aşısı bubonik vebaya karşı koyucu iken, primer pnömoni veya biyolojik silah olarak kullanılan *Y.pestis* ile gelişen pnömoni veya sepsisi önlemede etkisizdir (3, 5, 45). Bu aşı 18-61 yaş arasındaki endemik yörelerde görev alacak askeri personel ile *Y.pestis*'le çalışan laboratuvar personeli gibi risk gruplarına uygulanmıştır. Uzun süre koruyuculuğu olmadığı için başlangıçta 1 ml SC, 1. veya 3. ayda 0.2 ml ikinci doz, 5 veya 6. ayda 0.2 ml üçüncü doz ve her altı ayda bir 0.2 ml rapel şeklinde olmak üzere sık aralıklarla uygulanması gereken aşının bubonik tip için koruyuculuğu %92'dir. Aşıya bağlı şiddetli inflamatuvar reaksiyonlar görülmüştür (10, 45).

Günümüzde, primer pnömoniyeye karşı etkili bir aşı bulunması için çalışmalar devam etmektedir. USAMRIID tarafından üzerinde çalışılan rekombinant F1-V (füsyon proteini) antijenine yönelik aşının, fareleri bir yıl boyunca inhalasyonla karşılaşma durumunda hastalıktan koruduğu gözlenmiştir. Bugün aşı ile ilgili

çalışmalarda bir sonraki basamak olan primatlar üzerindeki denemelerin yapıldığı bilinmektedir (45, 46).

Eğer biyolojik silah olarak *Y.pestis* kullanılacağına yönelik istihbarat varsa siprofloksasin veya doksisiklin ile kemoproflaksi başlanabilir (3, 43).

İnhalasyon sonrasında pnömonik veba gelişmiş kişilerle ev, hastane veya diğer kapalı alanlarda temas etmiş olan asemptomatik kişilere yedi gün süre ile temas sonrası kemoproflaksisi uygulanmalı ve ateş, öksürük, solunum sıkıntısı yönünden de gözlem altında tutulmalıdır (1, 5). Veba için yakın temas; hasta ile iki metreden daha yakın bir mesafede bulunma olarak tanımlanmaktadır (3, 10). Temas sonrası profilaksi amacıyla 7 gün süreyle doksisiklin, siprofloksasin, tetrasiklin, TMP-SMZ ve kloramfenikol kullanılabilir. Temas sonrası kemoproflakside doksisiklin ilk seçenek olarak önerilmektedir (3, 25, 43). Kinolonlar kullanım kolaylıkları ve akciğer tutulumuyla seyreden biyolojik silah ajanlarına yüksek etkinlikleri nedeniyle alternatif olarak önerilmektedir. Profilaksi sırasında ateş ve öksürük gelişen kişilerde parenteral tedaviye geçilmelidir (1, 3, 5, 19, 25, 43).

Damlacık enfeksiyonu için alınan standart önlemler veba için de geçerlidir. Ayrıca hasta için ayrı oda sağlanmalı, yerinden oynatılmamalı, gerektiğinde hastaya maske takarak transportu sağlanmalı ve laboratuvarında BGD 2/3 güvenlik kabini kullanılmalıdır (10, 36, 43).

b) İzolasyon ve karantina: Akciğer vebalı olgulardan insandan insana bulaşın önlenmesi için antibiyotik tedavisi başladıktan 4. güne kadar standart izolasyon önlemleri uygulanmalıdır. Diğer klinik formlar için, antimikrobiyal tedavinin 48. saatine kadar hastalar izole edil- melidir (3, 5, 19, 20, 43). Solunum yolu ile bulaş ihtimali olduğu için solunum yolu izolasyon kurallarının ve standart (eldiven, önlük, göz koruyucu gözlük gibi) izolasyon yöntemlerinin de uygulanması gereklidir. Cerrahi maske kullanımının bulaş riskini önlemede yeterli olduğuna dair literatürde veriler bulunmaktadır. Bu nedenle, hasta kişilerle yakın temasta

bulunan ve antimikrobiyal profilaksi başlanan kişilerin 48 saat süre ile cerrahi maske takmaları hastalığın yayılımının önlenmesinde etkili olacaktır (1, 3, 5, 39, 43).

Yeterli negatif basınçlı odanın bulunmadığı durumlarda pnömonik vebalı hastalar aynı odada izlenebilir. Hastanın taburcu edilmesinden sonra odanın temizliği için standart yöntemler yeterlidir. Herhangi bir nedenle transportları gerektiğinde hastaların cerrahi maske takmaları uygun olacaktır (3, 5, 43).

c) Arındırma, dezenfeksiyon ve sterilizasyon: *Y.pestis* ısı ve dezenfektanlara duyarlıdır. Arındırma işlemi sabunlu su ile yapılabilirse de ideal olarak %2-5 NaOCl solüsyonu kullanılmalıdır. Hastanın enfekte materyalleri ve çıkartlarıyla kontamine olmuş malzemelere temas önlenmeli ve derhal dezenfeksiyon-sterilizasyon işlemi uygulanmalıdır (5, 10, 39). Aerosolizasyona neden olmadan kuaternal NH₄ bileşikleriyle dezenfeksiyon işlemi yapılabilir (26).

d) Defin işlemleri: Ceset torbası sıkıca kapatıldıktan sonra %5 NaOCl ile dekontamine edilmelidir. Sekonder bulaşma olasılığı nedeniyle otopsi önerilmemektedir. Eğer yapılacaksa aerosolizasyonu engellemek için negatif basınçlı özel bölümde yapılmalı, kişisel koruyucu kıyafet, koruyucu gözlük ve maske gibi ekipmanlar kullanılmalıdır. Otopside kullanılan tüm tıbbi malzemeler basınçlı buhar ile steril edilmeli veya yakılmalıdır (3, 5).

TULAREMİ

Tularemi, *Francisella tularensis*'in neden olduğu kuzey yarım küreye özgü bir zoonozdur (4). Hastalık, Japonya ve Rusya'da 1800'lü yıllardan beri bilinmesine rağmen, 1911 San Francisco depreminden sonra McCoy tarafından Kaliforniya'nın Tulare bölgesinde sincaplarda görülen veba benzeri bir hastalık olarak tanımlanmış ve bakterisi izole edilmiştir. Avrupa ve SSCB'de 1930 ve 1940'da kontamine suya bağlı salgınların görülmesi hastalığın epidemik özellikler taşıyabileceğini göstermiştir (47).

