

FRANCISELLA TULARENSIS'İN İNSAN KANLI AGARDA İZOLE EDİLMESİYLE TANIMLANAN BİR OROFARENGEAL TULAREMİ OLGUSU

AN OROPHARYNGEAL TULAREMIA CASE DIAGNOSED BY THE ISOLATION OF *FRANCISELLA TULARENSIS* ON HUMAN BLOOD AGAR

Gönül ÖZEL¹, İlker Burak ARSLAN², Murat YEŞİLYURT³, Bekir ÇELEBİ⁴, Selçuk KILIÇ⁴

¹ Yozgat Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Yozgat. (ozel78@yahoo.com)

² Yozgat Devlet Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Kliniği, Yozgat.

³ Sorgun Devlet Hastanesi, Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Yozgat.

⁴ Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Ulusal Tularemi Referans Laboratuvarı, Ankara.

ÖZET

İnsan ve bazı hayvanların multisistemik hastalığı olan tularemi, Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'nın bazı bölgelerinde endemik olarak görülmektedir. Etken olan *Francisella tularensis*, genel kullanım besiyerlerinde üreme için sülfidril bileşiklerine (sistein, sistin, tiyosülfat, isoVitaleX) gereksinim duyan gram-negatif hücre içi yerleşimli bir bakteridir. Bu raporda, seçici olmayan genel kullanım besiyerinde bakterinin izolasyonu ile tanı konulan bir orofarengeal tularemi olgusu sunulmuştur. Bugüne kadar tularemi olgusunun bildirilmediği Yozgat ilinde yaşayan 42 yaşındaki erkek hasta, iki haftadır devam eden ani başlangıçlı ateş, halsizlik, baş ağrısı, genel vücut ağrısı, boğaz ağrısı ve boyun sol üst bölgesinde ağrılı şişlik şikayetiyle hastanemize başvurmuştur. Hastanın fizik muayenesinde, bilateral eksüdatif tonsillit ve posterior servikal lenfadenopati saptanması nedeniyle akut tonsillofarenjit ön tanısıyla 7 gün amoksisilin-klavulanik asit tedavisi uygulanmıştır. Tedaviye rağmen şikayetlerinin devam etmesi ve şişliğin büyümesi üzerine tekrar hastanemize başvuran olgunun lenf bezindeki şişlik cerrahi olarak direne edilerek alınan örneklerin Gram ve Ehrlich-Ziehl-Neelsen boyamasında yoğun PMNL varlığına karşın bakteri görülmemiştir. Lenf nodundan alınan örneğin rutin kültürlerinde, beş günlük inkübasyondan sonra kanlı agarda, gram-negatif kokobasil morfolojisinde bakteri üremesi gözlenmiştir. Kültürler piyojenik bakteri ve mantar açısından negatif olarak değerlendirilmiştir. Örneğin; patolojik incelemesinde süpüratif iltihap saptanması üzerine, klinik ve laboratuvar bulguları da dikkate alınarak, hastanın lenf bezi aspiratı ve serum örnekleri ile izole edilen suş, tularemi açısından ileri inceleme amacıyla referans merkeze gönderilmiştir. İzolat, lam aglütinasyonu ve direkt floresan antikor testi ile *F.tularensis* olarak doğrulanmış, polimeraz zincir reaksiyonu ile *F.tularensis* alt tür *holarctica* olarak tanımlanmıştır. Hastanın serum örneğinde mikroaglütinasyon testi 1/5120 titrede pozitif olarak bulunmuştur. Hastaya 5 mg/kg/gün dozunda gentamisin tedavisi başlanmış, tedavi iki haftaya tamamlanmış ve hasta herhangi bir sekel kalmadan iyileşmiştir. Bu olgu, sisten ve zenginleştirilmiş besiyerlerine gereksinim duymayan ve konvansiyonel besiyerinde ilk izolasyonda

üreyen *F.tularensis* suşuna dikkat çekmek amacıyla sunulmuştur. Sonuç olarak, özellikle 2004 yılından bu yana ülkemizin birçok coğrafi bölgesinde yayılım göstermeye başlayan tularemi, enfeksiyonların ayırıcı tanısında akıldta tutulması gereken bir hastalıktır.

