

Doğu Anadolu Bölgesinde Şarbon Etkeni ve Seroprevalansının Araştırılması

Çiğdem Eda BALKAN*, Selahattin ÇELEBİ**

*Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars

**Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum

ÖZ

Amaç: Şarbon; *Bacillus anthracis* endosporlarının vücutta deri, solunum ya da gastrointestinal yolla girmesiyle oluşan özellikle otçul hayvanların içinde bulunduğu bir grupta yayılan, ölümcül bakteriyel bir zoonozdur. *Bacillus anthracis*'in temel virulans faktörlerinden biri toksinleridir. Bunlar protektif antijen (PA), ödem faktör ve letal faktördür. Protektif antijen özellikle diğer iki toksinin hücre içine girmesinden sorumludur. Biz de çalışmamızda, yöremizdeki prevalansı saptamak amacıyla bölgemiz hastanelerine başvuran kişilerden şarbon şüpheli görülen hastaların kanlarında protektif antijen saptanmasını amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, protektif antijen IgG antikorunun varlığının saptanması amacıyla ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, Biosource, ABD) yöntemi kullanılmıştır.

Bulgular: Atatürk Üniversitesi Yakutiye Araştırma Hastanesi ve Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne gelen şarbon şüpheli 47 hastadan alınan örneklerin 35'inde *B. anthracis* PA IgG pozitif bulundu. Pozitif sonuçlu 35 hastanın 6'sı kadın (%17.1), 29'u (%82.8) erkek hastalardan oluşmaktadır. Otuz beş hastanın 27'si (%77.1) hayvancılıkla uğraşırken, 8'inin (%22.8) hayvancılıkla uğraşmayan hayvan etiyile temas öyküsü bulunan kişiler olduğu görülmüştür.

Sonuç: Klinik bulguları şarbonu gösteren fakat kanlarında protektif antijen IgG'leri bulunamayan kişilerin negatif çıkan sonuçlarını, hastaların hastanemize başvurmadan önce çeşitli sağlık kuruluşlarında tedavi almalarına, Doğu Anadolu gibi kırsal bölgelerde antibiyotiklerin her hastalığı tedavi eder düşüncesiyle rastgele alınmasıyla bakterinin toksin oluşturma yeteneğinin kırılmasına ya da örneklerin alındığı sırada henüz kanda dolaşan PA varlığının saptanamayacak düzeyde az olmasına bağlamaktayız.

Anahtar kelimeler: *Bacillus anthracis*, seroprevalans, protektif antijen

ABSTRACT

A Research on the Anthrax Agent and Its Seroprevalance in the Eastern Anatolia Region

Objective: Anthrax, is a lethal bacterial zoonosis transmitted through skin, inhalation or gastrointestinal tract, and spread by herbivorous animals particularly with cattle and sheep. One of the fundamental virulence factors of *Bacillus anthracis* is its toxins consisting of protective antigen (PA), edema factor and lethal factor. The protective antigen is especially responsible for intracellular entrance of the other two factors. The aim of the present study is to investigate the protective antigen in blood samples of patients who applied to the hospitals in our region with a suspected anthrax infection, and to determine the prevalence in the region.

Material and Methods: ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, Biosource, USA) method was used in the study in order to detect the presence of the protective antigen IgG antibody.

Results: We determined 35 *Bacillus anthracis* protective antigen IgG positive results out of 47 samples taken from patients suspected of anthrax in Ataturk University Yakutiye Training and Research Hospital and Erzurum Regional Training and Research Hospital. Thirty-five (6 female: 17%, and 29 male:82.8%) patients had positive results. Out of 35 patients 27 (77.1%) were into animal husbandry, 8 patients (22.8%) were not involved in animal husbandry but had a history of contact with animal flesh.

Conclusion: We have attributed the results obtained from the samples taken from patients, who had clinical findings of anthrax but without protective antigens in their blood to medical treatments they received in various health institutes before they applied to our hospital, to random use of antibiotics relying on the common tendency that antibiotics can cure any disease, impairment of toxin-producing ability of the bacteria, drawal of blood samples when protective antigen levels in the circulation decreased to undetectible levels.

Keywords: *Bacillus anthracis*, seroprevalance, protective antigen

Alındığı tarih: 04.07.2017

Kabul tarihi: 04.10.2017

Yazışma adresi: Çiğdem Eda Balkan, Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars

e-posta: cigdemedabalkan@gmail.com

GİRİŞ

Bacillus anthracis “*Bacillus*” cinsinin bir üyesidir. Bu cinsin diğer türleri; *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium* ve *B. subtilis*'tir. Şarbonun etkeni olan *B. anthracis*; Gram pozitif, aerobik veya fakültatif aerobik, hareketsiz basil şeklinde 1 µm ile 8 µm arası büyüklükte olabilen merkezi silindirik sporlu bir bakteridir⁽¹⁾.