Dış ortam koşullarına oldukça dayanıklı olması, çok düşük sayıda bakterinin hastalığa neden olabilmesi (deri altından 10 ve akciğer yoluyla 10-50 bakterinin enfeksiyon oluşturabilmesi), kolay dağılabilmesi ve oluşturduğu klinik tabloların ciddiyeti nedeni ile tercih edilen biyolojik silah ajanları arasındadır (1, 3, 5).

A- Mikrobiyolojik Özellikleri

F.tularensis, küçük (0,2 x 0,7µm boyutlarında), aerop, hareketsiz, spor oluşturmayan pleomorfik Gram negatif kokobasildir (48). Gram veya Giemsa ile boyandığında bipolar soluk boyanan kokobasil görünümündedir. Çok küçük olması ve zayıf boyanması nedeniyle kültürden veya dokudan hazırlanan preparatlarda görülmesi son derece zordur. Bu nedenle hastalığın laboratuvar tanısında Gram boyamanın değeri sınırlıdır (8, 26, 27).

Klinik örneklerden izole edildiğinde lipidden zengin ince lipopolisakkarit bir kapsülü vardır. Tek başına toksik veya immunojen özellik göstermeyen kapsül, kanda yaşama özelliği sağlayarak virülsanda rol oynamaktadır (48, 49).

F.tularensis'in taksonomik yeri biraz karışıktır ve sıkça değişmiştir. Bakteri başlangıçta *Bacterium* genusuna, sonrasında *Pasteurella* genusuna, daha sonra da *Brucella* genusuna dahil edilmiştir. Yapılan genotipik, fenotipik ve hücre duvarı analizleri, *F.tularensis*'in bu genuslarla ilişkisinin olmadığını göstermiş ve 1960'lı yıllarda *Francisella* yeni bir genus olarak kabul edilmiştir (48).

Francisella türlerinin sınıflandırılması üreme, biyokimyasal, virulans ve genotipik özelliklerine göre yapılmaktadır. *F.tularensis* alt türlerinin hepsi insan enfeksiyonları ile ilişkili olmakla birlikte tularensis ve holarctica alt türlerine bağlı enfeksiyonlar daha sık görülmektedir (4).

Günümüzde kullanılan terminolojiye göre; *F.tularensis*'in dört subgrubu vardır (4, 5, 47-50):

a) *F.tularensis subsp. tularensis*: Eski adı *F.tularensis* A (Jellison tip A) veya *F.tularensis subsp. nearctica*'dir. İnsanlar için en virulan suştur. Enfeksiyon gelişimi için 10 CFU'dan az bakteri bile yeterlidir. Esas olarak Kuzey

Amerika'da bulunur ancak 1998 yılında Avrupa'da da bildirilmiştir. İnsanlara bulaşma genellikle kene ve tavşanlar aracılığıyla olur. Gliserolü fermente etmesi ve sitrulin üredaz aktivitesinin varlığıyla *F.tularensis* subsp. *holarctica*'dan ayrılır.

b) *F.tularensis* subsp. *holarctica*: Eski adları; *F.tularensis* B (Jellison tip B) veya *F.tularensis* subsp. *paleaartica*'dır. Tavşanlarda hastalık yapmaz ve insanlarda yaptığı hastalık daha hafif seyirlidir. Kutanoz formda ölüm %0,5'ten azdır. Primer olarak Avrupa, Sibirya, Uzak Doğu, Kazakistan ve Kuzey Amerika'da izole edilmektedir. Daha çok su kaynaklı salgınlardan sorumludur. Bunun yanında kene ve sivrisinekler aracılığıyla da bulaşabilir.

c) *F.tularensis* subsp. *mediaasiatica*: Primer olarak Orta Asya'da bulunur. Virulansı zayıftır, insan ve tavşanlarda hafif hastalık yapar.

d) *F.tularensis* subsp. *novicida*: Primer olarak Kuzey Amerika'da bulunur. Virulansı zayıftır.

Francisella türleri rutin besiyerlerinde (kanlı agar, MAC vb) üremezler. Üremeleri için sistin veya sistein ile zenginleştirilmiş besiyerlerine gereksinim duyarlar. Bu amaçla en çok kullanılan, sistein-glukozlu kanlı agardır. Sisteinle zenginleştirilmiş % 9 koyun kanı içeren sistein kalp infüzyon agar (CHAB) ve seçici olmayan buffered charcoal-yeast extract agar (BCYE) izolasyon için kullanılan diğer besiyerleridir. Besiyerine penisilin, polimiksin B ve sikloheksimid gibi antibiyotiklerin eklenmesi kontamine materyallerden *F.tularensis*'in izolasyonunu arttırabilir (8, 48-50). Floralı ortamdan bakteri izolasyonu olasılığını arttırmak için modifiye Thayer-Martin besiyeri de kullanılabilir. *F.tularensis*, zorunlu aerob bir bakteridir, ancak %5-10 CO₂ varlığında daha kolay üremektedir. Optimal üreme ısısı 35°C'dir. 28°C'de zayıf üremesi bu ısıda kolayca üreyebilen *Yersinia pestis*, *Francisella philomiringia* ve *F.tularensis* subsp. *novicida*'dan ayrımında önemlidir (4, 5, 48).

İlk izolasyonda yavaş ürerken (3-7 gün), pasajlarda 2-3 günde ürer. *F.tularensis* CHAB besiyerinde 35°C'de, 2-5 günlük inkübasyon sonunda 2-4 mm çapında, yeşilimsi beyaz renkte, hafifçe mukoid görünümlü S tipi koloniler oluştu-

dur. Kanlı agar besiyerinde koloni çevresinde ince bir alfa hemoliz zonu gelişir. Sıvı besiyerlerinde üremesi daha zordur ve 3-7 günde belirgin bulaşıklık oluşur (8, 26, 27, 49). Besiyerinde üreyen kolonilerden identifikasyon ve subtip ayırımı lam aglutinasyonu, DFA, PCR ve hücresel yağ analizi ile yapılabilir (29, 48). Spesifik antiserumlarla da tanı doğrulanabilir. Spesifik antiserumlar, *F.tularensis* subtiplerinin *F.novicida*'dan ayrımında yararlıdır. Antijenik farklılıkları olmadığından antiserumla *F.tularensis* ve *F.holarctica* birbirinden ayırt edilemez (48, 49). *F.tularensis*'in identifikasyonunda otomatize sistemler güvenilir değildir (48). Bakteri; tularemi ülserinden, lenf nodu aspirat veya biyopsilerinden, balgamdan, kemik iliğinden ve karaciğer/dalak biyopsilerinden izole edilebilir. Kan kültüründe nadiren üretilir (3, 5, 8, 26, 27). Ancak otomatize kan kültürü sistemleri izolasyon olasılığını arttırmaktadır. *F.tularensis* subtipleri oksidaz negatif, katalaz zayıf pozitifdir. Hemen tüm suşlar beta-laktamaz salgırlar (48,49).

