

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDEKİ KOYUN VE
KEÇİLERDE ANAPLASMOSİSİN PREVALANSININ
BELİRLENMESİ**

Ceylan CEYLAN

DOKTORA TEZİ

VETERİNERLİK PARAZİTOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Özlem DERİNBAY EKİCİ

KONYA 2022

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDEKİ KOYUN VE
KEÇİLERDE ANAPLASMOSİSİN PREVALANSININ
BELİRLENMESİ**

Ceylan CEYLAN

DOKTORA TEZİ

VETERİNERLİK PARAZİTOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Özlem DERİNBAY EKİCİ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP)
Koordinatörlüğü tarafından 2017 ÖYP 009 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2022

ÖNSÖZ

Türkiye, subtropikal iklim kuşağında yer alan ve ekonomisi sanayi ve tarım ürünlerine dayanan bir ülkedir. Türkiye küçükbaş hayvan varlığında önemli bir paya sahip olan Güneydoğu Anadolu Bölgesi ülkenin et ve süt üretimine de önemli katkılar sağlamaktadır. Türkiye’de küçükbaş hayvancılığı kötü yönden etkileyen birçok faktör olup bunlardan bir tanesi de kenelerle nakledilen *Anaplasma* enfeksiyonlarıdır. Anaplasmosis küçük ruminantlarda sıkça rastlanılan ve genellikle *Anaplasma ovis* ve *Anaplasma phagocytophilum* türlerinin sebep olduğu bir enfeksiyondur. Ayrıca son yıllarda Çin’de koyun ve keçilerde enfeksiyona sebep olduğu tespit edilen *A. capra* türü de tanımlanmıştır. Bu türe 2022 yılında Türkiye’de de rastlanmıştır. Kan parazitlerinin teşhisi uzun yıllar boyunca klinik bulguların görülmesi ve kan frotilerinin mikroskopik bakışı ile yapılmıştır. Teknolojinin ilerlemesiyle birlikte serolojik ve moleküler teşhis yöntemleri gibi daha hassas ve özel metotlar geliştirilmiştir. Diğer kan paraziti enfeksiyonlarında olduğu gibi riketsiyal bir etken olan *Anaplasma* türlerinin teşhisinde de güvenilir teşhis metotlarının kullanılması gerekmektedir. Metot seçimi ise uygulanacak yöntemin saha ve/veya laboratuvar şartlarına uygun olup olmadığı; maliyeti ve testin yapılması için gereken süre gibi şartlar gözetilerek yapılmaktadır. Çalışmada kullandığımız yöntemlerden biri olan mikroskopik muayene yöntemi güvenilir sonuçlar sağlamakta, ancak taşıyıcı hayvanların teşhisinde diğer yöntemler kadar verim sağlamamaktadır. Çalışmada kullandığımız bir diğer yöntem olan Rt-PCR yöntemi ise sahada uygulanmasının zor olması ve maliyetli bir test olması gibi olumsuzluklarının yanı sıra farklı *Anaplasma* türleri arasında eş zamanlı ayırım sağlaması, hassas ve güvenilir bir teşhis metodu olmasıyla diğer yöntemlerin önüne geçmektedir. Bu çalışma Güneydoğu Anadolu Bölgesi’ndeki koyun ve keçilerde *Anaplasma* etkenlerinin yaygınlığını belirlemek amacıyla mikroskopik muayene yöntemi ve Rt-PCR testi uygulanarak yapılmıştır. Anaplasmosisle mücadele edebilmek için epidemiyolojik özelliklerinin açıklığa kavuşturulması, endemik bölgelerin belirlenmesi, bulaşmada rol oynayan vektörlerin tespiti, hasta hayvanların teşhis ve tedavilerinin yapılması gerekmektedir. Bu nedenle, hastalığın Türkiye koyun popülasyonu içerisinde önemli bir yer tutan Güneydoğu Anadolu Bölgesi’ndeki yoğunluğunun belirlenmesi ve gerekli tedbirlerin alınması oldukça önemlidir.

Araştırmanın planlanmasından yazım aşamasına kadar fikir ve görüşleriyle yardımını ve desteğini esirgemeyen başta değerli danışman hocam Prof. Dr. Özlem Derinbay Ekici olmak üzere, doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle her konuda desteğini esirgemeyen Veterinerlik Parazitolojisi Anabilim Dalı başkanı değerli hocam Prof. Dr. Ferda Sevinç'e, Entomoloji bilimine olan sevgisini ve bilgisini sabırla aktaran değerli hocam Prof. Dr. Bilal Dik'e, akademik işleyişi ve düzeni öğrenmemde emeği geçen değerli hocam Prof. Dr. Feyzullah Güçlü'ye, doktora eğitimim sırasında desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Uğur Uslu'ya ve doktora eğitimim sırasında desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Nermin Işık Uslu'ya, istatistik hesaplamalarında zamanını ve bilgisini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Enver Yazar ve Doç. Dr. M. Agah Tekindal'a çok teşekkür ederim. Materyal toplama esnasında kapısını çaldığımda beni geri çevirmeyip yardımını esirgemeyen bütün Veteriner Hekim arkadaşlarıma ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi halkına, hayvan sahipleriyle iletişim kurmamda yardımcı olan değerli arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Devran Coşkun'a; laboratuvar çalışmaları sırasında kızıma göz kulak olan manevi halaları Arş. Gör. Dr. Merve İder ve Arş. Gör. Dr. Fatma Satılmış'a, laboratuvar çalışmaları sırasında yardımını esirgemeyen değerli arkadaşım Arş. Gör. Dr. Gonca Sönmez'e çok teşekkür ederim. Bugünlere gelebilmem için, hayatımın her aşamasında varlarını yoklarını ortaya koyan, her zaman ellerindekinden daha fazlasını vermeye çalışan, zorlandığım her anda yanımda olan, dualarıyla her daim güç bulduğum, bana inanmaktan ve desteklemekten asla vazgeçmeyen, doktora sürecim boyunca çoğu zaman hasret kaldığım kıymetli annem ve babama, ablalarım Cihan ve Suzan'a, abilerim İbrahim ve Halil'e, bu süreçte çok zaman ayıramadığım sevgili yeğenlerime ve her zaman yanımda olan güzel kardeşim Şükran'a; sevgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan kayınvalidem ve kayınpederime çok teşekkür ediyorum. Doktora sürecine başladığım ilk günden beri desteğini, bilgisini, sevgi ve özverisini esirgemeyen, saha ve laboratuvar çalışmalarımın her adımında yanımda olan, yorulduğum zaman daha gidecek çok yolumuz var deyip desteğiyle yola devam etmemi sağlayan sevgili eşim Doç. Dr. Onur Ceylan'a; varlığıyla bana mutluluk, yaşama sevinci ve umut veren kızımız Ela Ceylan'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
SİMGELER ve KISALTMALAR	V
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
ÖZET.....	IIIX
SUMMARY	X
1.GİRİŞ	1
1.1. Koyun-keçilerde ve farklı konaklarda anaplasmosis.....	3
1.2. <i>Anaplasma</i> etkenlerinin tarihçesi	5
1.3. Patojen <i>Anaplasma</i> türleri	6
1.4. <i>Anaplasma</i> türleri ve genel özellikleri.....	6
1.4.1. <i>Anaplasma ovis</i>	6
1.4.2. <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	8
1.4.3. <i>Anaplasma platys</i>	10
1.4.4. <i>Anaplasma marginale</i>	11
1.4.5. <i>Anaplasma centrale</i>	13
1.4.6. <i>Anaplasma capra</i>	13
1.5. <i>Anaplasma</i> türlerinin morfolojik yapısı	15
1.6. <i>Anaplasma</i> etkenlerinin biyolojisi ve vektörlerde gelişimi	17
1.7. Anaplasmosisin biyolojik ve mekanik naklinde görev alan vektörler	21
1.7.1. Vektör kenelerin biyolojisi	21
1.7.2. Vektör Tabanidae'lerin biyolojisi	24
1.8. <i>Anaplasma</i> etkenlerinin epidemiyolojisi	25
1.9. Anaplasmosisin klinik bulguları ve patogenezi.....	31
1.10. Anaplasmosis'in teşhisi ve ayırıcı tanısı	32
1.11. Anaplasmosis'in tedavisi, korunma ve kontrol yöntemleri	36
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	39
2.1. Çalışma alanı, incelenen hayvan sayısı	39
2.2. Kan alma ve laboratuvar uygulamaları.....	42
2.2.1. Mikroskopik Muayene	42
2.2.2. Genomik DNA ekstraksiyonunun yapılışı.....	43
2.2.3. Rt-PCR uygulamaları.....	45
3. BULGULAR.....	49
3.1. Mikroskopik muayene bulguları.....	49

3.2. Rt-PCR analizi bulguları	51
3.3. İstatistiksel analiz bulguları	57
4. TARTIŞMA	60
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	71
6. KAYNAKLAR	74
7. EKLER.....	85
EK-A: Turnitin Raporu.....	85



SİMGELER ve KISALTMALAR

TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
Mm	: Mikrometre
uL	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
dk	: dakika
s	: saniye
iv	: İntravenöz
im	: intramusküler
HGA	: Human Granulocytic Anaplasmosis
TBF	: Tick Borne Fever
PCR	: Polimerase Chain Reaction
PCR-RFLP	: Polymerase Chain Reaction-Restriksiyon Fragment Length Polymorphism
qPCR	: quantitative Polymerase Chain Reaction
rRNA	: Ribosomal Ribonucleic acid
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
cELISA	: competitive Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
IFA	: Indirect Fluorescent Antibody
LAMP	: Loop-mediated isothermal Amplification Protocol

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 1.8.1. Türkiye’de küçük ruminatlarda anaplasmosis etkenlerinin prevalans oranları.

Çizelge 1.8.2: Avrupa ülkelerinde *Anaplasma* türlerinin çeşitli hayvan türlerine göre prevalansı (Ao- *A. ovis*, Ap- *A. phagocytophilum*).

Çizelge 1.8.3. Dünya genelinde seçilmiş bazı ülkelerde *Anaplasma* türlerinin çeşitli hayvan türlerine göre prevalansı (Ab-*A. bovis*; Ac-*A. centrale*; Aca-*A. capra*; Am- *A. marginale*; Ao- *A. ovis*; Ap- *A. phagocytophilum*; ASp-*A. spp.*).

Çizelge2.1.1: Güneydoğu Anadolu Bölgesi koyun ve keçi sayısına göre güç analizi sonuçları.

Çizelge 2.1.2. Güneydoğu Anadolu Bölgesi koyun numuneleri, alınan yerler ve alınan numune sayısı.

Çizelge 2.1.3. Güneydoğu Anadolu Bölgesi keçi numuneleri, alınan yerler ve alınan numune sayısı.

Çizelge 2.2.3.1. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu analizlerinde kullanılan primer ve probalar.

Çizelge 2.2.3.2. Rt-PCR testinde örneklerin *A. phagocytophilum* etkenleri bakımından incelenirken uygulanan ısı dereceleri ve süreler.

Çizelge 2.2.3.3. Rt-PCR testinde örneklerin *A. ovis* etkenleri bakımından incelenirken uygulanan ısı dereceleri ve süreler.

Çizelge3.1: Güneydoğu Anadolu Bölgesi’ndeki koyunlarda *Anaplasma* türlerinin mikroskopik yaygınlığı.

Çizelge3.2: Güneydoğu Anadolu Bölgesi’ndeki keçilerde *Anaplasma* türlerinin mikroskopik yaygınlığı.

Çizelge3.3: Güneydoğu Anadolu Bölgesi’ndeki koyunlarda Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *Anaplasma* türleri ve moleküler prevalans değerleri.

Çizelge3.4: Güneydoğu Anadolu Bölgesi’ndeki keçilerde Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *Anaplasma* türleri ve oranları.

Çizelge. 3.1.1. Koyun Rt-PCR ve mikroskopi istatistik sonuçları.

Çizelge. 3.1.2. Keçi Rt-PCR ve mikroskopi istatistik sonuçları.

Çizelge. 3.1.3. Koyun ve keçilerde mikroskopi sonuçlarının istatistiki yönden karşılaştırılması.

Çizelge. 3.1.4. Koyun ve keçilerde Rt-PCR sonuçlarının istatistiki yönden karşılaştırılması.

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: 16S rRNA dizisine dayanan Anaplasma cinsinin filogenetik ağacı (Filogenetik analiz, MEGA version 7 kullanılarak Minimum Evrim (ME) yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Ölçek çubuğu, dizideki konum başına 0.005 nükleotidlik bir evrimsel mesafeyi göstermektedir. Şekilde her *Anaplasma* türü için ana konaklar gösterilmektedir).

Şekil 2. *Anaplasma* etkenlerinin morfolojisi ve hücre içinde yerleşimi.

Şekil 3. *Anaplasma* türlerinin yaşam döngüsü.

Şekil 4. *Anaplasma phagocytophilum*'un yaşam döngüsü.

Şekil 5: *Anaplasma* etkenlerinin biyolojik naklinde görev alan bazı kene türleri (orijinal).

Şekil 6. Türkiye haritası üzerinde Güneydoğu Anadolu Bölgesi, numune alınan iller ve incelenen hayvan sayısı.

Şekil 7: Giemsa boyası ile boyanmış preparat ve mikroskop görüntüsü.

Şekil 8: EZNA Blood DNA mini ekstraksiyon kiti.

Şekil 9: Çalışmada Rt-PCR analizlerinin gerçekleştirildiği Rt-PCR cihazı.

Şekil 10. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyun ve keçilerde mikroskopik muayene yöntemi ile tespit edilen *A. ovis* enfeksiyonunun illere göre oranları.

Şekil 11: a: *Anaplasma* spp. (Batman koyun 20/ 100x orijinal), b: *Anaplasma* spp. (Batman koyun 10/100x orijinal).

Şekil 12. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan koyunlarda Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *A. ovis* enfeksiyonunun yüzde oranları (Renk skalası yoğunluk arttıkça koyulaşmaktadır).

Şekil 13. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan koyunlarda Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *A. phagocytophilum* enfeksiyonunun yüzde oranları (Renk skalası yoğunluk arttıkça koyulaşmaktadır).

Şekil 14. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan keçilerde Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *A. ovis* enfeksiyonunun yüzde oranları (Renk skalası yoğunluk arttıkça koyulaşmaktadır).

Şekil 15. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan keçilerde Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *A. phagocytophilum* enfeksiyonunun yüzde oranları (Renk skalası yoğunluk arttıkça koyulaşmaktadır).

Şekil 16. Şanlıurfa koyun örneklerinin bir kısmı ve keçi örneklerinin tamamının *A. phagocytophilum* etkenleri yönünden incelendiğini gösteren Rt-PCR sonuç ekranı, Negatif ve Pozitif kontrol örneklerinin ct (eşik döngüsü) değerleri.

Şekil 17. Şanlıurfa koyun örneklerinin bir kısmı ve keçi örneklerinin tamamının *A. ovis* etkenleri yönünden incelendiğini gösteren Rt-PCR sonuç ekranı, Negatif ve Pozitif kontrol örneklerinin ct (eşik döngüsü) değerleri.



ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyun ve keçilerde anaplasmosisin prevalansının belirlenmesi

Ceylan Ceylan
Veterinerlik Parazitolojisi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Özlem DERİNBAY EKİCİ

DOKTORA TEZİ/ KONYA 2022

Bu çalışma Eylül 2019 tarihinde Güneydoğu Anadolu Bölgesi (Kilis, Gaziantep, Şanlıurfa, Adıyaman, Diyarbakır, Mardin, Batman, Siirt, Şırnak)'nda koyun ve keçilerde *Anaplasma* etkenlerinden *Anaplasma ovis* ve *Anaplasma phagocytophilum*'un yaygınlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyun ve keçilerde anaplasmosis etkenlerinin yaygınlığını belirlemek için yapılan bu çalışmada mikroskopik muayene yöntemi ve Rt-PCR testi uygulanmıştır. Mikroskopik muayene ile 384 koyun frotisinin 84 (%21,88)'ünde, 384 keçi kan frotisinin 152 (%39,58)'sinde *Anaplasma* spp. etkenleri tespit edilmiştir. Koyun ve keçi kan numunelerinin tamamına DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra Rt-PCR testi uygulanarak koyun numunelerinin %89,32(343)'sinde *A. ovis*, %42,97 (165)'sinde *A. phagocytophilum*; keçi numunelerinin %78,91(303)'inde *A. ovis*, %15,89 (61)'unda *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda Rt-PCR yönteminin mikroskopik muayene yöntemine göre daha kesin ve spesifik sonuçlar verdiği görülmüştür. Çalışmada, *Anaplasma* türleri mikroskopik muayene ile keçilerde koyunlara göre daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Çalışmada *Anaplasma* türleri Rt-PCR ile koyunlarda keçilere göre daha yüksek oranda tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: *Anaplasma ovis*, *Anaplasma phagocytophilum*, Güneydoğu Anadolu Bölgesi, keçi, koyun, mikroskopik muayene, Rt-PCR

SUMMARY

REPUBLIC OF TURKEY
SELCUK UNIVERSITY
HEALTHSCIENCESS INSTITUTE

Determination of the prevalence of anaplasmosis in sheep and goats in Southeastern Anatolia

Ceylan Ceylan
Department of Veterinary Parasitology

PH.D. THESIS /KONYA-2022

This study was carried out to determine the prevalence of *Anaplasma ovis* and *Anaplasma phagocytophilum* in sheep and goats in Southeastern Anatolia Region (Kilis, Gaziantep, Sanliurfa, Adiyaman, Diyarbakir, Mardin, Batman, Siirt, Sirnak) in September 2019.

The microscopic examination method and Rt-PCR test were applied in this study to determine the prevalence of anaplasmosis agents in sheep and goats in the Southeastern Anatolia Region. *Anaplasma* spp agents were detected in 84 (21,88%) of 384 sheep smears and 152 (39,58%) of 384 goat blood smears by microscopic examination. After DNA extraction was performed on all sheep and goat blood samples, a Rt-PCR test was applied, and *A. ovis* was detected in 89,32% (343), *A. phagocytophilum* in 42,97% (165) of sheep samples; *A. ovis* was detected in 78,91% (303) and *A. phagocytophilum* in 15,89% (61) of goat samples. As a result of the study, it was seen that the Rt-PCR method gave more precise and specific results than the microscopic examination method. In the study, *Anaplasma* spp. were detected at a higher rate in goats than sheep by microscopic examination. In the study, *Anaplasma* spp. were detected at a higher rate in sheep than goats by Rt-PCR.