Şarbon; *B. anthracis* endosporlarının vücuda deri, solunum ya da gastrointestinal yolla girmesiyle oluşan özellikle otçul hayvanların içinde bulunduğu bir grupla yayılan, ölümcül bakteriyel bir zoonozdur⁽²⁾. İnsan bulaşı kontamine hayvanlar ya da hasta hayvanın ürünleriyle temasla gerçekleşir, henüz insandan insana geçen bir olgu görülmemiştir. Temel olarak şarbon; akciğer, kutanöz (deri) ve gastro-intestinal olmak üzere üç klinik formda görülür. Olguların çoğunluğu kutanöz şarbon şüphesiyle hastaneye başvururken az sayıda akciğer ve gastrointestinal şarbon olguları dabilirdirilmektedir. Kutanöz şarbon genellikle tedavi edilebilir olmakla beraber nadiren ölümcül olabilir. Gastrointestinal şarbon ise bakteriyemi ve toksemi olduğu durumlarda yine olguların neredeyse %51-75'i hipotansiyon ve şok sonucu yaşamını kaybetmektedir⁽³⁾. Akciğer şarbonun da ise durum daha ciddidir. Bakteriyel endosporların solunmasıyla oluşan olguların neredeyse tamamı, semptomların başlamasıyla birlikte birkaç gün içinde ölümlerle sonuçlanmaktadır^(2,4).

Batı Afrika dünyanın en çok etkilenen bölgesi olmakla beraber aynı zamanda Afrika'nın kalan kısmı, Amerika, İspanya, Yunanistan, Türkiye, Arnavutluk, Romanya, Asya ve Ortadoğu'da da *B. anthracis* önemli bir sorun olarak görülmektedir⁽⁵⁾.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention)'ye göre *B. anthracis*, ölümlerle sonuçlanan olguların sayısı sebebiyle, yüksek derece

biyoterrorizm ajanları listesinde yer almaktadır⁽⁴⁾. Dünya çapında meydana gelen saldırılar, şarbon etkeni olan *B. anthracis*'in biyolojik silah olarak kullanıldığını göstermiştir^(5,6).

Bacillus anthracis prokaryotların bazıları gibi besinlerin yetersiz olduğu ve çevre koşullarının uygun olmadığı durumlarda sporlanır⁽⁷⁾. Sporlanan *B. anthracis*'in kalın protein tabakası genetik materyalini ağır kimyasallar ve çevre koşullarına karşı korur⁽⁸⁾. Yüksek sıcaklıklar, UV, pH farklılıkları, toksik kimyasallar sporları öldürmede ineftektiftir ve bu durum sporlu bakterileri bilinen en dirençli yaşam formu yapar⁽⁹⁾. *B. anthracis* dormant halde yıllarca yaşayabildiği gibi besin maddelerinin bulunduğu ortamda vejetatif hâle geçerek metabolik aktivitesini yeniden kazanır⁽¹⁰⁾.

Bakterilerin çoğalması amino asit, şeker, pürin nükleotidlerinin ortamda bulunmasıyla başlayan, dipikolinik asidin spordan çıkmasıyla devam eden ve spora su girişiyle tamamlanan bir süreçle olur⁽¹¹⁾. Spor rehidrate olduğu andan itibaren metabolizması aktive olarak makromoleküllerin sentezlenmesiyle birlikte artık bakteri toksin salgılamaya ve enfeksiyon oluşturmaya hazır hâle gelir^(5,12).

Şarbon enfeksiyonu, gram pozitif toprak mikroorganizması olan *B. anthracis*'in endosporları ile oluşur bu endosporlar çoğalamazlar, kimyasallara ve çevre koşullarına karşı oldukça dirençlidirler⁽¹³⁾. Bakterinin vücuda girdiği andan itibaren sporlar vejetatif forma dönerek virulan hâle geçer ve toksinlerini vücuda salarlar⁽¹⁴⁾.

Deri şarbonu olarak da bilinen kutanöz şarbon, olguların %95'ini oluşturmaktadır⁽¹⁵⁾. Hastalık ağırlıklı olarak çiftliklerde hayvan besleyen ve ürünleriyle temas eden kişilerde oluşmaktadır⁽¹⁶⁾. Enfeksiyon *B. anthracis* sporlarının aşınmış ya da kesik dokudan derialtına girmesiyle oluşur⁽¹⁶⁾. Kuluçka süresi 1-12 gün arasında değişir, enfek-

siyon sporun girmesinin ardından vejetatif forma geçmesiyle birlikte ciltte oluşan ağrısız, kaşıntılı ve düzensiz kenarlı bir yaradır^(3,16). Şarbon yarasının majör teşhis kriteri; morumsu vezikül şeklinde görülen yara ve ödem oluşumudur (Çoban çıbanı)⁽⁵⁾.