Anahtar sözcükler: *Francisella tularensis*, tularemi, izolasyon, kanlı agar, Türkiye.

ABSTRACT

Tularemia which is a multisystem disease of humans and some animals, is endemic in North America, some parts of Europe and Asia. The causative agent, *Francisella tularensis*, is a fastidious gram-negative, intracellular bacterium which requires supplementation with sulphhydryl compounds (cysteine, cystine, thiosulphate, isoVitaleX) for growth on common laboratory media. In this report, a case of oropharyngeal tularemia diagnosed by the isolation of the causative agent on non-selective-common microbiological agar, has been presented. The patient was from Yozgat located in central Anatolia where tularemia has not been reported so far. Forty-two years old male was admitted to the hospital with two-weeks history of sudden onset fever, headache, generalized aches, sore throat, and cervical tender lump on the left. Physical examination revealed bilateral exudative tonsillitis and tender posterior cervical lymphadenopathy. He has been empirically treated with amoxicillin-clavulanic acid for 7 days with initial diagnosis of acute tonsillopharyngitis. However, he was admitted to the hospital since the symptoms persisted and swelling increased despite antibiotic therapy. Microscopical examination of the Gram and Ehrlich-Ziehl-Neelsen stained smears prepared from the surgically drained lymph node revealed PMNL, with no evidence of bacteria. Routine cultures of the lymph node material yielded growth of gram-negative coccobacilli only on human blood agar and the cultures were negative for pyogenic bacteria, acid-fast organisms and fungi. Pathologic examination of the drainage material revealed suppurative inflammation. Lymph node aspirate and serum samples of the patient together with the isolated strain were sent to reference laboratory for further investigation in accordance to the clinical and laboratory findings compatible with tularemia. The isolate was confirmed as *F.tularensis* by slide agglutination and direct immunofluorescence antibody tests, and identified as *F.tularensis* subsp. *holarctica* by polymerase chain reaction. Microagglutination test performed on patient's serum yielded positive with an antibody titer of 1/5120. Gentamicin (5 mg/kg/day) was initiated, and the therapy was completed for two weeks. The patient recovered completely without sequela. This case was presented in order to call attention to the strain of *F.tularensis* which failed to demonstrate a requirement for cysteine and enriched medium on primary isolation, but grew well on conventional laboratory medium. Tularemia should be considered in the differential diagnosis of related infectious diseases since cases of tularemia have been reported from several parts of Turkey after the year 2004.

Key words: *Francisella tularensis*, tularemia, isolation, blood agar, Turkey.

GİRİŞ

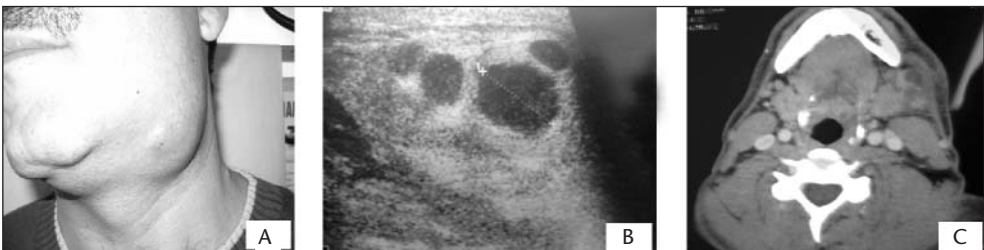
Tularemi, *Francisella tularensis*'in neden olduğu kuzey yarım küreye özgü bir zoonozdur. Dünyada yılda yaklaşık 500.000 tularemi olgusu olduğu tahmin edilmektedir^{1,2}. Son yıllarda ülkemizde tularemi olgularının artışı ve daha önce tanımlandığı Marmara Bölgesi'nin dışında birçok bölgede küçük epidemilere neden olması, bu enfeksiyonun ciddi bir toplum sağlığı sorunu haline gelmesine neden olmuştur³. Etken, deri ve mukozal yüzeylerle direkt temas, kontamine gıda veya suların alınması ve aerosol inhalasyonu ile insana bulaşabilir. Enfekte hayvan dokusuyla kirlenmiş suyun ve besinlerin tüketimi, özellikle tularemi epidemilerinde görülen ana bulaş yollarından birisidir^{4,5}.

