

T1399



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

+

ANTALYA VE ÇEVRESİNDE LEPTOSPIROZİS SIKLIĞININ SEROLOJİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Veli GÜNAY

T1399/1-1

Tez Danışmanı : Doç.Dr.Filiz GÜNSEREN

'Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonunca 20.02.0103.03 Proje No ile Desteklenmiştir'

"Tezimden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir"

Antalya, 2002

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ

Asistanlığım süresince eğitimimi bilgi ve deneyimleriyle sağlayan Prof. Dr. Latife MAMIKOĞLU'na, eğitimime ve tez çalışmalarına katkıları için Doç. Dr. Filiz GÜNSEREN'e, eğitimime emeği geçen Yar. Doç. Dr. Rabin SABA ve Yar. Doç. Dr. Dilara İNAN'a, ELISA çalışmalarındaki yardımları için Prof. Dr. Meral GÜNTEKİN, Doç. Dr. Dilek ÇOLAK ve Dr. Filiz ÜNLÜ'ye, asistanlığım süresince katkılarından dolayı Fatma Türkan ÖZÇELİK'e, asistan arkadaşlarıma, tüm mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanlarına, Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Leptospira laboratuvarı şefi Vildan ÖZDEMİR ve Erdal EROL'a,

Hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen anneme, babama, ablama ve sevgili eşime teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
Tarihçe	2
Taksonomi	3
Morfoloji ve Boyanma Özellikleri	7
Dirençlilik	8
Moleküler Biyoloji	8
Antijenik Özellikleri	9
Epidemiyoloji	9
Patogenez	13
Klinik	16
Anikterik Leptospirozis	17
İkteril Leptospirozis	19
Tanı	22
Direkt Tanı Metodları	22
İndirekt Tanı Metodları	26
Aynı Tanı	30
Tedavi	31
Korunma	32
MATERYAL METOD	34
BULGULAR	36
TARTIŞMA	38
SONUÇ	45
ÖZET	46
KAYNAKLAR	48

KISALTMALAR

1. ALP Alkalen Fosfataz
2. ARDS Akut Respiratuar Distres Sendromu
3. BUN Kan Üre Nitrojeni
4. BOS Beyin Omurilik Sıvısı
5. CDC Center for Disease Control and Prevention
6. CPK Kreatinin Fosfokinaz
7. dd devir dakika
8. ELISA Enzim Linked Immun Assay
9. EMJH Ellinghausen-Mc-Cullough-Johnson-Harris
10. IHA İndirekt Hemaglutinasyon Test
11. LPS Lipopolisakkarit
12. MAT Mikroskopik Aglutinasyon Test
13. PCR Polimerase Chain Reactions
14. TNF- α Tümör nekrosis faktör alfa

GİRİŞ ve AMAÇ

Leptospirozis, leptospira genusuna ait spiroketlerin neden olduğu, asemptomatik ya da influenza benzeri infeksiyon şeklinde veya ağır hemorajik bulgular, menengizm, sarılık, renal yetmezlik, nadir olarak ölüme kadar gidebilen geniş bir klinik çeşitlilik gösteren akut seyirli bir infeksiyon hastalığıdır (1,2)

Dünyadaki en yaygın zoonoz olduğu tahmin edilmektedir. Ilık ve nemli iklime sahip bölgelerde insidans, sıcak iklime sahip bölgelere göre belirgin yüksektir. Bir çok vahşi ve evcil hayvan türünü etkiler. Son rezervuar hayvanlardır. İnsanlar, infekte hayvanların kontamine idrarları ve dokuları ile direkt ya da indirekt temas sonucu infekte olurlar. Meslekler ve hobi olarak yapılan pek çok aktivite, temas için risk oluşturur (2,3)

Leptospirozis insanlarda %90 oranında, hafif seyirli anikterik formda görülürken, %5-10'u ciddi seyirli Weil Hastalığı şeklinde seyreder. Weil Hastalığında, destek tedavilerinin ilerlemesinden sonra azalmış olsa da, hala %5-10 ölüm bildirilmektedir (5)

Leptospirozisin erken tanısı, antibiyotik tedavisinin yararlarını arttırmak ve halk sağlığı kontrol önlemleri açısından önemlidir (1)

Leptospirozis tanısında, etkeni üretmekteki zorluklar nedeniyle, sıklıkla serolojik yöntemler kullanılır ve sonuçların yorumlanması için epidemiyolojik veriler önemlidir.

Bölgemizin mevsimsel özellikleri, yöre halkının çoğunlukla sulu tarımla geçimini sağlaması ve bu konuda epidemiyolojik verilerin olmamasını dikkate alarak bölgemizdeki leptospiral antikorların yaygınlığını araştırmayı amaçladık.

TARİHÇE

Leptospirozis, ilk kez, 1886'da Heilderberg'de Adolf Weil'in yayınladığı "dalak tümörü, sarılık ve nefritle birliktelik gösteren akut enfeksiyon hastalığının özellikleri" isimli makale ile ayrıntılı olarak tanımlanmıştır.

2 yıl sonra, A. Fiedler sarılıkla giden bu enfeksiyonun özel bir durum olduğunu bildirmiş ve ismine "Weil's Disease" demiştir. Klinik olarak tanımlanan bu makalelerde, etken hakkında herhangi bir bilgi verilememiştir. Ancak, böylece Weil Hastalığı, dünya çapında tanınan bir hastalık olmuştur.

Adolf Weil'den önceki yaklaşık 100 yılda, pek çok bildirim olmakla birlikte bütün bu gözlemlerde, Weil Hastalığının tipik semptomlarının görüldüğü kanıtlar elde edilememiştir (1,6)

1915 Şubat'ında, Inada ve Ido Japon madencilerinde gözlenen infeksiyöz sarılığın spiroketlere bağlı olduğunu yayınlamışlardır. Hastaların kanlarında spiroketleri ve spesifik antikorlar saptamışlar, hastaların kanlarının inoküle edildiği kobayların karaciğerinde spiroketleri göstermişler ve bu patojene *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* ismini vermişlerdir. Aynı yıl içerisinde Almanya'da iki grup, Uhlenhuth ve Fromme ile Hubener ve Reiter Aralık 1915'te Fransa'da bulunan Alman askerlerde spiroketleri göstermişler ve sırasıyla *Spirochaeta icterogenes* ve *Spirochaeta nodosa* ismini vermişlerdir (1,3,6).

1918 yılında, ABD'de H. Noguchi Leptospira adını verdiği yeni özel bir bakterinin morfolojik özelliklerini belirlemiş ve Leptospiraları, Borrelia ve Treponemalarla birlikte Spiroketler olarak tanımlamıştır.

Stimson, spiroketleri insan böbrek tübüllerinde gümüşleme yöntemi ile göstermiş ve soru işaretine benzeterek *Spirochaeta interrogans* olarak isimlendirmiştir.

1927'de Schüffner leptospiraların klasifikasyonunu yapmıştır.

Türkiye'de leptospirozis üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. İlk leptospirozis olgusu, 1915 yılında Reşat Rıza Bey tarafından klinik gözlemlere dayanarak tanımlanmıştır. İkinci bildirim General Prof. Dr. Kemal Hüseyin Plevnelioğlu tarafından II. Dünya Savaşı sırasında Irakya'da görev yapan askerler arasında başlayan sarılık salgını sırasında yine klinik gözlemlere dayanılarak tanımlanmıştır. *Leptospira icterohaemorrhagiae*, ilk kez 1922'de İstanbul'da Hüsamettin Şerif tarafından izole edilmiştir (7,8).

Türkiye'de leptospirozis kontrolü için aşılama ilk kez 1939'da köpeklerde, daha sonra domuz ve sığırlarda kullanılmaya başlanmıştır (9).

TAKSONOMİ

Leptospiralar, serolojik ve moleküler olarak iki şekilde sınıflandırılabilir.

Geleneksel serolojik sistemde, serovarlar temel alınır ve ortak antijenlerine göre serogrurlara ayrılır. Patojenik olan serovarlar *Leptospira interrogans*, saprofit olarak doğada yaygın bulunan serovarlar *Leptospira biflexa* içerisinde yer alır. *Leptospira interrogans*, 200'den fazla serovara ayrılır ve bu serovarlar 23 serogrup içerisinde yer alırlar. *Leptospira biflexa* ise, 65 serovara ayrılır ve 38 serogrup içinde gruplandırılır (4).

Leptospiraceae ailesinin moleküler sınıflama çalışmalarında, *Leptospira interrogans* ve *Leptospira biflexa* arasında yüksek genetik heterojenite saptanmıştır. Moleküler sınıflamada patojen ve saprofit türler aynı grup içinde yer alırlar. DNA hibridizasyon çalışmaları ile *Leptospira* genusu 14 türe ayrılır: *L. interrogans*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *L. biflexa*, *L. fainei*, *L.*

borgpetersenii, L. kirschneri, L. weilii, L. inadai, L. alexanderi ve ek olarak iki yeni genus; leptonema tek tür L. illini ve Turneria tek tür L. parva tanımlanmıştır (3).

Leptospiraların filogenetik sınıflaması (3,10,11)

Sınıf : Schizomycetes

Order : Spirochaetales

Familya I : Spirochaetaceae

Genus 1. Treponema + Serpula hyodysenteria ve benzer organizmalar

2 Spirochaeta

3. Borellia

4. Cristaspira

Familya II: Leptospiraceae

Genus 1 Leptonema

2. Turneria

3 Leptospira

Tür I: Leptospira biflexa

Tür II: Leptospira interrogans

Leptospiraların serogrup, serotip ve yaygın bulunduğu rezervuarları Tablo 1'de verilmiştir (3,10)

Tablo 1. Leptospira serogrup, serotip ve rezervuarları

Serogrup	Serotip	Rezervuar
L. interrogans		
İcterohaemorrhagiae	İcterohaemorrhagiae naam, weaveri, budapest ndambari birkini	Rattus norvegicus Rattus rattus Beyaz laboratuvar faresi Köpek, sığır, domuz, tarla faresi
Javanica	javanica, sofia, poi coxi sorex, jalan	Rattus brevicaudatus Rattus concolor, fare Kedi, köpek, domuz
Celladoni	Celladoni	?
Ballum	Ballum	Mus spicilegus, Mus musculus Beyaz laboratuvar faresi
Canicola	canicola, malaya, sumneri schueffneri, bindjei broomi, kahendo, befani jonsis benjamin, kamituga	Köpek
Pyrogenes	pyrogenes, manilae, robinsoni, alexi, hamptoni, biggis, abramis zanoni	Rattus rattus Apodemus agaris
Cynopteri	cynopteri, canalzonae, butembo	Cynopterus speci, köpek
Autumnalis	Autumnalis erinecei-auriti, bangkinang, sentot mooris, orleans, djasiman, lousiana	Microtus speci, köpek, motebelli Apodemus, speciosus Rattus rattus
Pomona	pomona, monjakow, mozdok	Domuz, sığır, at

australis	australis, bratislava, muenchen, fugis, lima, lora Jalna, bangkok	Rattus rattus, köpek, domuz, at Colmorunus, at
Grippytyphosa	Grippytyphosa	Mikotus arvalis, Apodemus agrarirus, micromyus minutus, mus specilegus, evakmys
Heptomadis	heptomadis, jules, borincana, sejroe kambale, kabura, mini, hardjo kremastos, wolffii, saxkoebing worsfoldi, medanesis, polonica haemolytica, parameles, marini	Apodemus speci Microtus montebelli Köpek, apededemus sylvaticus Apodemus flavicalis
Bataviae	Bataviae paidjan, brasiliensis, claytoni, balboa djatzi, kobbe	Rattus norvegicus Rattus rattus diardii Rattus rattus brevicautatus Köpek, kedi, domuz
Tarassovi	tarassovi, guidae, bakeri	Domuz, at
Panama	panama, sherman	
L. biflexa		
Semeranga	semeranga, patoc, san-paulo	
Andamana	Andamana	

Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

Leptospiralar, ince, hareketli, sporsuz, kapsülsüz, gram (-) basillerdir. 0.1 µm eninde, 6-20 µm boyunda, spiralli bakterilerdir. Nadiren kültürlerde daha uzun olabilirler. 0.1 µm genişliğinde yaklaşık 20 kadar spiralleri vardır. Spiraller, karanlık alan mikroskopunda parlak tanecikler halinde görülür ve bir tesbih ya da inci dizisi görünümü verir. Boyanmış preparatlarda, spiraller görülmez ve bakteri çengel, soru işareti veya öze gibi bükülmüş şekilde görülür (12,13)

Işık mikroskopunda iyi görünmezler. Görülebilmeleri için faz kontrast veya karanlık alan mikroskobu gerekir. Morfolojik olarak ayırt edilemezler. *Leptospira interrogans* serovaryaları, 13 °C'de üreyememeleri, 1 M NaCl'de spiral şekle dönerek kümelenmeleri ve 8-azoguanini tolere edememeleri ile *Leptospira biflexa* grubundan ayrılır (7)

Leptospiralar gram (-) olmalarına rağmen, anilin boyalarla iyi boyanmazlar. Giemsa veya gümüşleme yöntemleri ile boyanabilirler (13).

Diğer spiroketler gibi, sitoplazmik membran ve peplidoglikan hücre duvarını saran dış membranla çevrilir. Leptospiral lipopolisakkaritler, diğer gram (-) bakterilerin lipopolisakkaritlerine benzer ama onlardan daha düşük endotoksik aktivite gösterir. Her iki ucunda periplazmik flajelleri vardır. Flajellerin protein yapısı komplekstir (3)

Leptospiralar, translasyonel ve non-translasyonel olarak uzun eksenleri etrafında dönerek oluşturdukları hareketin yanısıra, aksiyel flamanının kısalıp genişlemesiyle, kayma şeklinde de hareket ederler (3,14)

Zorunlu aerobtur, primer enerji kaynağı ve karbon kaynağı olarak uzun zincirli yağ asitleri ve uzun zincirli alkollerini kullanırlar. İkiye, bazen 3-4'e bölünerek çoğalırlar.