Gastrointestinal şarbon gelişmiş ülkelerde çok ender görülmekle beraber, enfekte olmuş kişilerdeki ölüm oranı %25 ile %60 arasında seyrederek⁽⁵⁾. Enfeksiyon kontamine et ve süt ürünlerinin tüketilmesi ile 2-5 gün içinde başlar^(14,15). Enfeksiyona eşlik eden belirtiler; nöbet, kuvvet kaybı, düşük ateş, karın ağrısı, mide bulantısı, kusma, peritoneal kavitede sıvı birikmesi ve baş ağrısıdır⁽¹⁶⁾. Medikal girişim genelde ölüm oranlarını azaltmaktadır ama teşhisin geç olması ölüm oranını artırır^(5,17).

İnhalasyon şarbonu olarak bilinen akciğer şarbonu *B. anthracis* sporlarının solunumuyla alınarak alveollere ulaşmasıyla meydana gelir⁽¹⁾. Bir savunma mekanizması olarak alveolar makrofajlar sporları alarak mediastinal lenf nodlarına taşır, makrofajlarda sporlar vejetatif hâle geçerek çoğalmaya başlar ardından toksin salgırlar ve bakteri makrofajları lizise uğratarak lenfatik sisteme geçer⁽¹⁵⁾. Septisemi ya da bakteriyemi ile birlikte hastalık kısa sürede ölümlerle sonuçlanır^(5,6).

Hastalara penisilin G (Benzilpenisilin), streptomisin, tetrasiklin, doksisisiklin, eritromisin, laktobiyonat, kloramfenikol, siprofloksasin gibi antibiyotikler verilir⁽¹⁾. *B. anthracis*'in iki majör virulans faktörü vardır; bunlar şarbon toksinleri ve poli-d-glutamik asit yapısındaki kapsüldür⁽¹⁸⁾. Konak hücrelerde geniş etkilere sahip olan protektif antijen (PA), ödem faktör (EF) ve letal faktör (LF) *pXOI* geni tarafından kodlanır^(19,20). *pXO2* ise kapsülü kodlayan gen bölgesidir ve kapsül yapısı bakteriyi fagositozdan korur⁽²¹⁾.

Ödem faktör kalmodulin bağımlı adenilat sik-

lazdır; ATP'yi cAMP'ye çevirir⁽²²⁾. cAMP'nin bu yükselişini dokularda sıvı birikmesi ve ödem oluşumu takip eder⁽²³⁾. Yapılan çalışmalarda, ödem toksininin hücrelerde şarbon toksin reseptörlerini arttırdığı, hücreleri daha çok protektif antijenin bağlanması yönünden uyardığı ve böylece hücrelere giren toksin miktarının artmasına neden olduğu bilinmektedir⁽²⁴⁾.

Letal faktör toksik etkisini, immun sistemin patojenleri inaktive ettiği mitojenle aktive olmuş protein kinase (MAPK) yolağını bozarak gösterir⁽²⁵⁻²⁷⁾. Letal faktör aynı zamanda immun sistemin birçok hücresinin potansiyel inhibitörüdür, örneğin, makrofajların ve dendritik hücrelerin sitokin salgılamasını da inhibe eder^(28,29).

Bacillus anthracis'in toksinleri *pXOI* gen bölgesi tarafından kontrol edilir⁽³⁰⁾. Bu toksinler EF, LF ve protektif antijendir ve bu üç proteinin tek başlarına herhangi bir toksik etkileri yoktur^(31,32). Toksinler AB toksin yapısında oldukları için kanda ya da konak hücrede bir araya geldiklerinde etkilerini beraber gösterirler⁽³³⁾. PA konak hücreye saldırarak EF ve LF'nin gireceği bir delik açar, PA bazı hayvanlardaki koruyucu immunitenin de temelini oluşturur bu özelliğiyle şarbon aşısının önemli bir komponentidir⁽³⁴⁾.

GEREÇ ve YÖNTEM

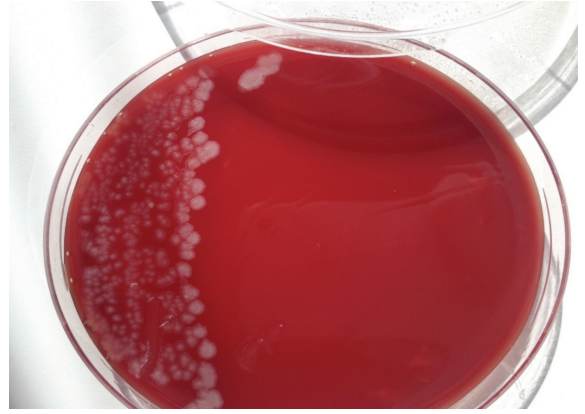
Çalışmamızda PA'nın varlığının saptanması amacıyla indirek ELISA yöntemi kullanılmış, hayvanlarla teması olan ve klinik şüpheli belirti gösteren hasta serumlarında protektif antijen IgG antikoru varlığı araştırılmıştır. Bu araştırma, Atatürk Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 24.07.2014 tarih, 8 no toplantı ve 29 no kararı ile onay almıştır.