Tularem hastalığının kesin tanısı, klinik örneklerden *F.tularensis*'in izole edilmesiyle konulmaktadır. Ancak *F.tularensis*, üreme için sülfidril bileşikleri (sistein, sistin, tiyosülfat ve isoVitaleX) içeren zengin besiyerlerine gereksinim duyan bir bakteridir^{1,2,6,7}. *F.tularensis*'in zenginleştirilmiş besiyerlerine ihtiyaç duymasına rağmen, sisteinden bağımsız suşların izolasyonu da nadiren bildirilmiştir⁸⁻¹⁰. Bu raporda; Yozgat ilinde %5 insan kanlı agarda üretilerek tanısı konmuş ilk tularem olgusu sunulmaktadır.

OLGU SUNUMU

Mesleği gereği Yozgat ili Akdağmadeni ve Pembecik köyü arazilerinde çalışan ve bölgenin su ve gıda kaynaklarını kullanan 42 yaşındaki erkek hasta, Kasım 2009 tarihinde yüksek ateş, boğaz ağrısı, baş ağrısı ve boyun sol üst tarafında palpasyonla ağrılı şişlik şikayeti ile hastanemize başvurdu. Ailesinde ve çalışma arkadaşlarında benzer bulguların saptanmadığı olgunun ilk değerlendirmesinde kriptik tonsillit düşünülerek 7 gün amoksisilin-klavulanik asit (2 x 1000 mg) tedavisi uygulandı. Antimikrobiyal tedaviden yarar görmemesi üzerine hastaneye yatırılan ve seftriakson 2 x 1 g IV tedavisi uygulanan hastanın fizik muayenesinde; ateş 38.7°C, nabız 92/dakika olup, bilateral kriptik tonsillit ve sol üst servikal zincirde 3 x 2 cm'lik fluktuasyon vermeyen, sert, palpasyonla ağrılı lenfadenopati dışında patolojik bir bulgu saptanmadı. Laboratuvar incelemesinde; lökosit sayısı 7100/mm³ (N: 4000-11.000/mm³), trombosit sayısı 169.000/mm³ (N: 150.000-300.000/mm³), hemoglobin (Hb) 14 g/dl ve eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) 17 mm/saat olarak saptandı. Hastada, C-reaktif protein (CRP) 6.74 mg/dl (N: 0-0.8 mg/dl) yüksekliği dışında, serum elektrolitleri, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri normal sınırlarda tespit edildi. Servikal bilgisayarlı tomografi (BT) incelemelerinde, sol submandibuler bez anterolateral komşuluğunda, net sınır ayrımı yapılamayan, yaklaşık 30 x 20 mm ebatlı, nekrotik komponent içeren, hafif lobüle kontürlü görünüm izlendi. Solda sternokleidomastoid kası posteriorunda 15 x 25 mm ebatlı benzer natürde, kalın cidarlı, içerisinde yoğun internal ekoları olan düzensiz kontürlü nekroze lenfadenopati (LAP) ile uyumlu görünüm ve bilateral anterior ve posterior servikal üçgende büyüğü solda 10 mm çaplı olan birkaç adet lenf nodlarının izlendiği bildirildi (Resim 1).