Keywords: *Anaplasma ovis*, *Anaplasma phagocytophilum*, Southeast Anatolia Region goat, sheep, microscopic examination, Rt-PCR

1.GİRİŞ

Türkiye, subtropikal iklim kuşağında bulunan ve Avrupa ile Asya kıtaları arasında yer alan, 80 milyondan fazla nüfus ile 50 milyondan fazla besi hayvanına sahip bir ülkedir. Türkiye'nin ekonomisi sanayi ve tarım ürünlerine dayanmaktadır. Türkiye Akdeniz, Ege, Marmara, Güneydoğu Anadolu, Karadeniz, Doğu Anadolu ve İç Anadolu olmak üzere yedi ayrı coğrafik bölgeye ayrılmaktadır. Türkiye coğrafik konumu itibariyle, Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarındaki mevcut birçok hastalığın kıtalar arası geçişi için doğal bir köprü görevi görmektedir. Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesi'nde bulunan Kayseri ilindeki 'Sultan Sazlığı', Marmara Bölgesi'ndeki 'Manyas Kuş Cenneti', Karadeniz Bölgesi'ndeki 'Kızılırmak Deltası' ve 'Cerneke Kuş Halkalama İstasyonu' ile Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan Diyarbakır ilindeki 'Hevsel Kuş Cenneti' ve Doğu Anadolu'da bulunan 'Aras Kuş Cenneti' gibi birçok bataklık ve göçmen kuş istasyonu, kene ve kene kaynaklı hastalıkların yayılması için yüksek epidemiyolojik öneme sahiptir. Ayrıca, Türkiye'nin coğrafik konumu, ülkenin yedi bölgesinde oldukça değişken iklim koşullarına neden olmaktadır. Anadolu'nun platolarında tipik bir karasal iklim hüküm sürerken, kıyı kesimlerinde ise ılıman iklim hâkim olmaktadır. Yedi coğrafik bölgenin her biri farklı iklim koşulları, bitki örtüsü ve dört mevsim boyunca çeşitli vektör artropodlar için uygun habitat sağlayan yaban hayatına sahiptir (İnci ve ark 2016).

Türkiye'nin iklimi ve ekolojisi theileriosis, babesiosis ve anaplasmosis gibi enfeksiyon etkenlerini nakleden kene türlerinin gelişmesi için uygundur. Hayvancılığın çoğunlukla bilinçsiz şekilde yapılması ve hayvan hareketleriyle ilgili düzenlemelerin yetersiz olması sebebiyle bu tür hastalıklar geçmişten günümüze kadar yüksek oranlarda yayılış göstermektedir. Ayrıca vektör kenelerin biyolojisi ve mevsimsel aktiviteleri iyi bilinmeden kene mücadelesi yapılmakta ve buna bağlı olarak ciddi oranlarda iş gücü ve ekonomik kayıplar yaşanmaktadır (Sevinç ve Xuan 2015).

Kene kaynaklı hastalıklar günümüzde dünya genelinde halk sağlığını önemli ölçüde tehdit etmektedir. Moleküler tekniklerin geliştirilmesiyle beraber, kene kaynaklı patojenlerin yeni türleri ve genetik varyasyonları kenelerde ve hayvanlarda keşfedilmekte hatta bazı türler insan patojeni olarak tanımlanmaktadır. Ortaya çıkan kene kaynaklı enfeksiyonların büyük çoğunluğu son 20 yılda keşfedilmiştir. Yeni

kene kaynaklı patojenlerin tanımlanması, tehdit oluşturan bu etkenlerin kontrol altına alınmasını, ekolojik ve halk sağlığı önlemlerinin geliştirilmesini kolaylaştıracaktır (Yang ve ark 2017).

Türkiye ekonomisinde hayvancılık sektörü; artan nüfusun hayvansal protein ihtiyacını karşılaması, bölgeler ve sektörler arası dengeli kalkınma ve istikrarı sağlaması, sanayi ve hizmet sektörlerinde istihdam olanakları yaratarak kırsal alanlarda işsizlik sorununu azaltması, gizli işsizliği ve göçü önlemesi, kalkınma ve sanayileşme finansmanını öz kaynaklara dayandırması, doğrudan insan gıdası olarak değerlendirilemeyen bitkisel ürünlerin ve artıklarının hayvanlara faydalı gıdalara dönüştürülmesi, sanayi için hammadde sağlaması, ihracatı artırması açılarından önemli potansiyele sahip bir sektördür (Aydemir ve Pıçak 2007)

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2017 verilerine göre Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde toplam 6.174.348 baş koyun ve 2.669.638 baş keçi bulunmaktadır. Bu verilere göre toplam 1.048.308 litre olan yıllık süt üretim miktarının 27.407 litresi koyunlardan, 42.489 litresi keçilerden; 39.951.539 ton yıllık kırmızı et üretim miktarının ise 100.058 tonu koyun, 37.525 tonu keçilerden elde edilmektedir (TÜİK 2018). Hayvan sayısı çok olmasına rağmen elde edilen hayvansal ürün miktarı istenilen düzeyde değildir. Et ve süt üretimini arttırmak amacıyla son zamanlarda yetiştiricilik potansiyeli olan bölgelerde kültür ırkları üretimi teşvik edilmektedir. Birim hayvanda üretim artışı, enfeksiyon hastalıklarına duyarlılığı da arttırdığından, doğru bakım ve besleme yanında bu hastalıklara karşı etkin bir mücadele gerekmektedir. Hayvancılık sektöründe yüksek verimliliğin devamı ancak uygun bakım ve besleme koşullarının iyileştirilmesinin yanında, hastalıkların teşhis, tedavi ve kontrolü noktasındaki başarı ile de mümkündür (Hoşgör 2011).

Hayvancılık sektörünü etkileyen en önemli kene kaynaklı enfeksiyonlardan birisi anaplasmosisdir. Anaplasmosis, gall sickness, tropikal bovine ehrlichiosis de denilen, *Anaplasma* soyuna bağlı çeşitli türlerin neden olduğu, tropik ve subtropik bölgelerdeki evcil ve yabani hayvanlarda yaygın olarak görülen enfeksiyöz bir hastalıktır (İnci ve ark 2013).

Önceden protozoon olarak bilinen, ancak prokaryon ve gram negatif özelliğinden ötürü bakteri sayılan rickettsial mikroorganizmalar, genellikle kan

protozoonları ile birlikte görüldüklerinden protozooloji konuları arasında yer bulmuşlardır. 2001 yılına kadar *Ehrlichia* ailesinde yer alan; gelişen moleküler tekniklerle yeniden sınıflandırılan *Anaplasma* türleri, bakteri âleminden, rickettsiales dizisinden, Anaplasmataceae ailesinden, gr (-), kapsülsüz, sporsuz, hareketsiz, 0.2-0.9 µm boyutunda, küçük, yüzük şeklinde zorunlu intraselüler ve zoonoz karakterde olan bakterilerdir (Rymaszewska ve Grenda 2008).

Bu araştırmanın, ekonomik gelirin büyük bir kısmının hayvancılıktan sağlandığı Türkiye’de; döl verimini düşürmesi, abortlara neden olması, et ve süt verimini etkilemesinin yanında diğer hastalıkların önünü açmasıyla kısa sürede yüksek verim almaya yönelik olan küçük ruminant hayvancılığına büyük ekonomik zararlar veren küçük ruminant anaplasmosis enfeksiyonunun epidemiyolojisi, teşhisi ve tedavisi üzerine günümüze uyarlanmış korunma, kontrol ve tedavi prosedürlerinin geliştirilmesine yarar sağlayacağı düşünülmektedir.

1.1.Koyun-keçilerde ve farklı konaklarda anaplasmosis

Anaplasma türleri konaklarında farklı hücreleri enfekte ederler. *Anaplasma marginale*, *A. centrale* ve *A. ovis* ruminantların eritrositlerine, *A. platys* köpeklerin trombositlerine, *A. phagocytophilum* ise insan ve evcil hayvanların granülositlerine yerleşmektedir (Torina ve Santo 2012). *Anaplasma* etkenleri; damarların endotel hücrelerine, nötrofil, monosit, makrofaj ve eritrosit gibi kan hücrelerinin sitoplasmasına yerleşmektedir (Carrade ve ark 2009). *Anaplasma marginale*, özellikle eritrosit duvarında veya duvara yakın bir bölgede yerleşim gösterirken, *A. centrale*, eritrositlerin merkezinde veya merkeze yakın olarak bulunmaktadır. Hastalığın hafif semptomlarla seyrettiği olgularda eritrositler içerisinde 1-2 etken bulunurken, hastalığın şiddetli seyrettiği olgularda bu sayı 6-7’ye çıkabilmektedir (Sevinç 2004). Dünyada yaygın olarak bulunan *Ixodes*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ornithodoros* ve *Amblyomma* cinslerine ait kene türleri *Anaplasma* türlerinin naklinde rol oynamaktadır (Torina ve Santo 2012). *Anaplasma* türleri keneler (*Dermacentor*, *Amblyomma*, *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Hyalomma* ve *Ornithodoros* türleri) ile biyolojik olarak, kan emen bazı sinekler (Tabanidler, *Stomoxys* spp. ve birçok sivrisinek türü) ile mekanik olarak taşınırlar (Hornok ve ark 2011).

Koyun ve keçilerde anaplasmosise sebep olan türlerin başında *A. ovis* gelmektedir. *Anaplasma ovis*'in neden olduğu anaplasmosis genellikle asemptomatiktir, ancak bazen şiddetli anemiye sebep olabilmektedir. Sığır anaplasmosisinde görülen semptomlara benzer semptomlar genellikle küçük ruminantlarda immünosupresyon durumunda gelişmektedir. *Anaplasma ovis* enfeksiyonu Türkiye'de başta *Derma-centor* ve *Rhipicephalus* türleri olmak üzere çeşitli keneler ile bulaşmaktadır (Stuen 2016).

Sığırlarda anaplasmosise sebep olan türler *A. marginale*, *A. bovis*, *A. centrale* ve *A. phagocytophilum*'dur. Sığırlarda anaplasmosis, iki yaşından büyük hayvanlarda daha ciddi seyretmekte ve *A. marginale* enfeksiyonlarında genellikle ölümle sonuçlanmaktadır. Başlıca klinik belirtiler ateş, sarılık ve iştahsızlıktır. Süt üretiminde azalma ve abortlar da görülebilmektedir. Genellikle anemi görülmekte fakat değişken derecelerde. *Anaplasma centrale* ile enfekte sığır, koyun ve keçilerde hastalık hafif, asemptomatik seyretmektedir. Bununla birlikte, aynı hastalıktan muzdarip keçilerde ciddi bir anemi gelişebilmektedir (Dantas-Torres ve Otranto 2017).

Atlarda anaplasmosise sebep olan tür *A. phagocytophilum*'dur. At anaplasmosisinde klinik belirtiler ateş, uyuşukluk, anoreksi, ekstremitte ödemi, peteşi, sarılık ve ataksiyi içermektedir. Ana laboratuvar bulgular lökopeni, trombositopeni ve anemidir (Dumler ve ark 2005, Dantas-Torres ve Otranto 2017).

Köpeklerde enfeksiyona neden olan *Anaplasma* türleri *A. phagocytophilum* ve *A. platys*'dir. Bu türler köpeklerde sırasıyla köpek granülositik anaplasmosisi ve köpek siklik trombositopenisine neden olmaktadır. Köpeklerde köpek granülositik anaplasmosisinin başlıca klinik semptomları ateş, uyuşukluk, lenfadenomegali, anoreksi, artrit, splenomegali, kilo kaybı ve kusmadır. *Anaplasma platys* köpeklerde sıklıkla asemptomatik enfeksiyonlara neden olmaktadır (Sykes ve Foley 2014).

İnsanlarda genellikle gözlenen klinik belirtiler halsizlik, ateş, kas ağrısı ve baş ağrısıdır. Bazı hastalarda gastrointestinal sistem ve solunum yolları, karaciğer ve merkezi sinir sistemi etkilenebilmektedir. En sık görülen laboratuvar bulguları trombositopeni, lökopeni, anemi ve transaminaz düzeyinde artıştır (Dumler ve ark 2005, Dantas-Torres ve Otranto 2017).

1.2. *Anaplasma* etkenlerinin tarihçesi

Avrupa’da kene humması 1870 yılından beri koyun, keçi ve sığırlarda bildirilmektedir. Bu hastalığın etiyolojik ajanı tam olarak bilinmese de hastalığın semptomlarının anaplasmosisin günümüzdeki karakterizasyonu ile örtüştüğü bildirilmiştir (Kocan ve ark 2003). *Anaplasma marginale* ile ilgili ilk bildiri 1894 yılının başlarında Salmon ve Smith’in bir buzağının eritrositlerinde inklüzyon cisimcikleri tespit etmeleri ile rapor edilmiştir. Fakat tam tanımlama Sir Arnold Theiler tarafından 1910 yılında Güney Afrika sığırlarının eritrositlerinde bakterileri tespit etmesiyle yapılmıştır. Theiler bu etkenleri sığırların eritrositlerinde daha çok kenarlara yerleşen tür (*A. marginale*) ve daha çok eritrositin merkezinde yerleşen tür (*A. centrale*) olmak üzere iki gruba ayırmıştır. Tespit edilen bu etkenlerden ikincisinin evcil hayvanlar için daha az patojen olduğu bildirilmiştir (Kocan ve ark 2003, Kocan ve ark 2010). Türkiye’de *Anaplasma* etkenleri ile ilgili ilk çalışmalar 1926 yılında Rıza İsmail tarafından Karacabey Harasında bulunan sığırlarda gerçekleştirilmiştir. Daha sonra 1931’de Lestoquard tarafından Bursa çevresindeki sığırlarda anaplasmosis vakaları rapor edilmiştir (Mimioğlu ve ark 1969). 1930’lu yıllarda, Sanborn, Stiles ve Moc *A. marginale*’nin Tabanidae ailesindeki türlerle ve *Stomoxys calcitrans* türü sineklerle mekanik olarak bulaştığını kanıtlamışlardır. 1980’lerin sonunda ise *A. marginale*’nin yaşam döngüsü *Dermacentor* cinsi kenelerde izlenebilmiştir (Kocan ve ark 1989, Dantas Torres and Otranto 2017). Takip eden yıllarda *A. ovis*, *A. platys* ve *A. bovis* gibi hayvanlar için daha patojen olan türler keşfedilmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalarda *Anaplasma* türlerinin insanlar için de patojen olduğu bildirilmiştir. Amerika’da bir hastaya 1994 yılında *A. phagocytophilum* kaynaklı ilk anaplasmosis HGA (Human Granulocytic Anaplasmosis) teşhisi konulmuştur. Daha sonra bu teşhisten yola çıkılarak, Amerika’nın Minnesota ve Wisconsin eyaletlerinde nedeni bilinmeyen ateşle hastaneye getirilen altı hastanın periferik kan yaymalarında granülositlerinin sitoplasmasında inklüzyon cisimcikleri (morula) tespit edilmiştir (Chen ve ark 1994). 1996 yılında ise Avrupa’da ilk insan anaplasmosis olgusu Slovenya’da bir hastada tanımlanmıştır (Petrovec ve ark 1997). Daha sonra aynı hastalığa Polonya’da da rastlanmıştır (Rymaszewska ve Grenda 2008). Yapılan bu çalışmalardan sonra zoonotik önemi göz önünde bulundurularak, anaplasmosis üzerine yapılan çalışmaların sayısı artmıştır.

1.3. Patojen *Anaplasma* türleri

Anaplasma cinsi *Anaplasma ovis*, *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytophilum*, *A. platys* ve yeni keşfedilen bir tür olan *A. capra* olmak üzere yedi türü barındırmaktadır (Dumler ve ark 2005, Li ve ark 2015). Bu türlerden *A. marginale*, *A. centrale* ve *A. bovis*'in esas konakları sığırlardır. *Anaplasma ovis* için esas konak koyun ve keçiler, *A. platys* için ise köpeklerdir. *Anaplasma* türlerinin omurgalı konak vücudundaki yerleşim yerleri birbirinden farklıdır. *Anaplasma marginale*, *A. centrale* ve *A. ovis* eritrositlere; *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* granülositlere, *A. platys* ise trombositlere yerleşmektedir (İnci ve ark 2016). *Anaplasma phagocytophilum* ise ruminant, at, köpek ve insanlar ile rezervuar ödevi gören evcil ve yabani birçok hayvanda bulunması yönüyle çok geniş bir konak spektrumuna sahiptir (Rikihiş 2011). Li ve ark (2015) yeni bir tür olan *A. capra*'nın varlığını Çin'in kuzeyinde koyun, keçi ve kenelerden bu etkenleri izole ederek ortaya koymuşlardır. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu etkenin insanlarda da hastalık oluşturduğu bildirilmiştir. Bu türler esas konakları dışında hayvanlarda da bildirilmiştir. Sığırlar için patojen bir tür olan *A. marginale* koyun ve keçileri de enfekte etmekte ve latent enfeksiyonlara neden olmaktadır (Kuttler 1984, Kocan ve ark 2010). Enfektif doza göre değişmek üzere, hastalığın inkubasyon periyodu 21-45 gün arasında değişmektedir. Etkenler eritrosit içinde çoğalmakta, ekstrasvasküler hemoliz ve bundan dolayı şiddeti artan bir anemiye neden olmaktadır (Gale ve ark 1996, Gökçe ve ark 2013). Ayrıca Çin, İtalya ve Tunus'ta yapılan çalışmalar koyun ve keçilerde *A. bovis*'in de bulunduğunu göstermektedir (Rymaszewska ve Grenda 2008). Bunlara ilave olarak köpeklerde bulunan *Anaplasma* türü olan *A. platys* keçi ve koyunda saptanmıştır fakat *A. platys* ve *A. bovis*'ten kaynaklanan enfeksiyonun koyun ve keçilerde subklinik olarak seyrettiği belirtilmiştir (Hoşgör 2011).