Çalışmamıza, hastanemize ve çevre hastanelere şarbon şüphesiyle başvuran 47 kişiden kan örnekleri alınmıştır. Çalışma prosedürüne göre alınan örnekler 2-8°C'de yedi güne kadar ya

da dondurularak altı ay saklanabilmektedir. Bir yıllık süre zarfında toplanan örnekler dondurularak bu şekilde testin çalışılacağı zamana kadar biriktirilmiş hasta serumları iki grup hâlinde çalışılmıştır (Şekil 1). Hasta serumları mikro ELISA cihazı (AluRad Allisei QS, İtalya) cihazı kullanılmış. Şarbon Protective Antijen IgG'si ELISA kiti (Biosource, ABD) ile hasta serumlarında, protektif antijenlere karşı oluşmuş immünglobulin G'ye bakılmıştır.

Erzurum merkezden başlayarak çevre il ve ilçelerden gelen hastaların anamnezleri alındı. Hastaların 35'inde protektif antijen IgG'si pozitif bulunurken, 12 hastanın sonucu negatif saptandı. Besledikleri hayvanlar ve hayvanların bulunduğu ortamlardan alınan sürüntü örnekleri kanlı ağara ekildi ve gram boyalı preparatlar hazırlandı.

Hastalardan alınan bül sıvılarından gram boyama ve ekimler yapıldı. Ekim sonrasında 37°C'de 24 saat içinde üreyen koloniler tek koloni ekimi ile saflaştırıldı (Şekil 2).



Şekil 2. Bül sıvılarından alınan örneklerden pasaj ile *Bacillus anthracis* üretilmiş kanlı agar plağının görüntüsü.

BULGULAR

Atatürk Üniversitesi Yakutiye Araştırma Hastanesi ve Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne gelen şarbon şüpheli 47 hastadan 35'inde *B. anthracis* protektif antijeni ELISA testi ile yapılan çalışmada pozitif bulundu.

Şarbon şüphesiyle başvuran hastalar incelendiğinde:

1. Kırk yedi şüpheli hastanın tamamı klinik bulgu şüphesiyle hastanelere merkez, çevre il, ilçe ve köylerden başvurmuştur.



Şekil 1. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne kutanöz şarbon şüphesiyle gelen hastalar.
A) İlk hasta 29 yaşında kurban kesimi sırasında açık yarasına dokunan 29 yaşında bir kadın.
B) Şarbonlu hayvanlarla temas eden 6 yaşında erkek çocuk.
C) Hayvan kesimine yardım ederken gözüne temas eden 54 yaşında kadın hasta.

Tablo 1. Protektif antijen IgG pozitif sonuçlu hastaların dağılımı.

Kadın				Erkek			
Çocuk		Erişkin		Çocuk		Erişkin	
Hayvancılıkla Uğraşan	Hayvancılıkla Uğraşmayan	Hayvancılıkla Uğraşan	Hayvancılıkla Uğraşmayan	Hayvancılıkla Uğraşan	Hayvancılıkla Uğraşmayan	Hayvancılıkla Uğraşan	Hayvancılıkla Uğraşmayan
2	0	2	2	4	0	19	6

2. Kırk yedi şüpheli hastanın (n:35) %74.4'ünde protektif antijen IgG'si pozitif bulunurken, (n:12) %25.5'i negatif bulunmuştur (on yedi şüpheli erişkin hayvancılıkla uğraşan erkek hasta negatif sonuç vermiştir).
3. Bu şüpheli 47 hastanın (n:41) %87.2'si erkek hasta iken, (n:6) %12.7'si kadın hastadır.
4. Bu hastaların 35'inde *B. anthracis* protektif antijeni pozitif bulunmuştur.
5. PA pozitif sonuçlu 35 hastanın 6'sı kadın (%17.1), 29'u (%82.8) erkek hastalardan oluşmaktadır.
6. PA pozitif sonuçlu 35 hastanın 27'si (%77.1) hayvancılıkla uğraşırken, 8'i (%22.8) hayvancılıkla uğraşmayan fakat hayvan etiyle temas öyküsü bulunan kişilerdir.
7. Hayvancılıkla uğraşan bazı hastalarımızın ahırlarından ve meralarından aldığımız örneklerde ise *Bacillus* cinsi bakteriler üretilmedi.
8. Kırk yedi hastadan alınan bül örneklerinin yaymalarından 31'inde Gram (+) çomak bakterilere rastlanırken, kanlı agara yapılan ekimlerde plakların 23'ünde hemolizsiz, kuru formda, mat, beyaz rengi andıran, kenarları düzensiz R tipi koloniler gözlemlendi. Bu koloniler, yakından incelendiğinde, merkezden periferine doğru oluşan dalgalı ipliksi görünümünden dolayı ondulan saça benzer tipik koloniler görüldü. Bunun yanı sıra birçok plakta Gram (-) ve Gram (+) çeşitli bakterilerin üremelerine rastlandı. Şekil 2'de resimde görülen koloniler şüpheli koloninin saf olarak pasajlanması ile elde edilmiştir.