Uygulanan seftriakson tedavisine yanıt alınamaması üzerine, tüberküloz, malignite ve tularem ön tanılarına yönelik kan kültürü, PPD deri testi, lenf bezi aspirasyonu uygulan-



Resim 1. A) Sol submandibüler bölgede LAP, B) Boyun ultrasonografi tetkikinde; hipoekoik patolojik özellikte lenf nodları, C) Servikal BT tetkikinde; sol submandibüler bez anterolateral komşuluğunda, nekrotik komponent içeren, hafif lobüle kontürlü nekroze lenf nodları.

dı ve materyal mikrobiyoloji ve patoloji laboratuvarına gönderildi. Uygulanan testlerde pozitiflik saptanmadı. Histopatolojik incelemede; nekrotik alanlar arasında bol miktarda nötrofil lökosit, küçük lenfosit, histiosit ve makrofajların olduğu, buna karşın epitelioid histiosit kümeleri ve atipik hücreler gözlenmediği, sitolojik olarak da malignite lehine bulguların görülmediği ve süpüratif iltihap ile uyumlu bulguların saptandığı bildirildi. Örneğin; Gram boyalı incelemesinde çok sayıda PMNL görülmesine rağmen herhangi bir bakteri gözlenmedi. Tüberküloz açısından yapılan Erlich-Ziehl Neelsen (EZN) incelemesi de negatif olarak değerlendirildi. Örnek, %5 insan kanlı, EMB ve Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerlerine ekilerek, aerob ve %5-10 karbondioksitli ortamda 37°C'de inkübe edildi. Beş günlük inkübasyon sonrasında, sadece kanlı agarda, saf olarak üremiş, yaklaşık 2 x 2 mm boyutlarında, gri-beyaz renkli, hafif mukoid görünümlü, parlak yüzeyli, S-tipi koloniler saptandı. Katalaz pozitif, oksidaz negatif saptanan bakterilerin, kanlı agar-dan hazırlanan Gram preparatında oldukça soluk boyanmış, atılmış kum yığınları şeklinde gram-negatif kokobasil morfolojisinde oldukları görüldü. Gram boyamadaki bu görüntüye, plakların uzun süre inkübe edilmiş olması ve kültürün eskimiş olmasının da neden olabileceği düşünüldü. Tekrar kanlı agara pasaj yapılarak 72. saatin sonunda gelişen kolonilerden Gram boyama yapıldı. Gram preparatta soluk boyanmış genellikle tek tek yerleşmiş gram-negatif kokobasiller gözlemlendi. Gram-negatif bakteri tanımlamasına yönelik IMVIC testlerinde herhangi bir üreme gözlenmedi. İzolat, kanlı agarda disk difüzyon yöntemiyle amikasin, gentamisin, siprofloksasin, imipenem, sefotaksim, penisilin, trimetoprim-sülfametoksazol eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, levofloksasin, ofloksasin ve tobramisin için antibiyotik duyarlılık testine alındı, ancak 48 saat boyunca herhangi bir üreme görülmediğinden değerlendirme yapılamadı.

Bakterinin üreme özellikleri (gram-negatif bakterilerin genel kullanım besiyerlerinde üreyememesi ve kanlı agarda geç üremesi), kanlı agardaki koloni morfolojisi ve mikroskopik özellikleri ile hastada ön tanı olarak tularemi düşünüldü. Hastanın kan örneği ve izolatu ileri tetkikler için Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı (RSHMB), Ulusal Tularemi Referans Laboratuvarına gönderildi. Burada izolata, *F.tularensis* antiserumu ile lam aglütinasyonu, direkt floresan antikor testi (DFA) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testleri uygulandı. Özgül antiserum ve DFA ile *F.tularensis* olarak doğrulanan suş, PCR ile *F.tularensis* alt tür *holarctica* olarak tanımlandı. Hastanın serum örneğinde mikroaglütinasyon testi 1/5120 titrede pozitif olarak saptandı. Bu esnada lenf bezi aspiratından yapılan LJ kültüründe üreme olmadı ve RSHMB'den tüberküloz PCR sonucu negatif olarak bildirildi.