1.4. *Anaplasma* türleri ve genel özellikleri

1.4.1. *Anaplasma ovis*

Anaplasma ovis, küçük ruminantlarda anaplasmosise neden olan zorunlu eritrosit içi, riketsiyal bir etkidir. *Anaplasma ovis* koyun, keçi ve bazı vahşi ruminantları enfekte etmektedir (Ben Said ve ark 2018). Etken vektörlerle biyolojik ve mekanik olarak nakledilebilmektedir. Biyolojik nakilde, *Anaplasma ovis*'in yaşam döngüsü omurgalılarla keneleri içermektedir. *Anaplasma* etkenlerinin biyolojik

vektörleri *Ixodes*, *Dermacentor* (*D. silvarum*, *D. marginatus*, *D. andersoni*), *Rhipicephalus* (*Rh. bursa*, *Rh. bursa turanicus*), *Haemaphysalis* (*Hae. sulcata sulcata*) ve *Amblyomma* cinslerinde bulunan kene türleridir. Bu etkenler aynı zamanda, pireler, tabanidler gibi artropodlarla ya da enjektör, makas gibi veteriner hekim âletleri ile mekanik olarak da nakledilebilmektedirler (Torina ve Caracappa 2012, Cablesaz Cruz ve ark 2019). Aktaş ve ark (2009) *A. ovis* etkenlerini moleküler yöntemler kullanarak vektör kenelerden izole etmişlerdir. Hashemi-Fesharki (1997) kan emen sineklerin *A. ovis*'in bulaşmasına katıldığını bildirmiş, Uilenberg (1997) de *A. ovis*'in bulaştırılmasında birçok cins ve tür sineğin rol alabileceğini bildirmiştir. Hornok ve ark (2011)'nın yaptıkları bir çalışmada Hippoboscidae ailesinden bir sinek olan *Melophagus ovinus*'un da bu hastalığa vektörlük yaptığı bildirilmiştir.

Küçükbaş hayvanlarda anaplasmosis etkeni olan *A. ovis* ilk olarak 1912 yılında Bevan tarafından bir koyunda bildirilmiştir. Daha sonra Asya, Avrupa, Afrika ve Amerika gibi dünyanın birçok bölgesinden vakalar bildirilmiştir (Renneker ve ark 2013). Türkiye'de, *A. ovis* ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalarda etkenin prevalansının mikroskobik olarak %0,2-41,53 (Göksu 1967, Hoffmann ve ark 1971, Güralp ve ark 1975, Özer ve ark 1993, Ekici 2016, Ceylan 2019), serolojik olarak %75,12 (Ekici 2016), moleküler olarak ise %18,0-67,06 (Renneker ve ark 2013, Altay ve ark 2014, Öter ve ark 2016, Bilgiç ve ark 2017, Zhou ve ark 2017, Aktas ve Özübek 2018, Sevinç ve ark 2018) tespit edildiği bildirilmiştir (Aydın ve Dumanlı 2019).

Enfeksiyon sıklıkla subklinik seyir göstermekte ancak keçilerde, koyunlara göre özellikle stresli veya zayıflamış hayvanlarda daha şiddetli seyredebilmektedir. Enfeksiyonun akut dönemi ateş, zamanla şiddetlenen anemi, sarılık, kilo kaybı, süt veriminde azalma ve bazen ölüm ile karakterizedir. Dalağın operasyonla alınması (splenektomi) ve diğer enfeksiyonlar hayvanların direncini düşürerek hastalığa yatkın hale getirmektedir. Yetersiz beslenme ve gebelik gibi diğer stres faktörleri de hayvanların anaplasmosise duyarlılığını arttırmaktadır (Yasini ve ark 2012).

Hastalığın akut evresinde teşhis genellikle klinik belirtiler, sürme frotide mikroorganizmaların varlığının mikroskobik olarak tespiti ve enfeksiyonun hematolojik bulguları ışığında yapılmaktadır. Hastalığı atlatan hayvanlar kalıcı

enfeksiyonlar geliştirebilmekte ve hastalığın rezervuarı olarak yaşamlarına devam etmektedirler (Yasini ve ark 2012).

Akut anaplasmosisin koenfeksiyonlar, sıcak hava, aşılama, şiddetli kene istilaları, uzun mesafeli yolculuklar ve hayvan hareketleri gibi stres faktörleri ile ilişkili olduğu açıklanmıştır. Khayyat ve Gilder (1947) *A. ovis*'in, *Babesia motasi* ile birlikte seyrettiği altı klinik vakayı gözlemleyerek, beşinin hayatta kalmadığını görmüş bunun bir koenfeksiyonun sonucu olabileceğini, anaplasmosiste birden fazla patojenin tek bir patojenden kaynaklanan enfeksiyonlardan daha şiddetli olabileceğini bildirmişlerdir. Başka çalışmalarla da *A. ovis* ve *B. ovis* koenfeksiyonları bildirilmiştir. Irak'ta Renneker ve ark'nın yaptığı bir çalışmada (2013b) koyunlardan toplanan kanların %3'ünde *A. ovis*, *Babesia ovis* ve *Theileria ovis* ile koyunlarda görölen diğer *Theileria* etkenlerinin aynı hayvanda göröldüğü bildirilmiştir.

Chochlakis ve ark (2010), *A. ovis*'in kısmi major surface protein 4 (MSP4) dizilerinin çoklu dizi hizalamalarına dayalı filogenetik analizleri sonucu, Kıbrıs'ta bir kadın hastadan izole edilen zoonotik *A. ovis* suşu ile klasifiye olan, GB3 ve GK1 olarak adlandırılan iki yeni genotip ortaya çıkarmıştır. Yapılan bu çalışmanın ardından *A. ovis* epidemiyolojisi üzerine yapılan araştırmalar, zoonotik özelliğini belirten bulgular ışığında daha fazla önem kazanmıştır (Chochlakis ve ark 2010).

1.4.2. *Anaplasma phagocytophilum*

Anaplasma phagocytophilum sığır, koyun, keçi, köpek, at, geyik ve insan dahil birçok memelinin nötrofillerini enfekte eden, zoonotik özelliği olan bakteriyel bir etkendir (Stuen ve ark 2003). *Anaplasma phagocytophilum* etkenleri, omurgalı konakların mononökleer fagositik sistem hücrelerine, eritrosit ve trombositlerine yerleşen, küçük (yaklaşık 0.3 µm), gram negatif, pleomorfik mikroorganizmalardır. Bu nedenle etkenleri taşıyan omurgalı konakların periferik kanı veya dalak, karaciğer, kemik iliği gibi bazı organların eksudatlarından hazırlanan frotilerde bu etkenlerin teşhisi yapılabilmektedir (Dantas-Torres ve Otranto 2017).

Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ve Asya'dan insan, kene ve hayvan türlerinden elde edilen 500'den fazla kısmi psöudogen dizisi GenBank'ta bulunmaktadır. Bu dizilerden 16 Amerikan suşu ve 4 Avrupa suşu olmak üzere yirmi

A. phagocytophilum genomu sekanslanmıştır. Yapılan birkaç araştırmaya göre ruminantları enfekte eden suşların insanlar için patojenik olmadığı bildirilmiştir (Barbet ve ark, 2013).

Anaplasma phagocytophilum'un prototipi ilk olarak 1932 yılında İskoçya'da tanımlanmıştır. 1940 yılında *Rickettsia phagocytophila* olarak isimlendirilmiş, 1960'lı yıllarda ise etkene granulositik hücrelere yerleşmesi ve *Cytoecetes microti*'ye olan morfolojik benzerliği nedeniyle *Cytoecetes phagocytophila* adı verilmiştir. Aynı yıllarda Kaliforniya'da atlarda tespit edilen granulositik ehrlichiosis etkeni ise ayrı bir tür olarak kabul edilmiş ve *Ehrlichia equi* olarak tanımlanmıştır. Sözü geçen bu etkenler testler sırasında gram negatif olmalarına rağmen gram boya ile boyanmamış; Giemsa, Leishman ve diğer diferansiyel boyalarla boyanarak bakterilerden ayrılmışlardır (Woldehiwet 2010). 1980'li yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'nde insan granulositik ehrlichiosis vakaları tespit edilmiş, benzer vakalar ilerleyen zamanlarda Avrupa'da da ortaya çıkmıştır (Woldehiwet 2010). Ribosomal Ribonükleik Asid (rRNA) genlerinin sekans analizlerine göre 2001 yılında yapılan sınıflandırmada ruminant, at ve insanlarda tespit edilen granulositik ehrlichiosis etkenlerinin aynı türün farklı varyantları olduğu ifade edilmiştir. Günümüzde koyun, keçi, at, sığır, köpek, kedi gibi hayvanlar ve insanlarda tespit edilen granulositik ehrlichiosis etkeninin *A. phagocytophilum* olduğu kabul edilmektedir. *Anaplasma phagocytophilum*'un neden olduğu enfeksiyon insanlarda human granulositik ehrlichiosis/anaplasmosis, hayvanlarda kene kaynaklı ateş (tick borne fever/ TBF), sığırlarda ise ayrıca mera humması (pasture fever) olarak adlandırılmaktadır (Ataş ve ark 2016).

Zhan ve ark (2010) yaptıkları bir çalışmada kenelerin dışında, küçük kemirgenlerden de *A. phagocytophilum* etkenlerini izole ederek hastalıkta vektör rolü alabildiklerini belirtmişlerdir. *Anaplasma phagocytophilum* İngiltere'de yabani ruminantlardan; yabani keçi, kırmızı ve alageyik ile karacalarda da tespit edilmiştir. Ayrıca Norveç, Slovenya, İsviçre ve Avusturya'da kahverengi geyik, karaca ve dağ keçisi gibi çeşitli cervidlerde de tespit edilmiştir (Woldehiwet 2010).

Türkiye'de ise *A. phagocytophilum* 2005 yılına kadar bildirilmemiştir (Ünver ve ark 2005). Türkiye'de 2005 yılından günümüze kadar *A. phagocytophilum*'un küçük ruminantlardaki prevalansını belirlemek için yapılan çalışmalarda etkenler

mikroskopik yöntemle %9,86 (Gökçe ve ark 2008); serolojik yöntemlerle %14,86-21,3 (Ünver ve ark 2005; Gökçe ve ark 2008, Ekici 2016) ve moleküler yöntemlerle %1,56-66,7 (Gökçe ve ark 2008, Altay ve ark 2014; Ataş ve ark 2016, Öter ve ark 2016, Bilgiç ve ark 2017, Sevinç ve ark 2018, Benedicto ve ark 2020, Ceylan ve ark 2021a) oranında tespit edilmiştir.

Hastalık, yüksek ateş, rickettsemi (enfekte nötrofiller), nötropeni, düşük süt verimi ve bağışık olmayan gebe hayvanlarda abort ile karakterizedir. Kene kaynaklı ateş hastalığının (TBF) bağışıklık sistemi üzerinde olumsuz etkisi belirtilmiş ve hastalıklara duyarlılığı arttırdığı bildirilmiştir (Garcia-Perez ve ark 2003).

Koyun çiftliklerinde önemli ekonomik kayıpların nedenlerinden biri abortlardır. Etiyoloji çeşitlidir ve aborta neden olan ajanların çoğu zoonotik etkili patojenlerdir. Bu etkenlerden olan *A. phagocytophilum* (*Ehrlichia phagocytophila*), Avrupa'daki birçok ülkede de yerli ruminantlarda granülositlere ve monositlere yerleşerek kene kaynaklı ateşe neden olmaktadır (Atıf 2016). İspanya'da yapılan bir çalışmada koyunlarda görülen abortlar sonrası toplanan örneklerde birçok etiyolojik abort ajanı araştırılmış ve *Toxoplasma* ve Border disease virüs ardından bir diğer abort etkeninin *A. phagocytophilum* olduğu bildirilmiştir (%16) (Garcia-Perez ve ark 2003).

1.4.3. *Anaplasma platys*

İlk olarak Amerika'da 1978 yılında trombositleri enfekte eden ehrlichial bir mikroorganizma olarak tanımlanan; köpeklerde siklik trombositopeninin nedeni olan *Anaplasma platys* (*Ehrlichia platys*), trombositleri enfekte ettiği bilinen, sınıflandırılmış, tek riketsiyal etkindir (Dumler ve ark 2001). Köpekler dışında, bu patojenin kedileri ve sığır, keçi, deve, manda, kızıl geyik gibi geviş getiren bazı hayvanları enfekte ettiği bildirilmiştir (Dumler ve ark 2001). Bununla birlikte, Sardunya'da (İtalya) *A. platys* benzeri suşlar sığır, koyun ve keçilerin nötrofillerinde ve kedi trombositlerinde tanımlanmıştır. Ayrıca *A. platys* benzeri gen dizileri develerden izole edilmiştir (Ben Said ve ark 2017).

Anaplasma platys, özellikle İtalya, İspanya, Portekiz, Fransa, Türkiye, Yunanistan, Hırvatistan ve Romanya dahil olmak üzere Akdeniz havzasındaki ülkelerdeki köpeklerde teşhis edilmiştir. Avrupa'daki köpeklerde *A. platys* enfeksiyonlarının moleküler prevalansına ilişkin bilgiler sınırlıdır (Sainz ve ark 2015)

Anaplasma platys etkenleri Amerika'da bir ailede ve Venezüella'da iki kadında tespit edilmiştir (Sainz ve ark 2015).

Anaplasma platys'in inkübasyon süresi, *A. phagocytophilum* etkenlerinin inkübasyon süresi ile benzerdir (1 ila 2 hafta). Enfekte hayvanlarda klinik olarak, inkübasyon periyodundan sonra, her 1-2 haftada bir döngüsel olarak ortaya çıkan ve kaybolan trombositopeni ve ateş gözlenmektedir. *Anaplasma platys* ile enfekte köpekler genellikle asemptomatiktir. *A. platys*'in neden olduğu anaplasmosis vakalarında kilo kaybı, halsizlik, apati, iştahsızlık, ateş, nörolojik semptomlar ve artrit görülmektedir. Genellikle anemi ve lökopeni ile ilişkili trombositopeni, en sık görülen laboratuvar bulgusudur (Dumler ve ark 2005, Dantas-Torres ve Otranto 2017).

Anaplasma platys enfeksiyonları tetrasiklinlerle tedavi edilmektedir (örn., Doksisisiklin 5-10 mg / kg 12-24 saat 8-10 gün). Alternatif olarak, 14-21 gün boyunca 5 mg / kg, enrofloksasin kullanılabilir (Sainz ve ark 2015).

1.4.4. *Anaplasma marginale*

Anaplasma marginale, gelişmiş omurgalıların eritrositleri içinde ve eritrositlerin çeperine yakın yerleşim gösteren, çoğunlukla geniş getiren hayvanlarda parazitlenen zorunlu hücre içi etkidir. Hastalık başlıca tropikal veya subtropikal bölgelerde görülmesine rağmen, bu etkenler dünyanın diğer bölgelerinde, örneğin; Avrupa (Sicilya, Macaristan ve İspanya), Avustralya, Güney Afrika'da da görülmektedirler. Etkenler; buzağı, manda, bizon, Afrika antilopları ve katır geyikleri gibi evcil ve vahşi ruminantlarda sığır anaplasmozuna neden olmaktadır (Rymaszewska ve Grenda 2008). *Anaplasma marginale*, sığır endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Anaplasmosisin patogenezi hakkındaki tartışmaların çoğu bu organizma hakkındadır. *Anaplasma marginale* etkenlerine vektörlük yapan 20 kene türü mevcut olmasına rağmen, İxodid keneler sığırlardaki ana vektörlerdir ve *Dermacentor variabilis*, *D. andersoni* ve *D. albipictus* dahil *Dermacentor* türleri Amerika Birleşik Devletleri'ndeki başlıca vektörlerdir. Güney Afrika'da *Anaplasma* etkenlerine vektörlük yaptığı bildirilen en önemli tür *Boophilus decoloratus*; vektörlük yapan diğer kene türleri ise *Rh. microplus*, *Rh. simus*, *Rh. eversti eversti* ve *Hy. marginatum rufipes*'tir. Avustralya'da yalnızca *Rh. microplus* türü keneler sığır anaplasmosisinin vektörü olarak kabul edilmiştir. Anaplasmosis

kan emen sinekler ile mekanik yolla ve intrauterin yolla da bulaşabilmektedir (Waner ve ark 2010).

Anaplasma etkenleri muhtemelen babesiosis veya kırmızı su hastalığının ortaya çıkmasından (1870) önce Güney Afrika'da uzun yıllar görülmüş fakat ilk yıllarda kırmızı su hastalığı (daha sonra *Babesia bigemina*'nın sebep olduğu tespit edilmiştir) ile karıştırılmıştır. Sir Arnold Theiler tarafından yapılan deneysel birçok çalışma sonucunda 1910 yılında sığır eritrositlerinin kenar ve ortalarında görülen etkenlerin *A. centrale* ve *A. marginale* olduğu kayıtlara geçmiştir (Brown 2012, Jalali ve ark 2013).

Enfekte hayvanlarda, kırmızı kan hücrelerinin %4-8'inde etkenler gözlenmektedir (Rymaszewska ve Grenda 2008). Hastalığın kuluçka süresi enfeksiyonun derecesine bağlıdır ve 7 ila 60 gün arasında, ortalama olarak 28 gün sürebilmektedir. Bu süre zarfında enfekte kan hücrelerinin sayısı artarak, hastalığın akut fazında %70 veya daha fazla eritrosit enfekte olabilmektedir (Kocan ve ark 2003, Kocan ve ark 2004). Enfeksiyon esnasında, sığır eritrositleri retiküloendotelyal hücreler tarafından fagositte uğrayarak hemoglobinemi ve hemoglobüri olmaksızın anemi ve ikterusa neden olmaktadır. Ayrıca, hastalığa yakalanan hayvanlarda klinik olarak ateş, iştahsızlık, kilo kaybı, solunum yetmezliği, dehidrasyon, abort ve letarji görülmektedir (Kocan ve ark 2003, Kocan ve ark 2010, Rar ve Golovljova 2011). *Anaplasma marginale* enfeksiyonlarına karşı buzağılar yetişkinlere göre çok daha dirençli olduğundan hastalığın şiddeti yaşla birlikte artmaktadır. Bu nedenle hastalığa yakalanan ve tedavi edilmeyen iki yaşından büyük hayvanlarda ölüm görülebilmektedir. Hastalığın akut evresini atlatan buzağılar, az oranda rikettsiyel etkenle kalıcı olarak enfekte olmakta veya *A. marginale* taşıyıcısı olmaktadır. Bu nedenle her iki koşulda da etkenler için rezervuar görevi görmektedirler (Kocan ve ark 2003, Rar ve Golovljova 2011). *Anaplasma marginale* sığırlarda ciddi hastalık tabloları oluştururken, koyun ve keçilere inoküle edildiğinde klinik hastalık tablosu oluşturmada parazitemiye neden olduğu bildirilmiştir (Shompole ve ark 1989).