Leptospiralar, uçları kıvrımlı ve üretilebilen tek spirokettirler Katalaz ve oksidaz üretirler (3,4,11,15).

Dirençlilik

Leptospiralar kuruluğa ve soğuğa dayanıksızdırlar. Kurumakla 10 dakikada, 55 °C'de 30 dakikada ölürler. Liyofilize şekilde +4 °C'de iki yıla kadar, -35 -70 °C'de daha uzun süre yaşayabilirler. Laboratuvar şartlarında, sudaki leptospiralar, oda ısısında pH 7.2-8 arasında aylarca yaşayabilirler. Defibrine kanda 7-11 gün virülan kalabilirler. Tripsin, safra ve safra tuzları leptospiraları eritir. Antiseptik ve antibiyotiklere çok duyarlıdırlar. Normal mide asiditesinde harap olurlar. Asit idrarda birkaç saat yaşayabilirler. Fakat dilüe ve daha az asitli idrarda sağkalım uzar.

Nötr veya alkali sularda, lağım suları ve çamurlarda uzun süre canlı kalırlar, belki de ürerler. Kontamine kuru topraktā 2 hafta, yağmur suyu ile ıslanmış toprakta 3-7 hafta canlı kalır (1,3, 12-14).

Moleküler Biyoloji

Leptospiraların fiziksel haritaları, serovar pomona subtip kenewicki ve icterohaemorrhagiae üzerinde yapılmıştır. Leptospiral genom, daha küçük ölçülerde de bildirilmiş olmakla birlikte, yaklaşık 5000 kb büyüklüğündedir. Genom, 4400 kb'lık büyük ve 350 kb'lık daha küçük iki bölümden oluşur. 16S ve 23S rRNA içerirler. Leptospiral genler, birçok aminoasit sentezi, rRNA, ribozomal proteinler, RNA polimeraz, DNA onarımı, ısı şok proteinleri, sfingomyelinaz, hemolizinler, dış membran proteinleri, flajellar proteinler ve lipopolisakarit sentezini klonlar (3).

Antijenik Özellikleri

İnsan humoral immün cevabı, dış zarftaki lipopolisakkarit (LPS) yan zincir epitoplarına yönelmiştir. Aynı epitoplar leptospiraların serotiplendirilmesinde de kullanılır. LPS'den elde edilen serovar spesifik antijen(F4)'in, endotoksik aktivitesi yoktur, tavşan ve farelerde koruyucu bağışıklık oluşturur. Benzer bir antijen Im'nin, F4'ten farklı olduğu gösterilmesine rağmen ortak epitopları gösterilmiştir. Hücreden elde edilen Sodyum dodecyl sülfat, koruyucu antikor üretimini uyarır, agglütinasyon ve kompleman fiksasyonunu sağlar.

LPS antijenler, serovarin LPS epitoplarına özel olarak bağlanan IgM ve daha sonra IgG antikorların üretimine neden olur. Bağışıklık, homolog veya yakın ilişkili serovarlarla sınırlanmıştır. Geniş reaktif türe özgül antijenler de tanımlanmıştır.

Diğer karakteristik antijenleri flajellada bulunur. Protein yapısında olanların önemi gösterilememişken, glikoprotein yapısında olanlar doku kültürü hücrelerinde yüksek düzeyde toksik bulunmuştur (2,3).

EPİDEMİYOLOJİ

Leptospirozis, dünyadaki en yaygın zoonoz olduğu tahmin edilmektedir. Bir çok vahşi ve evcil memeli hayvan türünü etkiler. Hemen hemen her ülkede insan ve hayvanlarda bildirilmiştir (3,11).

Kuşlarda, sürüngenlerde, balıklarda, helmintlerde, arthropodlarda ve amfibilerde de izole edilmesine rağmen memeliler, leptospiraların tek belirgin epidemiyolojik taşıyıcıları olarak görülmektedir (1,2).

Klinik bulguların nonspesifik olması ve hastalığın sık görüldüğü ülkelerde yeterli tanı aracı bulunmaması nedeniyle sıklığı konusunda yeterli veri yoktur. İklim şartlarının

uygun, kemirgen popülasyonunun fazla olduğu bazı tropikal ülkelerde lokal serovarlara karşı antikor oranları %80'i geçmektedir (15)

Tropikal ve subtropikal bölgeler hariç tutulursa, infeksiyon insanlarda nadirdir. Infeksiyon, tropikal alanlarda yıl boyunca görülür ve bu bölgelerdeki insidansı yaklaşık 1000 kat daha yüksek olarak bildirilmektedir. Sıcaklık sınırlayıcı bir faktör olsa da, sıcak iklime sahip bölgelerde de yağmurlu sezonlarda infeksiyon oranlarında hızlı bir artış olur. Kuraklık da bulaşıcılığı arttırabilen lokal ortamlar oluşturabilmesi nedeniyle risk yaratabilir (3,16).

28-32 °C ortam ısısı, nemli bir çevre, nötral yada hafif alkali tuzsuz sular leptospiraların sağkalımı için uygun ortamlardır (17).

İnsanlarda, infeksiyon kaynağı, infekte hayvanın idrarı ve infekte dokuları ile direkt ya da indirekt olarak temastır. İnfekte hayvanların, renal tubulleri gibi immünolojik olarak kurtulmuş alanlar, leptospiraların rezervuarı olabilir. Leptospiralar hayvan idrarı veya plasenta ve amnios sıvısı gibi doğum materyelleriyle atılırlar ve uygun şartların sağlanmasıyla aylarca yaşayabilecekleri su ve toprağa karışırlar. İnsanlar ve hayvanlar, kontamine su ve toprak yoluyla indirekt olarak, infekte hayvan doku ve organları ile temas sonucu direkt olarak infekte olurlar (15)

Leptospiralar insanlara, derideki kesik ya da sıyrıklardan ya da konjunktivalardan girebilirler. Uzun süre suda kalmış sağlam deri de giriş yeri olabilir. Ancak bu geçiş, abrazyonlar oluşmak üzereyken olur. Aerosollerin inhalasyonu ile solunum yoluyla da infeksiyon gelişebilir. Nadir olarak kemirgenler ve köpek ısırtığına bağlı leptospirozis vakaları bildirilmiştir. İnsandan insana nadir olarak idrar, süt ve cinsel ilişki ile geçiş bildirilmiştir (18,19).

Hayvanlar, ana konaklar ve tesadüfi konak olanlar olarak ikiye ayrılabilir. Ana konak, infeksiyonun endemik seyrettiği ve hayvandan hayvana direkt temas yoluyla bulaştığı türlerdir. Ana konaklarda infeksiyon erken yaşlarda ortaya çıkar ve kronik infeksiyon prevalansı, hayvanın yaşıyla beraber artar. Hastalık, ana konakların renal tubullerinin kronik infeksiyonundan kaynaklanarak sürdürülür. Hayvanlar bazı serovarların ana konakları, bazı serovarların tesadüfi konakları olabilir.

İnfeksiyonun yaygınlığı, iklim, popülasyon sıklığı, popülasyonun aktiviteleri, konaklarla temasın derecesi, farklı leptospira serovarlarının prevalansı ve virülansı gibi birçok faktöre bağlıdır (1,3).

Farklı kemirgen türleri değişik serovarlar için rezervuar olabilir. Ratlar, genellikle icterohaemorrhagiae ve ballum, fareler ballum serogrupları için ana konaktırlar. Evcil hayvanlar da ana konak olabilir. Koyunlar, hardjo ve pomona, köpekler canicola, domuzlar pomona, tarassovi ve bratislava, süt veren hayvanlar, hardjo, pomona, grippytyphosa serogruplarını barındırabilir. İskoçya'da sığırların %42'si hardjo için seropozitifdir ki, bu bütün seropozitif hayvanların %85'ini oluşturmaktadır. Belirli hayvan türleri ile belirli serovarlar arasındaki ilişkinin nedeni tam olarak anlaşılamamıştır (3).

Hafif, kendi kendini sınırlayan ya da daha ağır infeksiyonu belirleyen virülans faktörleri henüz açıklanamamıştır. Serovar ballum, canicola, grippytyphosa, hardjo, hebdomadis, hyos, pomona ve tarassovi gibi bazı serovarlar kendi kendini sınırlayan hafif infeksiyonla ilişkili iken, serovar icterohaemorrhagiae, autumnalis, bataviae, copenhageni, lai ve pyrogenes ile olan infeksiyonlar, daha ağır hastalık tablosu oluşturur. Fiziksel özellikleri ve hareketlilik gibi karakteristikleri bunda rol oynayabilir. Patojen leptospiralar, kültür ortamında özelliklerini kısmen kaybederek daha az virülan suşlara dönüşürler (15).

Ratlar ve diğer kemirgenler, insan infeksiyonlarının en önemli kaynağıdır (11)

Leptospirozis için riskli meslek grupları, çiftçiler, hayvan çiftliği çalışanları, veterinerler, mezbaha çalışanları, balıkçılar, inşaat işçileri, çeltik işçileri, şeker kamışı kesicileri, askerler, lağım işçileri ve madencilerdir. Hobilere bağlı risk grupları ise, avcılık, yüzmeye, kano, rafting, dalgıçlıktır. Her yaş grubunda görülmesine rağmen, bu meslekler ve hobi olarak yapılan aktivitelerle ilişkili olarak akut enfeksiyon genellikle genç erişkin erkeklerde daha sık görülür (1-3).

Gelişmiş ülkelerde, köpek ve diğer evcil hayvanları besleyenler de risk altındadır. Aşılı ve aşısız köpekler arasında leptospirüri oranlarında fark bulunamamıştır. Aşılanmış köpeklerden kaynaklanan epidemiler bildirilmiştir (17,20)

İnsan teması, meslek ya da hobi olarak yapılan aktivitelerle sınırlı kalmaz. Özellikle yağmurlu sezonlar sırasında, yaygın çevresel kontaminasyondan da kaynaklanabilir. Özellikle son yıllarda, dünya üzerinde seller sonrasında birçok epidemiyolojik olay bildirilmiştir. Örneğin, Küba'da 1980-1995 yılları arasında 40 epidemiyolojik olay ortaya çıktığı ve bu epidemiler sırasında 397 ölüm gerçekleştiği bildirilmiştir (17).

Leptospiralarda, bağışıklık cevabının büyük kısmı humoraldir ve serovara özgü olduğuna inanılmaktadır. Bu nedenle bağışıklık sadece homolog serovar veya antijenik olarak benzer serovarlardan tarafından oluşturulan hastalığa karşı koruyucudur. Tespit edilebilen IgM ve IgG türü antikorların dolaşımında kalma süreleri bilinmemektedir (3,15).

Birçok hayvanın renal tubullerinde hastalık oluşturmaksızın simbiyotik yaşam sürmesi, uzun süre idrar ile atılması ve evcil hayvanları tekrar tekrar infekte eden vahşi memelilerin olması leptospirozisin kontrol edilememesinde başlıca nedenlerdir (2)

Herhangi bir bölgede hastalığın epidemiyolojisini anlamak için, prevalan serovarlardan ve ana konaklarının bilinmesi gerekmektedir

PATOGENEZ

Leptospiraların neden olduğu hastalığın patolojisi iyi bir şekilde açıklanmış olsa da, patogenezi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Ağır leptospirozda, belirgin karaciğer ve böbrek yetersizliği olan hastalarda, bu organlar dikkat çekecek kadar az histopatolojik değişiklik gösterir.

Leptospiraların, endotoksik aktiviteleri bir çok serovarda gösterilmiştir. Ancak bunların endotoksik aktiviteleri düşüktür ve gerçek endotoksinde bulunan ketodeoksioktanoattan yoksundur. Ayrıca benzer endotoksik aktiviteler saprofit olan *L. biflexa* serovar Patoc ile de gösterilmiştir. Ağır hastalığa neden olan serovaların bazılarında ise endotoksik aktivite gösterilememiştir. Ancak, farelerde yapılan çalışmalarda, damar hücre bütünlüğünün sağlamasında gerekli olan uzun zincirli yağ asitleriyle yer değiştiren glikoprotein toksinlerin, küçük damarların endotel hücre zarını yıkmasıyla kapiller sızıntı ve kanamalar görülmüştür. Plazma tümör nekrosis faktör alfa (TNF- α) düzeyleri böbrek, karaciğer ve akciğer tutulumunun yanısıra, kanamanın ağırlığı ile bağlantılı olduğu saptanmıştır. Ancak patogenezdaki rolü henüz aydınlatılamamıştır (1,3,15,21).

Leptospiralar, vücuda alındıktan sonra, lenfatikler ve kapillerler aracılığı ile kan dolaşımına ve sonrasında hızlı bir şekilde BOS ve göz de dahil olmak, üzere tüm doku ve organlara yayılır. Mikroorganizmanın sahip olduğu çift aksiyal flajellar, hareket ve hyalüronidaz aktivitesi ile sağlam dokulara yayıldığı düşünülmektedir (15).

Leptospirozisin primer patolojik bulguları, renal tubuler disfonksiyon ve hepatik subsellüler disfonksiyon oluşturan kapiller damarlardaki endotelial hasar sonucu gerçekleşir. Birçok açıdan, diğer sistemik infeksiyöz vaskülitleri andırır. Vaskülite neden olan olay, monositler, plazma hücreleri, histiositler ve nötrofillerden oluşan inflamatuvar

infiltrasyon, endotelial hücrelerin endoplazmik retikulumunda dilatasyon ve mitokondrideki büyümedir. En belirgin histopatolojik değişiklikler, diğer organlarda da görülebilmesine rağmen, karaciğer, böbrek, kalp ve akciğerde görülür (1,3,11)

Ateş, infeksiyonun erken döneminde ve diğer infeksiyonlarda olduğu gibi, fagositozu takiben salınan pirojenik toksinlerle olur.