Üreme olan plaklardan gram boyama yapılarak bambu kamışı görünümünde Gram pozitif basillere rastlanmıştır.

9. Mevsimsel olarak sonuçlarımızda; Haziran-Ağustos ayları arasında ELISA testinde PA sonucu; 29 hastanın 27'sinde pozitif bulundu, Eylül-Kasım ayları arasında 11 hastanın 5'i, PA pozitif bulundu ve diğer ayların tümünde toplamda 7 örnekten 3'ü, PA pozitif olarak bulundu (PA olarak belirtilen sonuç Protektif Antijen IgG sonucudur.).

TARTIŞMA

Şarbon Türkiye'de özellikle geleneksel hayvancılığın yapıldığı alanlarda bilinen bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda, enfeksiyonun kadınlarda ve erkeklerde eşit oranlarda gözlemlendiği ve herhangi bir yaş grubunda da görülme sıklığının diğerinden fazla olmadığı belirtilmiştir⁽³⁵⁾. Çalışmamızda da, bu oran diğer yayınlardaki gibi olmakla beraber hayvancılıkta ve hayvan kesiminde özellikle erkeklerin başrol oynamasından dolayı, şarbon şüphesiyle gelen 47 hastanın 41'i erkek hastalardı.

Epidemiyolojik çalışmalar ELISA ile PA, LF ve EF'nin saptanması üzerinedir. Çalışmamızda da, şarbon şüphesiyle gelen hastalarda protektif antijen IgG varlığına bakılmıştır. Çalışmamızdaki sonuçlara göre 47 hastanın 34 (%74.4)'ün de PA pozitif bulundu. PA negatif hastaların klinik belirtilerinin olmasını, hastaların hastanelerimize başvurmadan önce çeşitli sağlık kuruluşlarında tedavi almasına ya da Doğu Anadolu gibi kırsal bölgelerde antibiyotiklerin her hastalığı

tedavi eder düşüncesiyle rastgele ve hemen alınması neticesinde bakterinin toksin oluşturma yeteneğinin kırılmasına ya da örneklerin alındığı sırada henüz kanda dolaşan PA varlığının saptanamayacak düzeyde az olmasına bağlamaktayız.

Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı'ndan ulaştığımız Türkiye verilerine bakıldığında ise 2010-2014 yılları arasındaki şarbon olgularının dağılımında, 2010 yılında 94 hasta, 2011 yılında 165 hasta, 2012 yılında 135 hasta, 2013 yılında 197 hasta, 2014 yılında 150 hasta bildirilmiştir.

Çalışmamızın yapıldığı Doğu Anadolu bölgesindeki şarbon olgularının azalmasının Türkiye totalindeki azalma ile uyumlu olduğu görülmektedir. Hastanemize son yıllarda şarbon şüphesi ile başvuran hastalarda periyodik bir azalma olduğu hastane kayıtlarından anlaşılmaktadır. Bu azalmayı bölge halkının enfeksiyon ve mikroplar hakkında bilinçlenmesine ve şehir ve kırsal alandaki yaşam şartlarının modernleşmesine bağlamaktayız.

Enfeksiyon insanlara enfekte hayvanlardan direkt ya da dolaylı yoldan bulaşabilir. Endüstriyel olarak bulaşı, enfekte *B. anthracis* sporları ile kontamine kıl, yün, deri gibi hayvansal ürünlerin sanayide işlenmesi sırasında oluşur. Hastaların anamnezlerine bakıldığında çalışmamızda bu yol ile bulaş görülmemiştir. Erzurum ve çevresinde yapağı (yün) ve hayvan deri işleme atölyelerinin son yıllarda tamamen yok olmasa bile yok denilecek kadar az sayıya düşmesi ve dericiliğin yerini yapay derilerin almasının bölgemizde de endüstriyel kaynaklı şarbonun bu denli azalmasına neden olduğu düşünülmektedir.

İkinci bir bulaş şekli olan tarımsal bulaşta risk grubu; hayvancılıkla uğraşanlar, kasaplar, veteriner hekimler ve ender olarak hasta hayvana temas eden hayvancılıkla ilgisi olmayan kişilerdir⁽³⁶⁾. Çalışmamızdaki hastaların tamamı bu gruplar içerisinde yer almaktadır.