Dünya çapında yapılan çalışmalarda *A. marginale*'nin hayvancılık ekonomisine ciddi boyutlarda zarar verdiği bildirilmiştir (de la Fuente ve ark 2005, de la Fuente ve ark 2006, Naranjo ve ark 2006, Hornok ve ark 2007). 2013 yılında İran'ın güneybatısında bulunan Ahvaz'ın çeşitli bölgelerinden *Anaplasma*

etkenlerinin teşhisi için 112 koyundan kan toplanmış, toplanan kanlara PCR-RFLP (Polimerase Chain Reaction-Restriksiyon Fragment Length Polymorphism/Polimeraz Zincir Reaksiyonu Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) tekniğiyle MSP4 genlerine bakılarak hangi tür *Anaplasma* etkenini taşıdıkları belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda koyunların neredeyse hepsinde *Anaplasma* etkenlerine rastlanmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonunda (Polimerase Chain Reaction-PCR) pozitif sonuç veren koyunların *A. ovis* ve *A. marginale* ile enfekte olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma *A. ovis* ve *A. marginale*'nin yüksek oranda ve aynı anda görüldüğü; İran'da bildirilen ilk çalışma olarak kaydedilmiştir (Jalali ve ark 2013).

1.4.5. *Anaplasma centrale*

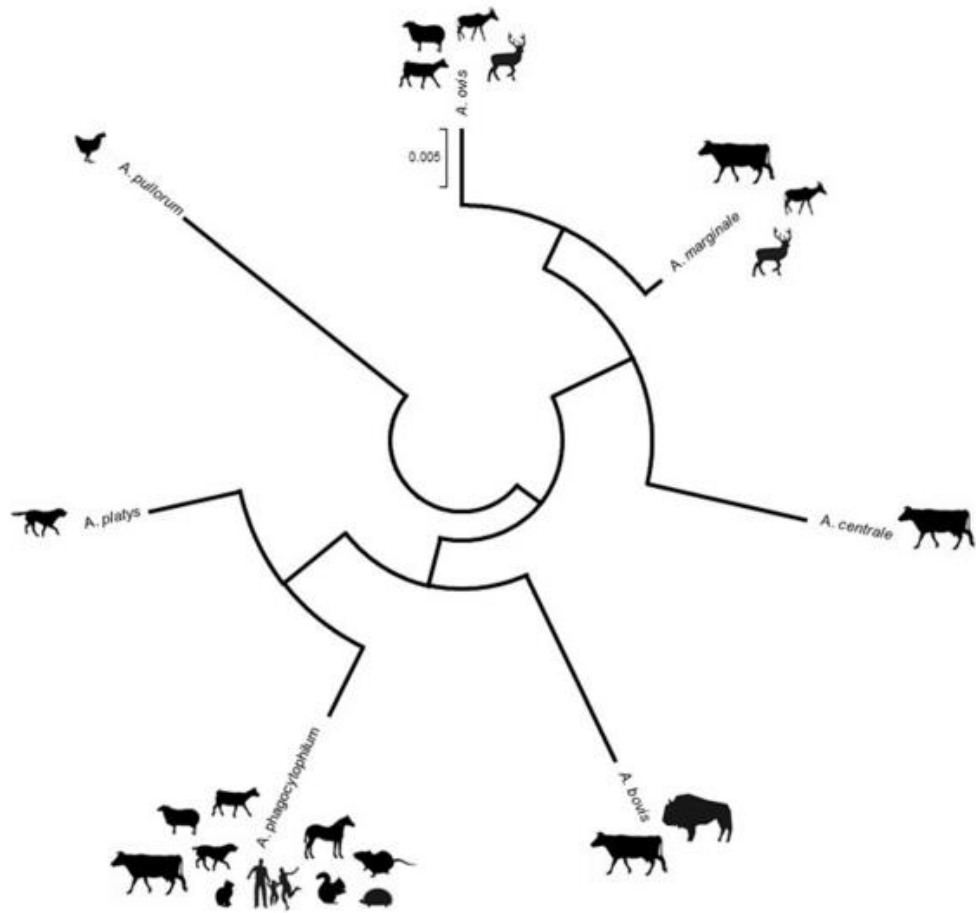
Anaplasma centrale, ruminantların, özellikle de sığırların eritrositlerinde bulunan rickettsial bir etkidir. *Anaplasma centrale* 1912 yılında Theiler tarafından *A. marginale*'nin bir varyantı olarak tanımlanmıştır. O zamandan beri sığırlarda *A. marginale*'ye karşı immün yanıt oluşturmak için *A. centrale* etkenleri kullanılmaktadır (Shompole ve ark 1989). *Anaplasma marginale*'nin aksine, hücrenin orta bölümünde yerleşim göstermektedir. Yerleşim yerlerindeki ve virulanslarındaki farklılıklara rağmen, *A. centrale* ve *A. marginale* etkenleri yakından ilişkilidir. *Anaplasma centrale*, sığır enfeksiyonlarında hafif aneminin sebebi olarak bildirilmiştir. Theiler'e göre, *A. centrale* sığırlar için *A. marginale*'den daha az patojendir, fakat *A. centrale*'den kaynaklanan enfeksiyonlar hayvanlara *A. marginale*'den kaynaklanan anaplasmosise karşı direnç kazandırmaktadır. Bu nedenle *A. centrale* sığır anaplasmosisine karşı immünolojik koruma sağlayan canlı aşı suşlarının hazırlanması için kullanılmaktadır. Bu aşılar Afrika, Avustralya, Latin Amerika ve İsrail'de üretilmektedir (Kocan ve ark 2003, Rymaszewska ve Grenda 2008).

1.4.6. *Anaplasma capra*

Kuzey Çin'de (2015) keçi ve *Ixodes ricinus* türü kenelerden elde edilen ve geçici olarak "*Anaplasma capra*" adıyla adlandırılan *Anaplasma* etkenleri saptanmıştır. Bu organizmalar insan patojeni olarak kabul edilmiş ve diğer *Anaplasma* türlerinden filogenetik açıdan farklı oldukları bildirilmiştir. Çin'in kuzeydoğusunda bulunan Heilongjiang Eyaletinde, *A. capra*'nın neden olduğu 28 olgu bildirilmiş ve bu patojenin 3 hastadan izole edildiği kayıtlara geçmiştir.

Anaplasma capra'nın neden olduğu enfeksiyonun ateş, baş ağrısı, halsizlik, ciltte döküntü, eskar oluşumu ve titreme gibi spesifik olmayan, diğerk kene kaynaklı hastalıkların semptomlarıyla benzer bir tablo oluşturduğu bildirilmiştir (Li ve ark 2015). *Anaplasma capra*, kuzeydoğu Çin'de keçilerde (*Capra aegagrus hircus*) ilk olarak tanımlanmış olsa da *A. capra*'nın 16S rRNA dizileri daha önce güney ve güneybatıdan gelen keçilerde de tespit edilmiştir (Zhou ve ark 2010, Liu ve ark 2012). Yapılan diğerk bir çalışmada ise geyiklerin ve Japonya'dan gelen serçelerin Çin'e ve diğerk birçok bölgeye *A. capra* etkenlerinin yayılmasına neden olabileceğı belirtilmiştir (Sato ve ark 2009, Yang ve ark 2016). Türkiye'de *A. capra*'nın varlığı ilk olarak Altay ve ark (2022) tarafından Sivas ilinde bildirilmiştir. Çalışmada evcil ruminantlarda (sığır, koyun, keçi) nested PCR metodu kullanılarak *A. capra*'nın varlığı araştırılmış; çalışma sonunda 1 sığır (%0,41) ve 5 koyunda (%3,22) etkenler tespit edilmiştir.

İnsan ve kanatlı dahil birçok canlıyı enfekte eden anaplasmosis etkenlerinin türlere göre 16S rRNA dizisine dayanan filogenetik ağacı Şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1: 16S rRNA dizisine dayanan *Anaplasma* cinsinin filogenetik ağacı (Filogenetik analiz, MEGA version 7 kullanılarak Minimum Evrim (ME) yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Ölçek çubuğu, dizideki konum başına 0.005 nükleotidlik bir evrimsel mesafeyi göstermektedir. Şekilde her *Anaplasma* türü için ana konaklar gösterilmektedir) (Battilani ve ark 2017)

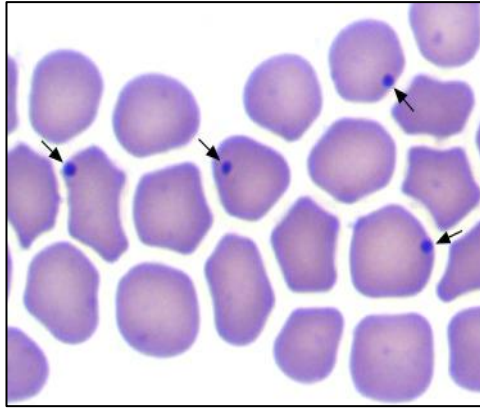
1.5. *Anaplasma* türlerinin morfolojik yapısı

Anaplasma türleri omurgalı konak hücrelerinin stoplazmik vakuollerinde membranla çevrili bir şekilde gelişmektedir. Eritrositlerde bulunan türler (*A. marginale*-eritrositin kenarında-, *A. centrale*-eritrositin ortasında-, *A. ovis* ve *A. caudatum*-eritrosit içinde) dağınık-küçük koyu noktalar şeklinde görünürken; granülosit (*A. phagocytophilum*, *A. bovis*) ve trombositlerde (*A. platys*) bulunan türler çok sayıda organizma içeren yoğun veya gevşek yapıli inklüzyonlar şeklinde görünmektedirler (Şekil 2) (Dumler ve ark 2005). Mikroskopik bakı sırasında

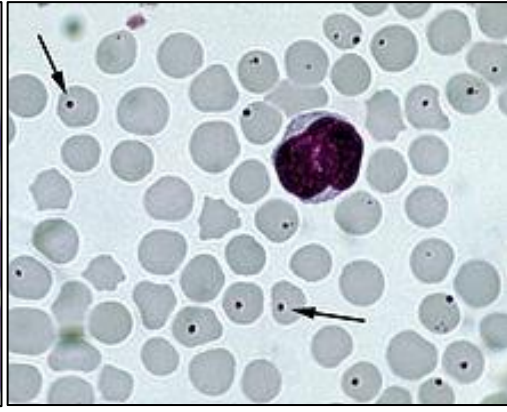
Anaplasma etkenleri eritrositlerdeki artefaklardan, Howell Jolly cisimciklerinden ve retikülositlerdeki basofillerin noktalarından ayırt edilmelidir (Wall 2000).

Anaplasma etkenleri giemsa ile boyalı sürme kan frotilerinde eritrosit içinde düzensiz şekilli, küresel yapıda koyu mor renge boyanmış granüller şeklinde görünmektedirler. Mikroorganizmaların (inklüzyon cisimleri) çapı yaklaşık 0,4 ile 0,8 µm arasında değişmekte, ortalama 0,5 µm olarak ölçülmektedir. Mikroskopik bakıda *A. ovis* etkenleri, *A. marginale* etkenlerinden ayırt edilememektedir. Yapılan çalışmalarda eritrosit içindeki inklüzyon cisimleri %90 oranında kenarlara yerleşmişse etkenlerin *A. marginale* olduğu ve *A. ovis*'ten istatistiksel olarak belirgin bir farkla ayrıldığı bildirilmiştir (Stoltz 2004).





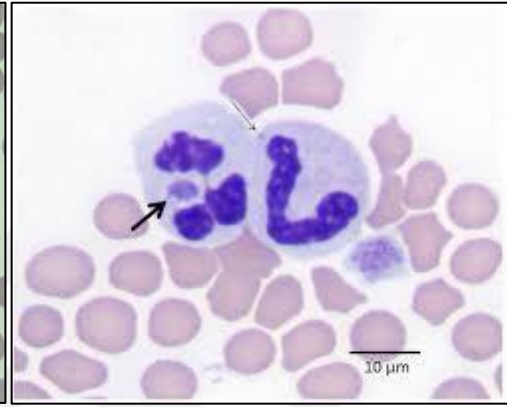
Anaplasma marginale (Kocan ve ark 2010)



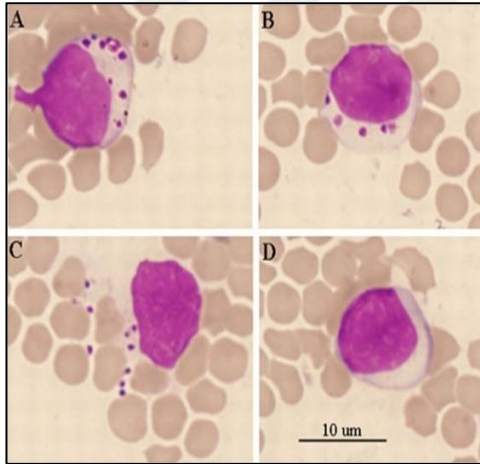
Anaplasma centrale (<https://en.wikipedia.org/wiki/Anaplasma>)



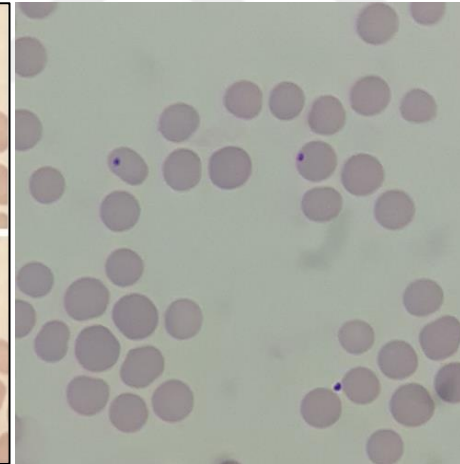
Anaplasma platys (Dyachenco ve ark 2012)



Anaplasma phagocytophilum (<https://tr.pinterest.com/pin/545850417325055796>)



Anaplasma bovis (Liu ve ark 2012)



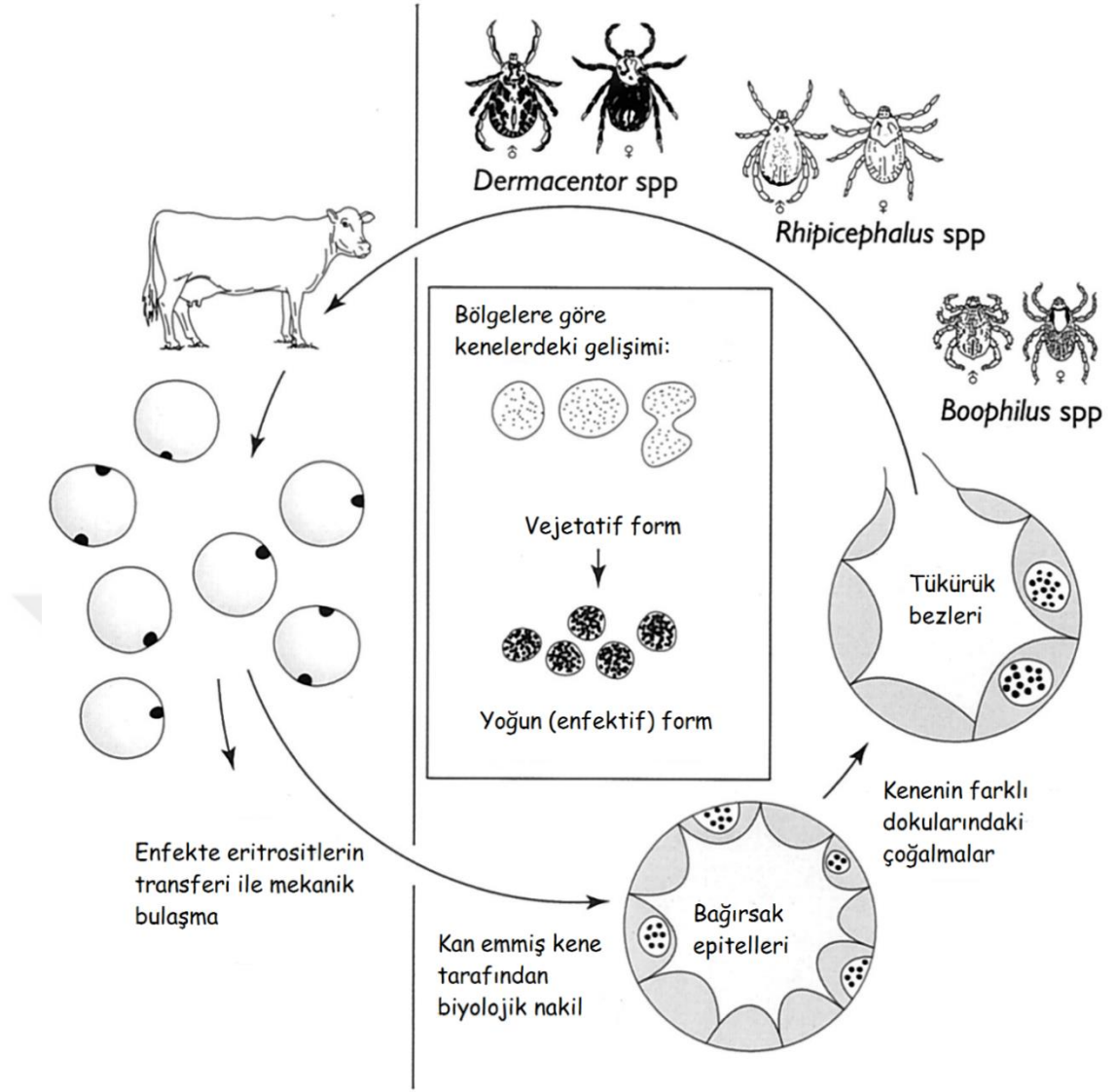
Anaplasma ovis (Orijinal)

Şekil 2. *Anaplasma* etkenlerinin morfolojisi ve hücre içinde yerleşimi.