Ağır leptospirozda, serum protrombininde azalma ve trombositopeniden bağımsız hemorajik diyatez görülür. Hemorajiler ağır endotelial hasara neden olan ağır vaskülitin sonucudur. Hemorajik bulguları deri, mukoza ve serozal yüzeylerde olabilir. Bazı vakalarda, büyük viseral hemorajiler bildirilmiştir. Vaskülit, hemorajilere ek olarak intravasküler sıvının ekstraselüler alana geçmesine neden olabilir ve mevcut hipovolemiyi artırabilir.

İkter, ağır leptospirozisde, karaciğerin genel yapısı korunmasına rağmen oldukça siktir. İkter hemolizden ziyade, hepatik disfonksiyonuna bağlıdır. Doku hemorajisine bağlı kanın artmış absorpsiyonu ikteri artırabilir. Karaciğer patolojisinin derecesi farklılık gösterir. Karaciğer hücre katmanlarında, organizasyon bozukluğu, Kupffer hücrelerinde hipertrofi ve hiperplazi, çok çekirdekli hücre görüntüleri, parankim hücrelerinin şekil ve büyüklüklerinde değişiklikler ve kolestaz oluşumu görülebilir. Ayrıca, inflamatuvar cevabı sınırlayabilen hepatik apoptozise neden olabilir. Karaciğerde hücre nekrozu sık değildir, hafif veya fokal hepatosellüler nekroz gelişebilir. Hepatik lezyon enzim sistemleri üzerine subsellüler etkiye bağlıdır. Serum albuminde azalma, serum globulin seviyelerinde artma, K vitaminine bağımlı pıhtılaşma faktörlerinin üretiminde yetersizlik olabilir. Protrombin aktivitesinde eksiklik saptanırsa, K vitamini yerilerek düzeltilebilir. Leptospiralar, karaciğerin sinüzoidlerinde, Disse aralığında ve parankimal hücrelerde görülebilir (1,5,11).

Böbreklerdeki histopatolojik değişikliklerin daha hafif olmasına rağmen, böbrek işlev bozuklukları ciddi boyutta olabilir. Akut böbrek yetmezliğinin patojenik mekanizması büyük olasılıkla iskemidir ve sürekli doku iskemisi ile renal tubul hasarı oluşur. Hipovolemi ve hipotansiyon, damar içi volüm azalmasına neden olmakta ve endotel hasarını artırarak böbrek yetmezliği gelişimini hızlandırmaktadır. Hipoksik etkiyi interstisyel nefrit izleyebilir ve hastalığın ikinci haftasında en belirgin düzeye gelir. Tubuler hasarı, leptospiraların direkt toksik etkisine bağlayan yayınlar da vardır. Otopsik incelemelerde, hastalığın ilk haftasında, distal tubullerde bulanık şişme veya izole epitel hücre nekrozu görülmektedir. Daha sonra tubuler epitelyal nekroz alanları belirginleşir, bazal membran hasarı oluşur ve interstisyum, mononükleer hücre infiltrasyonu ile ödematöz bir görünüm alır. Proteinüri, hematüri, piyüri, hyalen ve granüler silendirler, oligüri ve ek üremik bulgular bu patolojik bulguları tamamlar. Leptospirozis, oligüri gelişmeden hipokalemi yapan tek infeksiyon hastalığıdır. Hipokalemi ve poliüri, distal tubuluslarda Na reabsorbsiyonuna sekonder olarak, distal tubuluslardan K atılımının artışına bağlanmıştır. Bir çalışmada, hayatta kalanların K seviyeleri ölenlere göre belirgin düşük bulunmuştur (1,2,5,11,22)

Leptospirozisde, miyalji erken, şiddetli ve sürekli olmasına rağmen, kaslardaki histolojik değişiklikler belirgin değildir. Erken dönemde, myofibrillerde fokal nekroz, nötrofil, plazma hücresi ve histiyosit infiltrasyonu görülebilir (2,3).

Hipoperfüzyona bağlı kardiyovasküler anomaliler oluşabilir. Bunlar arasında miyokardit, koroner arterit, aortit, perikardit ve aritmiler iyi tanımlanmıştır. Patolojik olarak, miyokarda interstisyel alanda lenfosit ve plazma hücre infiltrasyonu, perikarda mononükleer infiltrasyon ve peteşiyal hemorajiler görülür (1,3)

Pulmoner lezyonlar, inflamasyondan çok hemorajiktir. Pulmoner hemorajisi olan hastaların çoğunda hemoptizi bulunmaz. İnflamatuvar değişiklikler çoğunlukla sekonder pyojenik infeksiyonlara bağlıdır. Peteşiyal ve ekimotik hemorajiler ile yama tarzında hemorajik pnömoni yaygındır. Alveolar alanda monosit ve nötrofil infiltrasyonu görülür. Hyalen membran formasyonu oluşabilir. Son yıllarda, tropikal ülkelerden epidemiler sırasında, ikter ve renal tutulum olmadan sadece akciğer tutulumu olan fatal leptospirozis vakaları bildirilmiştir (3,5,23)

İnfeksiyonun birinci haftasında leptospiralar, meninks iritasyon bulguları oluşturmadan BOS'ta bol oranda bulunabilir. Serumda antikorların ortaya çıkmasıyla menenjit gelişebilir ve bu dönemde BOS'ta leptospiralar bulunmazlar. Bu da menenjitin antijen-antikor reaksiyonuna bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Leptospiralar, humor aközde aylarca bulunabilir ama kronik veya tekrarlayan üveite nadiren neden olur (2).

Leptospira infeksiyonu geçirip sağ kalan kişiler, patolojik ve klinik olarak tamamen iyileşirler, leptospirüri aylarca devam edebilir (11).

KLİNİK

Leptospirozisin inkübasyon periyodu 7-12 gündür. 2 gün kadar kısa, 20-30 gün kadar uzun olabilir. Hayvan ısırıkları ve laboratuvarından kaynaklanan infeksiyonlarda inkübasyon periyodu daha kısa bulunmuştur. Hastaların %90'ı anikterik, kendini sınırlayan ateşli bir infeksiyon şeklinde hastalığı geçirirken; %5-10'u sarılık ile seyreden ağır leptospirozis (Weil Hastalığı) şeklinde geçirirler (1).

Leptospirozis bifazik seyir gösterebilir. Ortalama 7-12 günlük kuluçka döneminden sonra başlangıç '*septisemik faz*' başlar ve genellikle 4-7 gün sürer. Non-spesifik

semptomların yer aldığı bu dönemde, leptospiralar, kan, BOS ve diğer birçok dokudan izole edilebilir. Daha sonra yaklaşık 1-3 gün arasında değişen, ateşsiz düzelleme dönemi görülebilir. Bu dönem bazı klinisyenler tarafından dikkate alınmamaktadır. Ardından hastalığın 2. dönemi olan 'immün faz' ya da 'leptospiirik' faz gelişir. Bu dönem, dolaşan antikorların varlığı ile karakterize olup, bu dönemin başından itibaren leptospiralar, kan ve BOS'tan kaybolur fakat böbrek, idrar ve hüner aközde bulunabilir. Bu dönemde, menenjit, üveit, döküntü, ağır olgularda karaciğer ve böbrek tutulumu gelişir. 4-30 gün kadar sürer. 30 günü nadiren geçer. Ancak, serovar hardjo ile gelişen leptospirosis olgularında, birkaç ay süren uzamış hastalık periyodu bildirilmiştir (2,24)

a)Anikterik Leptospirosis

Leptospirozun hafif formu olup, tüm leptospirozların %90'ı bu şekilde seyreder. Hastalık genellikle subklinik olup dikkati çekmez. Genellikle ölümlü sonuçlanmaz ve sekel bırakmaz.

Septisemik faz: Ani başlayan ateş, halsizlik, kırgınlık, hafiften ağıra kadar değişen baş ağrısı, ciddi kas ağrıları, bulantı, kusma, nadiren döküntü bu dönemde görülen başlıca belirtilerdir.

Ateş 38-40 °C 'yi bulur, remittant ateş şeklindedir. Baş ağrısı, yoğun, devamlı ve zonklayıcı şekildedir ve olguların yaklaşık %95'inde görülür. Kas ağrıları, olguların %80'inden fazlasında görülür, şiddetlidir ve en çok uyluk, paraspinal, karın, boyun ve kalça kaslarında görülür. Konjiktival bulgular, çeşitli serilerde değişik oranlarda bildirilmiştir. Bazı yazarlar tarafından 'konjiktival suffision' (enfeksiyon bulguları olmaksızın konjiktival damarların dilatasyonu) ilk 3 günde görülmesi karakteristik olarak kabul edilmiştir. Bulantı, kusma ve karın ağrısı değişik serilerde %60-95 oranında

bildirilmiştir ve klinisyenlere akut batın ve enterik ateşi düşündürmektedir. Bu dönemde, prodüktif olmayan öksürük sık görülür. Semptomlar 4-7 gün devam eder ve düzelir (1,2,25).

1-3 günlük asemptomatik dönem görülebilir

İmmun ya da leptospirürik faz: Bu dönem IgM türü antikorların ortaya çıkışıyla başlar ve semptomları değişkendir. Anikterik leptospirozisde bu dönem görülmeyebilir. Bu dönemin gelişmesi durumunda ateş genel olarak bulunmaz veya 1-3 günlük süreyle düşük düzeydedir.

Baş ağrısı karakteristik olarak şiddetlenir. Zonklayıcı tarzda, frontal, bitemporal ve retrobulber bölgededir, analjeziklere yanıt vermez ve hastaların %95'inden fazlasında görülür. Baş ağrısının ortaya çıkması genellikle menenjit habercisidir. Menenjitin şiddeti değişkendir ve diğer bulguların şiddeti ile korelasyon göstermez. Menenjit bu dönemde %25-80 oranında görülür. Hastaların yaşı azaldıkça aseptik menenjit gelişme olasılığı artar. Bifazik hastalık kliniği ve anamnez iyi alınmaz ise leptospirozis atlanarak viral kaynaklı olarak yorumlanabilir. CDC (Center for Disease Control and Prevention) tarafından daha önce açıklanamayan menenjit ve ensefalit olgularının yaklaşık %10'unda leptospira infeksiyonuna ait serolojik bulgular saptanmıştır. Menenjit birkaç gün sürer, nadiren birkaç haftaya uzayabilir. BOS basıncı sıklıkla normaldir. Ancak lomber ponksiyon yapılması baş ağrısında dramatik düzelme sağlayabilir. Hastaların %75'inde BOS hücre sayısı genellikle $500/\text{mm}^3$ 'ten azdır. Başlangıçta PNL hakimiyeti varken, daha sonra mononükleer hücre hakimiyeti olur. BOS glikozu normaldir, protein normal olabildiği gibi 300 mg/dl'ye kadar çıkabilir. Fokal nörolojik bulgular ve ensefalit varlığı olağan değildir (2,3)

AC tutulumu, öksürük, kanlı balgam ve göğüs ağrısı ile karakterizedir ve hastaların %20-70'inde bildirilmiştir. Genellikle hipoksemi, akut solunum yetmezliği ve ARDS

(Akut Respiratuar Distres Sendromu) görülmez Bunlar, daha çok ikterik leptospirozda görülebilir. Ancak, 1980'de Brezilya'da, 1987'de Kore'de ve 1995 yılında Nikaragua'da yaşanan leptospirozis epidemileri sırasında, leptospirozisin diğer bulguları olmaksızın akciğer tutulumu bildirilmiştir. Ayrıca, son yıllarda Afrika'dan dönen turistlerde hemorajik ateşle kendini gösteren anikterik leptospirozis vakaları bildirilmiştir (1,3,11,26-29).

Bu dönemde görülen en önemli fizik muayane bulguları, taşikardi, servikal veya yaygın lenfadenopati, kas duyarlılığı, ve göz bulgularıdır Bu dönemde hepatomegali saptanması olağan değildir, %15-25 olguda splenomegali görülür. Konjiktival suffision, fotofobi, okuler ağrı ve konjiktival kanama gibi okuler bulgular göreceli olarak yüksektir Hastaların %10'undan azında, maküler, makülopapüller, eritematöz, purpurik döküntüleri olabilir. Döküntüler esas olarak gövdededir ve kendiğinden 24 saat içinde düzeler. Autumnalis ve daha az oranda pomona serovarlarının etken olduğu Fort Bragg ateşinde 1-5 cm çaplı eritematöz döküntü karakteristiktir Bu olgularda splenomegali sıklıkla mevcuttur.