F.tularensis enfektif dozunun çok düşük olması ve aerosol yolla bulaşması nedeniyle BGD-3 laboratuvarında çalışılmalıdır. Şüpheli örneklerle çalışılıyorsa BGD-2 koşulları yeterli olabilir (5, 8, 26, 51).

B- Dayanıklılık

F.tularensis dış ortam koşullarına oldukça dayanıklı olup, özellikle sudaki serbest yaşayan amipler (*Acanthamoeba castellanii*) içinde yaşamını sürdürebilir. Bu özelliğinin su kaynaklı epidemilerde ve hastalığın bölgesel devamlılığında önemli olduğu kabul edilmektedir (48). Suda, toprakta, hayvan leşlerinde ve atıklarında aylarca, samanda altı ay ve -15°C'de dondurulmuş tavşan etinde yıllarca canlı kalabilmektedir (48-50). Tularemi, insandan insana bulaşmadığından hasta ile temas edilmesi veya aynı ortamda bulunulması risk taşımaktadır (47,51).

C- Hastalık Kaynağı ve Bulaşma Yolları

Doğal yollarla gelişen tularemi, Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'nın birçok kesimlerinde görülmekle birlikte özellikle Orta ve Kuzey Avrupa'da, İskandinav ülkelerinde daha sık olarak bildirilmektedir. Ön planda kırsal alanda yaşayan-

ların hastalığı olarak görülmekle birlikte, nadiren şehirlerde yaşayanlarda da görülmektedir (4, 47). Bu dağılımda, *F.tularensis*'in ana konağının; tarla faresi, kır sıçanı, su sıçanı, tavşan gibi küçük memeli hayvanlar oluşu önem taşımaktadır (48). Hayvanlar hastalığı; sıklıkla tatarcık, kene, sivrisinek gibi vektörlerin ısırması sonrasında alırlar. Hastalık insanlara pek çok farklı yolla bulaşabilir; vektör böcekler tarafından ısırılma en sık tespit edilen bulaşma şeklidir. Ayrıca, enfekte hayvanla direkt temas, enfekte hayvan dokularıyla temas veya bunların gıda olarak alınması, kontamine suyun tüketilmesi, inhalasyon yoluyla enfekte partiküllerin alınması da hastalığa neden olabilir (1, 3, 4, 5, 51). Laboratuvarda *F.tularensis* ile çalışanlar da çok az sayıda mikroorganizma ile hastalık gelişebildiği için için risk altındadır. Bugün için insandan insana bulaştığı gösterilmediğinden hasta ile temas edilmesi veya aynı ortamda bulunulmasının riskli olmadığı kabul edilmektedir (3, 47, 48).

D- Patogenez

F.tularensis; bilinen en enfeksiyöz bakterilerden birisidir ve hastalığın oluşması için 10 bakterinin inokülasyonu veya inhalasyonu yeterlidir (5, 50). *F.tularensis*'in virülans mekanizmaları tam olarak saptanamamışsa da genel olarak kapsül ve strulin üreidaz aktivitesi ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Bakterinin bilinen bir ekzotoksini yoktur (10, 49, 51).

F.tularensis fakültatif intrasellüler bir mikroorganizmadır. Diğer hücre içi bakterilerde olduğu gibi makrofaj sitozolünde fagozomal yapıyı parçalar ve çoğalır. Fagozomun parçalanması ve hücre içinde bakterinin çoğalması için *F.tularensis* tarafından sentezlenen iki önemli yapı tanımlanmıştır (5, 48-51).

a) Hemolizin : *F.tularensis* fagozomun yıkılmasını kolaylaştıran farklı hemolizinler sentezler. Biovar novicida dışındaki diğer suşlar tarafından sentezlenen ve hemolizin işlevi gören asit fosfolipaz C AcpA buna bir örnektir.

b) IgIC : 23-kD'luk bu proteinin ekspresyonu fagozomun parçalanması ve hücre içi çoğalma için gereklidir. Bu proteini içermeyen mutant

suşlar makrofajlar tarafından hızla öldürülürler.

F.tularensis, virülans faktörlerinin sekresyonuyla ilişkili bazı ATP bağlayan kaset (ABC) proteinlerine sahiptir. *F.tularensis* tip IV piliyi kullanarak konak hücreye bağlanır ve fagozite edilir. Pili yapısı içermeyen mutant suşlar patojenitesini önemli ölçüde kaybeder (48, 52).

F.tularensis'in, enfekte hücrelerdeki uyarı sinyallerini bloke ederek immün yanıtı engellediği ve bu şekilde konak bağışıklık yanıtından kurtulduğuna yönelik *in vitro* veriler bulunmaktadır. Bağışıklık yanıtındaki ters düzenlenme etkisi için IgIC protein yapısına ihtiyaç vardır (52).

F.tularensis son derece virulan bir bakteridir. Genel olarak, derideki gözle görülmeyen küçük sıyrıklar, konjonktiva gibi muköz membranlar, GIS ve solunum sisteminden vücuda girer. Bakterinin enfeksiyöz dozu giriş yerine bağlıdır. İntra dermal veya inhalasyonla alınan 10-50 bakteri enfeksiyon gelişimi için yeterlidir (1, 3, 4).

F.tularensis, ciltten veya mukozal yüzeylerden giriş yaptıktan sonra lokal olarak çoğalmaya başlar. Buradan bölgesel lenf bezlerine ulaşır ve burada çoğalmayı sürdürür. Lenfo-hematojen yolla tüm vücuda yayılarak, lenf nodları, akciğer ve plevra, karaciğer, dalak ve böbrek gibi doku ve organlara yerleşir. Bu nedenle hastalığın erken döneminde kandan izole edilebilir (8, 26, 27, 29, 47).