1.6. *Anaplasma* etkenlerinin biyolojisi ve vektörlerde gelişimi

Anaplasma etkenlerinin yaşam çemberleri vektör keneleri ve omurgalı konağı içeren bir gelişim evresini içermektedir (Şekil 3). *Anaplasma* türleri keneler (*Dermacentor*, *Amblyomma*, *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Hyalomma* ve *Ornithodoros* türleri) ile biyolojik olarak nakledilirler. Etkenler ixodid keneler arasında transstadial

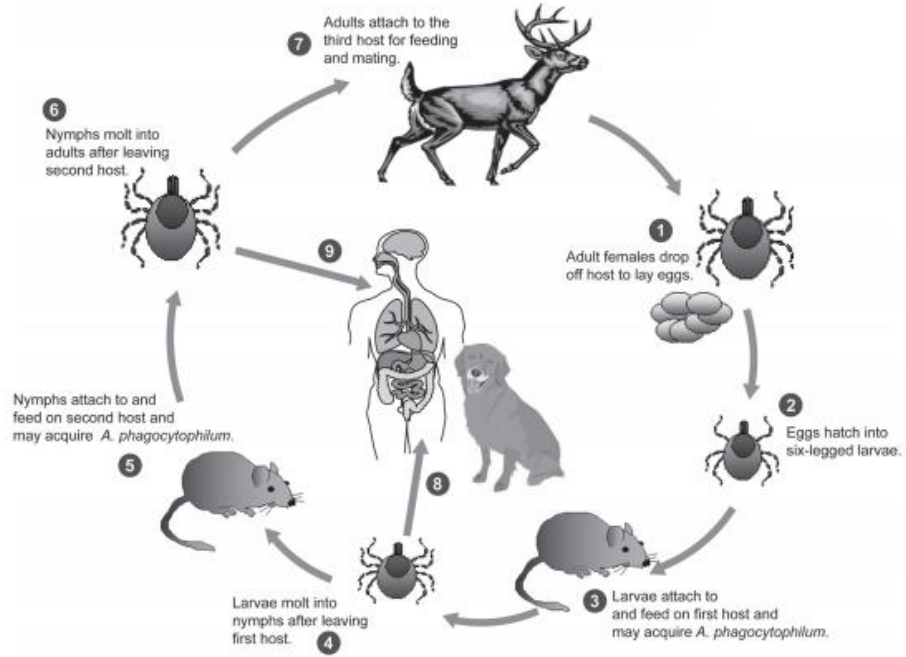
olarak (larvadan nimfe, nimften yetişkine) aktarılırken, transovarial (yumurtalarla yavrulara) olarak aktarılmamaktadır (Dumler ve ark 2005, Rar ve Golovljova 2011, Dantas Torres ve Otranto 2017). Biyolojik nakil transstadial ve intrastadial nakil olarak iki şekilde görölmektedir. Transstadial nakilde kene bir gelişim döneminde aldığı etkeni diğerk gelişim döneminde konağına vermektedir. İntrastadial nakilde ise etkenler bir konaktan diğerk konağına aktarılmaktadır. *D. andersoni* (Stoltsz 2004) ve *Ixodes ricinus* (Hornok ve ark 2012) türü erkek keneler intrastadial nakilde rol oynamaktadır. *Anaplasma* etkenleri, yetişkin ve nimf evredeki keneler tarafından enfekte bir konaktan kan emmeleri sırasında alınmaktadır. Patojenler öncelikle kenenin orta mide epitellerine yerleşmekte ve burada birincil replikasyon gerçekleşerek etkenin vejetatif formu oluşmaktadır. Daha sonra bu formlar ikiye bölünmeyle çoğalarak geniş koloniler oluşturmaktadır. Daha sonra bu patojenler epitel hücrelerini istila etmek için tükrük bezlerine yerleşmekte, burada ikincil replikasyonu gerçekleştirmektedirler. Bu esnada oluşan formlar enfektif formlardır ve hücrenin dışında kısa bir süre canlı kalabilmektedir. Kene sonraki omurgalı konaktan beslenirken tükrük bezlerine yerleşen bu etkenleri tükrük salgılarıyla omurgalı konağına aktarmakta ve enfeksiyon döngüsünü sürdürmektedir (Rar ve Golovljova 2011). Bu etkenler omurgalı konakta persiste enfeksiyonlara neden olarak yaşam boyu enfeksiyon etkenlerinin rezervuarları olmalarına neden olmaktadır (Dumler ve ark 2005, Rodriguez 2009). *Anaplasma* türüne bağılı olarak etkenler omurgalı konak vücudunda kan hücrelerine (eritrositlere, monositlere, nötrofillere) yerleşirler (Yu Xue ve Walker 2006).



Şekil 3. *Anaplasma* türlerinin yaşam döngüsü (Kocan ve ark 2003).

Anaplasma etkenleri biyolojik nakil dışında ayrıca kan emen bazı sinekler (Tabanidler, *Stomoxys* spp.) ve birçok sivrisinek türü ile mekanik olarak da nakledilmektedirler. Macaristan’da 2011 yılında yapılan bir çalışmada koyun, keçi ve geyiklerden toplanan Hippoboscidae ailesinden sineklerin (*Melophagus ovinus* ve geyik sineği *Lipoptena cervi*) genetik olarak incelenmesinden sonra Hippoboscid sineklerin *A. ovis*’in rezervuarları olduğu bildirilmiştir (Hornok ve ark 2011). Macaristan’da yapılan başka bir çalışmada ise sığır, koyun, keçi ve domuzdan toplanan *Linognathus vituli*, *Haematopinus eurysternus* ve *Solenopotes capillatus* türü kan emici bitlerin tükürük bezi ve bağırsak epitellerinden yapılan PCR analizlerinde *A. ovis* ve *A. phagocytophilum* etkenlerine rastlanmıştır. Bu çalışma ile kan emici bitlerin de biyolojik veya mekanik vektör olabileceği belirtilmiştir

(Hornok ve ark 2010). *Anaplasma phagocytophilum*'un yaşam döngüsü Şekil 4'te verilmiştir. Kıbrıs'ta yapılan bir çalışmada kuşlarda *Anaplasma* etkenlerine rastlanmıştır. Kuşlar zoonotik patojenlerin taşıyıcıları olabileceğinden, insanlara bu patojenleri aktarabilecekleri bildirilmiş, fakat insanlara bulaşma tam olarak açıklanamamıştır (Ioannou ve ark 2009). Bulaşmada kontamine enjektör ve cerrahi malzemeler de rol oynamaktadır (Eren ve ark 2015). Zhang ve ark (2016) Çin'de PCR yöntemiyle koyun ve keçilerden alınan 120 süt numunesinin 12'sinde (3 koyun, 9 keçi) *A. ovis*, 1'inde (keçi) *A. bovis*, 1'inde (keçi) *A. phagocytophilum*, 1'inde ise hem *A. bovis* hem de *A. phagocytophilum* tespit etmişlerdir. Anne sütü ile etkenlerin yavruya aktarılıp aktarılamayacağı konusundaki çalışmalar devam etmektedir. Bulaşmada transplasental enfeksiyonun da önemi vardır. *Anaplasma marginale* ve *A. centrale* ile akut enfekte ineklerden doğan buzağılarda intrauterin bulaşma neticesinde enfeksiyonların görüldüğü bildirilmiştir (Sevinç 2004). Almanya'da bir buzağıda *A. phagocytophilum*'un konjenital yolla bulaştığı bildirilmiştir (Henniger ve ark 2013).



Şekil 4. *Anaplasma phagocytophilum*'un yaşam döngüsü (McQuiston ve Paddock 2012).

Jimenez ve ark (2019), *Anaplasma* etkenlerinin biyolojisini daha iyi anlamak için, *Anaplasma* etkenleri ile üç kuzuyu deneysel olarak enfekte etmiş; ikisi laktasyon dönemi olmak üzere üç yıl boyunca kuzuları gözlemlemişlerdir. Bu süre

boyunca kuzuların klinik ve hematolojik parametreleri analiz edilmiş; *A. ovis* etkenleri yönünden periyodik olarak giemsa ile boyalı preparatların mikroskopik muayenesi ve qPCR (quantitative PCR) testi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu süre zarfında *Anaplasma* türlerine karşı oluşan antikorların tespiti için periyodik olarak cELISA (competitive Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) testi yapılmıştır. Oluşturulan bu deneysel enfeksiyon ile *Anaplasma* etkenlerinin vertikal bulaşması, kolostrum yoluyla bağışıklığın durumu ve enfekte koyunlardan doğan kuzuların immun yanıtı tespit edilmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda; deneysel enfeksiyon oluşturulduktan sonraki 4. ve 8. günler arasında, qPCR testi ile üç hayvanda da *A. ovis* etkenlerinin moleküler olarak tespit edilmeye başlandığı bildirilmiştir. Bakteriyel yükün enfeksiyondan sonraki 36. günde artarak zirveye ulaştığı; *A. ovis*'e karşı oluşan antikorların ise deneysel enfeksiyondan 10 gün sonra tespit edildiği bildirilmiştir. Bu süre boyunca enfekte koyunlardan doğan kuzulardan alınan bütün kanların qPCR testi ile *Anaplasma* etkenleri yönünden negatif tespit edildiği belirtilerek vertikal bulaşma egale edilmiştir. Ancak enfekte koyunlardan alınan kolostruma uygulanan cELISA testi ile *A. ovis*'e karşı antikorların oluştuğu; bu koyunlardan doğan ve doğal yollarla emzirilen kuzularda da antikorların oluştuğu bildirilmiştir (Jimenez ve ark 2019).

1.7. Anaplasmosisin biyolojik ve mekanik naklinde görev alan vektörler

1.7.1. Vektör kenelerin biyolojisi

Keneler, hayvanlar aleminin Arthropoda anacı, Chelicerata anaç altı, Arachnida sınıfı, Acari sınıfı, Metastigmata dizisi Ixoxida takımında bulunurlar. Ixodida takımı Ixodidae, Argasidae ve Nuttalliellidae olmak üzere üç aileden oluşmaktadır (Aktaş 2015, Dik 2015). Nuttalliellidae, yalnızca bir türden oluşan, Güney Afrika ve Tanzanya'daki belirli alanlarla sınırlı bölgelerde görülen *Nuttalliella namaqua* türünü içeren monospesifik bir ailedir (Kasaija ve ark 2021). Argasidae ailesinde bulunan türler, kütiküllerinin yumuşak ve esnek yapıda olması nedeniyle yaygın olarak yumuşak keneler olarak adlandırılmaktadır. Bu ailede birçok tür bulunmaktadır ancak medikal ve veterinerlik alanlarında önem taşıyan türler *Argas*, *Ornithodoros* ve *Otobius* cinslerine aittir (Jongejan ve Uilenberg 1994). Ixodidae ailesinde bulunan türlerde ise erkek kenenin tüm sırt yüzeyini, dişi kenelerin ise sadece üçte birini kaplayan sert bir scutum tabakası olması nedeniyle

sert keneler olarak bilinmektedir. Bu aile, hayvancılık ekonomisine yaptığı zararlar açısından en önemli türler dahil, bilinen tüm kene türlerinin yaklaşık %78'ini oluşturmaktadır (Guglielmone ve ark 2010).

Türkiye'de Ixodidae ailesinden 44, Argasidae ailesinden 8 olmak üzere toplam 52 kene türü tespit edilmiştir. En önemli türler *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes*, *Rhipicephalus* (*Boophilus*), *Amblyomma*, *Argas*, *Otobius* ve *Ornithodoros* olmak üzere dokuz cinste yer almaktadır. *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes*, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) cinslerinde yer alan kene türleri Türkiye genelinde yaygın olarak yayılım göstermektedir. En yaygın türler *Rh. bursa*, *Rh. annulatus*, *Rh. sanguineus*, *Rh. turanicus*, *Hy. anatolicum*, *Hy. excavatum*, *Hy. marginatum*, *D. marginatus*, *D. niveus*, *Hae. parva*, *Hae. sulcata* ve *Hae. punctata*'dır (Şekil 5). Kenelerin mevsimsel dalgalanmaları cinslere göre değişmekle beraber; *Rhipicephalus* ve *Hyalomma* türleri ilkbahar, yaz ve sonbaharda, *Dermacentor*, *Hemaphysalis*, *Ixodes* ve *Ornithodoros* türleri ise sonbahar, kış ve ilkbaharda daha sık görülmektedir. Son yıllarda yapılan bir çalışmada yabani keçilerde (*Capra aegagrus*) *Haemaphysalis kopetdaghica* Kerbabaev, 1962 ve *Dermacentor raskemensis* Pomerantzev, 1946 isimli iki ixodid kene türünün de Türkiye'de ilk defa tespit edildiği bildirilmiştir (Aydın ve Bakırcı 2007, Ceylan ve ark 2021b, Orkun ve Vatansever 2021). Keskin ve Selçuk (2021)'un 99 vahşi memelinin kenelerini araştırdıkları bir çalışmada Türkiye'de daha önce bildirilmemiş bir kene türü olan *Ixodes trianguliceps* Birula tespit edilmiştir.



Şekil 5: *Anaplasma* etkenlerinin biyolojik naklinde görev alan bazı kene türleri (orijinal).

Ixodidae ailesinde bulunan kenelerin yaşam döngüleri, yumurta, larva, nimf ve erişkin olmak üzere dört evreden ibarettir. Ixodidae ailesinde bulunan kene türleri, larval dönemden yetişkin kene haline gelene kadar, yaşam döngüsünü tamamlamak için konak sayısına bağlı olarak, bir, iki veya üç konaklı keneler olarak sınıflandırılmaktadır (Aktaş 2015). Ixodidae ailesinde bulunan, ekonomik açıdan da önem taşıyan cinsler *Ixodes*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma* ve *Amblyomma*'dır. *Boophilus* spp., *Rhipicephalus decoloratus* ve *Rh. annulatus* gibi tek konaklı keneler, yaşam döngülerini (larva-nimf-erişkin) tamamlamak için tek bir konağa (sığır ve at gibi büyük hayvanlar) ihtiyaç duymaktadır. Bu evrimsel adaptasyon, kenelerin konak tarafından korunmasına ve çok zorlu koşullar altında dahi hayatta kalmasına yardımcı olmaktadır (Minjauw ve Mcleod 2003). İki konaklı kene türlerinde (*Rh. evertsi evertsi*) ise larvadan nimf dönemine geçiş sırasındaki gömlek değiştirme konak üzerinde, nimften ergin döneme geçiş sırasındaki gömlek değiştirme ise konak dışında, toprakta gerçekleşmektedir. Üç konaklı kenelerde ise gömlek değiştirmelerin tamamı yerde olmaktadır. Bu kene türleri yaşam döngülerinin bütün aşamalarını üç farklı konakta geçirmektedirler (Minjauw ve Mcleod 2003, Dik 2015, Kasaija ve ark 2021).

Ixodid keneler daha çok yaz aylarında ve özellikle de meraya çıkan hayvanlarda görülürler. *Rhipicephalus* türleri ilkbaharın sonlarına doğru görülmeye başlarken, *Hyalomma* türlerine yazın ortalarında rastlanmaktadır. Diğer taraftan *Dermacentor* ve *Haemaphysalis* türleri sonbahar ve kış aylarında da konakları üzerinde bulunabilmektedir (Dik 2015).

Kenelerde üreme genel olarak eşeyli üreme şeklindedir. Çiftleşme çoğunlukla kan emme sırasında konak üzerinde gerçekleşmektedir. Erkek keneler dişinin yumurta kanalına bir kese içerisinde sperm bırakmakta ve bu spermier dişinin üreme kanalına dağılarak olgunlaşmaktadır. Ardından spermier gelişmesini tamamlamış yumurtalara penetre olmaktadır. Çiftleşen ve doyan dişiler konağı terk etmektedir. Yumurtlama dişi kenenin doyduktan sonra konağı terk edip, yere düşmesiyle başlamaktadır. Dişi kenelerin yaşamları yumurtladıktan sonra sonlanmaktadır. Yumurta miktarı, kenenin beslenme durumu ve türüne göre 2 bin ile 20 bin arasında olabilmektedir. Yumurtadan çıkan larvalar 2-3 hafta içinde kitinizasyonunu tamamlayarak aktif olarak konak aramaya başlamaktadır (Aktaş 2015, Kasaija ve ark 2021).

Kenelerin beslenmesi diğer artropodlardan farklı olarak belli bir süreci gerektirmektedir. Öncelikle kan emeceği bölgeyi (evcil hayvanlarda karın, boyun altı, anal ve perianal bölge, scrotum, meme, kulak kepçesi, kuyruk çevresi) tükruk salgısı (antikoagulan maddeler, anti-inflamatörler, immunsupresifler, vasodilatörler, enzim ve enzim inhibitörleri, trombin inhibitörleri içeren) ile duyarsız hale getirdikten sonra chelicerleri ile deriyi keserek hipostomunu deriden içeri geçirmektedir. Daha sonra cement olarak adlandırılan yapışkan bir madde salgılayarak palplerini epidermis yüzeyine, hipostomu ise dermise yapıştırmaktadır. Hipostomun deriye geçirildiği bölgede, dermis içerisinde hem enzimatik hem de fiziksel doku parçalanmasına bağlı olarak bir çukurluk oluşmakta ve bu çukurluğa parçalanmış kılcal damarlar ile dokulardan sızan kan dolarak bir havuz (feeding-lesion) meydana getirmekte ve kene bu havuzdan kan emmektedir (Aktaş 2015, Kasaija ve ark 2021). Konağa tutunan kene doyuncaya kadar kan emmektedir. Erkek keneler, sadece üreme organlarının gelişmesi için kan emme ihtiyacı duymakta ve dolayısıyla dişilere göre daha az miktarda ve daha kısa süre kan emmektedirler (Aktaş 2015).

1.7.2. Vektör Tabanidae'lerin biyolojisi

Tabanidae ailesinde bulunan sinekler, diptera ailesindeki diğer türlere kıyasla en az çalışılmış olanlardır (Foil 1989). Tabanidae ailesinde yer alan birçok tür mevcuttur fakat *Tabanus*, *Chrysops* ve *Haematopota* cinleri insan ve hayvan sağlığı açısından önem taşımaktadır (Dik 2015).

Tabanidae ailesinde bulunan sineklerin dişileri sıcak mevsimlerde, günün en sıcak saatlerinde hayvanlardan ve insanlardan kan emmektedir. Dişiler yumurtlayabilmek için kan emmek zorunda iken erkek tabanidler bitki öz suları ile beslenmektedir. Dölllenmiş dişi sinek bir yumurtlamada 300-800 adet yumurtayı çoğunlukla su kenarlarında bulunan bitkilerin üzerine, bitki yapraklarına ve taşların altına bırakmaktadır. Bir hafta içinde yumurtalardan larvalar çıkmakta, larvalar 5-10 kez gömlek değiştirerek birkaç ay içinde pupa halini almaktadır. Pupalar oluştuktan 1-2 hafta sonra pupalardan erişkin sinekler çıkmaktadır. Biyolojik çemberleri uygun şartlarda 4-5 ayda tamamlanmaktadır (Dik 2015).

Tabanidae ailesindeki sinek türleri uzun zamandır *Anaplasma* etkenlerinin en önemli mekanik vektörleri olarak kabul edilmektedir (Ristic 1977). Geniş ağız yapıları ve beslenme biçimleri, diğer emici sineklere göre mekanik iletim için daha

fazla olanak sağlamaktadır. Birçok farklı Tabanidae türü, *A. marginale*'nin vektörü olarak kabul edilmiş, ancak tabanid sinek kaynaklı mekanik iletimin etkinliğini ölçmek için yeterli çalışma mevcut değildir (Scoles ve ark 2008).