Bu dönemde lökosit sayısı normal veya hafif yüksektir, eritrosit sedimentasyon hızı artmıştır (2,3,15).

b) İkterik leptospirozis (Weil Hastalığı)

Klinik tablo değişkendir ve renal, hepatik, pulmoner ya da vasküler işlev bozuklukları ön planda olabilir. Tüm leptospirozların %5-10'unda görülür. Leptospirozun bu ağır formu, daha çok ichterohaemorrhigiae serotipine ait infeksiyonlar içinde kabul edilse de herhangi bir leptospira serotipi ile oluşabilir Anikterik leptospirozun birinci fazı ile aynı belirtilerle, aynı şekilde başlamasına rağmen, klinik giderek ilerler ve yaşamı tehdit eden bir dereceye ulaşabilir. Sarılık, azotemi, hemoraji, şok ve ağır mental durum değişiklikleriyle karakterizedir

Hastalık ikinci hafta boyunca ilerler ve genellikle belirgin ara dönem görülmez. Serumda antikorların görülmesiyle birlikte, idrar miktarı azalır, belirgin sarılık ortaya çıkar. Bu dönemde, ekstrasellüler sıvı kaybı böbrek yetmezliğini arttırabilir ve akut tubuler nekroza neden olabilir. Oligüri gelişmesi kötü prognoz göstergesidir. Akut böbrek yetmezliği, hastaların %16-40'ında gösterilmiştir. Hemodializ ve periton dializinin yaygın olarak kullanımından önce Akut böbrek yetmezliği, ölümlerin büyük çoğunluğunu oluşturmaktayken, artık ölümler ARDS, kalp yetmezliği ve aritmiler nedeniyle olmaktadır. Azotemi genellikle 2. haftada ortaya çıkar. BUN 100 mg/dl ve serum kreatinini 8 mg/dl nadiren aşar. Ancak bazı vakalarda BUN 300 mg/dl ve serum kreatinini 18 mg/dl'yi aşabilir. Bu dönemde proteinüri, hematüri ve granüler silindirler sıklıkla görülür. İdrar anormallikleri %70 'e varan oranlarda bildirilmiştir (1,2)

Weil Hastalığında, karaciğer yetmezliğine bağlı ölüm nadiren görülür. Daha çok direkt bilirubin olmak üzere total bilirubin artar. Total bilirubin 20 mg/dl'nin altındadır. ALP düzeyi 2-3 kat yükselmiştir. Transaminaz düzeyleri 100-200 U'i nadiren aşar. Serum CPK düzeyi belirgin olarak yüksektir. Olguların %25'inde hepatomegali saptanır. Hipoprotrombinemi nadiren saptanır ve K vitaminine iyi yanıt verir. Autumnalis infeksiyonlarında nadiren taşsız kolesistit bildirilmiştir. Daha çok çocuklarda görülür ve cerrahi gerekir.

Belirgin serum CPK yüksekliği ile transaminazlardaki 4-5 kat yükselme diğer akut viral hepatitlerden ayırımında yardımcıdır.

DIC'in diğer bulgularının eşlik etmediği trombositopeni, leptospirosis hastalarının yarısından fazlasında görülür ve akut böbrek yetmezliği ile birlikte dir. DIC yokluğunda trombositopeni görülebilir. Trombosit sayısı genellikle $50000/\text{mm}^3$ 'ün üzerindedir. Genellikle lökositoz ve sola kayma görülmesine rağmen, lökosit sayısı normal olabilir.

Eritrosit sedimentasyon hızı olguların yarısından fazlasında yüksektir. Serum amilaz düzeyleri akut böbrek yetmezliği ile ilişkili olarak çoğu zaman yüksektir ama akut pankreatite ait klinik semptomlar sık değildir.

EKG bozuklukları leptospiremik faz sırasında sık olup, ağır olgularda konjestif kalp yetmezliği ve kardiyojenik şok nadiren gelişebilir. Bunun yanında non-spesifik EKG anormallikleri görülebilir. Bunlar arasında, küçük QRS kompleksleri, ters T dalgaları, PR-QR anormallikleri, taşikardi, atriyal fibrilasyon, atriyal flutter, prematür ventriküler kontraksiyonlar, ventriküler taşikardi sayılabilir. Hastaların bir bölümünü tedavi sırasında monitorize etmek gerekebilir. Kardiyolojik problemler 10 gün içinde geriler (1,2,3,30).

Öksürük, kanlı balgam, yan ağrısı özellikle 2. haftada görülebilir. Hastaların çoğunda, belirgin pulmoner semptomların yokluğunda dahi intraalveolar hemorajiler ortaya konulmuştur. Sigara içilmesi, pulmoner semptomların gelişimi için bir risk faktörüdür. Akciğer radyografisi klinikle uyumlu değildir ve genellikle diyagnostik değeri yoktur. Fizik muayenede oskültasyon normal olabilir. %20-60 oranında sıklıkla alt lobları tutan küçük nodüler dansitelerden yama tarzı infiltrasyona kadar değişen radyolojik bulgular, bazal çizgisel anomaliler ve plevral efüzyon görülebilir, konsolidasyon alanları nadirdir (30,31).

Okuler komplikasyon insidansı değişkendir. Çeşitli serilerde %2-40 arasında bildirilmiştir. Akut infeksiyonun iyileşmesinden sonra anterior üveit gelişir ve yıllarca devam edebilir. Çoğu üveit vakası, immün fenomen olarak kabul edilse de humor aközde leptospiralar izole edilmiştir. Son yıllarda PCR yöntemiyle humor aközde leptospiralar gösterilmiştir. Geç başlangıçlı üveitin, geçirilmiş infeksiyona bağlı otoimmün bir reaksiyon olabileceği belirtilmiştir (2,3,15,32).

Akut leptospira infeksiyonu gelişen gebelerde hiçbir komplikasyon gelişmeyebileceği gibi gebelik abortus veya ölü doğum ile sonlanabilir ya da konjenital infeksiyon gelişebilir. Leptospiralar, kort kanı, plesenta ve amnios mayiinden üretilmiştir. Akut infeksiyon geçiren annenin sütünden de leptospiralar izole edilmiş ve anne sütü ile infekte olmuş bebekler bildirilmiştir (33-35).

Leptospirozis gelişen hastalarda, dispne, oligüri, $12900/\text{mm}^3$ üzerinde lökosit sayısı, elektrokardiyogramda repolarizasyon anormallikleri ve göğüs radyografisinde infiltrasyon olması, mortalite ile ilişkili prognostik faktörler olarak bildirilmiştir (36).

Diğer komplikasyonlar

Akut leptospira infeksiyonundan sonra nadir olarak, rabdomiyolizis, trombotik trombositopenik purpura, akut akalküloz kolesistit, eritema nodosum, aortik stenoz, Kawasaki sendromu, reaktif artrit, epididimit, sinir felci, erkek hipogonadizmi ve Guillian-Barre Sendromu görülebilir (3).

TANI

Leptospirozis tanısı direkt ve indirekt yöntemlerle yapılabilir

A-Direkt Tanı Metodları

1-Mikroskopik inceleme:

Leptospiralar, hastalığın ilk 7-10 gününde kan, BOS ve dokularda bulunurlar. İdrar ve böbrekte 7. günde görülmeye başlarlar ve en yüksek yoğunluğa 13-25 günler arasında ulaşırlar (13)

Kanda, leptospiralar sayıca az olmasına rağmen aranması yararlıdır. Bunun için 0.5 ml %1 sodyum oksalat veya 1ml %1 sodyum sitrat içeren bir tüpe steril olarak 4 ml hasta

kani alınarak 500 dd 15 dakika santrifüj edilir Üstte kalan plazma alınarak 1500 dd 30 dakika santrifüj edilir. Süpernatant atılarak sedimentte leptospiralar aranır

BOS ve idrar örnekleri 1500 dd 30 dakika santrifüj edilir ve sedimentte leptospiralar aranır. Leptospiralar asit idrara duyarlı oldukları için, idrar örneği alınmadan önce 8-10 gr sodyum bikarbonat verilerek idrarın alkali olması sağlanmalıdır.

Doku örnekleri, ezilerek serum fizyolojik ile 1/10 oranında sulandırılarak süspansiyon hazırlanır. 500 dd 15 dakika santrifüj edilir Süpernatant, alınarak 1500 dd 30 dakika santrifüj edilir. Süpernatant, atılarak sediment leptospira açısından araştırılır

Hazırlanan örnekler, karanlık alan mikroskobu ya da faz kontrast mikroskobunda direkt olarak incelenir Leptospiralar, karanlık alan içerisinde canlı, hareketli ve beyaz pırlıltılar olarak görülürler. Faz kontrast incelemesi ise, karanlık alan mikroskopi yöntemine benzer ama leptospiralar daha zor görülürler (4,13,14)

Hazırlanan örneklerin boyanması için War-thin Starry ve Van Orden gibi birçok gümüşleme yöntemleri geliştirilmiştir. Doku örneklerinin boyanarak incelenmesi için uygun yöntemlerdir Direkt ve indirekt floresan boyama teknikleri ile leptospira araştırması yanında erken dönemde serovar tayini de yapılabilmektedir Bu yöntem daha çok hayvan örneklerinden leptospira aranması için kullanılmıştır (4).

Bahsedilen mikroskobik inceleme metodları, deneyimli kişiler tarafından yapılmalıdır Aksi takdirde, fibrin flamanları ve eritrosit cidarı gibi artefaktlar yanlışlıkla bakteri olarak değerlendirilebilir. Ayrıca, karanlık alanda her sahada 1 leptospira görülebilmesi için yaklaşık 10^4 leptospira/ml bulunması gerekir (3,4)

2-Kültür

Leptospirozisin tanısı için, insan klinik örneklerinden leptospiraların izolasyonu altın standart olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte, izolasyon güç olması ve zaman alması nedeniyle duyarlılığı düşük olarak kabul edilmektedir (15)

Leptospiralar, zorunlu aeroburlar ve üremeleri için optimum pH 6.8-7.4 ve optimum ısı 28-30 °C'dir. Üremeleri için, B₂ ve B₁₂ vitaminleri, uzun zincirli yağ asitleri amonyum tuzları ile zenginleştirilmiş besiyerleri kullanılır. Uzun zincirli yağ asitleri karbon kaynağı olarak kullanılır ve β oksidasyon ile metabolize edilir (3,5)

Leptospira izolasyonunda kullanılan Fletcher, Korthoff, Noguchi ve Stuart besiyerleri tavşan serumu içerir. Yaygın olarak kullanılan formülasyon oleic asit-albumin içeren Ellinghausen-Mc-Cullough-Johnson-Harris (EMJH) ve PLM-5 besiyerleridir. EMJH besiyeri ticari olarak temin edilebileceği gibi, Tween 80 ve sığır serum albumini kullanılarak hazırlanabilir. Besiyerlerine neomisin veya 5-fluorouracil eklenerek leptospiral üreme için selektif besiyerleri elde edilebilir. 5-fluorouracil eklenen besiyerleri, neomisin eklenen besiyerlerinden daha selektiftir. Ancak 5-fluorouracil leptospiraların üremesini yavaşlatabilir (2-4)

Leptospiralar, hastalığın ilk 7-10 gününde kan ve BOS, daha sonra idrardan izole edilebilir. Steril örnekler, Fletcher, Korthoff, Noguchi, Stuart, EMJH ve PLM-5 gibi besiyerlerine ekilir. Örnekler, hem selektif hem de non-selektif besiyerlerine ekilmelidir. Besiyeri temin edilemediği durumlarda, kan veya BOS örneği heparin ve sodyum oksalat içeren steril tüplere konarak referans laboratuvarlarına gönderilebilir. Sitratin inhibitör etkisinden dolayı örneklerin saklanması için sitratlı tüpler kullanılmamalıdır. Kan ve BOS örneği, donma ve aşırı ısıdan korunarak gönderilmeli ve 1 hafta içinde ekimi yapılmalıdır. İdrar örnekleri, steril olarak alınmalı, mümkün olan en kısa sürede ekim yapılmalı ya da 5-

fluorouracili, %1 sığı serum albuminle 1/10 oranında dilüe edilerek 5-20 °C arasında mümkün olduğu kadar hızlı gönderilmelidir (4,15).

Bir iki damla kan veya 0.5 ml BOS, 5 ml besiyerlerine, her örnekten 3 ile 5 tüp olacak şekilde ekim yapılır İdrar örneklerinin ekimi, steril serum fizyolojik ile 1/10 oranında seri dilüsyonları gerektirir. Leptospiralar, idrarda aralıklı olarak buldukları ve asit idrardan etkilendikleri için, idrar örnekleri idrarın alkalileştirilmesi sonrasında aralıklarla alınmalıdır (4,37)

Leptospiralar tanısal ya da postmortem doku örneklerinden de hızlı yapıldığı takdirde izole edilebilir. Bezelye büyüklüğündeki doku örneği 5 ml'lik enjektör ile alınarak seyreltilir ve selektif ve non-selektif besiyerlerine ekilir.

Kültürler, 28-30 °C'de ya da oda ısısında karanlıkta inkübe edilmelidir. Sıvı besiyerinde üreyen leptospiralar, belli belirsiz bulanıklık yapabilirler, yarı sıvı besiyerlerinde, yüzeyden 1-2 cm altında bir disk oluşturarak üreyebilirler Kültür örnekleri, ilk olarak 5. gün, daha sonra 7, 10, 14. ve sonrasında haftada bir karanlık alan mikroskopunda üreme için kontrol edilmelidir. Kültür örnekleri 13 hafta takip edilmelidir. İzole edilen leptospiralar serolojik ve moleküler tekniklerle idantifiye edilebilir (3,4,15,37)

Sistemik antibiyotik kullanımı leptospiraların izolasyonunda başarıyı azaltır.

3-Hayvan Deneyi

Leptospira izolasyonu için pratik bir yöntemdir En iyi deney hayvanları, genç kobaylar, süt emen tavşan ve hamsterler, sonra farelerdir Hastalığın ilk günlerinde alınan 2-3 ml defibrine kan veya plazma iki kobayın derisi altına ve periton içine verilir Özellikle Weil Hastalığının tipik olgularında, kobayların 6-8 gün içinde ateş ve ikterle hastalandıkları ve 10'uncu günde öldükleri görülür. Bazen hayvanlar sadece ateşle

seyreden iktersiz ve hafif, bazen de hiçbir belirti vermeyen inaparan infeksiyonlar geçirebilirler. lüme yakın dönemde kalp kanından ve ölümden sonra organ örneklerinden leptospira üretilmesi, ayrıca karaciğer ve böbrekten yapılan preparatlarda leptospiraların görölmesi tanı koydurucudur. Hafif ya da inaparan infeksiyonlarda ise kobayın kalbinden ponksiyonla veya periton eksudası alınarak diğer iki kobayın deri altına ve peritonuna enjekte edilir. Böylece virölansı artan mikroorganizmalarla tipik bir leptospiroz meydana gelir. Deney, farelerde yapılmışsa inokülasyondan birkaç gün sonra leptospiraların periton eksudasında aranması önerilir. Hayvan deneylerinden, daha çok kontamine materyellerden leptospira izolasyonu ve havuz, dere, göl gibi su kaynaklarından leptospira izolasyonunda yararlanılır (13,15,37).