Bir üçüncü bulaş yöntemi laboratuvar kaynaklı bulaştır. 1979'da, Sverdlovs Rusya'da 96 kişiyi enfekte eden ve 64 kişinin ölümüyle sonuçlanan salgın bu yolla bulaşa bir örnektir⁽³⁷⁾.

Çalışmamız sırasında taradığımız literatürlerde bu tür bulaşın ülkemizde rapor edilmediğini gördük ya da varsa da gözümüzden kaçmış olabileceği düşüncesindeyiz. Buna karşılık Erzurum ve çevresinde son on yılda hastanelere bu tür bulaşlı bir hastanın başvurduğunun kayıtlarda görülmemesinin Türkiye literatürüne uyumlu olduğu düşüncesindeyiz.

Bacillus anthracis'in mevsimsel dağılımına bakıldığında ülkemizde özellikle sonbahar ve yaz mevsiminde daha yoğunlukta olduğu görülmektedir⁽³⁸⁻⁴⁰⁾.

Örneklerimiz bir yıl süresince gelen şarbon şüpheli 47 hastadan alınmıştır. Bu örneklerin 35'inin PA'ni pozitif bulunmuştur. Otuz beş PA pozitif örnekten 27 (%77.1)'si Haziran-Ağustos ayı süresince, 5 (%14.2)'i Eylül-Kasım aylarında pozitif bulunurken, diğer aylarda ise 3 (%8.5) örnek pozitif olarak bulunmuştur. Sonuçlarımız Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarla paralel doğrultuda olup, şarbonun sonbahar ve yaz aylarında pozitifliğinin daha üst düzeyde olduğunu göstermektedir. Bu durumu mera ve otlaklardan beslenen hayvanların özellikle yaz aylarında dikenli bitkilerle beslenerek ağız yaraları yoluyla sporları almış olabileceğine bağlamaktayız.

Özden ve ark.'nın⁽⁴¹⁾ Erzurum'da yaptığı çalışmada, 44 deri şarbon olgusunun 24'ü erkek (%54.5), 20'si kadın (%45.5) olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda da şarbon şüphesiyle başvuran 47 hastanın 41'inin erkek (%87.2), 6'sının kadın (12.7) olduğu görüldü. Yöremizde yapılan çalışmalarda, hayvancılığın yoğun yapıldığı bölgemizde dahi kadın ve erkeklerin şarbon olgusu olgularında bir korelasyon olmadığı ama çiftçi ve ev hanımları arasında daha yoğun olarak sap-

tandığı gözlemlenmektedir.

Çalışmamızda da önceki çalışmaları destekler nitelikte hastaların büyük çoğunluğunun hayvancılıkla uğraşan erkeklerden, et kesimine yardım eden çocuk ve kadınlardan oluştuğu görülmüştür.

Bacillus anthracis'in in vitro birçok antimikrobiyale duyarlı olduğu bilinmektedir. Penisilinler hâlâ enfeksiyonda ilk yeğlenecek antibiyotiktir. Penisilin allerjisi olan kişilerde, eritromisin, tetrasiklinler, kloramfenikol ve birinci kuşak sefalosporinler diğer seçenekler arasındaki antibiyotiklerdir^(1,42,43).

Çalışmamızda, belirtilen sonuçlara ve hasta anamnezlerine bakıldığında hasta hayvanlar ile temas hâlinde olan kişilerde cilt şarbonu şüpheli bulgular görüldü. Hastalarda protektif antijen IgG tayini, direkt bakı ve kültürle *B. anthracis*'in etken olduğu belirlendi. Sonuçlarda, protektif antijeni negatif çıkan fakat şarbon bulguları olan hastalara da klinikle iletişime geçilerek tedavileri başlatıldı. Yine bu kişilerden alınan örneklerden oluşan negatifliğin hastaların henüz kan örnekleri alınmadan önce başlanan tedaviden kaynaklı oluştuğu düşünülmektedir. Hastalığın sıklığı hayvan beslenmesi ile uğraşan kişilerin hayvanlarının aşılara dikkat etmeleri gerektiğini göstermektedir. Şarbon şüpheli hayvanları olan kişileri gerekli birimlere ulaşması konusunda bilgilendirmek önem göstermektedir.

Çalışmamız hastalıkla ilgili toplumsal bilgilen-dirmelerin özellikle hayvancılığın giderek geliştiği bölgemizde şarbonu bölgeden tamamen eradike etmek için zorunlu olduğunu bir kez daha ortaya koymuştur.

