

TRAKYA BÖLGESİNİN KÖYLERİNDE TULAREMİ SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF TULAREMIA SEROPREVALENCE IN THE
RURAL AREA OF THRACE REGION IN TURKEY

**Günay DEDEOĞLU KILIÇ¹, Şaban GÜRÇAN^{1,2}, Muzaffer ESKİOCAK³
Haluk KILIÇ², Hakan KUNDURACILAR⁴**

ÖZET: Türkiye’de bildirilen ilk tularemi epidemisi 1936 yılında Lüleburgaz’da, ikinci epidemi 1945 yılında yine Lüleburgaz’da ortaya çıkmıştır. Daha sonra uzun yıllar Trakya Bölgesi’nden herhangi bir olgu bildirilmemiş, ancak 2005 yılında Edirne’nin bir köyünde bir tularemi salgını daha görülmüştür. Bu veriler etken olan *Francisella tularensis*’in Trakya bölgesinde bulunduğunu ifade etmekte ve bölgemizde geniş çapta bir seroepidemiolojik çalışmanın yapılmasını gerekli kılmaktadır. Bu çalışmada, Trakya bölgesinde yer alan Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerine bağlı köylerden “otuz küme” yöntemiyle belirlenen 90 köyde yaşayan 1782 kişide *F.tularensis* antikor varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya gönüllülük esasına göre dahil edilen bireylerin (%74.3’ü erkek; yaş ortalaması 46 yıl; yaş aralığı: 6-92 yıl) demografik özellikleri ve olası riskli davranışları bir anket formuna kaydedilmiştir. Çalışmamızda, mikroaglütinasyon testi ile araştırılan *F.tularensis* antikorları, tümü erişkin erkek olan (yaş aralığı: 22-74 yıl) beş kişide (%0.3) 1/20-1/160 arasında değişen titrelerde pozitif bulunmuştur. Seropozitif bireylerin üçünün Kırklareli’nin iki köyünde yaşadığı, birer olgunun ise Tekirdağ ve Edirne iline bağlı köylerde yaşadıkları izlenmiştir. Tularemi antikorları saptananların üçünde Rose-Bengal testinin de pozitif bulunması, çapraz reaksiyon olasılığını düşündürmüştü ve bu kişiler bruselloz yönünden sorgulanmak üzere takibe alınmışlardır. Yapılan değerlendirmede, erkek cinsiyet, hayvancılıkla uğraşma ve kene ısırığına maruziyet, risk faktörleri olarak belirlenmiştir. Bu çalışma ile Trakya Bölgesi’nde *F.tularensis* varlığıyla ilgili veriler elde edilmiş olup, bu bölgedeki sağlık personelinin ve halkın eğitimiyle ilgili çalışmaların başlatılmasının, olası salgınların önlenmesinde gerekli olduğu kanısına varılmıştır.

¹Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne.
(sabangurcan@trakya.edu.tr)

²Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne.

³Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Edirne.

⁴Trakya Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Edirne.

Anahtar sözcükler: Francisella tularensis, tularemi, seroprevalans, Trakya Bölgesi.

ABSTRACT: The first published tularemia epidemic in Turkey had been reported in 1936 from Luleburgaz (located in European part-Thrace region- of Turkey), and the second was in 1945 again in the same province. Following a long period of time without any tularemia report from Thrace region, in 2005 another epidemic occurred in a village of Edirne, another province located in the same region. Since there is presumptive evidence of circulation of the infectious agent, *Francisella tularensis* in Thrace region of Turkey, a large scale seroepidemiological study is needed. In this study, the presence of antibodies against *F.tularensis* in 1782 subjects, chosen by "thirty cluster" method, inhabiting in 90 different villages of Edirne, Kırklareli, and Tekirdag provinces in Thrace Region, were investigated. The subjects were included to the study on the basis of volunteering (74.3% were male; mean age: 46 years; age range: 6-92 years) and demographical characteristics and their possible risky behaviours were recorded in a questionnaire form. Antibodies specific for *F.tularensis* were screened by microagglutination test, and were found positive in five (0.3%) of the subjects between the titers of 1/20- 1/160. All of the seropositive subjects were adult males (ages between 22-74 years); three were living in the two villages of Kırklareli, while the others were from the villages of Tekirdag and Edirne. Rose Bengal test was also found positive in three of the seropositive subjects, and with the thought of a probable cross reaction they were taken into an advanced investigation for brucellosis. The risk evaluation revealed that male gender, being together with livestock and exposure to ticks were the major risk factors. Since the data of this study indicated that *F.tularensis* is in circulation in Thrace Region, the educational programmes for both the healthcare workers and inhabitants of this region should be attempted for the prevention of a possible epidemic.