Enfeksiyona karşı ilk inflamatuvar yanıtla birlikte çok sayıda PNL ve makrofaj lezyon bölgesine gelir. Bir süre sonra epiteloid hücreler, dev hücreler ve lenfositler de inflamasyona katılır. Fakültatif intrasellüler bir mikroorganizma olduğu için makrofaj, hepatosit ve endotelial hücre içerisinde üremeye devam edebilir. Sonuçta, enfekte dokularda süpüratif bir nekroz gelişir. Bu süpüratif nekroz bir süre sonra granülatöz bir form kazanır (47, 49). Histopatolojik incelemede; santral nekroz ve çevresinde çok çekirdekli hücrelerden (epiteloid hücreler, multinükleer dev hücreler ve fibroblast) oluşan bir yapı gözlenir. Bu histopatolojik özellikleri nedeniyle tularemi sıklıkla tüberküloz ve sarkoidoz gibi diğer granülatöz hastalıklarla karışır. Bakteri dokuda uzun süre canlılığını sürdürebilir ve hastalığın nüks etmesine sebep olur (5, 48).

Hastalığın 2-3. haftasında *F.tularensis*'e karşı gelişen IgM, IgG ve IgA tipi antikorlar tek başına enfeksiyonu önlemek için yeterli değildir. Hastalığın tam olarak iyileşmesi için hücrel immünitenin yardımına ihtiyaç vardır (3, 5, 10, 51).

E- Biyolojik Silah Olarak Önemi

F.tularensis'in biyolojik silah olarak geliştirilmesine yönelik ilk çalışmalar 1930'lu yıllarda başlamıştır (10, 16). İlk biyolojik silah üretimi ve denemeleri Japon Ordusu tarafından 1932-1945 yılları arasında Manchurya'da gerçekleştirilmiştir. Ayrıca II. Dünya Savaşı sırasında Doğu Avrupa'da Alman ve Rus Askerleri'nde görülen farklı klinik tularemi formlarının, *F.tularensis*'in Ruslar tarafından askeri saldırı amaçlı kullanımına bağlı olabileceği öne sürülmüştür (16). Savaş sonrası farklı ülkelerde *F.tularensis* üzerindeki çalışmalar devam etmiş ve 1960 yılında ABD Silahlı Kuvvetleri tarafından silah haline getirilmiştir. Günümüzde tularemi üzerindeki çalışmalar ABD'de halen devam etmektedir. Ancak bu çalışmalarda amaç; hastalığın patofizyolojisinin anlaşılması, aşı geliştirilmesi ve olası saldırı durumlarında koruyucu önlemler alınmasına yönelik olduğu belirtilmektedir (5,10, 51).

Eski SSCB'de *F.tularensis* üzerindeki çalışmaların 1990'lı yılların başına kadar devam ettiği ve bugün için kullanılan antibiyotiklere dirençli, geliştirilmekte olan aşularla oluşacak immün cevaptan etkilenmeyecek bir suş ile silah oluşturdukları iddia edilmektedir (16).

F.tularensis'in biyolojik silah olarak aerosol formda ortama verilebileceği gibi, gıda veya küçük su kaynaklarına yönelik sabotaj amacı ile de kullanılabilir (50). Ayrıca, enfekte vektörler aracılığı ile hem insan hem de hayvanlara karşı kullanılabilir. Doğada rastlanan ve daha benign bir form olan ülseroglandüler formundan ziyade, ölümcül seyirli olan pnömonik ve tifo benzeri tablo oluşturabilmesi için aerosol yolla bulaşabilecek bir silah haline getirilmiştir (3, 50, 51).

DSÖ Uzmanlar Komitesi'ne göre, aerosol formdaki 50 kg virulan *F.tularensis* toz materyalinin 5 milyon nüfuslu kente havadan salınmasıyla

250.000 kişinin etkileneceği ve 19.000 kişinin öleceği hesaplanmıştır. Diğer bir öngöründe ise aynı miktar bakterinin 500.000 nüfuslu bir kentin üzerinde 2 km boyunca bir uçak tarafından salınması sonucunda 125,000 kişide tularemi gelişeceği 30.000 kişinin hayatını kaybedeceği tahmin edilmektedir (3, 5, 50, 51).

F.tularensis aerosol yolla biyolojik saldırı ajanı olarak kullanıldığında şarbon veya vebaya göre daha yavaş gelişen ve mortalitesi daha düşük olan klinik hastalıklara neden olması beklenmektedir (1). Ancak toplum üzerinde yarattığı panik etkisi ve tıbbi bakım ihtiyacı olan kişi sayısı toplum üzerinde yıkıcı sonuçlar doğurmaya yetecek kadar büyüktür. İnhalasyon ile *F.tularensis* alımını takip eden 1-2 gün içinde kişiler iş göremez hale gelir, antibiyotik tedavisinden sonra da günlük aktivitelerine dönmeleri günler alır. Uygun tedavinin başlanmadığı kişilerde semptomlar haftalarca ve hatta aylarca devam edebilir (3, 5, 10, 50). Ayrıca plazmid aracılığı ile taşınan kloramfenikol, tetrasiklin direnci ve streptomisin dirençli *F.tularensis*'in biyolojik silah üretiminde kullanılması tehlikenin boyutlarını daha da arttırmaktadır (3, 5, 50, 51).

F- Klinik Tablo

Hastalığın klinik bulguları; *F.tularensis*'in subtipine, inokulum sayısına, bakterinin vücuda giriş yerine, tedaviye başlama zamanına ve konağın bağışıklık yeteneğine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (1, 4). Tularemi, asemptomatik veya subklinik bir seyir gösterebileceği gibi, özellikle *F.tularensis subsp. tularensis*'in etken olduğu durumlarda hızla ilerleyen ve fatal seyreden dramatik bir tablo şeklinde de karşımıza çıkabilir (19, 47).

Tularemi klinik tablodaki baskın bulgulara göre ülseroglandüler, glandüler, orofarengeal, oküloglandüler, tifoid ve pnömonik tularemi olmak üzere başlıca altı klinik formda sınıflandırılmaktadır. Hastalık inkübasyon süresini (1-21 gün arasında; ortalama 3-5 gün) takiben halsizlik, iştahsızlık, sırt ağrısı, baş ağrısı, titreme ile yükselen ateş ve terleme ile başlar. Bazen aynı hastada birden çok formun eş zamanlı görülebileceği unutulmamalıdır (Tablo 8).

Tablo 8. Tulareminin genel özellikleri (3, 5, 47-51)

KLİNİK FORMLAR

İnkübasyon süresi: 3-5 gün.