4- Moleküler Teknikler

Polimerase Chain Reactions (PCR)

Leptospiraların, serum, idrar, humor aköz ve BOS örneklerinden tespit etmek için PCR metodları geliştirilmiştir. PCR kanda ve BOS'ta humoral cevabın gelişmesinden önce, ilk 7-10 gün içerisinde faydalıdır. PCR ile idrarda haftalarca, humor öközde aylarca leptospira gösterilebilir. Bu metod ile 1-10/ml leptospira tespit edilebilmektedir (38,39).

B-İndirekt Tanı Metodları (Serolojik Metodlar)

a- Makroskobik Aglütinasyon Test (MAT)

Makroskobik aglütinasyon testi lamda fayans üzerinde ya da tüpte yapılabilir. Test semikantitatifdir. Yüksek antikor düzeylerini taramak için uygundur ama duyarlılığı düşüktür. 1/80 veya daha yüksek titreler pozitif olarak kabul edilir. Lipemik serumlar filtrelerden geçirilmelidir (40).

b-Mikroskopik Aglutinasyon Test (MAT)

Leptospirozisin tanısı için temel referans testtir. Canlı antijenler kullanılarak, referans laboratuvarlarında uygulanır, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksektir. Diğer serodiyagnostik testlere göre daha iyi standardize edilmiştir. Bununla birlikte değerlendirmenin subjektif olması, infeksiyonun inkübasyon periyodunun uzadığı durumlarda zayıf aglutinasyon gözlenmesi ve laboratuvar kaynaklı infeksiyonlar için risk oluşturması dezavantaj yaratır. Bazı laboratuvarlarda, infeksiyon riskinin düşük olması ve 2 hafta kadar stabil kalabilmesi nedeniyle formalinle öldürülmüş antijenler kullanılmaktadır. Sonuçlar, canlı antijen kullanılarak yapılan teste göre oldukça uyumlu bulunmasına rağmen, titreler düşük ve çapraz reaksiyon oranları yüksek tespit edilmiştir (4).

Canlı antijen olarak EMJH besiyerinde üretilmiş, 4-7 günlük, $5 \times 10^7 - 10^8$ leptospira/ml içerecek şekilde 0.5 McFarland standardına uygun hazırlanmış, tüm lokal ve son dönem leptospira suşları kullanılır. Suşlar, standart suşlarla karşılaştırılarak periyodik doğrulama testleri yapılmalıdır. Lokal serovarların yanında diğer birçok serovar ile çapraz reaksiyon veren saprofitik *L. biflexa* Patoc I suşu da bulundurulmalıdır (3,4)

MAT, karanlık alan mikroskopunda değerlendirilir End point noktası, 100'lük büyütmede leptospiraların %50'sinin aglutine olduğu en yüksek serum dilüsyonu kabul edilir, yani değerlendirme subjektif olarak yapılır. Özellikle akut faz örneklerinde, çapraz reaksiyon sık görülür MAT ile hem IgM hem de IgG antikorları tespit edilir. Antikorlar, genellikle ilk haftanın sonunda tespit edilebilir seviyeye yükselir ve üçüncü haftanın sonunda en yüksek düzeye ulaşır. Akut dönem sona erdikten sonra azalmakla birlikte uzun yıllar tespit edilebilir düzeylerde kalır. Bu nedenle MAT geçmişte kazanılmış leptospiral

antikorları da tespit edebileceği için, akut leptospirozis tanısı için 2 hafta ara ile alınan sonuçlar daha doğru yorumlanabilir. Ancak, akut leptospirozis bulgularını şiddetle gösteren hastalarda, 4-5 gün aralarla testin tekrarlanması da doğru sonuçlar verebilir. Testin yorumlanmasında lokal epidemiyoloji büyük önem taşır. Akut leptospirozis tanısı için;

- 1- Epidemik olmayan alanlarda, semptomlar başladıktan sonra tek bir serum örneğinde 200 ve üzerinde,
- 2- Ayrıntılı serum örneklerinde 4 kat veya daha fazla artış
- 3- Epidemik alanlarda, tek serum örneğinde 800 ve üzerinde MAT titresi beklenir (3,4).

Antibiyotik alan hastalarda antikorların oluşması engellenebilir ya da antikor titreleri düşük kalabilir. Ayrıca %10 hastada, hastalığın ilk bir ayında serokonversiyon gelişmeyebileceği bilinmelidir (2,3)

MAT ile saptanan antikorlar ile sifiliz, relapsing feber, Lyme hastalığı ve Legionella infeksiyonlarında çapraz reaksiyonlar görülebilir (15)

c-Enzim Linked Immun Assay (ELISA)

IgM ve IgG türü antikorların tespit edebildiği, akut ve geçmişte kazanılmış infeksiyonları gösteren, hızlı, kolay, aynı anda birçok serum örneğinin çalışılmasına uygun, değerlendirilmesi objektif bir testtir. Birçok serovar ile reaksiyon veren Copenhageni ve Patoc antijenlerinin kaynatılarak ya da formalinle öldürülmesiyle hazırlanan süspansiyonlar veya birçok antijenin sonikasyonla karıştırılması ile hazırlanarak kullanılır. Akut infeksiyonda MAT ve ELISA IgM karşılaştırılmış, duyarlılığı %99, özgüllüğü %93 tespit edilmiştir (40-42).

d-İndirekt Hemaglutinasyon Test (IHA)

Akut leptospirozis tanısında uygulanması kolay, hızlı, küçük laboratuvarlar için uygun bir yöntemdir. IgM ve IgG türü antikorları gösterir ve erken dönemde pozitif olur. MAT, ELISA IgM ve IgG ve IHA'nın karşılaştırıldığı bir çalışmada, duyarlılığı %100, özgüllüğü %94, pozitif prediktif değeri %95 ve negatif prediktif değeri %100 olarak bildirilmiştir (43)

e-Dipstik testi

Bu test ile leptospira spesifik IgM antikorları tespit edilir. Dipstik üzerine emdirilmiş leptospira antijenlerine, leptospiral spesifik IgM antikorlarının bağlanmasıyla ortaya çıkan boyanmanın yoğunluğuna göre değerlendirme subjektif olarak yapılır. Boyanma durumuna göre -, +, ++, +++, +++++ olarak değerlendirilir. + test sonucu olanlar bir süre sonra tekrarlanmalı ve diğer yöntemlerle doğrulanmalıdır. ++ ve üzeri kuvvetle infeksiyonu destekler. Semptomlar başladıktan sonraki ilk 10 günde duyarlılık %84, özgüllük %87, 10-30 gün arası duyarlılık %92, özgüllüğü %94'tür.

Testin hızlı, kolay uygulanabilir ve spesifik olması avantaj sağlar (44,45).

f-Diğer testler

Leptospirozisin serolojik tanısında kompleman fiksasyon testi, lateral flow assay, latex aglutinasyon, mikrokapsül aglutinasyon testleri de kullanılabilir.

AYIRICI TANI

Leptospirozis olgularının, farklı klinik prezentasyonları ve düşük şüphe indeksi nedeniyle genellikle yanlış tanı alırlar. Hastaların kabulünden sonra genellikle %70-80 farklı hastalıkların ön planda düşünüldüğü saptanmıştır (11).

Akut leptospirozisin tanısı genellikle serolojik metodlara dayanmakta ve sonuçlar retrospektif olarak alınabilmektedir.

Erken dönemde, yüksek ateş, konjiktivit, baş ağrısı ve kas ağrıları nedeniyle viral enfeksiyonlar ve atipik bakteriyel enfeksiyonlar, karın ağrısının da eşlik ettiği vakalarda salmonella enfeksiyonları ön planda düşünülebilmektedir. Oranların yüksek olduğu ülkelerde HIV serokonversiyonu ayırıcı tanıya girer (3).

Hastalığın immun döneminde gelişen hepatit nedeniyle klinik akut viral hepatitler ve brusellayı düşündürebilir. Transaminaz düzeylerinin 4-5 kat kadar artması ve CPK yüksekliği, akut viral hepatit tanısından uzaklaştırır. Brusella tanısı ise kültür ve serolojik yöntemlerle dışlanabilir.

Pulmoner tutulumu olan hastalarda pnömoni ve hanta virüs enfeksiyonları ön planda düşünülebilir (2,3).

Hastalığın seyri sırasında menenjit gelişmesi durumunda diğer santral sinir sistemi enfeksiyonlarının dışlanması için lomber ponksiyon şarttır.

Sıklığı düşük olmakla birlikte döküntülerin görülmesi ile riketsiyozlar akla gelebilir. Ancak leptospira enfeksiyonuna bağlı döküntüler genellikle aynı gün içinde düzelir (15).

Leptospirozis akut ve kendini sınırlayan bir enfeksiyon olmakla birlikte, nadiren uzamış ateş periyodları görülebilir ve nedeni bilinmeyen ateş (FUO) nedeni olabilir (29).

İnfeksiyöz nedenler dışında, kollojen doku hastalıkları, diğer vaskülit ve miyozit nedenleri ayırıcı tanıda önemlidir (11).

TEDAVİ

a-Antibiyotik tedavisi: İn vitro ve hayvanlardaki deneysel infeksiyonlarda, bir dizi antibiyotik *L. interrogans*'a karşı etkili bulunmuştur. Bu antibiyotikler arasında penisilin, ampisilin, tetrasiklinler, piperasilin, mezlosilin, sefotaksim, streptomisin, gentamisin, tobramisin, isepamisin ve bazı kinolonlar sayılabilir.

Antibiyotik tedavisinin hastalığın ilk 4 gününde başlanması durumunda ateşin süresini, böbrek, karaciğer, meninks tutulumlarını, kanama komplikasyonlarının insidansını ve hastanede yatış süresini azaltabildiği gösterilmiştir. Ağır leptospirozis olgularında, tedaviye geç başlanması durumunda bile antibiyotik tedavisinin faydalı olduğu görülmüştür (1,2,46).

Plesebo kontrollü, çift kör çalışmalar, erken dönem, hafif seyirli leptospirozis olgularında, doksisisiklin etkili olurken, daha ağır geç dönem vakalarda intravenöz penisilin yarar sağladığını kanıtlamıştır. İlerlemiş hastalıkta bile intravenöz penisilin semptomları süresini ve anormal laboratuvar bulgularının süresini kısaltır, leptospirürinin gelişmesini engeller. Bu nedenle antibiyotikler, hastalığın seyirinden bağımsız olarak tüm leptospirozis vakalarına verilmelidir (15,18,47).

Hafif ve orta dereceli vakalarda, günde 4 kez 500 mg amoksisilin veya ampisilin veya günde 2 kez 100 mg doksisisiklin 7 gün per oral; ağır vakalarda, günde 4 kez 1.5 milyon U Penisilin G veya günde 4 kez 500-1000 mg Ampisilin intravenöz olarak 7 gün verilir (2,3).

Diğer spiroket hastalıklarında olduğu gibi, penisilin tedavisi verilen leptospirozisli hastalarda Jarisch-Herxheimer-Reaksiyonu gelişebilir. Ancak reaksiyon diğer spiroket hastalıklarındakinden daha hafiftir. Bu reaksiyon terapotik etkinliğin bir göstergesi olarak

Kabul edilse de, artmış morbidite ve mortalite ile ilişkili olabilir Ancak bu durum penisilin tedavisi verilmesini engellemez (3,15,48,49).

b- Destek tedavisi: Leptospirozisli hastada yakın gözlem ve destekleyici tedavi esastır. Tüm hastaların hospitalize edilmesi, ikterik leptospirozisli hastaların ise yoğun bakımda izlenmesi önerilmektedir. Hastalar, tedavilerinin ilk birkaç gününde monitorize edilmelidir. Renal bulgular çoğu zaman kendiliğinden düzelir Prerenal azotemili hastalar rehidrate edilmelidir Bu tür hastaların birçoğunda rehidratasyon sonrası düzelmeye sağlanacağından, hemodiyaliz gereksinimi 72 saat ertelenebilir Rehidratasyonla renal fonksiyonları düzelmeyen hastalara hemodiyaliz uygulanmalıdır Periton diyalizi de tatmin edici sonuçlar vermiştir. Solunum problemi olan hastalarda mekanik ventilasyon gerekebilir Hipoprotrombinemisi olanlara K vitamini verilmelidir (3,18).

KORUNMA

Leptospirozis, tüm dünyada yaygın olarak görülen bir zoonoz olması ve çok sayıda hayvanın leptospiralar için rezervuar olması nedeniyle insan leptospirozisinin kontrolü güçtür Hem infekte hayvanlarla direkt temasın hem de hayvan idrarı ile kontamine su, toprak ve çamurla indirekt temasın engellenmesi mümkün olan en etkili korunma stratejisidir. Çiftlikler ve çevresinde dikkatli hijyen çalışmalarının yapılması ve sürdürülmesi sağlanmalıdır Düz yüzeyler 1/4000 oranında hazırlanmış sodyum hipoklorit veya diğer deterjanlarla düzenli olarak yıkanmalıdır. Lağım çalışanları gibi mesleki riski olan kişilerde, geçirgen olmayan eldiven ve uzun çizmeler önerilmelidir. Başarmak zor olsa da kemirgen kontrolü lokal alanlarda yararlı olabilir Leptospiralar ile kontamine suların dekontaminasyonu tartışılmakla birlikte pratik değildir. Bununla birlikte, II Dünya Savaşı sırasında Alman askerleri, Amsterdam'daki kanalları dekontamine etmek için deniz

suyunu başarıyla kullanmışlardır. Kontamine sulardaki aktivitelelerin yasaklanması yarar sağlayabilir.