Key words: Epidemiology, Francisella tularensis, tularemia, prevalence, serology, Thrace Region

GİRİŞ

Türkiye’de bakteriyolojik ve serolojik olarak kanıtlanmış ve yayınlanmış ilk tularemi epidemisi 1936 yılında Lüleburgaz askeri garnizonunda ortaya çıkmıştır¹. 1945 yılında Lüleburgaz’da ikinci bir epidemi yaşanmıştır². Bu tarihten sonra 2005 yılına kadar Trakya Bölgesi’nden herhangi bir tularemi olgusunun bildirilmemiş olması, hastalığın bu bölgede ortadan kalkmasına ya da enfekte kişilerde tanının konulamamasına/doğrulanamamasına bağlı olabilir.

2005 yılı başında Edirne-Lalapaşa-Demirköy’de saptanan tularemi salgını, etkenin bölgemizde bulunduğunu, eski salgın bölgelerinde ve Trakya Bölgesi’nin diğer yerleşim yerlerinde de varlığının araştırılmasını gerekli kılmaktadır³. Bu çalışma ile Trakya Bölgesi’nin köylerinde yaşayan kişilerde tularemi seropozitifliğinin araştırılması ve seropozitif kişilerdeki risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örneklem Seçimi: Trakya Bölgesi (Edirne, Kırklareli, Tekirdağ illeri)'nin köylerinde 2000 yılı nüfus sayımı verilerine göre toplam 564.560 kişi yaşamaktadır. Nüfusun %38'i Tekirdağ, %37'si Edirne ve %25'i Kırklareli illerindedir. Örneklem grubunun seçiminde illere göre tabakalandırılmış, kırsal nüfusa göre ağırlıklandırılmış, her ilin kırsal alanı için ayrı olmak üzere 30 küme yöntemi kullanıldı⁴. Prevalans %0.5-1.5 olmak üzere ve %95 güven aralığında hesaplanan örneklem büyüklüğü 1517 (minimum 600) kişi olarak hesaplandı. Gerçekleşen örneklem büyüklüğünde yoğun gönüllü katılımı nedeniyle Edirne'de 38, Kırklareli'nde 217, Tekirdağ'da 10 kişi olmak üzere toplam 265 kişi fazlalık oluştu. Yapılan anketle yaş, cins, yerleşim birimi, meslek, av hayvanlarıyla temas öyküsü, av eti hazırlama-yeme öyküsü, içme-kullanma suyu kaynağı, çevrede fare varlığı, farelerle temas, çevreden yiyecek toplama, ev içinde ve ev çevresinde hayvan besleme, doğada uğraş bağımsız değişkenler olarak sorgulandı.

Trakya bölgesindeki illerden risk grubunda bulunan tarım ve hayvancılıkla uğraşan kırsal alanlarda yaşayan kişilerden 2006 yılının Mayıs-Ağustos aylarında seroprevalans çalışması için kan alınarak serumlarında mikroaglütinasyon yöntemiyle tularemi antikorları araştırıldı.

Mikroaglütinasyon Testi: Bu testte kullanılan antijenin hazırlanmasında 2005 yılında Bolu-Gerede'nin Yazıkara Köyü'ndeki bir hastanın lenf bezi aspiratından üretilmiş olan *Francisella tularensis* suşu kullanıldı. %0.1'lik sistinli kanlı agarda üretilmiş bakterinin 48 saatlik kültürü %0.85'lik serum fizyolojik (SF) içinde toplandı. %0.5'lik formalin eklenerek bir gece 4°C'de bekletildi. Formalinle öldürülmüş olan bakteri, formalinli SF ile iki kez yıkandı. Bakteri içeren formalinli SF'nin McFarland 4 standardına göre bulanıklığı ayarlandı. Bu solüsyon antijen stoğu olarak buzdolabında saklandı^{5,6}. Çalışma için kullanılacak olan antijen, stok solüsyonundan 1/10'luk sulandırılıp metilen mavisi solüsyonu ile renklendirilerek mikroaglütinasyon testi için kullanıldı. Hazırlanan antijen ticari BD *Francisella tularensis* antigen (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) ile aynı sonuçları verdi.