Hastalardan örnek alınmadan önce antibiyotik kullanmaları altın standart olan etkenin üretilmesini engelleyebilmektedir. Bu nedenle hasta-da oluşan herhangi bir spesifik antikorun belirle-

nip, doğrulanması tanı için önem açısından ilk sıraya yerleşmektedir. Klinik olarak şarbon kabul edilen 47 hastanın 35'inde PA saptanırken, yalnız 31'inde Gram pozitif basillere rastlanma-sı, 23'ünde *B. anthracis*'in üretilmesi, geri kalan 12 hastada üretilmemesi oldukça önemlidir. Bu da göstermektedir ki günümüzde pahalı olmasına rağmen, şarbon şüpheli hastalarda EF, LF ve özellikle PA saptanması tanı, tedavi ve hastalığın atlanmaması açısından önemi azımsanmayacak bir yoldur.

KAYNAKLAR

1. Koehler TM. *Bacillus anthracis* physiology and genetics. Mol Aspects Med. 2009;30(6):386-96. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2009.07.004>
2. Hanna P. Anthrax pathogenesis and host response. Curr Top Microbiol Immunol. 1998;225:13-35. https://doi.org/10.1007/978-3-642-80451-9_2
3. Dixon TC, Meselson M, Guillemin J, Hanna PC. Anthrax. N Engl J Med. 1999;341(11):815-26. <https://doi.org/10.1056/NEJM199909093411107>
4. Meselson M, Guillemin J, Hugh-Jones M, et al. The Sverdlovsk anthrax outbreak of 1979. Science. 1994;266(5188):1202-8. <https://doi.org/10.1126/science.7973702>
5. Oncu S, Oncu S, Sakarya S, Anthrax an overview. Med Sci Monit. 2003;9(11):RA276-83.
6. Bush LM, Abrams BH, Beall A, Johnson C. Index case of fatal inhalational anthrax due to bioterrorism in the United States. N Engl J Med. 2001;345(22):1607-10. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa012948>
7. Giorno R, Bozue J, Cote C, et al. Morphogenesis of the *Bacillus anthracis* spore. J Bacteriol. 2007;189(3):691-705. <https://doi.org/10.1128/JB.00921-06>
8. Atrih A, Foster SJ. Bacterial endospores the ultimate survivors. Int Dairy J. 2002;12(2-3):217-23. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00157-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00157-1)
9. Nagarajan R, Muller WS, Ashley R, Mello CM. In Decontamination Of Bacterial Spores by a Peptide-Mimic, 25th Army Science Conference, Orlando, Aralık 2006.
10. Driks A. The *Bacillus anthracis* spore. Mol Aspects Med. 2009;30(6):368-73. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2009.08.001>
11. Setlow P. Spore germination. Curr Opin Microbiol. 2003;6(6):550-6. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.10.001>
12. Indest KJ, Buchholz WG, Faeder JR, Setlow P. Workshop report: modeling the molecular mechanism of bacterial spore germination and elucidating reasons for germination heterogeneity. J Food Sci. 2009;74(6):R73-8. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01245.x>
13. Kohout E, Sehat A, Ashraf M. Anthrax: a continuous problem in Southwest Iran. Am J Med Sci.