Orofarengeal tularemi tanısı konan hastaya 5 mg/kg/gün dozunda gentamisin tedavisi başlandı. Tedaviye başladıktan 48 saat sonra lenf nodunda apse gelişti ve apse cerrahi olarak drene edildi. Daha sonra tekrarlanan apse dirençleri ile birlikte antibiyotik tedavisi 14. güne tamamlanan hasta şifa ile taburcu edildi. Hasta tularemi açısından indeks olgu kabul edilerek İl Sağlık Müdürlüğü Bulaşıcı Hastalıklar Dairesi Başkanlığına bildirim yapıldı ve hastanın belirttiği alanlardan Pembecik köyünde yapılan sağlık taramasında 3 yaşında bir çocuk ve bir gebe olmak üzere 5 yeni tularemi hastası daha saptanarak tedavileri uygulandı. Tularemi salgınının kaynağına yönelik araştırmalarda, alınan Pembecik

köyü su örneklerinde pozitiflik saptanmadı, ancak gebe hastanın evinin önünden alınan ölü fare dışkısında *F.tularensis* PCR pozitifliği tespit edildi. Bu nedenle Yozgat ilindeki tularemi salgınının, farelerin, insanlara ait su ve gıda (sac ekmeği) kaynaklarını kontamine etmesinden kaynaklanabileceği düşünüldü. İndeks olgunun 10 haftalık izlemi sonrasında lenf bezi küçülerek kayboldu ve sekelsiz iyileşme sağlandı.

TARTIŞMA

Ülkemizde ilk tularemi olguları 1936 yılında bildirilmiş ve daha sonra günümüze kadar Türkiye'nin değişik bölgelerinden, sporadik olgular dışında 14 salgın rapor edilmiştir^{3,10-14}. Hastalık, ülkemizde değişik coğrafi bölgelerde küçük salgınlar oluşturması nedeniyle 2005 yılından itibaren bildirim zorunlu hastalıklar listesine alınmıştır. 1936-2009 yılları arasında bildirilen toplam olgu sayısı 965'tir; ancak Yozgat ilinden bir tularemi olgusu tanımlanmamıştır³.

F.tularensis'in, virülansları ve coğrafi dağılımları farklılık gösteren 4 alt türü (*tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* ve *novicida*) tanımlanmıştır^{1,2,7}. *F.tularensis* subsp. *tularensis* (tip A) ve subsp. *holarctica* (tip B) klinik ve epidemiyolojik açıdan en önemli alt türler olup, diğerine göre daha az virülen olan *F.tularensis* subsp. *holarctica* Türkiye'de salgınlara neden olan alt türdür^{3,12,13}. Ülkemizde bugüne kadar izole edilen *F.tularensis* suş sayısı 10 olarak bildirilmiştir^{3,12-14}. Sunulan bu olgudan izole edilen suş da, Avrupa ve Türkiye'de yaygın olan *F.tularensis* subsp. *holarctica* olarak tanımlanmıştır.