Mikroaglütinasyon testi için V tabanlı pleytlerin her çukuruna 22.5 µl SF ve 2.5 µl çalışmaya alınacak hastaların her birinin serumundan kondu. Hazırlanan antijenden 25 µl eklenerek 1/20 dilüsyonluk tarama titresi oluşturuldu. Antijen pipetle karıştırıldıktan sonra üstü parafilm ile kapatılarak 37°C'de bir gece bekletildi. 18-24 saat sonunda çıplak gözle değerlendirildi. İçinde çöküntü olmayan çukurlar pozitif, dibinde düğme şeklinde çökme olan çukurlar negatif olarak değerlendirildi. Tarama dilüsyonunda pozitiflik saptandığında hasta serumlarının dilüsyonları iki kat artacak şekilde titrasyon yapıp eşit miktarda antijen eklenmesiyle en yüksek dilüsyondaki antikor pozitifliği belirlendi⁷.

Brusellozda oluşan antikorlarla çapraz reaksiyonları belirleyebilmek için tularemi mikroaglütinasyon testi pozitif saptanan tüm hasta serumları için Rose-Bengal testi yapıldı.

Değerlendirme: Tularemi antikorları pozitif bulunanlardan risk faktörlerine maruz kalanların sayısının, risk altındaki nüfusa oranlanmasıyla riskler hesaplandı. Risklerin aynı bölgede yapılmış önceki çalışmada, risk faktörü olarak rol oynamayan “çevrede kemirici atıklarına rastlamayanların” risklerine oranlanmasıyla risk oranları hesaplandı³.

Çalışma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’ndan alınan izinle yapıldı. Çalışmaya katılım gönüllük esası ve Helsinki II deklarasyonuna uygun şekilde sağlandı.

Araştırmanın Kısıtlılıkları: Bölgede 1936 ve 1945 yıllarında salgın yaşanmış olmasının verdiği hassasiyet, kontrol edilmekte güçlük çekilen bir talep yarattı. Bu hedeflenenden daha çok kişinin çalışma grubuna katılması sonucunu doğurdu. Bu talep cinsiyetler arasında eşit olarak dağılmadığı için kadın temsili zaafa uğradı. Bu nedenle, sonuçlardan yola çıkarak topluma ilişkin genelleme konusunda dikkatli olunması gerektiği düşünüldü.

BULGULAR

Çalışmamızda, toplam 90 köyde oturan 1782 kişiden alınan serum örneklerinde tularemi antikorlarının varlığı araştırılmıştır. Gönüllülerin 1213’ü erkek, 569’u kadın olup, yaş ortalaması 46 (yaş aralığı: 6-92 yıl) yıldır. Çalışma grubunun yarısından fazlası (%53.2) çiftçilikle uğraşan kişilerdir (Tablo I).

Tablo I. Araştırma Grubunun Demografik Özelliklere Göre Dağılımı

Özellik	Edirne	Kırklareli	Tekirdağ	Toplam
Yaş Grupları	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)
0-9	0	8 (1.3)	12 (2)	20 (1.1)
10-19	6 (1)	43 (7.2)	58 (9.9)	107 (6)
20-29	28 (4.7)	41 (6.9)	63 (10.8)	132 (7.4)
30-39	70 (11.7)	83 (13.9)	95 (16.2)	248 (13.9)
40-49	109 (18.2)	112 (18.8)	124 (21.2)	345 (19.4)
50-59	104 (17.4)	135 (22.6)	108 (18.4)	347 (19.5)
60-69	53 (8.8)	83 (13.9)	85 (14.5)	221 (12.4)
≥70	44 (7.3)	90 (15.1)	40 (6.8)	174 (9.8)
Cinsiyet				
Erkek	445 (74.3)	340 (57)	428 (73)	1213 (68.1)
Kadın	154 (25.7)	257 (43)	158 (27)	569 (31.9)
Meslek				
Çiftçi	429 (69.5)	211 (35.6)	311 (53.8)	951 (53.2)
Ev hanımı	135 (21.9)	229 (38.6)	127 (22)	491 (27.5)
Hayvancılık	0	7 (1.2)	6 (1)	13 (0.7)
Avcı	0	1 (0.2)	0	1 (0.1)
Veteriner	1 (0.2)	1 (0.2)	3 (0.5)	5 (0.3)
Diğer	52 (8.4)	130 (21.9)	122 (21.1)	304 (18.2)

Tularemi için olası riskli davranışlar sorgulandığında, katılımcıların çoğu klorlu şebeke suyu içtiğini ifade etmesine rağmen %13.2'si yağışlı günlerde içme sularının bulandığını belirtmiştir. Hastalığın kaynağı olabilecek hayvanlarla temas sorgulandığında ise çok az kişi maruziyet bildirmiştir. En yüksek maruziyet ise kene ısırığıdır. Anket formundaki bilgilerle, köylülerin çoğunluğunun çiftçilik ve hayvancılıkla uğraşan bölgelerde yaşadıkları belirlenmiştir.