Tabanidae ailesindeki sinekler atların enfeksiyöz anemi virusü, sığır lösemi virüsü, brucellosis, tularemi, anthrax gibi birçok viral ve bakteriyel etkenin; *Anaplasma* spp., *Trypanasoma* spp. gibi birçok protozoal etkenin; *Diroflaria* spp. ve *Loa Loa* gibi filarial patojenin bulaştırılmasında önemli rol oynamaktadır (Foil 1989).

Tabanidae ailesinde bulunan sinekler, *Stomoxys* spp. türleri ve kan emen birçok sivrisinek türü *Anaplasma* etkenlerinin mekanik olarak taşınmasında görev almaktadır (Hornok ve ark 2011).

Yapılan çalışmalarla tabanidlerin anaplasmosisin mekanik bulaşmasındaki rolü, hastalığın bulaşması için gereken ısırık sayısı ve sineklerin mekanik olarak enfektif kaldığı sürenin uzunluğu belirlenerek daha da netleştirilmiştir. Hawkins ve ark (1982)'nin yaptığı bir çalışmada anaplasmosisin akut enfekte buzağılardan dalakları alınmış buzağılara geçişinin 10'dan daha az tabanid ısırığı ile mümkün olduğu bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca bu sineklerin, akut enfekte buzağıdan kan emdikten sonra en az 2 saat boyunca mekanik olarak enfektif kaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu verilerle, anaplasmosisin mekanik bulaşmasında tabanidlerin etkisi daha iyi anlaşılmış ve nispeten kısa mesafeli engellerin, enfekte olan ve olmayan sürüler arasındaki bulaşmayı önlemek için yeterli olmayabileceği bildirilmiştir (Hawkins ve ark 1989).

1.8. *Anaplasma* etkenlerinin epidemiyolojisi

Anaplasmosis vektörlerle bulaşan enfeksiyöz bir hastalıktır. Hastalığa *Anaplasma* cinsinde bulunan çeşitli türler sebep olmaktadır. *Anaplasma* cinsinde bulunan türler konaklarında yerleştikleri hücrelere göre farklı enfeksiyonlara neden olmaktadır. *Anaplasma* türleri insanlar dahil olmak üzere geniş bir konak yelpazesine sahiptir ve dünya genelinde yayılım göstermektedir. *Anaplasma* cinsinde bulunan bazı türlerin zoonotik potansiyeli halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Karlsen ve ark 2020).

Türkiye'de tarımsal gayri safi milli hasılanın %30'unu oluşturan hayvancılık sektörüne katkı sağlayan ana kaynak küçükbaş hayvancılığıdır (Gürsoy 2006). *Anaplasma ovis* ve insan granülositik anaplasmosis etkeni *A. phagocytophilum* başta olmak üzere birçok *Anaplasma* türü, küçükbaş hayvan anaplasmosisine neden olmaktadır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda *A. ovis* ve *A. phagocytophilum* etkenlerinin küçük ruminant yetiştiriciliğinde kayıplara neden olduğu belirtilerek, etkenlerin dünya genelinde de yaygın olduğu bildirilmiştir (Benedicto ve ark 2020).

Kenelerle nakledilen hastalıkların bir bölgedeki varlığı ve yaygınlığı kene-konak-patojen etkileşiminin devamlılığına bağlıdır. Bu etkileşimler doğrultusunda, hastalıkların prevalansı ülkeler arasında, hatta aynı ülkenin farklı coğrafik bölgeleri arasında önemli değişiklikler göstermektedir (Ataş ve ark 2016).

Koyun ve keçilerde *A. ovis*'in prevalansı bölgeden bölgeye değişiklik göstermektedir. Kontrol tedbirlerinin yeterli olmaması, çiftlik hayvanlarının endemik olmayan bölgelerden endemik bölgelere nakledilmesi gibi sürü yönetimindeki hatalar hastalığın bölgesel prevalansını etkilemektedir. İmmün sistemin zayıflamasına neden olan bireysel ve çevresel faktörler hastalığın prevalansında ve ölüm oranında artışa neden olmaktadır. Duyarlı hayvanların endemik bölgelere ve hastalığı taşıyan kene popülasyonunun yoğun olduğu bölgelere taşınması ile ölüm oranları %50 ve üzerine çıkmaktadır (Stoltz 2004, Woldehiwet 2010, Dantas Torres ve Otranto 2017).

Anaplasma türleri dünyanın farklı bölgelerinden birçok yabani hayvanda da bildirilmiştir. İngiltere'de yabani ruminantlardan; yabani keçi, kırmızı ve alageyik ile karacalarda tespit edilmiştir (Woldehiwet 2010). Mikroorganizma ayrıca Norveç, Slovenya, İsviçre ve Avusturya'da kahverengi geyik, karaca ve dağ keçisi gibi çeşitli cervidlerde de tespit edilmiştir (Woldehiwet 2010). *Anaplasma phagocytophilum* neredeyse bütün Avrupa ülkelerinde memelilerde ve kenelerde PCR yöntemiyle tespit edilmiştir. *Anaplasma phagocytophilum*, Avrupa'daki birçok ülkede yerli ruminantlarda granülositlere ve monositlere yerleşerek kene kaynaklı ateşe neden olmaktadır (Garcia-Perez ve ark 2003). Enfeksiyon evcil ruminantların dışında kedi, köpek, at, Avrupa bizonu, yaban domuzu, kızıl tilki, eşek, küçük kemirgenler, mus geyiği, karaca, kızıl geyikte ve insanlarda tespit edilmiştir. Hastalığa karşı oluşturulan antikorlar tavşanda (*Lepus capensis*) ve Avrasya vaşağında (*Lynx lynx*) da tespit edilmiştir (Stuen 2007).

Jessup ve ark (1993) yaptıkları bir çalışmada, enfeksiyonun büyük boynuzlu koyunlarda (Big horn sheep) ve keçilerde ağır hastalık tablolarına neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca büyük boynuzlu koyun popülasyonlarının, diğer geviş getiren türlere hastalığı bulaştırmadan, hastalığın rezervuarları olarak kaldığı bildirilmiştir (Jessup ve ark 1993).

Türkiye'de küçükbaş hayvanlarda kene kaynaklı hastalıklarla ilgili çeşitli moleküler çalışmalar yapılmıştır. Ancak, bu çalışmaların çoğu coğrafik olarak yalnızca bir bölge veya il ile sınırlıdır. Aouadi ve ark (2017) ve Ringo ve ark (2018) yaptıkları çalışmalarda, daha büyük örneklem büyüklüğü ve daha geniş coğrafi alanları içeren çalışmaların, kene kaynaklı patojenlerin gerçek prevalansı ve ekonomik önemi hakkında daha derin bilgiler sağlayabileceğini belirtmiştir.

Koyun ve keçilerde görülen *Anaplasma* enfeksiyonları ile ilgili yapılan sınırlı sayıda çalışmaya göre, Türkiye'de koyun ve keçilerde *A. ovis* etkenlerinin prevalansı yüksek düzeyde tespit edilirken, *A. phagocytophilum* etkenlerinin prevalansı nispeten daha düşük oranda tespit edilmiştir (Aydın ve Dumanlı 2019). Türkiye'de küçük ruminantlarda yapılan çalışmalarda *A. ovis* ve *A. phagocytophilum*'un mikroskopik muayene, serolojik testler ve moleküler yöntemlerle tespit edildikleri oranlar Çizelge 1.8.1 'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.8.1. Türkiye’de Küçük ruminatlarda anaplasmosis etkenlerinin prevalans oranları

Anaplasma türü	Muayene yöntemi	Prevalans oranı (%)	Kaynak
Anaplasma ovis	MM	%0,2-10	Göksu 1967, Hoffman ve ark 1971, Güralp ve ark 1975, Özer ve ark 1993, Ekici 2016
	SY	%75,12	Ekici 2016
	MT	%18-67,06	Renneker ve ark 2013b, Altay ve ark 2014, Öter ve ark 2016, Bilgiç ve ark 2017, Zhou ve ark 2017, Aktaş ve Özübek 2018, Sevinç ve ark 2018, Benedicto ve ark 2020
Anaplasma phagocytophilum	MM	%0- 9,86	Gökçe ve ark 2008, Sevinç ve ark 2018
	SY	%14,86-21,3	Ünver ve ark 2005, Gökçe ve ark 2008, Ekici 2016
	MT	%0- 66,7	Gökçe ve ark 2008, Altay ve ark 2014, Öter ve ark 2016, Bilgiç ve ark 2017, Zhou ve ark 2017, Sevinç ve ark 2018, Benedicto ve ark 2020

MM: Mikroskobik muayene, SY: Serolojik yöntemler MT: Moleküler teknikler.

Avrupa ülkeleri ve dünya genelinde yapılan çalışmalarda *Anaplasma* etkenlerinin tespit edildiği hayvanlar, çalışmalarda etkenleri tespit etmek için kullanılan yöntemler ile elde edilen prevalans değerleri Çizelge 1.8.2 ve Çizelge 1.8.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.8.2: Avrupa ülkelerinde *Anaplasma* türlerinin çeşitli hayvan türlerine göre prevalansı (Ao- *A. ovis*, Ap- *A. phagocytophilum*) (Karlsen ve ark 2020)

Ülke	<i>Anaplasma</i> türü	Konak türü	Hayvan sayısı	Prevalans	Kaynak
Avusturya	Ap	Sığır	140081	3.60	Baumgartner ve ark 1992
Çek Cumhuriyeti	Ap	Sığır	55	5.45	Derdáková ve ark 2011 Hulínska ve ark 2004 Praskova ve ark 2011
		Koyun	109	1.09	
		At	40	5.00	
			96	73	
Macaristan	Ap	Köpek	1305	7.90	Farkas ve ark 2014 Hornok ve ark 2018
		Alageyik	33	72.70	
		Kızıl geyik	48	97.90	
		Karaca	65	60.00	
		Yaban koyunu	16	6.30	
		Yaban domuzu	17	39.20	
Almanya	Ap	Köpek	111	43.20	Jensen ve ark 2007 Kohn ve ark 2011
			522	43.00	
İtalya	Ap	At	20	15.00	Alberti ve ark 2005 Ebani ve ark 2008 Ebani ve ark 2015 Ebani 2019
			135	17.03	
			160	25.62	
			479	15.03	
		Alageyik	67	46.26	
		Kızıl geyik	52	46.15	
		Sığır	137	16.78	
		Koyun	102	12.74	
		Keçi	72	4.16	
		Mus geyiği	111	70.00	
Norveç	Ap	Kızıl geyik	141	94.00	Razanske ve ark 2019
			37	81.10	
		Karaca	28	82.00	Stigum ve ark 2019
			104	88.10	
Polonya	Ap	At	76	1.3	Slivinska ve ark 2016
Slovakia	Ap	Koyun	202	16.16	Derdáková ve ark 2011
	Ao	Koyun	202	32.67	
		Keçi	12	58.30	
İspanya	Ap	Sığır	456	3.07	Ammustagui ve ark 2006
		Koyun	389	0.51	
		Keçi	207	0.48	
		At	46	6.52	
İsviçre	Ap	Koyun	20	45.00	Grandi ve ark 2018

Çizelge 1.8.3. Dünya genelinde seçilmiş bazı ülkelerde *Anaplasma* türlerinin çeşitli hayvan türlerine göre prevalansı (AB-A. *bovis*; AC-A. *centrale*; ACa-A. *capra*; AM-A. *marginalis*; AO- A. *ovis*; AP- A. *phagocytophilum*; ASp-A. spp.) (Karlsen ve ark 2020)

Ülke	<i>Anaplasma</i> türü	Konak türü	Hayvan sayısı	Prevalans	Kaynak
Brezilya	Ap	At	98	17.40	dos Santos ve ark 2019
			91	12.00	Nogueira ve ark 2017
			97	11.34	Rolim ve ark 2015
			20	65.00	Salvagni ve ark 2009
Çin	Ab	Köpek	243	4.10	Cui ve ark 2017 Peng ve ark 2018 Yang ve ark 2013 Yang ve ark 2018
		Koyun	435	24.40	
	Aca	Koyun	435	18.20	
		Koyun	1453	8.90	
		Keçi	943	9.40	
	Ao	Köpek	243	6.20	
		Koyun	435	5.70	
	Ap	Koyun	49	42.90	
		Keçi	91	38.50	
		Tibet sığırı	158	32.30	
		Tibet sığırı	20	35.00	
		Köpek	243	0.40	
		Koyun	435	28.00	
İran	Ab	Sığır	150	2.66	Noaman ve Shayan 2010
	Am, Ao	Koyun+Keçi	370	27.50	Yousefi ve ark 2017
Kanada	Ap	Köpek	86251	0.19	Schvartz ve ark 2015
		At	376	0.53	Villeneuve ve ark 2011
Malezya	Am	Sığır	1045	72.60	Ola-Fadunsin ve ark 2018
	Asp	Köpek	1706	9.90	
Meksika	Ap	Ak kuyruklu geyik	25	20.00	Movilla ve ark 2016
		Kızıl Kariyaku	4	50.00	Ojeda-Chi ve ark 2019
Moğolistan	Ao	Koyun	1179	69.00	Enkhataivan ve ark 2019
		Keçi	871	71.30	
Nikaragua	Asp	Köpek	329	28.60	Springer ve ark 2018
Nijer	Ao	Koyun	33	69.70	Dahmani ve ark 2017
Güney Kore	Ap	Kedi	33	18.20	Chae ve ark 2009 Seo ve ark 2018
		At	92	2.20	
		Sığır	129	0.80	
	Aca	Sığır	1219	1.00	
Tunis	Am	Sığır	232	25.40	Belkahia ve ark 2015 M'ghirbi ve ark 2016
			328	24.70	
	Ac		232	15.10	
	Ab		232	3.90	
Türkiye	Ao	Koyun+Keçi	343	60.00	Zhou ve ark 2017
		Koyun+Keçi	416	20,3-15,00	Aktaş ve Özübek 2017
Amerika Birleşik Devletleri	Ap	Küçük memeliler	2121	15.24	Foley ve ark 2008 Galemore ve ark 2018 Yabsley ve ark 2006
		Tavşan	41	7.32	
	Ab	Kedi	175	9.70	
	Am	Tavşan	41	36.58	
		Sığır	247	21.86	

Anaplasma etkenleri dünya çapında yaygın görülen riketsiyal etkenlerdir. Kene hareketlerini etkileyen küresel ısınma nedeniyle gelecekte *Anaplasma* etkenlerinin dünyanın daha birçok bölgesinden bildirilmesi öngörülmektedir (Kocan ve ark 2010).

1.9. Anaplasmosis'in klinik bulguları ve patogenezi

Kenelerle nakledilen patojenler, tüm dünyada yaygın olup evcil ve yabani hayvanlarda klinik ve subklinik enfeksiyonlar oluşturarak verim kayıplarına ve ölüme neden olmaktadır. Anaplasmosiste bazı klinik ve laboratuvar bulguları farklı hayvan türlerinde de görülebilmektedir. Örneğin anemi ve trombositopeni, hayvan türünden bağımsız olarak anaplasmosiste sıklıkla rapor edilmektedir (Dumler ve ark 2005, Dantas-Torres ve Otranto 2017).

Anaplasma phagocytophilum ruminant, at, kemirgenler, köpek ve insanların kanındaki granülosit hücrelerinin sitoplasmasına ve endotel hücrelerine yerleşmektedir. Köpeklerde *A. phagocytophilum*'un neden olduğu anaplasmosiste gözlenen başlıca klinik bulgular artrit, letarji, ateş, splenomegali, lenf yumrularının büyümesi, iştahsızlık, kusma ve kilo kaybıdır. *Anaplasma phagocytophilum*'dan kaynaklanan anaplasmosis olguları sığır ve koyunlarda hafif seyrederken, kuzuların stafilokok enfeksiyonu ve louping ill virüsü enfeksiyona duyarlılığı arttırmaktadır. Sığırlarda ölüm oranı düşük olmakla birlikte, gebe inekler *A. phagocytophilum* etkenleri ile enfekte olduğunda abortlar enfeksiyonla ilişkilendirilmektedir (Stoltz 2004, 2020).

Koyunlarda, *A. phagocytophilum* enfeksiyonu, iki haftaya kadar süren yüksek bir ateş ve hem granülositleri hem de lenfositleri içeren bir lökopeni ile sonuçlanmaktadır. Laboratuvar bulguları trombositopeni, lökopeni, anemi ve hiperproteinemiye içermektedir. Hipoalbüminemi gibi diğer bulgular da mevcut olabilmektedir. Enfekte hayvanlarda immün sistemin baskılanmasıyla oluşan *Staphylococcus aureus* aracılı kene pyemisi, pastörelloz ve septisemik listeriosis gibi ikincil enfeksiyonlar yaygın olarak görülmektedir. Koyunlarda, *A. phagocytophilum* ile enfekte hayvanlarda görülen TBF hastalığı immün sistemle alakalı bir hastalık değildir, ancak immün sistemin baskılanmasıyla açığa çıkmaktadır. Koyunlar, *A. phagocytophilum* etkenleri ile enfekte olduklarında yaşamları boyunca hastalığın

taşıyıcısı olarak kalmakta ve enzootik bölgelerde önemli bir enfeksiyon kaynağı oluşturmaktadır (Brown 2012, Dantas-Torres ve Otranto 2017).

Koyun ve keçilerde *A. ovis* enfeksiyonu genellikle subklinik veya hafif seyretmekte, ancak bazen ciddi klinik hastalık tabloları şekillenmekte ve sonucunda mortalite görülebilmektedir. Hastalıktan dolayı gerçekleşen ölüm oranı nadiren yüksek bildirilmekte ve bunun sebebi olarak diğer hemoparazitlerle eşzamanlı enfeksiyonlar gösterilmektedir. Keçilerde *A. ovis*'ten kaynaklanan anaplasmosisin patojenitesinin koyunlardan daha yüksek olması nedeniyle, keçilerde klinik semptomlar daha şiddetli gözlenmektedir. Sığırlarda *A. ovis*'ten kaynaklanan enfeksiyonlarda genellikle klinik belirtiler gözlenmemektedir (Stoltsz 2004, Stuen 2020).