- 1964;247:565-75.
<https://doi.org/10.1097/00000441-196405000-00006>
14. Paola A. Investigation of the biological and physicochemical properties of *Bacillus anthracis* spores during germination, virulence, and killing. Biyomoleküler Mühendisliği. Doktora Tezi Worchester: Worchester Politeknik Enstitüsü, 2012.
 15. Pile JC, Malone JD, Eitzen EM, Friedlander AM. Anthrax as a potential biological warfare agent. Arch Intern Med. 1998;158(5):429-34.
<https://doi.org/10.1001/archinte.158.5.429>
 16. Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, et al. Anthrax as a biological weapon: medical and public health management. Working Group on Civilian Biodefense. JAMA. 1999;281(18):1735-45.
<https://doi.org/10.1001/jama.281.18.1735>
 17. Kanafani ZA, Ghossain A, Sharara AI, Hatem JM, Kanj SS. Endemic gastrointestinal anthrax in 1960s Lebanon: clinical manifestations and surgical findings. Emerg Infect Dis. 2003;9(5):520-5.
<https://doi.org/10.3201/eid0905.020537>
 18. Ketelaar T, Voss C, Dimmock SA, Thumm M, Hussey PJ. *Arabidopsis* homologues of the autophagy protein Atg8 are a novel family of microtubule binding proteins. FEBS Lett. 2004;567(2-3):302-6.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.04.088>
 19. Mikesell P, Ivins BE, Ristoph JD, Dreier TM. Evidence for plasmid-mediated toxin production in *Bacillus anthracis*. Infect Immun. 1983;39(1):371-6.
 20. Xu L, Frucht DM. *Bacillus anthracis*: a multi-faceted role for anthrax lethal toxin in thwarting host immune defenses. Int J Biochem Cell Biol. 2007;39(1):20-4.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.08.010>
 21. Newburger PE, Speier C, Stock JL, Perrine SP, Greenberger JS. Chediak-Higashi syndrome: studies in long-term bone marrow culture. Exp Hematol. 1985;13(2):117-22.
 22. Leppla SH. Anthrax toxin edema factor: a bacterial adenylate cyclase that increases cyclic AMP concentrations of eukaryotic cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 1982;79(10):3162-6.
<https://doi.org/10.1073/pnas.79.10.3162>
 23. Firoved AM, Miller GF, Moayeri M, et al. *Bacillus anthracis* edema toxin causes extensive tissue lesions and rapid lethality in mice. Am J Pathol. 2005;167(5):1309-20.
[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)61218-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)61218-7)
 24. Maldonado-Arocho FJ, Fulcher JA, Lee B, Bradley KA. Anthrax oedema toxin induces anthrax toxin receptor expression in monocyte-derived cells. Mol Microbiol. 2006;61(2):324-37.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05232.x>
 25. Bodart JF, Chopra A, Liang X, Duesbery N. Anthrax, MEK and cancer. Cell Cycle. 2002;1(1):10-5.
<https://doi.org/10.4161/cc.1.1.95>
 26. Chang L, Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades. Nature. 2001;410(6824):37-40.
<https://doi.org/10.1038/35065000>
 27. Schaeffer HJ, Weber MJ. Mitogen-activated protein kinases: specific messages from ubiquitous messengers. Mol Cell Biol. 1999;19(4):2435-44.
<https://doi.org/10.1128/MCB.19.4.2435>
 28. Ribot WJ, Panchal RG, Brittingham KC, et al. Anthrax lethal toxin impairs innate immune functions of alveolar macrophages and facilitates *Bacillus anthracis* survival. Infect Immun. 2006;74(9):5029-34.
<https://doi.org/10.1128/IAI.00275-06>
 29. Tournier JN, Quesnel-Hellmann A, Mathieu J, et al. Anthrax edema toxin cooperates with lethal toxin to impair cytokine secretion during infection of dendritic cells. J Immunol. 2005;174(8):4934-41.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.8.4934>
 30. Green BD, Battisti L, Koehler TM, Thorne CB, Ivins BE. Demonstration of a capsule plasmid in *Bacillus anthracis*. Infect Immun. 1985;49(2):291-7.
 31. Beall FA, Taylor MJ, Thorne CB. Rapid lethal effect in rats of a third component found upon fractionating the toxin of *Bacillus anthracis*. J Bacteriol. 1962;83:1274-80.
 32. Stanley JL, Smith H. The three factors of anthrax toxin: their immunogenicity and lack of demonstrable enzymic activity. J Gen Microbiol. 1963;31:329-37.
<https://doi.org/10.1099/00221287-31-2-329>
 33. Barth H, Aktories K, Popoff MR, Stiles BG. Binary bacterial toxins: biochemistry, biology, and applications of common Clostridium and Bacillus proteins. Microbiol Mol Biol Rev. 2004;68(3):373-402.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.68.3.373-402.2004>
 34. Strange RE, Thorne CB. Further purification studies on the protective antigen of *Bacillus anthracis* produced in vitro. J Bacteriol. 1958;76(2):192-202.
 35. Kaya A, Tasyaran MA, Erol S, Ozkurt Z, Ozkan B. Anthrax in adults and children: a review of 132 cases in Turkey. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2002;21(4):258-61.
<https://doi.org/10.1007/s10096-002-0704-6>
 36. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü İstatistik Yıllıkları (<http://www.saglik.gov.tr>) Bakteri Enfeksiyonları Kitabı, 2.cilt, 2105.
 37. Anthrax in Human and animals WHO Guidance. http://www.who.int/csr/resources/publications/Anthrax_web.pdf. (Erişim tarihi:14.02.2016)
 38. Doğanay M. Şarbon. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No:7, 1986.
 39. Doğanay M. Human anthrax in Turkey. Salisbury Med Bull. 1995;87:8.
 40. Kaya A, Taşyaran MA, Özkurt Z, Yılmaz Ş. Şarbon: 68 olgunun değerlendirilmesi. Flora. 1997;2:51-4.
 41. Özden K, Özkurt Z, Erol S, Uyanık MH, Parlak M. Cutaneous anthrax patients in Eastern Anatolia, Turkey: a review of 44 adults cases. Turk J Med Sci. 2012;42(1):39-45.
 42. Doğanay M, Aydın N. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus anthracis*. Scand J Infect Dis. 1991;23(3):333-5.
<https://doi.org/10.3109/00365549109024319>
 43. Lightfoot NF, Scot RCD, Turnbull PCB. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus anthracis*. Salisbury Med Bull. 1990;68:95.