Çalışmaya katılan 1782 gönüllüden 5'inde (%0.3) tularemi antikoru 1/20-1/160 arasında değişen titrelerde pozitif olarak saptanmıştır (Tablo II). Seropozitif bireylerin tümü erkek olup, yaşları 22-74 yıl arasındadır. Tularemi antikoru 1/20, 1/40 ve 1/80 dilüsyonda pozitif olan üç hastanın Rose-Bengal testi de pozitif bulunmuş, çapraz reaksiyon olasılığı nedeniyle bu kişiler bruselloz yönünden sorgulanmak üzere takibe alınmışlardır.

Tablo II. Tularemi Seropozitifliği Saptanan Kişilerin Özellikleri

No.	Yaş	Cinsiyet	Meslek	İl	Köy	Antikor titresi
1	74	Erkek	Çiftçi	Kırklareli	Ceylanköy*	1/160
2	22	Erkek	Çiftçi	Kırklareli	Ceylanköy*	1/80
3	30	Erkek	Esnaf	Kırklareli	Seyitler	1/40
4	44	Erkek	Serbest	Tekirdağ	Yukarısevindikli	1/20
5	39	Erkek	Çiftçi	Edirne	Aliçopehlivan	1/20

*1936 yılında tularemi salgını bildirilen köy.

Seropozitif bireylerin hepsi klorlandığını belirttikleri şebeke suyundan kullandıklarını, ancak ikisi yağış sonrasında içme sularının bulandığını ifade etmiştir. Ayrıca hiçbirisi doğadaki sulardan içme ve buralarda yüzmeye, av hayvanı yeme, av hayvanı ve farelerle temas etme ve kemirici ölüsü görme gibi risk faktörlerini belirtmemiş, ancak üçü ev dışındaki ortamlarda fare atıklarına rastladıkları beyan etmiştir. Üç seropozitif bireyin herhangi bir böcek ısırığına maruziyet bildirmemesine karşın, 1/80 ve 1/160 dilüsyonda antikor pozitifliği saptanan iki olgu kene ısırığı anamnezi vermiştir.

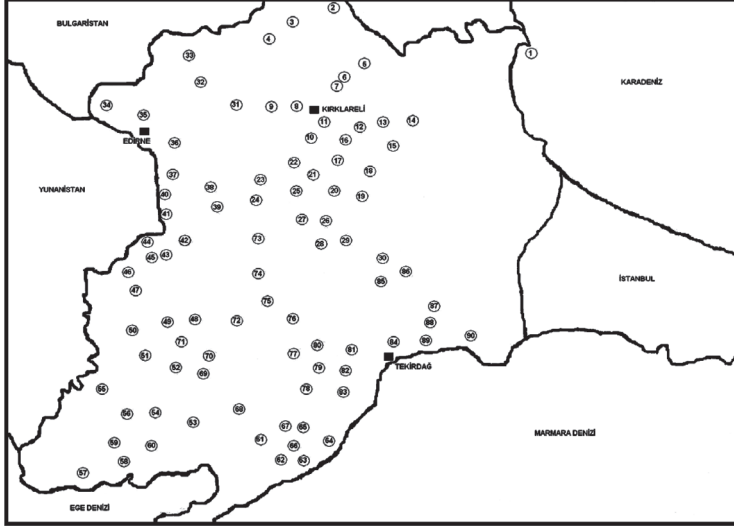
Seropozitiflerin ikisi, doğada labada otu topladıklarını, üçü doğada Mart-Eylül ayları arasında aktivitede bulduklarını, hepsi ev dışında hayvan beslediklerini ve Trakya Bölgesi dışında hiçbir yere seyahat etmediklerini bildirmişlerdir.

En yüksek risk oranının, doğadan labada otları toplayanlarda olduğu hesaplanmış, bunları tavuk, sığır ve kedi besleyenler izlemiştir.