Anaplasma ovis'ten kaynaklanan anaplasmosiste akut enfeksiyonda, ateş, halsizlik, anemi, mukoz membranlarda solgunluk, düşük süt üretimi, kilo kaybı, sarılık, abort ve sıklıkla ölüm görülmektedir (Kocan ve ark 2003). Koyun ve keçinin hayvancılığın ana unsuru olduğu, sınırlı kaynaklara sahip ülkelerde klinik hastalık tabloları büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Atıf 2016). Klinik belirtiler hayvanın yaşına, ırkına ve sağlık durumuna göre değişkenlik göstermektedir. Hastalıktan kurtulan hayvanlar ömür boyu taşıyıcı olarak kalmaktadır. Latent enfeksiyonlarda kuzularda düşük ağırlık artışı (>%14) görülmektedir Splenektomi, mevcut enfeksiyonlar, yetersiz beslenme ve gebelik hayvanları anaplasmosise daha duyarlı hale getirmektedir (Atıf 2016).

Hastalığın klinik ve patent süresi yaklaşık bir veya iki hafta sürmektedir. Bu fazda hayatta kalan hayvanlarda, retikülositoz, anizositoz, polikromatofili, olgunlaşmamış eritrositlerin bazofilik çekirdekleri ve Howell-Jolly cisimlerinin varlığı ile karakterize, artan eritropoez ile iyileşme başlar. İyileşme genellikle yavaştır ve birkaç haftadan birkaç aya kadar sürebilir. Bu süre zarfında hematolojik ve klinik belirtiler yavaş yavaş normale dönmektedir (Stoltsz 2004).

1.10. Anaplasmosis'in teşhisi ve ayırıcı tanısı

Koyun ve keçilerde anaplasmosisin klinik belirtileri spesifik değildir ve bu nedenle hastalık, ateş, anemi, sarılık, halsizlik, iştahsızlık, kondisyon kaybı, kabızlık ve boynun ventral bölgesinde submandibular ödem oluşması gibi belirtiler gösteren

diğer enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan durumlardan ayırt edilmelidir. Ateş, halsizlik, iştahsızlık ve kondüsyon kaybı gibi belirtiler babesiosis, eperythrozoonosis, ehrlichiosis, theileriosis, trypanosomosis ve şiddetli iç ve dış parazitizm dahıl olmak üzere çeşitli bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan hastalıklardan kaynaklanabilmektedir (Stoltz 2004). Yetersiz beslenme, bitki (*Brassica* spp. vb.) ve mineral (bakır) intoksikasyonları veya yetersizlikleri de (kobalt, bakır) anemiye sebep olmaktadır. İkterus da belli ölçülerde yine bazı bitki ve mineral intoksikasyonlarına bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Kronik bakır zehirlenmeleri ikterus, iştahsızlık ve zayıflığa ek olarak hemoglobini ile karakterizedir. Bu durum *Anaplasma* enfeksiyonlarını bakır zehirlenmelerinden ayırt etmede kullanılan önemli bir kriterdir (Stoltz 2004).

Anaplasma etkenlerinin teşhisinde genel olarak kullanılan yöntemler:

- Frotilerin mikroskopla doğrudan incelemesi
- Serolojik yöntemler
 - Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)
 - Competitive enzyme-linked immunosorbent assay (cELISA)
 - Kart Aglutinasyon Test (CAT)
 - Komplement Fiksasyon Testi (CFT)
 - İndirek Floresan Antikor Testi (IFAT)
- Moleküler yöntemler:
 - PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu- Polymerase chain reaction)
 - Nested polymerase chain reaction (nPCR)
 - Real-time polymerase chain reaction (qPCR)
 - Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)
 - Reverse line blotting (RLB)
 - Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)

Tropikal ve subtropikal bölge ülkelerinde koyun ve keçilerde görülen anemi vakalarında anaplasmosis olasılığı mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Enfeksiyonun akut evresinde teşhis genellikle klinik belirtiler, giemsa ile boyalı frotilerde etkenlerin varlığının belirlenmesi ve hematolojik bulgulardan yararlanılarak yapılmaktadır (Stoltz 2004). Diğer asit-fast boyama yöntemleri (örneğin Diff-Quick) de mevcuttur, ancak özellikle parazitemi çok düşük olduğunda giemsa boyama tekniği en güvenilir yöntemdir. Giemsa boyama metodunda

preparatların boyama süresi kan parazitlerinin teşhisinde çok önemlidir. Akut babesiosis, theileriosis ve anaplasmosis vakalarında *Theileria* türleri ile küçük *Babesia* türlerinin giemsa solüsyonunda 30 dk boyanmasının ardından mikroskopik teşhis gerçekleştirilirken, büyük *Babesia* türleri (örn. *Babesia bigemina*) ile *A. marginale*'nin ancak 45-60 dk boyandıktan sonra teşhis edilebildiği gözlenmiştir. Bu sebeple kan paraziti enfeksiyonundan şüpheli hayvanların sürme kan frotilerinin giemsa solüsyonunda ortalama bir saat boyandıktan sonra incelenmesi tavsiye edilmektedir (Sevinç 2004). Bununla birlikte parazitemi oranının düştüğü durumlarda enfeksiyonun teşhisi zorlaşmaktadır. Ayrıca, bu aşamada rejeneratif bir aneminin varlığı, parazitlerin mikroskopik tespitini zorlaştırabilmektedir. *Anaplasma* inklüzyonlarını bazen retikülositlerdeki bazofilik noktalanmalardan ve Howell-Jolly cisimciklerinden veya eritrositlerdeki diğer boyanmış nokta benzeri partiküllerden ayırt etmek zordur. Kronik evrede veya taşıyıcı hayvanlarda enfeksiyonun mikroskopik teşhisi oldukça düşük seviyedeki parazitemiden dolayı zor olabilmektedir. Bazı klinik vakalarda ve epidemiyolojik çalışmalarda, serolojik testler, şüpheli hayvanlardan duyarlı hayvanlara kanın subinokülasyonu ve DNA hibridizasyon teknikleri *Anaplasma* enfeksiyonlarının teşhisinde kullanılan ek doğrulama yöntemlerindendir (Stoltz 2004).

Hastalığı taşıdığından şüphe edilen hayvanlardan, splenektomili koyun ve keçilere yapılan kan subinokülasyonu *A. ovis* enfeksiyonlarının teşhisinde kullanılan etkili bir yöntemdir, ancak yöntemin pahalı ve zaman alıcı olması rutin kullanımını oldukça sınırlandırmaktadır (Stoltz 2004).

Etkenin taşıyıcısı olan hayvanların belirlenmesinde mikroskopik incelemenin yetersiz kalması nedeniyle *Anaplasma* türlerine karşı şekillenmiş olan spesifik antikorların tespitini sağlayan kapiller tüp aglütinasyon testi, IFA, ELISA, hızlı kart aglütinasyon testi ve komplement fiksasyon testi gibi çeşitli serolojik testler de kullanılmaktadır (Stoltz 2004, Bradway ve ark 2001, Goff ve ark 1990). Bu testlerde *A. ovis* ve *A. marginale* arasındaki yüksek derecedeki çapraz reaktivite nedeniyle her iki tür antijen olarak kullanılabilmesine rağmen *A. marginale* daha sık tercih edilmektedir (Stoltz 2004).

Kompetitif ELISA, anti-*Anaplasma* spp. antikorlarını saptamada tercih edilen yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip serolojik yöntemlerden birisidir. Kompetitif ELISA farklı *Anaplasma* türlerinin korunmuş antijenik yapısı olan major surface protein-5 (MSP-5)'i tanıyan bir monoklonal antikor (ANAF16C1) kullanımı

temeline dayanmaktadır (Visser ve ark 1992, Knowles ve ark 1996, Mason ve ark 2017). *Anaplasma* türlerinin teşhisindeki altın standart mikroskopik inceleme ve cELISA'nın birlikte kullanımıdır (Ekici ve Sevinc 2011). IFA testi diğer yöntemlere göre düşük maliyetli olması nedeniyle epidemiyolojik çalışmalarda sıklıkla tercih edilmekte ve kan protozoonu ve riketsiyal enfeksiyonların serodiagnozunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Hungerford ve Smith 1997, Ekici ve Sevinc 2011).

Son yıllarda kullanımı yaygınlaşan PCR gibi moleküler teşhis metotları mikroskopik ve serolojik teşhis yöntemlerine kıyasla çeşitli avantajlara sahiptir. Ayrıca moleküler yöntemler bu yöntemlere göre daha güvenilir ve hassas olup *Anaplasma* alt türlerinin ayırımı da mümkün kılmaktadır (Dumler ve ark 2004, Torina ve ark 2012). Günümüzde enfeksiyöz hastalıkların tespitinde modifiye edilmiş birçok farklı PCR tekniğinden yararlanılmaktadır. Riketsiyal enfeksiyonların teşhisinde kullanılan en önemli yöntemlerden birisi de gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) tekniği olup, bu teknik çeşitli hayvan türlerinde *Anaplasma* enfeksiyonlarının moleküler teşhisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Courtney ve ark 2004, Hulinska ve ark 2004, Decaro ve ark 2008, Chi ve ark 2013, Koval'chuk ve ark 2015). Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) 1990'ların başında Higuchi ve ark (1992) tarafından geliştirilmiş ve PCR'deki amplifikasyonun gerçek zamanlı olarak izlenmesine olanak sağlayan bir yöntemdir. Kısaca flouresan ışıma veren boya veya prob ile çalışan standart PCR yöntemidir. Mevcut tüm gerçek zamanlı PCR sistemleri, floresan boyaları kullanarak amplifikasyonu algılamaktadır. Gerçek zamanlı PCR'nin klasik PCR'ye kıyasla sağladığı başlıca avantajlar; amplifikasyondan sonra işlenmeyi gerektirmeyen, 'kapalı tüp' formatında yüksek veri aktarımına izin vermesi, geniş aralıklarda incelemeler için kullanılması ve ışımalardaki farklılıkları saptayabilen özel thermocycle ile hedef materyaldeki kantitatif değişiklikleri de takip edebilmesidir (Gasser 1999). Bu yöntemle DNA için spesifik boyalar kullanıldığında çift sarmal DNA'larda nonspesifik flouresan ışımlar meydana gelmektedir. Buna karşın hibridize problemler kullanılırsa sadece spesifik PCR ürünlerinden flouresan ışıma elde edilmektedir (Araz ve Tanyüksel, 2009). Chi ve ark (2013) ilk defa qPCR yöntemini kullanarak koyunlarda *A. ovis*'i tespit etmek için çalışma yapmış, bu çalışmada aynı anda PCR yöntemi de uygulanmıştır. Test sonuçları karşılaştırıldığında qPCR'ın *A. ovis*'in teşhisinde çok daha yüksek duyarlılığa ve kullanışlılığa sahip olduğu ortaya konmuştur.

1.11. Anaplasmosis'in tedavisi, korunma ve kontrol yöntemleri

Anaplasmosisin tedavisi, 1950'lerde tetrasiklinler (tetrasiklin hidroklorür, klortetrasiklin, oksitetrasiklin ve doksisisiklin), imidokarb ve gloksazon kullanımını içermekteydi (Kocan 2000). Günümüzde anaplasmosisin tedavisinde tetrasiklin grubu antibiyotikler hâlâ etkin bir şekilde kullanılırken, imidokarb dipropionat, arsenikli bileşikler, antimon, anti-malarialler gibi birçok madde etkili olsa da kullanım alanı bulamamaktadır (Eren ve ark 2015).

Akut anaplasmosisin tedavisinde erken dönemde tetrasiklin türevi antibiyotiklerin (klortetrasiklin 1,5 mg/kg po; oksitetrasiklin 5-10 mg/kg iv, im; rolitetrasiklin; doksisisiklin; minosiklin) çok etkili olduğu bildirilmiştir (Eren ve ark 2015). Oksitetrasiklin 10 mg/kg dozunda kas içi veya damar içi 2-3 gün, ya da kas içi 12 saat arayla iki doz halinde 4-5 gün süreyle uygulanabileceği gibi; 20 mg/kg dozda tek bir seferde kas içi de uygulanabilmektedir (Stoltz 2004). Oksitetrasiklinin damar içi uygulamalarda serum ile sulandırılarak verilmesi, kas içi uygulamalarda ise kaslarda yangıya neden olmaması için enjeksiyon yerine 10 ml'den fazla ilaç yapılmaması önerilmektedir (Hoşgör 2011). Anaplasmosisin tedavisinde ayrıca klortetrasiklin 1,5 mg/kg dozda oral yolla; babesiosis tedavisinde kullanılan imidocarb dipropionat da 1,2-2,4 mg/kg dozda derialtı yoluyla kullanılmaktadır (Eren ve ark 2015). Ayrıca hipoksiyi engellemek amacıyla kan nakli (48 saat arayla gerek görülürse tekrarlanmalı), dehidrasyonun tedavisi için ise serum fizyolojik ve glukoz takviyesi yapılmaktadır (Eren ve ark 2015).

Anaplasmosisin kontrol yöntemleri son 50 yılda belirgin bir şekilde değişiklik göstermemiştir. Mevcut kontrol önlemleri coğrafik konuma göre değişmekle beraber genel olarak; akarisitlerin uygulanması, antibiyotiklerin uygulanması, canlı ve cansız aşılarda bağışıklığın oluşturulması, *Anaplasma* etkenleri ile enfekte olmamış sürülerin korunması ve artropod kontrolünü içermektedir (Kocan 2000, Reinbold ve ark 2010). Kontrol stratejileri genellikle, koyunlar ve sığırlar otlaklara çıkarıldığında kene enfestasyonlarının azaltılması üzerine kurulmuştur. Bu da hayvanların kene bulunmayan ortamdan keneye enfeste otlaklara taşınmadan önce profilaktik bir önlem olarak uzun etkili antibiyotik kullanılmasıyla yapılmaktadır. Ayrıca hayvanlara sentetik piretroidlerin düzenli olarak; banyo veya pour-on şeklinde uygulaması ile kenelerin azaltılması, koyunlarda ve özellikle kene toksinlerinden

muzdarip olan kuzularda kayıpları azaltmaya yardımcı olmaktadır (Woldehiwet 2006, Stuen 2020). Akarisitler çoğunlukla kene kontrolünde kullanılmaktadır. Fakat ilaçlara zamanla direnç oluşması ve ilaçların kullanıldığı yerlerde kalıntı bırakması, akarisitlerin kullanım alanlarını kısıtlamaktadır. Akarisit kullanmadan vektör kenelerin kontrolü için alınabilecek önlemler arasında hayvan barınaklarının vektör kenelerin büyümesine ve çoğalmasına elverişsiz hale getirilmesi ve hayvan barınakları ile mera arasında tampon bölge oluşturulması gelmektedir (Jonsson ve ark 1998). Korunmaya yönelik bir diğer seçenek ise, koyunları ve 6-7 haftalık oluncaya kadar kuzularını kene bulunmayan, çitlerle çevrili otlaklarda tutmaktır (Woldehiwet 2006).

Günümüzde kenelere karşı kullanılan kene önleyici aşılar, enfeksiyonu kontrol altına almak için iyi bir alternatif olarak görülmektedir. Bu aşılar çevre dostu olmalarının yanı sıra, kene istilasını azaltarak kene kaynaklı hastalıkların oluşumunu azaltmakta ve akarisit kullanımını sınırlamaktadır (De la Fuente ve ark 2006). Vektör patojen etkileşimini anlamak, vektör kaynaklı hastalıkların kontrolü için önemli bir rol oynamaktadır. Kene proteinlerine dayalı kene aşılarının (Q38, SUB, SILK, TROSPA, BM86/BM95, 64P) kullanılması ile hayvanlarda kene enfestasyonları azaltılarak kene kaynaklı hastalıkların en aza indirgenmesi sağlanmaktadır (Atıf 2016). Benzer şekilde, Akirin ve Subolesin proteinleri, kene önleyici aşı için potansiyel adaylar olarak görülmektedir (De la Fuente ve ark 2013). Son zamanlarda yapılan çalışmalarla, *A. marginale* MSP1a ve kene Subolesin proteinlerini içeren kene önleyici aşının, kene istilasını azalttığı, dişi kenelerin vücut ağırlığını düşürdüğü (*Boophilus microplus*) ve sığırlarda *A. marginale* enfeksiyonunun görülme oranını azalttığı bildirilmiştir (Torina ve ark 2012).

Bulaşmanın az olduğu bölgelerde aşılamada, *Anaplasma* türlerinin daha az patojen izolatlarını içeren canlı aşılar kullanılmaktadır. *A. centrale*’den elde edilen canlı aşılar *A. marginale* enfeksiyonlarının önlenmesinde dünyada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Aşı, *A. marginale* enfeksiyonlarına karşı tam olarak koruma sağlayamasa da *A. marginale* tarafından oluşturulan hastalıkların şiddetini azaltmakta ve ölümleri engellemektedir (Shkap ve ark 2002). Aşı adayı olarak çeşitli proteinler önerilmekte, ancak başarılı bir aşının geliştirilmesinin önünde, uygun korunmuş antijenin seçimindeki zorluklar, etkenlerin farklı varyantlarda bulunması, antijen

eşitliliği ve yapılan çalışmaların sayısının az olması gibi engeller bulunmaktadır (Stuen ve ark 2013).