Tularemide klinik bulgu ve semptomlar, etkenin virülansına, inokulum dozuna, konağa giriş yoluna ve konağın bağışıklık yeteneğine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir^{1,6}. Hastalık, ülseroglandüler, glandüler, oküloglandüler, orofarengeal, pnömonik ya da tifoidal form olmak üzere altı klinik formda sınıflandırılmaktadır^{1,2,4,5}. Avrupa ülkelerindeki salgınlarda en sık ülseroglandüler/glandüler form görülürken, ülkemizdeki olgularda orofarengeal form en sık karşılaşılan klinik tablodur^{1-3,6}. Bu formda, ateş, boğaz ağrısı, oral ve farengial mukoz membranlarda kızarıklık ve püstüller değişiklikler oluşur ve eksüdatif tonsillit ile karakterizedir. Genellikle tek taraflı veya bilateral bölgesel (servikal veya retrofarengeal) lenfadenopati (LAP) gelişebilir. Bu tablo, streptokokal tonsillit, enfeksiyöz mononükleoz ve tüberküloz lenfadenit ile kolayca karıştırılabilir. Olgular çoğu zaman akut streptokoksik tonsillofarenjit ön tanısı almakta ve penisilin veya sefalosporin türü antibiyotikler kullanılmaktadır^{1,4-6}. Olgumuzun da şikayetleri yüksek ateş ve boğaz ağrısı şeklinde başlamış, ardından servikal LAP gelişmiş, yani tipik bir orofarengeal formun klinik prognozu izlenmiştir. Orofarengeal form kontamine su veya gıda alınmasını takiben ortaya çıkmaktadır. Hastamız zaman zaman arazide çalışmasını gerektirecek bir görev yapmaktadır. Anamnezinde; şikayetleri başlamadan bir hafta kadar önce arazide çalıştığını ve arazideki çeşitli su kaynaklarından (şebeke suyu olmayan) su içtiğini belirtmiştir. Hastanın kullandığı su kaynaklarından alınan örneklerden bakteri izole edilememiş olsa da, hastalığın orofarengeal formda olması ve bakterinin su ile ilişkili olan *holarctica* alt türü olarak tanımlanması nedeniyle olgunun su kaynaklı olduğu düşünülmüştür.

F.tularensis subsp. *tularensis*, *holarctica* ve *mediasiatica* üreme için sülfidril bileşiklerine ihtiyaç duyarken, subsp. *novicida* ve *Francisella* cinsinin diğer türü olan *F.philomiragia* daha kolay üreyen bakteriler olarak koyun kanlı agar gibi genel üretim besiyerlerinde üreyebilirler^{1,2,4}. *F.tularensis*'in izolasyonunda en yaygın olarak Francis (sisteinli-glukozlu kanlı agar) besiyeri kullanılır. Ayrıca, %9 ısıtılmış koyun kanı ilaveli sistein kalp agar (CHAB), sisteinle zenginleştirilmiş çukulata agar (CHAB), tamponlu kömür-maya ekstrakt agar (BCYE) agar, %1 hemoglobin ve %1 IsoVitaleX ilaveli GC agar baz II ve tiyoglikolat-glukoz kanlı agar (TGBA) gibi besiyerleri de izolasyon için kullanılmaktadır^{1,7}. Sistein ile zenginleştirilmiş besiyerlerinin kullanılması *F.tularensis*'in klinik ve çevresel örneklerden izolasyonunu artırmaktadır. Ancak, kanlı ve çukulatamsı agar gibi konvansiyonel besiyerlerinde bakteri üreyememekte veya 7-10 gün sonra üreyebilmektedir^{1,2,7,8}. Literatür araştırmasında, bugüne kadar sisteine gereksinim duymayan 10 suşun tanımlandığı görülmüştür⁸⁻¹⁰. Bizim olgumuzda da *F.tularensis* izolasyonu, hiçbir sülfidril bileşiği içermeyen %5 insan kanlı agarda gerçekleştirilmiştir. Sistein gereksinimi duymayan atipik suşların, klasik *F.tularensis* suşlarına göre daha az virülan olduğu ve bu farklılığın; coğrafi dağılım, besiyerlerinde tekrarlayan pasajlar, özgün genotipik ve fenotipik özellikler ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür^{8,10}.