TARTIŞMA

Türkiye'de tularemi seroprevalans çalışması daha önceleri Bursa Bölgesi'nde⁶, Bolu-Gerede-Yazıkara Köyü'nde⁷ ve Edirne-Lalapaşa-Demirköy'de³ yapılmıştır. Ülkemizdeki seroprevalans çalışmaları genellikle salgın bölgeleri ve yakın çevrelerinde yapılmış, daha geniş bölgeleri temsil eden çalışmalara rastlanmamıştır. Çalışmamız, tüm Trakya Bölgesi'nin hastalık riski altında olabilecek, tarım ve hayvancılıkla uğraşan kırsal alanlarını temsil eden büyük

bir örneklem grubunun oluşturulması ile herhangi bir salgının olmadığı geniş kesimleri de içine alan, bildiğimiz kadarıyla Türkiye’de gerçekleştirilen ilk seroepidemiolojik çalışmadır (Şekil 1).



Şekil 1. Trakya Bölgesi’nde seroprevalans çalışması için seçilen köyler (1-30: Kırklareli köyleri; 31-60: Edirne köyleri; 61-90: Tekirdağ köyleri).

Avrupa’da salgının olduğu toplumlarda tularemi antikorlarının %9.7-19.7, Kuzey Amerika ve İsveç’te genel popülasyondaki tularemi seroprevalansının %0-1.8 arasında olduğu tahmin edilmektedir⁸. İspanya’da ilk kez tulareminin salgın yaptığı Castilla y Leon’da salgın henüz çıkmadan önce 4825 kişiden alınan serumlarda %0.19 oranında 1/20-1/160 arasında değişen titrelere antikor pozitifliği bildirilmiştir⁹. İspanya’daki bu salgın öncesi yapılan seroprevalans çalışması bize etkenin bölgede daha önceden var olduğunu ve zaman içinde büyük salgınlara neden olabileceğini açık bir şekilde vurgulamaktadır. Çalışmamızdaki %0.3’lük seropozitiflik oranı benzer riskleri bölgemizin de taşıdığını göstermektedir. Seropozitiflik saptanan gönüllülerden ikisinin 1936 yılında tularemi salgını olan Ceylanköy’den olması, bu gönüllülerde titrelere diğerlerinden daha yüksek saptanması hala bu bölgede etkenin aktif olarak bulunduğu yönünde değerlendirilebilir. Ek olarak daha önceden hiçbir olgunun bildirilmediği üç köyde seropozitiflik saptanması da, hastalık etkeninin başka yerleşim yerlerinde de bulunabileceğini göstermektedir.

İspanya’daki çalışmada tularemi antikor pozitifliğinin cinsiyet farkı göstermediği saptanmıştır⁹. Bursa’daki seroprevalans çalışmasında olguların %58.5’inin kadın olduğu bildirilmiştir⁶. Bolu-Gerede-Yazıkara Köyü’nde de kadınlarda hastalık daha fazla iken Edirne-Lalapaşa-Demirköy’de ise kadın ve erkeklerde hastalık eşit oranda saptanmıştır^{3,7}. Sunulan çalışmada seropozitiflerin hepsinin erkek olması bu bölgede çiftçilik, avcılık gibi riskli meslekleri daha

çok erkeklerin yapmasıyla ve kadınların daha çok ev işleriyle uğraşmasıyla açıklanabilir. Doğadaki labada gibi otları toplayanlarda yüksek bir risk oranının hesaplanması, bu otların fare, tavşan gibi hastalık etkeni taşıyan hayvanların atıklarıyla kirlenmesi sonucu bunları toplayanların ellerini yıkamadan yedikleri yiyecekler aracılığı ile etkeni almalarına neden olabilir.

F.tularensis antikorları indirek immünofloresan veya aglütinasyon testlerinde diğer bazı bakterilere (*Brucella* spp., *Escherichia coli* O:116 ve O157, bazı *Salmonella* serotipleri, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas* spp. ve *Yersinia enterocolitica* serotip O:9) karşı oluşan antikorlar ile çapraz reaksiyon verebilir^{5,10}. Bunlardan en çok üzerinde durulan, ülkemizde de endemik olarak bulunan *Brucella* türleridir. İspanya'daki salgında seropozitiflerin sadece birinde *Brucella* türlerine karşı oluşan antikorlarla çapraz reaksiyon saptandığı, *Y.enterocolitica* O:9, O:3 ve *Proteus* OX19 ile herhangi bir reaksiyon gözlenmediği belirtilmiştir⁹. Çalışmamızda sadece brusellozla ilgili antikorlarla çapraz reaksiyonlar değerlendirilmiş, ülkemizin kırsal alanlarında yaşayanlar için önemli bir sorun oluşturmayan diğer etkenlere karşı gelişen antikorlarla çapraz reaksiyonlar değerlendirilmemiştir. Tularemi yönünden seropozitif bulunan beş kişinin üçünde Rose-Bengal testi de pozitif bulunmuştur. Bu olguların tularemi ve bruselloz açısından ayırıcı tanılarının yapılması, gerçekten bir bruselloz hastalığı geçirip geçirmediğinin belirlenmesi açısından olguların hastanemize çağırılması, muayene ve tetkiklerinin ayrıntılı bir şekilde yapılması planlanmıştır.