Çiftlik hayvanları ve köpeklerde aşı ile immünizasyon uzun yıllardır uygulanmaktadır. Bu uygulamalarda, hayvanlardaki infeksiyonun önlenmesinde aşının yararlı olduğu görülmüştür. Ancak aşılanan hayvanların idrarlarında taşıyıcılık tespit edilmiş ve insanlara bulaş bildirilmiştir. Leptospiralara karşı bağışıklık, homolog serovar veya antijenik olarak benzer serovarlara karşı geliştiğinden, aşının bölgedeki lokal serovarlara içermesi gerekir. ABD'deki mevcut kullanılmakta olan köpek aşısı, serovar grippotyphosayı içermez ve bazı eyaletlerde bu serovardan kaynaklanan köpek infeksiyonları artış göstermektedir (3,15,50)

Leptospirozise karşı aşı ile immünizasyon, Polonya ve Japonya'da maden işçilerinde, İtalya ve İspanya'da pirinç ekimi yapan çiftçiler'de başarı ile uygulanmasına rağmen, günümüzde yaygın olarak kullanılmamaktadır. Fransa'da sadece serovar icterohaemorrhagiae içeren monovalan aşı insanlarda kullanılmak için onay almıştır.

Profilaktik olarak antibiyotiklerin yaygın biçimde kullanılma endikasyonu yoktur. Askeri personel, endemik alanlara seyahat edenler ve bazı tarım işçileri gibi kısa süreli ve yüksek risk altında olanlar antibiyotik profilaksisinden yarar görebilirler. 1982 ve 1991'de Panama'daki Amerikan askerleri arasında büyük leptospira salgınlarından sonra randomize, çift kör, plesebo kontrollü çalışmalarla doksisiklinin profilaktik kullanımı başarılı bulunmuştur. Pirinç işçilerinde penisilin profilaksisi kısmen etkili bulunmuş, leptospira kültürlerinden, kazara ellerine iğne batan laboratuvar çalışanlarında penisilin etkisiz bulunmuştur. Ancak, yayınlanan randomize kontrollü bir çalışmada, doksisiklin profilaksisi ile hastalığın klinik olarak engellendiği, infeksiyonun serolojik göstergelerinin

engellenemediği gösterilmiştir. Profilaksi amacıyla doksisisiklin günde 200 mg tek doz ve kısa süreli uygulanabilir (17,18,51).

MATERYAL VE METOD

Antalya ili yakın çevresinde ve Serik ilçesi köylerinde oturan, sulu tarımla uğraşan ve tarla bahçe işleri sırasında toprak ve su teması olan 394 kişiden 5-8 ml kan alınarak serumları ayrıldı ve serolojik çalışmalar yapıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

Kan alınan kişilerde, yaş, ek iş yapip yapmadıkları, avcılık ya da balıkçılık gibi hobileri bulunup bulunmadığı, hayvan besleyip beslemedikleri, yaşadıkları çevrede fare varlığı ve fareler ile temas olup olmadığı, ev şartları ve sarılık geçirip geçirmediği sorgulandı

Serolojik değerlendirme

MAT

Kullanılan leptospira suşları:

-*Leptospira interrogans icterohaemorrhagiae serovar icterohaemorrhagiae*

Wijnberg

-*Leptospira interrogans grippotyphosa serovar grippotyphosa moscow V*

-*Leptospira interrogans sejroe serovar hardjo prajitna*

-*Leptospira interrogans canicola serovar canicola*

-*Leptospira interrogans australis serovar Jez-Bratislava*

-*Leptospira biflexa serotip semeranga patoc I*

Test, ülkemizin referans laboratuvarı olan Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, leptospira laboratuvarında sorumlu uzmanların denetiminde yapılmıştır. Suşlar standartlara uygun olarak hazırlanarak çalışılmıştır (4)

Testin Yapılışı

Cam tüplere 2.4 ml distile su ve 0.1 ml serum konularak karıştırıldı. Hazırlanan sulandırılmış serumlardan, 96'lık çukurlu tablada 6 sırada birinci çukurlara 0.15 ml konuldu. Kuyucuklara 0.15 ml antijen eklenerek 1/50 dilüsyonu elde edildi. Kontroller serum konulmadan aynı şekilde hazırlandı. 37 °C'de 3 saat inkübe edildi. Alanda görülen leptospiraların en az yarısı aglütine olmuşsa ++ olarak değerlendirildi ve pozitif olarak kabul edildi (4).

ELISA

Leptospira biflexa Patoc I antijeni kullanılarak hazırlanmış olan ELISA kiti (VIRION ELISA Classic / Institut Virion GmbH Würzburg) kullanılarak IgG türü antikorlar araştırıldı.

Testin Yapılışı

Test, üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı. Serumlar 1/100 oranında dilüe edildi. Dilüe örnekler ve standart serumdan 100 µl mikrotest kuyucuklarına pipetle konularak 37 °C'de 60 dakika nemli ortamda inkübe edildi. Uygun şekilde yıkanarak 100 µl dilüe konjugat eklendi. 37 °C'de 30 dakika nemli ortamda inkübe edildi. Uygun şekilde yıkanarak 100 µl substrat solüsyonu eklendi ve 37 °C'de 30 dakika nemli ortamda inkübe edildi. Stop solüsyonu eklenerek 405 nm'de ELISA reader ile okundu.

Pozitif ve negatif kontroller ile blank testleri birlikte çalışıldı.

Sonuçlar üretici firmanın sonuç skalası uygulanarak değerlendirildi.

İstatiksel Değerlendirme

Veriler SPSS programında değerlendirildi ve χ^2 ile Fisher'in χ^2 testleri uygulandı.

BULGULAR

Çalışmamıza alınan 15 yaş ve üzeri 394 kişinin, 196 (%49.7)'si erkek 198 (%50.3)'i kadındı. Erkeklerin yaş ortalaması 40.1 ± 14.8 , kadınların yaş ortalamaları 40.2 ± 14.8 'di. Serolojik değerlendirme sonunda 1/50 titrede 20 (% 5,07) MAT pozitifliği saptandı. Pozitif bulunan leptospira suşları, 4 (%20) *Leptospira biflexa serotip semeranga patoc I*, 16 (%80) *Leptospira interrogans australis serovar Jez-Bratislava* idi

Çalışmamızda, avcılık ve balık avcılığı gibi aktiviteler ile MAT pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kurulamamıştır ($p=0.776$, $p=1$) Çalışma grubumuzun 42(%10.7)'si yaşamlarının bir döneminde fare ısırığına maruz kaldıklarını ve 15(%3.8)'i tanı konmamış sarılık geçirdiklerini belirtmişlerdi ama fare ısırığı ve ikter ile MAT pozitifliği arasında da istatistiksel olarak ilişki tespit edilememiştir ($p=0.709$) MAT pozitifliği saptanan kişilerde, cinsiyetler arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır ($p=0.347$).

MAT pozitiflikliği saptanan serumları da içerecek şekilde ELISA uygulanan 364 serumdan 26 (%7,1)'sında test pozitif saptandı 3 serum örneğinde MAT ve ELISA testleri birlikte pozitif ELISA pozitifliği olan serumlardan, 2'si *L. interrogans serovar bratislava*, 1'i *L. biflexa semeranga patoc I* suşları ile MAT pozitifliği MAT'ne göre ELISA'nın duyarlılığı %15, özgüllüğü %93 olarak tespit edildi.

MAT ve ELISA pozitifliği saptanan kişilerin sonuçları tablo 2'de verilmiştir.

Tablo.2: MAT ve ELISA pozitif kişilerin özellikleri

Sıra	Yaş	Cinsiyet	MAT	ELISA
1	48	E	patoc	negatif
2	70	K	patoc	pozitif
3	34	K	bratislava	pozitif
4	32	E	bratislava	negatif

5	52	E	bratislava	negatif
6	36	K	bratislava	negatif
7	41	K	bratislava	negatif
8	62	E	bratislava	negatif
9	19	K	bratislava	negatif
10	41	E	bratislava	negatif
11	36	E	patoc	negatif
12	42	E	patoc	negatif
13	21	E	bratislava	negatif
14	18	E	bratislava	negatif
15	28	E	bratislava	negatif
16	56	K	bratislava	negatif
17	37	K	bratislava	pozitif
18	35	K	bratislava	negatif
19	22	E	bratislava	negatif
20	38	E	bratislava	negatif
21	77	K	negatif	pozitif
22	37	K	negatif	pozitif
23	39	K	negatif	pozitif
24	39	K	negatif	pozitif
25	62	E	negatif	pozitif
26	50	E	negatif	pozitif
27	45	E	negatif	pozitif
28	55	E	negatif	pozitif
29	55	E	negatif	pozitif
30	40	E	negatif	pozitif
31	35	E	negatif	pozitif
32	47	K	negatif	pozitif
33	27	K	negatif	pozitif

34	36	K	negatif	pozitif
35	28	E	negatif	pozitif
36	33	K	negatif	pozitif
37	23	K	negatif	pozitif
38	23	E	negatif	pozitif
39	46	E	negatif	pozitif
40	23	K	negatif	pozitif
41	18	E	negatif	pozitif
42	38	E	negatif	pozitif
43	30	E	negatif	pozitif

TARTIŞMA

Leptospirozis, tüm dünyada yaygın bir zoonozdur. Hastalığın büyük çoğunluğu, kendi kendini sınırlayan hafif bir infeksiyon şeklinde, az bir kısmı ise ağır sarılık ve hepatorenal bulgularla karakterizedir (1-3,5,15).

Leptospiraların sağkalımı için, ılık nemli nötral veya hafif alkali sularla kaplı alanlar, optimum şartlar olarak kabul edilmektedir. İnfeksiyon, tropikal alanlarda yıl boyunca görülürken, sıcak iklîme sahip bölgelerde yağmurlu sezonlarda görülür. Kuraklık da bulaşıcılığı arttırabilen lokal ortamlar oluşturabilmesi nedeniyle risk yaratabilir (3,5,16,17). İlimizin mevsimsel şartları, kış döneminde ılık, nemli ve yağışlı, yaz döneminde ise aşırı sıcaklık nedeniyle lokal ortamlar yaratabilmesi nedeniyle leptospirozis için risk yaratmaktadır.

Meslekler ve hobi olarak yapılan pekçok aktivite, bulaşı arttırıran faktörlerdir. Her yaş grubunda görülebilmesine rağmen, meslekler ve hobi olarak yapılan aktivitelerle ilişkili olarak akut infeksiyon, genellikle genç erişkin erkeklerde daha sık görülür (1-3)

Şencan ve arkadaşları tarafından, 1991-1997 yılları arasında kliniklerinde izledikleri 24 leptospirozis olgusunun, 18 (%25)'ini erkek, 6 (%25)'sini kadın ve ortalama yaşlarını 44 6 olarak belirtmişler ve hastalarının %58'ini çiftçi, %12'sini ev hanımı, %12'sini balıkçı olarak bildirmişlerdir (52).

Kliniğimize, leptospiroz ön tanısı ile yatırılan hastaların bulunması, çiftçiliğin bir risk faktörü olması ve bölgemiz halkının çoğunluğunun da sulu tarımla geçimini sağlaması nedeniyle, çalışmamızda, sağlıklı çiftçilerde leptospira antikorları araştırılmıştır

Serum örneklerini aldığımız MAT pozitif çiftçilerde, avcılık ve balıkçılık gibi hobilerle, MAT pozitifliği arasında ilişki tespit edilememiştir ($p=0.776$, $p=1$).

Leptospiralar, taşıyıcı durumundaki hayvanlarda hastalık oluşturmadan renal tubullerde uzun süre yaşarlar ve idrarla atılırlar. İnfeksiyon, insanlara, infekte hayvan idrarı ve dokuları ile direkt ya da indirekt temas sonucu bulaşır. Ratlar ve diğer kemirgenler insan leptospirozislerinin en önemli kaynaklarıdır. Fare ısırması sonrası gelişen olgular da bildirilmiştir (3,11,15,19). Çalışma grubumuza aldığımız 394 kişinin hepsi yaşadıkları ve çalıştıkları alanlar çevresinde fare bulunduğunu ve 42(%10.7)'si yaşamlarının bir döneminde fare ısırığına maruz kaldığını bildirdiler. Ancak, tespit edilen MAT pozitiflikleri ile fare ısırığına maruz kalma arasında istatistiksel bir fark tespit edilemedi ($p=0.709$)

Bazı leptospira serovarlarının doğadaki belli konakları tercih etmesi nedeniyle, insanlarda infeksiyona neden olan serovarların tanımlanması ve lokal epidemiyolojik bilgiler çevresel kontaminasyonunun potansiyel ana konak hayvan kaynaklarının belirlenmesini sağlar (3,15). Şencan ve arkadaşlarının takip ettikleri 24 leptospirozis olgusunda, 15 MAT pozitifliği saptanmış ve MAT pozitifliği saptanan olgulardan, 8(%53) *Leptospira interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae*, 3(%20) *Leptospira interrogans*

serovar grippotyphosa tespit edilmiştir. Leptospirozis için riskli gruplarda yaptıkları epidemiyolojik araştırmada, %58 *Leptospira interrogans serovar grippotyphosa*, %42 *Leptospira interrogans serovar icterohaemorrhagiae* göstermişler, o çevreden toplanmış farelerde, çeşitli yöntemlerle %53.6 oranında leptospiralar saptamışlar ve 3 farede *Leptospira interrogans serovar icterohaemorrhagiae* tespit etmişlerdir (52,53). Adana'da yapılan bir araştırmada ise, 12 hastanın 8'inde *Leptospira interrogans serovar icterohaemorrhagiae* ve 1'inde *Leptospira interrogans serovar grippotyphosa* tespit edilmiştir. Sulu tarım ve hayvancılığın yapıldığı Yüreğir bölgesinden, 112 asemptomatik kişiden alınan serumlarda 5 MAT pozitifliği saptanmıştır. Bunlardan, 3'ü *Leptospira interrogans serovar icterohaemorrhagiae*, 2'si *Leptospira interrogans serovar grippotyphosa* tespit edilmiştir (54).