Ülseroglandular Tularemi : En sık görülen form (75%-85%)

- Genellikle bir kene, sinek gibi vektör bir arthropodun veya bir av hayvanının ısırması sonucunda,
- Bazen de av hayvanına veya etine çıplak elle temas ile bulaşma
- Kene ısırığı ağrısız olduğundan hastalar ısırıldıklarının farkında olmayabilir.
- Bakterinin giriş bölgesinde lokal papül gelişimi, miyalji, baş ağrısı ve titreme ile yükselen ateş ve terleme
- Kaşıntılı papül ➔ Pustüle dönüşüm ➔ Ağrılı ve skar dokusu ile çevrili ülser
- Bölgesel lenf bezlerinde (≥ 1) ağrılı büyüme: fluktuasyon ve süpürasyon

Glandüler Tularemi (%5-10) : Ülsersiz bölgesel Lenfadenopati ve ateş

Okuloglandüler Tularemi (%1-2)

- Pürülan konjonktivit, kemosis, konjonktival noduller veya ülserasyon, periorbital ödem
- Ağrılı preauricular veya servikal Lenfadenopati

Orofarengeal Tularemi

- İnfekte su, gıda aracılığıyla veya inhalasyonla bulaşma
- Stomatit, eksudatif tonsillo-farenjit ve/veya ağrılı mukozal ülserasyon,
- Tek veya iki taraflı servikal lenfadenopati, bazı hastalarda eritema nodozum tipinde deri döküntüleri
- Retrofarengeal abse ve/veya bölgesel lenf nodlarında süpürasyon

Pnömonik Tularemi (primer veya sekonder)

- Mikroorganizmanın inhalasyonuna bağlı primer pnömoni şeklinde gelişebileceği gibi,
- Hematojen yolla veya septik emboliler şeklinde yayılımı takiben sekonder pnömoni şeklinde gelişebilen
- Akut influenza benzeri semptomlarla başlayan,
- Kanlı balgam, solunum yetmezliği ve tedavi edilmezse ölümlü sonuçlanabilen "Şiddetli pnömoni"
- Akciğer Grafisi: peribronşiyal infiltratlar, bronkopnömoni, plevral effüzyon ve hiler lenfadenopati

Tifoidal Tularemi (%5-15)

- Bakterinin oral yoldan alınması ile Akut influenza benzeri hastalık
- Diyare, kusma, baş ağrısı ve titreme ile yükselen ateş ve terleme, myalji, artralji, kilo kaybı, pnömoni (%80)
- Etkenin giriş bölgesinin saptanamaması
- Enfeksiyonun anatomik lokalizasyonun olmaması

Komplikasyon: Hematojen Yayılım ➔ Sepsis, DIC, hemoraji, ARDS, menenjit, koma

TANI

- Klinik örneklerden bakterinin izolasyonu (kültür için BGD III olan laboratuvar gereklidir).
 - Tek serum örneğinde yüksek titrede antikor varlığı veya çift serum örneğinde 4 kat antikor titre artışının gösterilmesi,
 - Klinik örneklerde DFA (veya immünohistokimyasal boyama) ile F. tularensis'in gösterilmesi
 - Moleküler tanı (PCR)
-

TEDAVİ

- Hastalar için izolasyon gerekli değildir. "Tularemi insandan insana bulaşmaz "
 - Birinci seçenek: Streptomycin and gentamicin (10 gün)
 - Alternatif: Kinolonlar (10-14 gün)
 - Tetrasiklin ve kloramfenikol: Yüksek oranda relaps oranı nedeniyle tedavi süresi 14-21 gün olmalı.
 - Şiddetli olgularda kombinasyon tedavisi; örneğin aminoglikozid ve fluorokinolon ikili tedavi
-

TEMAS SONRASI KORUNMA

- Streptomisin, gentamisin, doksisisiklin veya siproflaksosin (14 gün).
 - Doğal hastalık konakları ile olası temas sonrasında ve kene ısırması durumunda kemoproflaksi gerekli değil.
 - Laboratuvar kazası sonucu temas varsa, streptomisin veya siproflaksosin verilebilir (ilk 24 saat içinde başlanmalı).
 - Aşı; sadece rutin çalışan laboratuvar personeline ve yüksek risk grubundakilere önerilmekte.
 - Aşılamadan sonra koruyucu etkinlik yaklaşık 2 hafta sonra ortaya çıkması: koruyuculuğun geç başlaması ➔ Temas sonrası aşılama ÖNERİLMEMEKTEDİR !!!
-

Tularemi geçirenlerde ömür boyu kısmi bağışıklık gelişir. *F.tularensis subsp. tularensis*'in neden olduğu pnömoni olguları tedavi edilmezse mortalite oranı %50 dir. Tedavi edilmeyen kutanöz enfeksiyon bile %5-6 ölümcül seyretmektedir (47, 48, 50, 51).

G- Tanı

Tulareminin başlangıcı, klinik belirti ve bulguları spesifik olmadığı için birçok hastalıkla karışabilmektedir. Ayrıca, tularemiye özgün laboratuvar bulgularının olmaması tanıda gecikmeye neden olan diğer bir faktördür. Bu nedenle, hastalığın erken döneminde tanısını koymak oldukça zordur (1, 4, 19, 28). Tularemi insanlarda nadir görüldüğü için öncelikle ayırıcı tanıları arasında düşünülmesi ve mikrobiyoloji laboratuvarının klinisyen tarafından uyarılması gerekir (25).

Tularemi tanısında farengial yıkama, balgam, ağız mide sıvısı, konjonktival eksuda ve ülser gibi klinik örnekler Gram ve Giemsa boyama, kültür, DFA, immünohistokimyasal boyama yöntemleri ve moleküler teknikler uygulanabilir (26-30). Gram preparatta, küçük, pleomorfik, dalgalı boyama paterni gösteren Gram negatif kokobasiller görülebilir (5, 8, 27).

Kesin tanı klinik örneklerden *F.tularensis*'in izole edilmesiyle konulmaktadır. Ancak, üreme için zenginleştirilmiş besiyerlerine gereksinim duyulması, kolonilerin en erken 24-48 saatte görülmesi ve BGD-3 olanaklarında çalışılma zorunluluğu nedeniyle günümüzde moleküler yöntemler ön plana geçmiştir (30-34). Biyolojik saldırı durumunda doğal yolla gelişen bir epidemiden farklı olarak, aynı anda çok sayıda vaka görüleceği için erken tanı hastalığın yayılımını ve mortalitesini azaltacaktır. Bu amaçla klinik ve çevresel örneklerden kültür yerine PCR'ın tercih edilmesi ve hızlı tanı konulması gereklidir (3, 5, 51).