Keneler hastalığın bulaştırılmasında en yaygın vektörlerdir¹¹. Geçmiş yıllardaki Trakya salgınlarında da salgının çıkmasında en çok rol oynadığı düşünülen vektörler keneler ve sivrisinekler olmuştur¹². Seropozitiflerin ikisinin kene ısırma anamnezi vermesi ve antikor düzeylerinin 1/80 ve 1/160 dilüsyonda pozitif olması bu olguların tularemi hastalığını geçirdiğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, öncelikle seropozitif olguların saptandığı köyler olmak üzere tüm Trakya Bölgesi'nin köylerinde sağlıklı su kaynaklarının sağlanması, tulareminin bulaşında rol oynayan hayvanlarla temasından ve doğadan çeşitli otlar topladıktan sonra halkın el yıkama, yiyeceklerin uygun şekilde yıkanması gibi hijyen kurallarına dikkat etmesi konusunda eğitimler planlanabilir. Bir salgın hastalığın önlenmesinde en önemli basamak, etkenin kaynaklarının tespit edilerek insanlara geçişinin engellenmesidir. Bölgemizde varlığıyla ilgili deliller bulunan *F.tularensis*'in kaynağı veya vektörü olabilecek canlıların araştırılması ile ilgili ileri çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Öz TV, Dr. Talat Vasfi Özel'in 1937 yılı yazında Trakya'da Tularemi tetkikati. Turk Hij Tecr Biyol Derg 1938; 1:1-30.
2. Golem SB. Lüleburgaz'da yeni bir tularemi epidemisi. Turk Hij Tecr Biyol Derg 1945; 5:27-40.
3. Gürcan Ş, Eskiocak M, Varol G, et al. Tularemia re-emerging in European part of Turkey after 60 years. Jpn J Infect Dis 2006; 59: 391-3.
4. Kanra G, Tezcan S, Badur S. Hepatitis B and measles seroprevalence among Turkish children. Turk J Pediatr 2005; 47:105-10.

5. Bevanger L, Maeland JA, Naess AI. Agglutinins and antibodies to *Francisella tularensis* outer membrane antigens in the early diagnosis of disease during an outbreak of tularemia. J Clin Microbiol 1988; 26: 433-7.
6. Gedikoglu S, Göral G, Helvacı S. Bursa'daki tularemi epidemisinin özellikleri. İnfeksiyon Derg 1990; 4: 9-15.
7. Gürcan Ş, Otkun MT, Otkun M, et al. An outbreak of tularemia in Western Black Sea region of Turkey. Yonsei Med J 2004; 45: 17-22.
8. Feldman KA, Stiles-Enos D, Julian K, et al. Tularemia on Martha's Vineyard: seroprevalence and occupational risk. Emerg Infect Dis 2003; 9: 350-4.
9. Gutierrez MP, Bratos MA, Garrote JI, et al. Serologic evidence of human infection by *Francisella tularensis* in the population of Castilla y Leon (Spain) prior to 1997. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 35: 165-9.
10. Schmitt P, Splettstosser W, Porsch-Ozcurumez M, et al. A novel screening ELISA and a confirmatory Western blot useful for diagnosis and epidemiological studies of tularemia. Epidemiol Infect 2005; 133: 759-66.
11. Grunow R, Splettstoesser W, McDonald S, et al. Detection of *Francisella tularensis* in biological specimens using a capture enzyme-linked immunosorbent assay, an immunochromatographic handheld assay, and a PCR. Clin Diagn Lab Immunol 2000; 7: 86-90.
12. Gotschlich E, Berkin T. 1936 yılında Trakya'da Tüla remiye ait yapılan epidemiyolojik ve bakteriyolojik araştırmalar. Turk Hij Tecr Biyol Derg 1938; 1: 115-23.