Leptospirozis tanısında kültür altın standart olmaya devam etmektedir ama uzun süre alması ve duyarlılığının düşük olması dezavantajdır (15). Bu nedenle, tanı genellikle serolojik metodlarla, leptospiralara karşı gelişen antikorların tespit edilmesiyle konulur. Leptospiral antikorlar, en erken, akut hastalığın 5-7 günlerinde tespit edilebilecek seviyeye gelir ve en yüksek düzeyine 3 haftada ulaşır. Antikorlar oranları giderek düşer ama uzun yıllar kanda tespit edilebilir. Bu sürenin ne kadar olduğu net olarak bilinmemekle birlikte, 20 yılın üzerinde olduğunu bildiren yazarlar vardır (2,3,13).

MAT standart referans testtir, rölatif olarak serovar spesifiktir, IgM ve IgG türü antikorları tespit eder. Bu nedenle hem tanı hem epidemiyolojik araştırmalarda kullanılabilir. O bölge için seçilmiş serovarlar kullanılmalıdır, uygun serovarlar kullanılmadığı durumlarda yanlış negatiflikler elde edilebilir (3,55). Ülkemiz için önerilen serovarlar *L. icterohaemorrhagiae*, *L. javanica*, *L. canicola*, *L. pyrogenes*, *L. butembo*, *L. autumnalis*, *L. bratislava*, *L. pomona*, *L. grippotyphosa*, *L. wolffi*, *L. borincana*, *L. hyos*, *L.*

bataviae ve *L. patoc-I* suşlarıdır (37). Yaptığımız epidemiyolojik araştırmada MAT için, *Leptospira interrogans icterohaemorrhagiae serovar icterohaemorrhagiae Wijnberg*, *Leptospira interrogans grippotyphosa serovar grippotyphosa moscow V*, *Leptospira interrogans sejroe serovar hardjo prajitna*, *Leptospira interrogans canicola serovar canicola*, *Leptospira interrogans australis serovar Jez-Bratislava* ve *Leptospira biflexa serotip semeranga patoc I* suşları kullanılmıştır

Epidemiyolojik çalışmalarda, epidemik olmayan alanlarda, 1/20-1/40 MAT titrelerinin pozitif olabileceğini kabul eden yazarlar olsa da (10,56), yapılan pek çok çalışmada, 1/50-1/80-1/100 MAT titreleri pozitif olarak kabul edilmiştir (11,57) Bizim çalışmamızda, antileptospiral antikorların tespitinde 1/50 MAT titresi pozitif olarak kabul edilmiştir

Çalışmamıza alınan çiftçilik ile uğraşan 394 kişinin serumlarından, 16(%4)'sı *Leptospira interrogans australis serovar Jez-Bratislava* ve 4(%1) *Leptospira biflexa serotip semeranga patoc I* suşu ile, toplam 20(%5) oranında, 1/50 titrede MAT pozitifliği elde edilmiştir.

Çalışmamızdaki seroprevalans oranları, Çukurova ve Samsun'da elde edilen oranlara benzerdir(53,54). Ancak serovarlar arasında belirgin fark vardır

Leptospira australis serotipi, ilk olarak Avustralya'da şeker kamışı işçilerinden izole edilmiştir. Daha sonra Asya ve Avrupa'da birçok bölgede tanımlanmıştır (57). *L. interrogans serovar bratislava*, Amerika'da ilk kez 1982'de izole edilebilmiştir (58). 1992 yılında, Roma çevresinde, risk gruplarında, 1/50 MAT titresi pozitif kabul edilerek yapılan bir seroprevalans çalışmasında, prevalans %12 tespit edilmiş ve *L. icterohaemorrhagiae* ve *L. bratislava* baskın serotipleri olarak belirlenmiştir (59). İtalya'da, 1986-1993 yılları arasında doğrulanmış 312 olguda, *L. bratislava* üçüncü sıklıkta tespit edilmiştir (60) Alp

dağlarındaki çiftçi ve orman işçilerinde %10-12 oranında *L. bratislava*, *L. icterohaemorrhagiae* ve *L. saxkoening* prevalansı tespit edilmiştir (61)

Leptospira australis serogrup içerisinde yer alan *Jez-Bratislava* serotipinin rezervuarı *Epimys Rattus*, *Culmoronus*, köpek ve atlardır (58). İspanya'da sığırlardaki leptospira seroprevalansı %64-%50 arasında tespit edilmiş ve en baskın serovar *L. bratislava* olarak bildirilmiştir (62). Amerika'da yaban domuzlarındaki *L. bratislava* oranı %29 sıklıkta bulunmuştur (63). 80'li yıllarda, Avrupa'da *L. bratislava*, domuzlarda düşüklere neden olmuş ve sonrasında aşı çalışmaları başlatılmıştır (58).

Bu serotiple oluşan infeksiyon 'flu-like' sendrom seyirli olup, sarılık nadiren görülmektedir (57). 1994'te İtalya'dan, *L. bratislava* ile bir aseptik menenjit vakası tanımlanmıştır (64).

Bu serovar, ülkemizin referans laboratuvarı olan Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde Mart 2001 yılında rutin olarak çalışılmaya başlanmıştır (65). Bu nedenle, bu tarihten önce yapılan araştırmalarda, bu suşa karşı antikorların tespit edilememesi doğaldır. Ancak bizim araştırmamızda diğer bölgelerde tespit edilmiş olan *L. icterohaemorrhagiae* ve *L. grippotyphosa* gibi insan infeksiyonlarında yaygın görülen suşlara karşı antikorların görülmemesi dikkat çekmektedir.

Önceki yıllarda, kliniğimizde izlenen leptospiroz olgularının kesin laboratuvar tanısı yoktur. Bu çalışma içerisinde, bu vakaların, retrospektif olarak değerlendirilerek suş analizi yapılamadığı için, hasta popülasyonumuzdaki, baskın serovarlar bilinmemektedir. 2001 yılı içinde, leptospiroz tanısı konan bir hastamızda, MAT ile *L. icterohaemorrhagiae* tespit edilmesi ilimiz içerisinde, bu serovarin bulunduğunu göstermektedir (66). Afyon'da, mandalarda *L. icterohaemorrhagiae* tespit edilmesine rağmen, referans laboratuvarına gönderilen insan serumlarında, *L. icterohaemorrhagiae* tespit edilememiştir (65). Bizim

çalışmamızdan daha sonra, Babür ve arkadaşları, Ankara'da, riskli grubu olarak kabul edilen 102 mezbaha çalışmasının 2(%1 96)'sinde serovar bratislavaya karşı 1/100 MAT titresinde antikorlar tespit etmişler, *L. icterohaemorrhagiae* antikorları gösterememişlerdir (57). Yine de, ilimizdeki *L. icterohaemorrhagiae* sıklığı konusundaki net bilgiler, hasta popülasyonumuzun değerlendirilmesinden sonra elde edilebilecektir

Özdemir ve arkadaşları, 1994 yılında, Antalya'da, *Leptospira interrogans australis* serovar Jez-Bratislava içermeyen antijenler kullanarak yaptıkları çalışmada, 175 sığırdan MAT ile anti-leptospira antikorları araştırmışlar ve sığırların hiçbirinde MAT pozitifliği tespit edememişlerdir (67)

Lokal serovarlarla birlikte, birçok serovar ile çapraz reaksiyon veren *L. biflexa* semeranga patoc I suşunun, tanı ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabileceği bildirilmektedir (56,68). Ancak bizim çalışmamızda, *Leptospira interrogans australis* serovar Jez-Bratislava ile tespit ettiğimiz 16 MAT pozitif serumdan hiçbiri *L. biflexa* semeranga patoc I suşu ile çapraz reaksiyon vermemiştir.

ELISA, leptospirozis tanısında bir diğer serolojik yöntemdir. IgM veya IgG türü antikorlar tespit edilerek akut ya da geçirilmiş infeksiyon gösterilebilir. Copenhageni ve patoc antijenlerinin kaynatılması ya da formalinle öldürülmesiyle veya istenilen antijenlerin sonikasyonla karıştırılarak hazırlanır (41) MAT ve ELISA farklı antijen-antikor sistemlerini tespit eder (69). Akut infeksiyon sırasında ve konvelasan dönemde ELISA IgM ve IgG duyarlılığı yüksektir (41,42) Ancak ELISA ile leptospira antikorlarının epidemiyolojik araştırmalar için kullanımı konusunda tecrübeler yetersizdir. Bu amaçla riskli grup olarak kabul edilen çiftçilerden aldığımız 394 serum örneğinin, MAT pozitif olanlarını da içerecek şekilde 364 serumda ELISA ile IgG türü antikorları araştırdık 26(%7,1) serum örneğinde pozitif sonuç alındı ELISA pozitifliği olan

serumlardan, 2'si L interrogans serovar bratislava 1'i L biflexa semeranga patoc I suşları ile MAT pozitifliği MAT'ne göre ELISA'in duyarlılığı %15, özgüllüğü %93 olarak tespit edildi.

Altıntaş ve arkadaşları, Bursa'nın kırsalında yaşayan hayvancılık ve/veya çiftçilik ile uğraşan 130 kişi ile şehirde yaşayan 100 kişiden kan alarak MAT ve ELISA ile antikorlar araştırmışlar ve riskli grupta 6/130 (%4.6) MAT, 14/130 (10.7) ELISA pozitif tespit etmişlerdir. 3 serum örneğinde hem MAT hem de ELISA pozitif bulunmuş. Kontrol grubunda MAT pozitifliği tespit edilememişken ELISA ile 3/100 (%3) pozitiflik tespit etmişlerdir. Sonuç olarak ELISA duyarlılığı %50, özgüllüğü %94 olarak tespit etmişlerdir (70). Bizim sonuçlarımız ile karşılaştırıldığında, ELISA duyarlılığını Altıntaş ve arkadaşlarından daha düşük, özgüllüğünü ise benzer olarak tespit ettik.

SONUÇ

Antalya ili yakın çevresi ve Serik ilçesi köylerinden, leptospirozis için riskli grup olarak kabul edilen, 394 sulu tarımla uğraşan çiftçiden kan alınarak, MAT ve ELISA ile anti-leptospiral antikorlar değerlendirildi. MAT ile toplam 20(%5) pozitiflik tespit edildi. Pozitif bulunan leptospira suşları, 4(%20) *Leptospira biflexa serotip semeranga patoc I*, 16(%80) *Leptospira interrogans australis serovar Jez-Bratislava* idi. *Leptospira interrogans serovar bratislava*, Türkiye’de, şimdiye kadar yapılan epidemiyolojik çalışmalarda gösterilememiştir. Akdeniz ülkeleri olan İtalya ve İspanya gibi çeşitli Avrupa ülkelerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda yaygın olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamız, bu serovarin bölgemizde de yaygın olarak bulunduğunu göstermiştir.

Bu serovardan kaynaklanan infeksiyonların, genellikle hafif seyirli ve anikterik seyrettiği düşünülmektedir. Bu sonuçlarla, ilimizde leptospirozis olgularının sık olduğu ama kliniğin hafif seyretmesinden dolayı hastaların saptanamadığı düşünülebilir.

Yaptığımız çalışmada, ilimizdeki seroprevalans oranları, farklı illerde yapılan epidemiyolojik çalışmalar ile uyumlu bulunmuş ama serovarlarda arasında belirgin farklılıklar tespit edilmiştir. Bu çalışma, ilimiz epidemiyolojik verileri için önemlidir. Ancak, epidemiyolojinin daha net anlaşılabilmesi için, leptospirozlu hastaların değerlendirilmesi ve konakların tespiti için hayvan çalışmalarına gereksinim vardır.

MAT’ne göre ELISA’in duyarlılığı %15, özgüllüğü %93 olarak tespit edilmiştir. Bu bulgularla, seroprevalans çalışmalarında ELISA kullanımı, henüz uygun gözükmediği kanaatine varılmıştır.

ÖZET

Leptospirozis, tüm dünyada yaygın bir zoonozdur. Leptospirozis, *Leptospira interrogans* serovarlarının neden olduğu, yüksek ateş, baş ağrısı, kas ağrısı ile hafif seyirli veya hepatorenal bulgularla karakterize Weil Hastalığı şeklinde seyredebilen, nadiren ölüme kadar gidebilen, akut seyirli bir infeksiyon hastalığıdır. İnsanlar, kontamine olmuş su ve toprakla infekte olurlar.

Klinik tabloların çok farklı olabilmesi nedeniyle klinik tanı olası değildir, laboratuvar tanısı gerektirir. Kültür zaman alıcı ve duyarlılığı düşüktür. Tanı genellikle serolojik yöntemlerle konur. MAT temel referans testtir. MAT değerlendirilmesinde epidemiyolojik veriler önemlidir.

Herhangi bir bölgede, hastalığın epidemiyolojisini anlamak için prevalan serovarlar ve ana konakların bilinmesi gerekir.

Antalya ili yakın çevresi ve Serik ilçesi köylerinden, leptospirozis için riskli grup olarak kabul edilen, 394 sulu tarımla uğraşan çiftçiden kan alınarak, MAT ve ELISA ile anti-leptospiral antikorlar değerlendirildi. 1/50 MAT titesi pozitif olarak kabul edildi. Antijen olarak, *Leptospira interrogans icterohaemorrhagiae* serovar *icterohaemorrhagiae* Wijnberg, *Leptospira interrogans grippotyphosa* serovar *grippotyphosa moscow V*, *Leptospira interrogans sejroe* serovar *hardjo prajitna*, *Leptospira interrogans canicola* serovar *canicola*, *Leptospira interrogans australis* serovar *Jez-Bratislava* ve *Leptospira biflexa* serotip *semeranga patoc I* suşları kullanıldı. MAT ile anti-leptospiral antikor pozitifliği toplam 20(%5) olarak tespit edildi. Pozitif bulunan leptospira suşları, 16(%80) *Leptospira interrogans australis* serovar *Jez-Bratislava* ve 4(%20) *Leptospira biflexa* serotip *semeranga patoc I* idi.