Günümüzde serolojik testler en sık kullanılan tanı yöntemleri ise de serum antikor seviyeleri genellikle ilk 10 günde tanısız seviyelere ulaşmadığı için erken tanıda değeri çok azdır (5, 10, 26). *F.tularensis*'e karşı gelişen antikorlar, aglütinasyon (tüp, mikro ve lateks aglütinasyon)

ve ELISA yöntemleri ile kolaylıkla saptanabilmektedir. Son yıllarda Western Blot yöntemi geliştirilmiştir. Günümüzde genellikle tüp aglütinasyon veya mikroaglütinasyon (MAT) yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır. MAT, tüp aglütinasyonuna göre 100 kat daha duyarlı bir yöntemdir (48-50). Tularemi antikorları genellikle ikinci haftadan sonra pozitifleşir ve yıllarca düşük titrede pozitif olarak kalırlar. Bu nedenle, akut enfeksiyon tanısında 7-10 gün arayla alınan çift serum örneğinde dört katlık titre artışınının gösterilmesi gerekir. Alınan tek bir serum örneğinin muhtemel tanıyı destekleyecek titresi MAT için $\geq 1:128$ ve tüp aglütinasyonunda $\geq 1:160$ olarak kabul edilmektedir (3, 5, 48, 50, 51). Tularemi antikorları *Brucella*, *Yersinia* ve *Proteus OX19* ile çapraz reaksiyon verebileceğinden düşük titredeki pozitiflikleri yorumlanırken dikkatli olunmalıdır (27, 48).

Kültürün referans merkezlerde yapılabilmesi, serolojik testlerin erken dönemde yararlı olmaması nedeniyle günümüzde *F.tularensis*'i saatler içinde saptayan PCR, immüno floresan boyama ve direkt antijen arama yöntemleri ön plana çıkmıştır. Ancak, bu testler de yalnızca referans merkezlerde uygulanabilmektedir (3, 26-30, 51).

Biyolojik saldırı olasılığında şüpheli yerden alınan toz, toprak ve su gibi çevresel örneklerden PCR ile bakteri DNA'sı araştırılabilir. Toz gibi çevresel örneklerde hızlı tanı yöntemi olarak immünokromatografik assay ile 5-15 dakika içinde etken kolayca tespit edilebilir (5, 10, 30, 34).

H- Tedavi

Streptomisin, gentamisin, siprofloksasin, doksisisiklin ve kloramfenikol tedavide kullanılan başlıca antibiyotiklerdir. Streptomisin veya gentamisin bakterisidal etkinliği nedeniyle tula, remi tedavisinde en çok tercih edilen ajanlardır ve öngörülen tedavi süresi ortalama 10 gündür. Alternatif olarak 10-14 gün süreyle siprofloksasin kullanılabilir (4, 47-49). Alternatif ilaçlar arasında yer alan tetrasiklin ve kloramfenikol, primer tedavideki başarısızlığı ve relaps riskinin yüksekliği nedeniyle en az 14 gün verilmektedir (48, 50). Kloramfenikol, doksisisiklin veya siprofloksasin ile parenteral olarak başlanan tedavi, hastanın

linik durumunda görülen düzelmeye paralel olarak oral tedavi, şeklinde tamamlanabilir. Bakteri penisilin ve türevleri ile sefalosporinlere dirençlidir (5, 48). Çocuklarda streptomisin ve gentamisin ilk tercih edilen ajanlardır. Gebelerde ise gentamisin veya oral siprofloksasin alternatif olarak kullanılabilir (10, 51). Antibiyotik tedavisi erken dönemde başladığı takdirde yararlıdır. Üçüncü haftadan sonra tedaviye başlanan olgularda tedaviye rağmen lenf bezlerinde süpürasyon olabilmektedir. Sublinik seyirli olgular hiç tedavi almadan kendiliğinden iyileşebilirler (3, 4, 48).

I- Korunma

a) Aşı ve kemoproflaksi: Bugün için temas öncesi veya sonrası pasif immünoproflaksi sağlayacak immünglobülin mevcut değildir (3). Hastalıktan korunmak için ölü bakteri veya canlı attenuue aşılarda geliştirilmiştir. Ölü *F.tularensis* suşlarından hazırlanmış aşılarda antikor yanıtı

oluşturmalarına rağmen koruyuculuklarının çok düşük olması nedeniyle günümüzde kullanılmamaktadır (5, 37). Attenuue aşılarda, hem hücrel hem de humoral immün yanıt oluşturmaktadır (3, 5, 51). SSCB ve ABD'de geliştirilmiş olan attenuue aşılarda, tifoidal ve pnömonik tularemi için etkinliğinin düşük olduğu bildirilmiştir (37). ABD'de virülan olmayan *F.tularensis* SCHU S-4 suşunun attenuue formu laboratuvar ve askeri personel gibi yüksek risk grubunda yer alan 5.000'inden fazla kişide uygulanmış ve pnömonik tularemi gelişimini kısmen önlediği saptanmıştır. *F.tularensis* SCHU S-4 attenuue suşundan hazırlanan bu aşı dermal skarifikasyon yöntemiyle tek doz olarak uygulanmaktadır. Aşı çalışmaları FDA tarafından değerlendirme aşamasına gelmiştir (3, 5, 37, 48). Ancak gerek eski gerekse geliştirilmekte olan aşılarda yapılan çalışmalar koruyucu antikorların gelişiminin aşılamaı takiben en erken 2 hafta içinde geliştiğini gösterdiği için olası bir biyolojik saldırı

Tablo 9. Akciğer tutulumuyla karakterize Kategori A BSA'ların ayırıcı tanısı (25)

	Veba	Tularemi	Şarbon
Semptomlar	Boğaz ağrısı	-	±
	Dispne	+	±
	Hemoptizi	+	+
	Göğüs ağrısı	++	±
	Abdominal ağrı	+	-
	Bulantı/kusma	+	-
	Diyare	+	±
Bulgular	Rölatif bradikardi	-	-
	Şok	+	±
Laboratuvar bulguları	Balgam	Kanlı (Ahududu şurubu görünümünde balgam)	Kanlı
	Gram boyama balgam	Gram-negatif kokobasil (bipolar boyanma)	Gram-negatif kokobasil (bipolar boyanmaz !)
	Kan kültürü	+	-
Akciğer grafisi	İnfiltratlar	Bilateral segmente/lobar (± konsolidasyon infiltratlar)	Bilateral/segmented/lobar (konsolidasyon görülmez)
	Plevral efüzyon	-	+
	BHA	-	+
Beyaz küre	Sola kayma	-	+
	↑ CPK	-	-
	↓ PO ₄	-	-

BHA; Bilateral hiler adenopati, **CPK;** Kreatin fosfokinaz, **PO₄;** Fosfat

veya temas sonrasında aşı uygulanmasının koruyucu olması mümkün gözükmemektedir (3, 5, 50, 51).