Bakterinin üretilmesi için yüksek güvenli laboratuvara gerek olması ve laboratuvar kaynaklı enfeksiyon gelişim riski nedeniyle rutinde *Francisella* suşlarına antibiyotik duyarlılık testinin yapılması önerilmemektedir^{1,4,6,7}. 2006 yılında "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" tarafından "biyoterörizmin olası etkenleri" için sıvı mikrodifüzyon yöntemiyle minimal inhibitör konsantrasyon (MİK)'un araştırılmasına ait standartlar yayınlanmıştır¹⁵. CLSI, *F.tularensis* suşlarının antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde, katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyeri (CAMHB) kullanılmasını önermektedir. Ancak, tularemi tedavisinde en sık kullanılan antimikrobiyaller içerisinde sadece aminoglikozidler (streptomisin ve gentamisin), tetrasiklinler (tetrasiklin ve doksisisiklin), florokinolonlar (siprofloksasin ve levofloksasin) ve kloramfenikol için MİK konsantrasyon sınır değerleri belirlenmiştir. Bizim olgumuzun lenf bezi aspiratından etkenin izole edilmesine rağmen, hızlı üreyen aerob gram-negatif bakteriler için uygulanan disk difüzyon yönteminde üreme olmaması, bakteri yoğunluğuna, inkübasyon süresine ve besiyerinin uygun olmamasına bağlanmıştır.

Geçmiş yıllarda sadece Marmara Bölgesine sınırlı olduğu düşünülen tulareminin, özellikle 2004 yılından sonra Batı ve Orta Karadeniz Bölgesi, İç Anadolu Bölgesinin Kuzeybatı ve Karadeniz'e yakın yerleşim alanları ile Doğu Anadolu Bölgesinden bildirilen olgularla, ülkemizde geniş bir yayılım gösterdiği kabul edilmektedir^{3,12-14}. Sonuç olarak, betalaktam antibiyotiklere cevap vermeyen tonsillit ve/veya servikal kitlesi olan ve hastalığın endemik olduğu bölgeden gelen olguların ayırıcı tanısında tularemi, mutlaka düşünülmesi gereken bir hastalıktır.

KAYNAKLAR

1. WHO Guidelines on Tularaemia. WHO/CDS/EPR/2007.7
2. Sjöstedt A. Tularemia: History, epidemiology, pathogen physiology, and clinical manifestations. Ann N Y Acad Sci 2007; 1105: 1-29.
3. Akalin H, Helvacı S, Gedikoglu S. Re-emergence of tularemia in Turkey. Int J Infect Dis 2009; 13: 547-51.
4. Foley JE, Nieto NC. Tularemia. Vet Microbiol 2010; 140: 332-8.
5. Choi E. Tularemia and Q fever. Med Clin North Am 2002; 86: 393-416.
6. Ellis J, Oyston PC, Green M, Titball RW. Tularemia. Clin Microbiol Rev 2002; 15: 631-46.
7. Wong JD, Shapiro DS. *Francisella*, pp: 647-51. In: Murray PR (ed), Manual of Clinical Microbiology. 1999, 7th ed. ASM Press, Washington DC.
8. Bernard K, Tessier S, Winstanley J, Chang D, Borczyk A. Early recognition of atypical *Francisella tularensis* strains lacking a cysteine requirement. J Clin Microbiol 1994; 32: 551-3.
9. Weber M, Sawka N, Halperin S, Ferrieri P. Oculoglandular tularemia. Clin Microbiol Newsl 1984; 6: 36-7.
10. Clarridge JE 3rd, Raich TJ, Sjösted A, et al. Characterization of two unusual clinically significant *Francisella* strains. J Clin Microbiol 1996; 34: 1995-2000.
11. Gotschlich E, Berkin T. 1936 yılında Trakya'da tülaremiye ait yapılan epidemiyolojik ve bakteriyolojik araştırmalar. Turk Hij Tecr Biyol Derg 1938; 1: 115-23.
12. Gürçan S. *Francisella tularensis* ve Türkiye'de tülaremi. Mikrobiyol Bul 2007; 4: 621-36.
13. Gedikoglu S. *Francisella tularensis* isolation from various clinical specimens. Clin Microbiol Infect 1996; 2: 233-5.
14. Karadenizli A, Gurcan S, Kolayli F, Vahaboglu H. Outbreak of tularaemia in Golcuk, Turkey in 2005: report of 5 cases and an overview of the literature from Turkey. Scand J Infect Dis 2005; 37: 712-6.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 16th Informational Supplement. CLSI Document M100-S16, 2006. CLSI, Wayne, PA.