MAT pozitiflikliği saptanan serumları da içerecek şekilde ELISA IgG ile anti-leptospiral antikorların araştırıldığı 364 serumdan 26 (%7,1)'sinde test pozitif saptandı. 3 serum örneğinde MAT ve ELISA testleri birlikte pozitif olarak bulundu MAT'ne göre ELISA'in duyarlılığı %15, özgülüğü %93 olarak tespit edildi

Bu sonuçlar, *Leptospira interrogans* serovar bratislavanın bölgemizdeki yaygınlığı hakkında olumlu bilgiler vermiştir. Ancak, hastalığın bölgemizdeki epidemiyolojisini daha iyi anlamak için, hastaların değerlendirilmesi ve ana konaklarının belirlenmesi için hayvan çalışmaları gerekmektedir.

Seroprevalans çalışmaları için, ELISA IgG kullanılması ise henüz mümkün gözükmemektedir.

Anahtar kelimeler: *Leptospira*, leptospirozis, Weil Hastalığı, epidemiyoloji

KAYNAKLAR

1. Kelley PW. Leptospirosis In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). Infectious Diseases. 2nd ed. Philadelphia: W.B Saunders, 1998:1580-1587
2. Farrar WE. Leptospira Species (Leptospirosis) In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed. New York: Chourchill Livingstone; 1995:2137-41
3. Lewett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001;14(2):296-326
4. Weyant RS, Bragg SL, Kaufmann AF. Leptospira and Leptonema In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology 7th ed. Washington DC: ASM press. 1999:739-745
5. Farı RW. Leptospirosis. Clin Infect Dis 1995;21:1-8
6. Gsell O. The History of Leptospirosis: 100 Years. Zbl Bact Hyg 1984; 257:473-478
7. Köksal F. Leptospirozisin Epidemiyolojisi. In: Sünbül M, Leblebicioğlu H (eds). Sarmal Bakteri İnfeksiyonları. Samsun: SİMAD yayınları-No:2, 2000: 61-67
8. Hakioglu F. Türkiye'de insan ve hayvan leptospirozisleri üzerine araştırmalar. Mikrobioloji Dergisi (Revue de Mikrobiologie) 1964;XVII (1-2): 63-70
9. Fazlı řA. Leptospiroloji'de son geliřmeler ve şimdiye kadar Türkiye'de tespit edilen leptospira serotipleri. Mikrobiyoloji Bülteni 1970;4(4):315-231
10. şencan İ. Orta Karadeniz Bölgesi'nde Leptospirozis. Uzmanlık Tezi, Samsun, 1997
11. Plank R, Dean D. Overview of the Epidemiology, Microbiology, and Pathogenesis of Leptospira spp. in Humans. Microbes and Infection 2000;2:1265-1276
12. Baykan M. Leptospirozlar. In: Mutlu G, İmir T, Cengiz AI, Ustaçelebi ř, Tümbay E, Mete Ö. Ankara : Güneř Kitabevi Ltd. řti, 1999: 669-673

13. Bilgehan H. Leptospira. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları (ed) İzmir, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 1986;502-517
14. Sözen IH. Leptospira Türleri In: Serter D, Ertem E, Gökengin D (eds). Başlıca Bakteriyel, Paraziter ve Mikotik Enfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevi. 2000; 320-324
15. Tappero JW, Ashford DA, Perkins BA. Leptospira Species (Leptospirosis) In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed, New York: Chourchill Livingstone, 2000:2495-2501
16. Bovet P, Yersin C, Merien F, David CE, Perolat P. Factors associated with clinical leptospirosis: a polulation-based case-control study in Seychelles. Int J Epidemiol 1999 ;28(3):583-90
17. Lomar AV, Diament D, Torrès JR. Leptospirosis in Latin America Infect Dis Clin North Am. 2000;14(1):23-39
18. Watt G. Leptospirosis. Current Opinion in Infectious Diseases 1997;10:149-152
19. Gallop JH, Katz AR, Rudoy RC, Sasaki DM. Rat-bite leptospirosis. West J Med 1993;159:76-77
20. Feigin RA, Lobes LA, Anderson D, Pickering L. Human Leptospirosis from Immunized Dogs. Ann Intern Med 1973;79:777
21. Tajiki H, Salomao R. Association of plazma levels of tumor necrosis factor alpha with severity of disease and mortality among patients with leptospirosis. Clin Infect Dis 1996;23(5): 1177-8
22. Magaldi AJ, Yasuda NP, Kudo LH, Seguro AC, Rocha AS. Renal Involvement in Leptospirosis: A Pathophysiologic Study. Nephron 1992;62:332-339

23. Travejo RT, Rigau-Perez JG, Ashford DA et al Epidemic leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage-Nicaragua, 1995. *J Infect Dis* 1998; 178:1457-1463
24. Andre-Fontaine G, Ganiere JP New Topic on Leptospirosis *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 1990;13 (3):163-168
25. Sözen TH Leptospirozlar ve Weil Hastalığı. In Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. (eds) *İnfeksiyon Hastalıkları*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 1996: 553-556
26. Zaki SR, Sieh WJ and the epidemik Working Group. Leptospirosis associated with outbreak of acut febril illness and pulmoner haemorrhage, Nicaragua,1995 *Lancet* 1996;347:535-536
27. Monsues JJ, Kidouche R, Le Gueno B, Postic D Leptospirosis presenting as haemorrhagic fever in visitor to Africa. *Lancet* 1997;349(9047):254-5
28. Lewett PN Leptospirosis: re-emerging or re-discovered disease? *J Med Microbiol* 1999;48:417-418
- 29 van Crevel R, Spelman P, Gravekamp C, Terpstra. Leptospirosis in travelers. *Clin Infect Dis*1994;19:132-4
- 30 Ko AI, Galvao Reis M, Rubeiro Dourado CM, Johnson WD, Riley LW and the Salvador Leptospirosis Study Group Urban epidemic of severe leptospirosis in Brasil *Lancet* 1999;354:820-825
31. Martinez Garcia MA, de Diego Damia A, Menendez Villanueva R, Lopez Hontagas Pulmoner involvement in leptospirosis *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:471-474
32. Chu KM, Rathinam R, Namperumalsamy P. Identification of *Leptospira* species in the Pathogenesis of Uveitis and Determination of Clinical Ocular Characteristic in South India *J Infect Dis* 1998;177:1314-21

33. Lindsay S, Luke IW. Fatal Leptospirosis (Weil's disease) in a newborn infant Case of intrauterin fetal infection with report of an autopsy J Pediatr 1949;34:90-94
34. Bolin CA, Koelner P. Human-to-human transmission of leptospira interrogans by milk. J Infect Dis 1988;158:246-247
35. Shaked Y, Shpilberg O, Samra D, Samra Y. Leptospirosis in pregnancy and its effect on the fetus: case report and review. Clin Infect Dis 1993;17(2):241-243
36. Dupont H, Dupont-Perdrizet D, Perie JL, Zehner Hansen S, Jarrige B, Daijardin JB. Leptospirosis: prognostik factors associated with mortality. Clin Infect Dis 1997;25(3):720-4
37. Bilgehan H. Leptospira enfeksiyonlarının tanısı In: Bilgehan (ed) Klinik Mikrobiyolojik Tanı Ankara: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 1992;544-547
38. Bal AE, Gravekamp C, Harfskeerl RA, De Meza-Brewster J, Korver H, Terpstra WJ. Detection of leptospire in urine by PCR for early diagnosis of Leptospirosis. J Clin Microbiol 1994;32(8):1894-8
39. Marien F, Baranton G, Perolat P. Comparison of polimerase chain reaction with mikroagglutination test and culture for diagnosis of leptospirosis. J Infect Dis 1995;172(1):281-5
40. Brandao AP, Camargo ED, da Silva ED, Silva MY, Abrao RV. Macroscopic agglutination test for rapid diagnosis of human leptospirosis J Clin Microbiol 1998;36(11):3138-42
41. Terpstra WJ, Linthart GS, Schoone GJ. ELISA for the detection of spesifik IgM and IgG in human leptospirosis J Gen Microbiol 1985;131 (2):377-85

42. Winslow WE, Merry DJ, Pirc ML, Devine PL. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M antibody in diagnosis of human leptospiral infection. *J Clin Microbiol* 1997;35(8):1938-42
43. Lewett PN, Whittington CU. Evaluation of the indirect hemagglutination assay for diagnosis of acute leptospirosis. *J Clin Microbiol* 1998;36(1):11-4
44. Gussenhoven GC, van der Hoorn MA, Goris MG et al. LEPTO dipstick assay for detection of *Leptospira*-specific immunoglobulin M antibodies in human sera. *J Clin Microbiol* 1997;35(1):92-7
45. Smits HL, Hartskeerl RA, Terpstra WJ. International multi-centre evaluation of a dipstick assay for human leptospirosis. *Trop Med Int Health* 2000;5(2):124-8
46. Kobayashi Y. Clinical observation and treatment of leptospirosis. *J Infect Chemother* 2001;7(2):59-68
47. Watt G, Padre LP, Tuazon L, et al. Placebo-controlled trial of intravenous penicillin for severe and late leptospirosis. *Lancet* 1988;1:433-435
48. Friedland JS, Warrel DA. The Jarisch-Herxheimer Reaction in Leptospirosis: Possible Pathogenesis and Review. *Rev Infect Dis* 1991;13:207-10
49. Watt G, Warrel DA. Leptospirosis and the Jarisch-Herxheimer Reaction. *Clin Infect Dis* 1995;20:1437-1438
50. David R, Schmidt E, Richard E, Winn MD, Keefe TJ. Epidemiological Features of a Sporadic Case. *Arch Intern Med* 1989;149:1878-1880
51. Sehgal SC, Sugunan AP, Murhekat MV, Sharma S, Vijayachari P. Randomized controlled trial of doxycycline prophylaxis against leptospirosis in an endemic area. *Int J Antimicrob Agent* 2000;13:249-255

52. Şencan İ, Sünbül M, Eroğlu C, Esen Ş, Günaydın M, Leblebicioğlu H. Leptospirozisli hastaların klinik ve laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni 1998;32:273-283
53. Şencan İ, Leblebicioğlu H, Sünbül M, Esen Ş, Eroğlu C, Günaydın M. Samsun'da İnsan ve Hayvanlarda Leptospirozis Sıklığı Flora 1999;4(1):58-63
54. İbrahimi R. Çukurova Bölgesinde Leptospirozis İnsidansı. Doktora Tezi, Adana, 1995
55. Lupidi R, Cingo M, Balanzin D, Delprete E, Varaldo PE. Serological Follow-Up of Patients in a Lokalized Outbreak of Leptospirozis J Clin Microbiol 1991;29(4):805-809
56. Aktan M. Leptospirozisler ve Yurdumuzda İnsan Leptospirozisleri Üzerine Yapılan Çalışmalar. Mikrobiyoloji Dergisi 1968;21 supl:1-27
57. Babür C, Kılıç S, Özdemir V, Erol E, Esen B. Ankara İli Mezbahalarında Anti-Leptospira Antikorlarının Araştırılması. Poster sunumu Klimik 2001 Kongre Program ve Özet Kitabı, 247.
58. Ellis WA and Thierman AB. Isolation of Leptospira interrogans serovar bratislava from sows in Iowa. Am J Vet Res 1986;47(7):1458-60
59. Nuti M, Amaddeo D, Autorino GL et al. Seroprevalance of antibodies to hantaviruses and leptospire in selected Italian population groups Eur J Epidemiol 1992;8(1):98-102
60. Ciceroni L, Pinto A, Benedetti E et al. Human leptospirosis in Italy; 1986-1993. Eur J Epidemiol 1995 ;11(6):707-10
61. Nuti M, Amaddeo D, Crovatto M et al. Infections in an Alpine environment: antibodies to hantaviruses, leptospira, rickettsiae, and Borrelia burgdorferi in defined Italian populations Am J Trop Med Hyg 1993;48(1):20-5

62. Alonso-Andicoberry C, Garcia-Pena FJ, Pereria-Bueno J, Costas E, Ortega-Mora LM
Herd-level risk factors associated with *Leptospira* spp. Seroprevalence in dairy and
beef cattle in Spain *Prev Vet Med* 2001;52(2):109-17
63. Saliki JJ, Rodgers SJ, Eskew G. Serosurvey of selected viral and bacterial diseases in
wild swine from Oklahoma. *J Wildl Dis* 1998;34(4):834-8
64. Torre D, Giola M, Martegani R, et al Aseptic meningitis caused by *Leptospira*
australis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994 Jun;13(6):496-7
65. T.C. Tarım Bakanlığı Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü kayıtları
66. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, 2001 (Yayınlanmamış veri)
67. Özdemir V Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü 1994 (Yayınlanmamış
çalışma)
68. Sharma R, Tuteja U, Batra HV. Use of locally isolated saprofitic *Leptospira* strain for
serological testing of human leptospirosis *J Commun Dis* 2000;32(3):185-9
69. Adler B, Cousin DV, Faine S, Robertson GM. Bovine IgM and IgG response to
Leptospira interrogans serovar hardjo as measured by enzyme immunoassay *Vet*
Microbiol 1982;7(6):577-85
70. Altıntaş F, Özakın C, Göral G *Leptospiroz* tanısında Enzyme Linked Immunosorbent
Assay (ELISA)'in yeri Poster sunumu, VIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon
Hastalıkları Kongresi, Kongre Program ve Özet Kitabı, 1997:640

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