Eğer biyolojik saldırı istihbaratı varsa, şarbon ve veba da olduğu gibi doksisisiklin veya siprofloksasin ile kemoproflaksi (temas öncesi profleksisi) uygulanabilir (25, 51). Etkenle temas edenlere 24 saat içinde kemoproflaksi başlanmalı (temas sonrası profleksisi), 14 gün süreyle doksisisiklin veya siprofloksasin kullanılmalıdır (3, 5, 10, 25, 50, 51).

b) İzolasyon ve karantina : *F.tularensis*'in insandan insana bulaşmadığı için hastaların izole edilmesine gerek yoktur. Sadece standart enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması yeterlidir (5, 13, 50). Hastalık derideki lezyonlara direkt temasta bulaşabileceği için standart korunma önlemlerine ek olarak rutin temas korunma önlemleri alınmalıdır (3, 10, 51). Ancak, çok az sayıda mikroorganizma ile hastalık bulaşabileceği için laboratuvarın uyarılması ve önlem alınarak çalışılması gereklidir (26, 29).

c) Arındırma, dezenfeksiyon ve sterilizasyon : Bakteri ısı, güneş ışını ve dezenfektanlara duyarlıdır (4). Arındırma işlemini sabunlu su ile yapılabilir. Ortam temizliğinde ve arındırılmasında, %5 NaOCl kullanılması yeterlidir. Ancak, hassas yüzeylere 1:10 oranında sulandırılmış NaOCl uygulanmalıdır. NaOCl'nin korazif etki gösterebileceği yüzeylerde, kısa süreli uygulamanın arkasından %70'lik alkol kullanılması, hem korazif etkiyi önleyecek, hem de etkinliğini artıracaktır (5, 26, 50). Dezenfeksiyon işlemi için aerosolizasyondan kaçınmak koşulu ile kuaternal NH₄ bileşikleri de kullanılabilir (26).

d) Defin işlemleri : Tularemiden kaybedilen hastaların cenaze işlemlerinde özel önlem

alınmasına gerek yoktur. Ancak otopside mikroorganizmaların inhalas-yonuna yol açabilecek, kemik kesimi gibi işlemlerden uzak durulmalı ve kullanılan tüm malzemeler otoklavlanmalıdır. Hasta tarafından kullanılan çarşaf, pike gibi sarf malzemelerin temizliğinde standart yöntemlerin kullanılması yeterlidir (3, 5, 10, 25).

SONUÇ

Biyolojik silah ajanlarıyla oluşan enfeksiyonlar çoğunlukla günümüzde nadir görüldüğü için klinik tanı konulamamakta yada geç konulmaktadır. Biyolojik saldırılar için ana korunma önlemi bu etkenlere karşı hazırlıklı olma durumunun sağlanmasıdır. Biyolojik saldırılarda kullanılacak etkenlerle oluşabilecek hastalıklara yönelik olarak ulusal ve bölgesel düzeyde süreyans sisteminin oluşturulması, potansiyel biyolojik silah ajanlarına yönelik vaka tanımlarının hazırlanması, indeks olguların erken tanımlanmasına olanak sağlayacaktır. Bu amaçla, kitle imha silahlarına karşı plan ve protokoller geliştirilmeli (hastanelerin acil durum planlarının yeni gelişmelere uygun olarak yenilenmesi, acil servis önü arındırma sistemlerinin kurulması, hastaların ve şüpheli temaslıların izolasyonu veya karantina uygulanmasına yönelik planlama, kemoproflaksi, aşı, otopsi ve diğer koruyucu önlemler vb) ve sağlık personelinin sürekli eğitimi sağlanmalıdır.

Sonuç olarak biyolojik silah ajanlarının hızlı ve doğru tanımlanması için yüksek kapasiteli, gelişmiş bir ulusal referans laboratuvarının kurulması ve ulusal laboratuvarların tanı olanaklarına göre kategorize edileceği bir laboratuvar ağının oluşturulması biyoterör ve doğal yollarla gelişen salgınlara daha erken saptanmasını ve hızla kontrol alınmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Von Lubitz KJE Dag. Bioterrorism: Field Guide to Disease Identification and Initial Patient Management. Taylor & Francis 2005.
2. Anonymous. Biological and Chemical Terrorism: Strategic Plan for Preparedness and Response. Recommendations of the CDC Strategic Planning Workgroup. MMWR. 2000; 49: RR-4.

3. Henderson A, Inglesby V, O'Toole T. Bioterrorism Guidelines for Medical and Public Health Management. VA, USA: ASM press, 2002.
4. Zoonoses. Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans. Eds: Kraus H et al. 3rd ed. VA, USA: ASM press, 2003.
5. Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. In: Textbook of Military Medicine. Sidell FR, Takafuji ET, Franz DR, eds. Washington, DC: Office of the Surgeon General; 1997; part I, vol 3: 603-76.
6. World Health Organization. Guidelines for the surveillance and control of anthrax in humans and animals. Emerging and other communicable diseases, surveillance and control, 3rd ed. Geneva: WHO, 1998.
7. Dixon TC, Meselson M, Guillemin J, et al. Anthrax. N Engl J Med 1999; 341: 815-26.
8. Bioterrorism. In: Isenberg HD Chief Ed. Clinical Microbiology Procedures Handbook Vol 3. 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2004 : 16.1-16.8
9. Spencer RC. Bacillus anthracis. J Clin Path 2003; 56(3):182-7.
10. Bacterial Agents. In: USAMRIID's Medical Management of Biological Causalties Handbook. Eds: Darling RG, Woods Jon B. 5th ed. Department of Defense 2004: 16-52.
11. Kyriacou DN, Adamski A, Khardori N. Anthrax: from antiquity and obscurity to a front-runner in bioterrorism. Infect Dis Clin North Am. 2006; 20(2): 227-51.
12. Whitby M, Ruff TA, Street AC, Fenner F. Biological agents as weapons 2: anthrax and plague. MJA 2002; 176 (12): 605-8.
13. WHO guidance. Public health response to biological and chemical weapons. Annex 3.2: Bacteria. 2004.
14. Hanna P. Anthrax pathogenesis, and host response. Curr Top Microbiol Immunol 1998; 225:13-35.
15. White SM. Chemical and biological weapons. Implications for anaesthesia and intensive care. Br J Anaesth. 2002; 89(2): 306-24.
16. Lietenberg M. Biological weapons in the twentieth century: a review and analysis. Crit Rev Microbiol 2001; 27(4): 267-320.
17. Bush LM, Abrams BH, Beall A, et al. Index case of fatal inhalational anthrax due to bioterrorism in the United States. N Engl J Med 2001; 345: 1607-10.
18. Jernigan JA, Stephens DS, Ashford DA et al. Bioterrorism-related inhalational anthrax: the first 10 cases reported in the United States. Emerg Infect Dis. 2001 Nov-Dec; 7(6): 933-44.
19. Franz DR, Jahrling PB, McClain DJ et al. Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents. Clin Lab Med. 2001 Sep; 21(3): 435-73.
20. Swartz M. N. Current Concepts: Recognition and Management of Anthrax —An Update. N Engl J Med 2001; 345: 1621-6.
21. Bossi P, Tegnell A, Baka A et al. Bichat guidelines for the clinical management of anthrax and bioterrorism-related anthrax. Euro Surveill. 2004; 9(12): E3-4.
22. Shafazand S, Doyle R, Ruoss S, et al. Inhalational anthrax: epidemiology, diagnosis and management. Chest 1999; 116: 1369-76.
23. Daya M, Nakamura Y. Pulmonary disease from biological agents: anthrax, plague, Q fever, and tularemia. Crit Care Clin. 2005; 21(4): 747-63.
24. Anonymous. Recognition of Illness Associated with the Intentional Release of a Biologic Agent. MMWR 2001; 50(41): 893-7.
25. Cunha BA. Anthrax, tularemia, plague, ebola or smallpox as agents of bioterrorism: recognition in the emergency room. Clin Microbiol Infect 2002; 8: 489-503.
26. Nulens E, Voss A. Laboratory diagnosis and biosafety issues of biological warfare agents. Clin Microbiol Infect 2002; 8: 455-66.
27. Wolfgang F, Kletmann, Kathryn L. Ruoff. Bioterrorism: Implications for the Clinical Microbiologist. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 364-381.
28. Greenfield RA, Drevets DA, Machado LJ, Voskuhl GW, Cornea P, Bronze MS. Bacterial pathogens as biological weapons and agents of bioterrorism. Am J Med Sci. 2002; 323(6): 299-315.
29. Guarner J, Zaki SR. Histopathology and immunohistochemistry in the diagnosis of bioterrorism agents. J Histochem Cytochem. 2006; 54(1): 3-11.
30. Broussard LA. Biological agents: weapons of warfare and bioterrorism. Mol Diagn 2001; 6: 323-33.
31. Heller MB, Bunning ML, France ME et al. Laboratory response to anthrax bioterrorism, New York City, 2001. Emerg Infect Dis. 2002; 8(10): 1096-102.

32. Firmani MA, Broussard LA. Molecular diagnostic techniques for use in response to bioterrorism. *Expert Rev Mol Diagn.* 2003 Sep; 3(5): 605-16.
33. Susan WJ, Michael ED, Stephen CF, Richard S, Crawford R. DNA Assays for Detection, Identification, and Individualization of Select Agent Microorganisms. *CMJ* 2005; 46: 522-9.
34. Higgins JA, MS İbrahim, Knauert FK et al. Sensitive and Rapid Identification of Biological Threat Agents. *Ann. N.Y. Acad. Sci* 1999; 894: 130-148.
35. Bryskier A. Bacillus anthracis and antibacterial agents. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 467-78.
36. Wiener SL: Strategies for the prevention of successful biological warfare aerosol attack. *Military Medicine*, 1996; 161(5): 251-6.
37. Titball RW, Williamson ED. Vaccine development for potential bioterrorism agents. *Curr Drug Targets Infect Disord.* 2003; 3(3): 255-62.
38. World Health Organization. Plaque manual. Epidemiology, Distribution, Surveillance and Control. 3rd Ed. WHO, 1998.
39. Perry RD, Fetherston JD. Yersinia pestis-etiological agent of plague. *Clin Microbiol Rev.* 1997; 10(1): 35-66.
40. Titball RW, Hill J, Lawton DG, Brown KA. Yersinia pestis and plague. *Biochem Soc Trans.* 2003; 31(Pt 1): 104-7.
41. Rollins SE, Rollins SM, Ryan ET. Yersinia pestis and the plague. *Am J Clin Pathol.* 2003 Jun;119 Suppl: 78-85.
42. Human plague in 1997. *Weekly Epidemiol Rec* 1999; 41: 340-4.
43. Bossi P, Tegnell A, Baka A et al. Bichat guidelines for the clinical management of plague and bioterrorism-related plague. *Euro Surveill.* 2004; 9(12): E5-6.
44. Zhou D, Han Y, Yang R. Molecular and physiological insights into plague transmission, virulence and etiology. *Microbes Infect.* 2006; 8(1): 273-84.
45. Titball RW, Williamson ED. Yersinia pestis (plague) vaccines. *Expert Opin Biol Ther.* 2004; 4(6): 965-73.
46. Jarrett CO, Sebbane F, Adamovicz JJ, Andrews GP, Hinnebusch BJ. Flea-borne transmission model to evaluate vaccine efficacy against naturally acquired bubonic plague. *Infect. Immun.* 2004; 72(4): 2052-56.
47. Choi E. Tularemia and Q fever. *Med Clin North Am* ; 86(2): 393-416.
48. Ellis J, Oyston PC, Green M, Titball RW. Tularemia. *Clin Microbiol Rev.* 2002; 15(4): 631-46.
49. Oyston PC, Sjøstedt A, Titball RW. Tularaemia: bioterrorism defence renews interest in Francisella tularensis. *Nat Rev Microbiol.* 2004 Dec;2(12):967-78.
50. Cronquist SD. Tularemia: the disease and the weapon. *Dermatol Clin.* 2004; 22(3): 313-20.
51. Bossi P, Tegnell A, Baka A et al. Bichat guidelines for the clinical management of tularaemia and bioterrorism-related tularaemia. *Euro Surveill.* 2004; 9(12): E9-10.
52. Atkins H, Dassa E, Walker N et al. The identification and evaluation of ATP binding cassette systems in the intracellular bacterium Francisella tularensis. *Res Microbiol* 2006; 157 (6): 593-604.