2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Çalışma alanı, incelenen hayvan sayısı

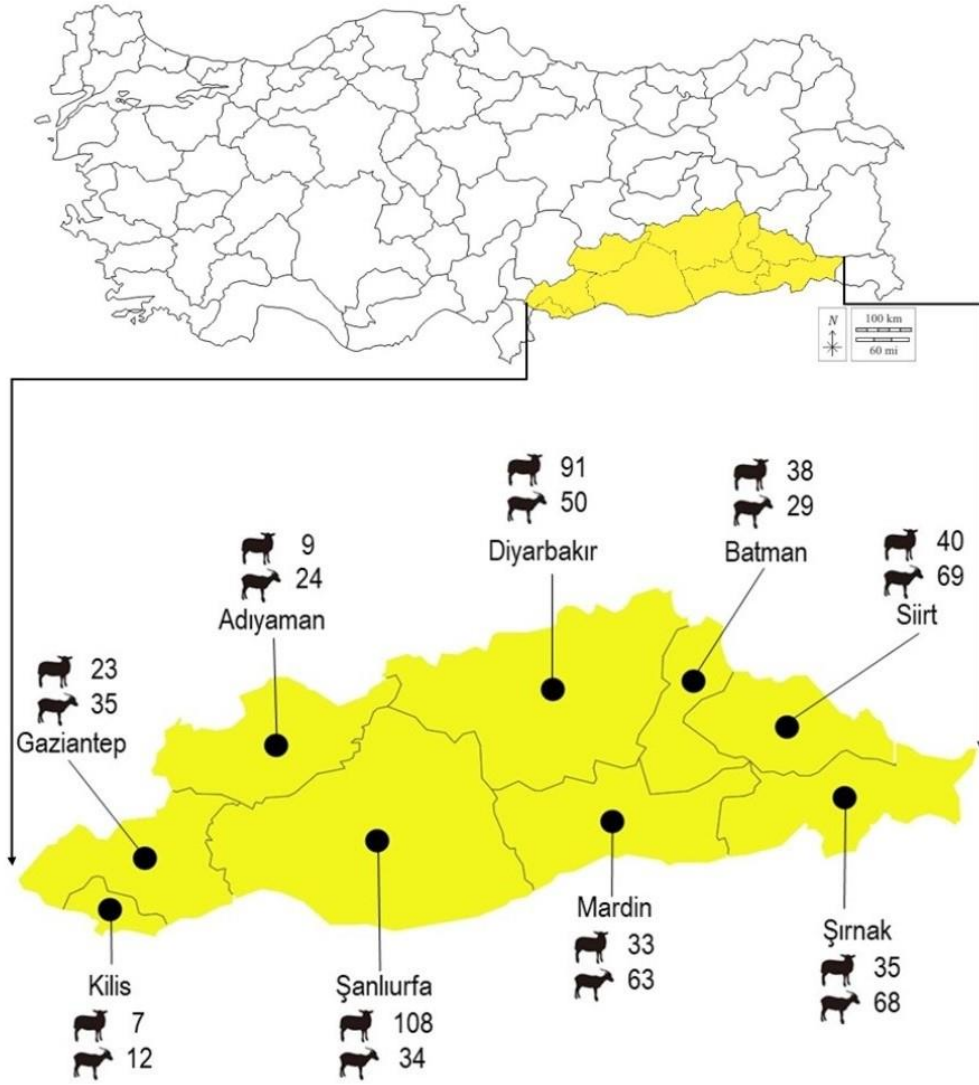
Hayvan sayılarının belirlenmesinde tabakalı örnekleme yöntemi için yapılan güç analizleri sonucu, gerekli örneklem genişliği, TÜİK 2017 verileri esas alınarak hesaplanmıştır. Bu doğrultuda Güneydoğu Anadolu bölgesinden 384 koyun ve 384 keçinin çalışmada kullanılacak materyal sayısını karşıladığı belirlenmiştir. Güç analizlerine ilişkin sonuçlar Çizelge 2.1.1’de yer almaktadır.

Çizelge2.1.1: Güneydoğu Anadolu Bölgesi koyun ve keçi sayısına göre güç analizi sonuçları

İller	Koyun	W_h Koyun	n_h Koyun	Keçi	W_h Keçi	n_h Keçi
Gaziantep	368372	0,060	23	244534	0,092	35
Adıyaman	150712	0,024	9	169795	0,064	24
Kilis	114347	0,019	7	82767	0,031	12
Sanlıurfa	1732269	0,281	108	236851	0,089	34
Diyarbakır	1454746	0,236	91	350898	0,131	50
Mardin	526484	0,085	33	440281	0,165	63
Batman	619551	0,100	38	192198	0,072	29
Şırnak	565389	0,092	35	471676	0,177	68
Siirt	642478	0,104	40	480638	0,180	69
TOPLAM	6174348	1	384	2669638	1	384

* W_h : Tabaka ağırlığı, n_h : Tabakalara düşen birey sayısı

Tez çalışmasının materyal temini Eylül (2019) ayı içerisinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan materyaller Türkiye’nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nden hava sıcaklığının yüksek olduğu bir süre zarfında; hayvan popülasyonunun yoğun olduğu il merkezleri, ilçeler ile köyler gibi farklı odaklar ve bu odaklardan da farklı sürüler belirlenerek; farklı cinsiyet ve yaş (<6 ay, 6 ay-1 yaş arası, 1-3 yaş arası ve >3 yaş) gruplarına ait rastgele seçilmiş toplam 768 (384 koyun ve 384 keçi) küçükbaş hayvandan temin edilmiştir. Çalışma materyallerinin temin edildiği yerlerde koyun ve keçi popülasyonu göz önünde bulundurularak popülasyonu temsil edecek sayıda numune toplanmıştır. Numunelerin toplandığı iller, Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nin haritadaki konumu ile birlikte Şekil 6’da gösterilmiştir.



Şekil 6. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nden numune alınan iller ve incelenen hayvan sayıları

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin tüm illeri örneklenmiş ve bu iller içerisinde materyalletin temin edildiği lokasyonlar ve hayvanlara ait ırk, yaş bilgileri Çizelge 2.1.2 ve Çizelge 2.1.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1.2. Güneydoğu Anadolu Bölgesi koyun numuneleri, alınan yerler ve alınan numune sayısı.

Sıra	Şehir	Numunelerin alındığı ilçeler	Hayvanın ırkı	Alınan numune sayısı
1	Kilis	Polateli	İvesi koyun	7
2	Gaziantep	Karkamış, Nizip	İvesi koyun	23
3	Şanlıurfa	Viranşehir	İvesi koyun	108
4	Adıyaman	Kahta		9
5	Diyarbakır	Karacadağ		91
6	Mardin	Doğanlı (Talate) Köyü, Nusaybin		33
7	Batman	Merkez		38
8	Siirt	Gürgöze Köyü, Kurtalan	Hamdani koyunu	40
9	Şırnak	Pınarbaşı, İdil	Hamdani koyunu	35
Toplam				384

Çizelge 2.1.3. Güneydoğu Anadolu Bölgesi keçi numuneleri, alınan yerler ve alınan numune sayısı.

Sıra	Şehir	Numunelerin alındığı ilçeler	Hayvanın ırkı	Alınan numune sayısı
1	Kilis	Polateli	Halep keçisi	12
2	Gaziantep	Karkamış, Nizip	Halep keçisi	35
3	Şanlıurfa	Viranşehir	Halep keçisi	34
4	Adıyaman	Kahta	Halep keçisi	24
5	Diyarbakır	Karacadağ	Kıl keçisi	50
6	Mardin	Doğanlı (Talate) Köyü, Nusaybin	Kıl keçisi	63
7	Batman	Merkez	Kıl keçisi	29
8	Siirt	Gürgöze Köyü, Kurtalan	Kıl keçisi	69
9	Şırnak	Pınarbaşı, İdil	Halep keçisi	68
Toplam				384

2.2. Kan alma ve laboratuvar uygulamaları

Çalışma için belirlenen sayıda koyun ve keçinin Vena jugularis'inden, alkollü pamukla kan alınacak bölge temizlendikten sonra antikoagulantlı tüplere yaklaşık 10'ar ml kan alınmıştır. Alınan kanlar hemolizi önlemek amacıyla soğutma özellikli akülü mini araç dolabında +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Laboratuvara getirilen antikoagulantlı kan tüplerinden birer damla kan alınarak sürme kan frotileri hazırlanmıştır. Hazırlanan frotiler mikroskopik muayene aşamasına geçilene kadar, metil alkolle sabitlenerek preparat kutularına kaldırılmıştır. Antikoagulantlı kan örnekleri 5.000 devirde 5 dk santrifüj edilerek kanın şekilli elemanları plasmadan ayrılmıştır. Santrifüj işleminden sonra porsiyonlanan kanlar genomik DNA ekstraksiyonları yapıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.1. Mikroskopik muayene

Mikroskopik muayenede kullanılan ekipmanlar

- Santrifüj (Hettich, Universal 320R, Zenrifugen, Germany)
- Işık mikroskobu (Olympus BX 50)
- Derin dondurucu (-20°C, Arçelik)
- Buzdolabı (+4°C, Arçelik)

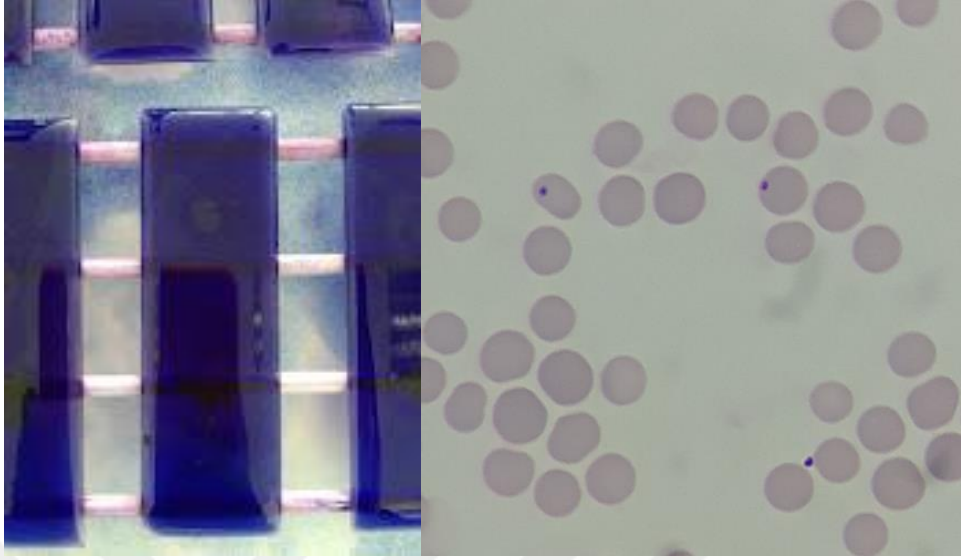
Mikroskopik muayenede kullanılan kimyasallar

- Giemsa solüsyonu (Merck)
- Methanolol (Merck)
- Distile su
- Immersiyon yağı (Merck)

Mikroskopik muayenenin yapılışı

Alınan kanlardan hazırlanan sürme frotiler kurutulduktan sonra metil alkolle 3-5 dakika (dk) sabitlendi. Ardından giemsa boyası ile 45 dk boyunca boyandı (Şekil 6). Boyama süresinin bitmesinin ardından sürme frotiler, boya kalıntılarının oluşmasını engellemek amacıyla tazikli akan çeşme suyunun altında, minimum 1 dk boyunca yıkandı. Yıkanan frotiler, kuru bir zemine dik konumda yerleştirilerek kurutuldu. Kurutulan frotiler Leica marka ışık mikroskobu altında, immersiyon yağı damlatılarak 100x'lük büyütmele merceklerle yaklaşık 5 dakika boyunca 100'den fazla alan taranarak mikroskopik olarak incelendi (Şekil 6). Kan hücrelerine (eritrosit, trombosit, nötrofil, lenfosit vb) yerleşen etkenlerin tespiti yapıldı. Mikroskopik

incelemenin ardından elde edilen veriler excel tablosuna kaydedilerek istatistiki analizler için hazır hale getirildi.



Şekil 7: Giemsa boyası ile boyanmış preparat ve mikroskop görüntüsü

2.2.2. Genomik DNA ekstraksiyonunun yapılışı

DNA ekstraksiyonu için ticari olarak üretilmiş EZNA Blood DNA mini ekstraksiyon kiti (Şekil 8) kullanılarak kan numunelerinden DNA'lar elde edilmiştir. DNA'lar Rt-PCR analizinde kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Genomik DNA ekstraksiyonunda kullanılan malzemeler:

- EZNA Blood DNA mini ekstraksiyon kiti



Şekil 8: EZNA Blood DNA mini ekstraksiyon kiti

Koyun ve keçi kanlarından DNA ekstraksiyonu uygulaması:

- Steril bir mikrosantrifüj tüpüne 250 uL kan aktarıldı.
- 25 uL Proteinaz K Solüsyonu ve 250 uL BL Tamponu eklendikten sonra 15 saniye boyunca maksimum hızda vorteks yapıldı.
- Vortekslenen örnekler 65 °C'de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sırasında kısa bir süre vorteks yapıldı.
- İnkübasyonun ardından 260 uL %100 etanol eklendi. 20 saniye boyunca maksimum hızda vorteks yapıldı.
- Kapağın içinde kalması muhtemel damlaları tüpün dibinden toplayabilmek için kısa bir süre santrifüj yapıldı
- 2 mL'lik bir Toplama Tüpüne bir HiBind® DNA Mini Sütunu yerleştirildi.
- Tüm numune sütuna aktarıldı.
- Numunelere 1 dakika boyunca $\geq 10.000 \times g$ 'de santrifüj yapıldı.
- Elde edilen filtrat ve toplama tüpü atıldı.
- HiBind® DNA Mini Sütunu, yeni bir 2 mL toplama tüpüne yerleştirildi.
- Numunelere %100 izopropanol ile seyreltilmiş, 500 µL HBC Tamponu eklendikten sonra 1 dakika boyunca $\geq 10.000 \times g$ 'de santrifüj yapıldı. Filtrat atıldı ve toplama tüpünü tekrar kullanıldı.
- %100 etanol ile seyreltilmiş, 700 µL DNA Yıkama Tamponu eklendikten sonra 1 dakika boyunca $\geq 10.000 \times g$ 'de santrifüj yapıldı. Filtrat atıldı ve toplama tüpü tekrar kullanıldı.
- İkinci bir DNA Yıkama Tamponu ile yıkama adımı için 12. adım tekrarlandı.
- Sütunu kurutmak için boş HiBind® DNA Mini Sütunu maksimum hızda ($\geq 10.000 \times g$) 2 dakika santrifüj edildi (Etanolün temizlenmesi, daha sonraki aşamaların seyrini bozmaması için kritik öneme sahiptir).
- HiBind® DNA Mini Sütunu nükleaz içermeyen 2 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
- 65°C'ye ısıtılmış 90 µL Elüsyon Tamponu eklendi. 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

- Ardından 1 dakika boyunca maksimum hızda santrifüjlendi.
- İkinci bir elüsyon adımı için 16. adım aynı miktarda elüsyon tamponu (90 µL) kullanılarak tekrarlandı.
- Çıkarılan DNA Rt-PCR işlemi yapılana kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

2.2.3. Real Time PCR uygulamaları

Rt-PCR uygulamalarında kullanılan ekipmanlar:

- Rt-PCR cihazı (Şekil 9)
- Otomatik pipet
- rt pcr strip tüp
- Filtreli pipet ucu 10 ul
- Filtreli pipet ucu 200 ul
- Filtreli pipet ucu 1000 ul
- Eppendorf tüp 1,5 ml



Şekil 9: Çalışmada Rt-PCR analizlerinin gerçekleştirildiği Rt-PCR cihazı

Rt-PCR uygulamalarında kullanılan kimyasallar:

- *Anaplasma phagocytophilum* detection primer probe kit
- *Anaplasma ovis* detection primer probe kit
- Sybr green (Roche) nükleik asit jel boyası (nucleic acid gel stain)
- Distile su

Real Time PCR (qPCR) analizlerinin yapılışı:

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-time polymerase chain reaction) 1990'ların başında Higuchi ve ark (1992) tarafından geliştirilmiş ve PCR'deki amplifikasyonun gerçek zamanlı olarak izlenmesine olanak sağlamış bir yöntemdir. Kısaca flouresan ışıma veren boya veya prob ile çalışan standart PCR yöntemidir (Gasser 1999). Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda normal PCR'ın özgülüğü ve duyarlılığı korunarak, sonuçların tespiti eş zamanlı olarak yapılabilir. Testte flouresan etkili primerler, probler veya boyalar döngü boyunca flouresan sinyal göndermekte; sinyaller reaksiyon tüpüne bağlanan dijital kamera ve florometre ile sinyallerin derecesine göre ölçülmektedir (Higuchi ve ark 1993, Gasser, 2006). Teknik, SYBR Green I gibi diğer güvenli boyaları reaksiyona dahil etmek ve kapiler termal cykler ile analiz etmek şeklinde modifiye edilmiştir. Bu teknikte amplikonların elektroforezine ihtiyaç duyulmamakta ve teknik amplifikasyonun başladığı döngüyü (Ct) belirleyerek nispi veya mutlak miktar ölçümünü mümkün kılmaktadır. Verilerden standart bir eğri oluşturulmakta ve test numunelerindeki miktarlar, standart eğriye göre hesaplanmaktadır. Araya giren boyalar, herhangi çift sarmallı DNA'ya bağlanabilmekte; bu durum herhangi bir etkenin teşhisi için kullanılabildiği için avantajlı sayılmaktadır. Bununla birlikte boyanın primer dimerleri ve spesifik olmayan ürünleri içeren bir numunedeki çift sarmallı DNA'ların tümüne bağlanması aynı zamanda bir dezavantaj olarak sayılmaktadır. Bu olumsuz durum testin spesifik olmayan ürünleri denatüre eden ve elde etmek istenilen ürünleri olduğu gibi bırakan bir sıcaklıkta yapılmasıyla aşılabilmektedir. Bir amplikonun erime noktası, içindeki nükleotid dizilerinin bileşimi ve uzunluğu ile ilgili olmakla beraber, numuneler içindeki ve arasındaki dizi varyasyonunu tespit ve karakterize etmek için bir erime eğrisi analizinin kullanılabilmesini mümkün kılmaktadır (Becker ve ark 1996). Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda SYBR Green I boyası kullanılarak *Cryptosporidium*, *Leishmania* ve *Trypanosoma* türleri de dahil olmak üzere çeşitli protozoonların teşhisi ile ilgili çalışmalar bildirilmiştir (Nicolas ve ark 2002, Becker ve ark 2004, Widmer ve ark 2004).

Bu çalışmada *A. phagocytophilum* etkenlerinin Rt-PCR ile teşhisi Roche Sybr Green boyası kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada *A. phagocytophilum* ApMSP2 hedef gen bölgesini çoğaltan 0,75 µl ApMSP2F-Primeri, 0,75 µl ApMSP2R-Primeri, 5µl Master mix (Sso Advanced Universal SYBR green Supermix, 1 ml, Biorad), (Rt-

PCR analizlerinde kullanılan primer ve prob dizileri Çizelge 2.2.3.1’de gösterilmiştir), 1 µl ddH₂O (double distile water-duble distile su), 2,5 µl Template DNA (kan örneklerinden ekstraksiyon kiti kullanılarak elde edilen DNA’lar) kullanılmış ve her kuyucukta toplam hacim 10 µl olacak şekilde Rt-PCR cihazına (LightCycler 96, Roche) yükleme yapılmıştır. Cihazda ayarlanan ısı dereceleri ve süreler Çizelge 2.2.3.2’de gösterilmiştir.

Çalışmada *A. ovis* etkenlerinin Rt-PCR ile teşhisinde *A. ovis* gltA gene hedef gen bölgesini çoğaltan 0,5 µl anti-sense primer (Microsynth), 0,5 µl sense primer (Microsynth), 5µl Master mix (Fast start Essential DNA probes master,Roche), 0,5 µl TaqMan probe FAM (Microsynth), 1 µl ddH₂O (double distile water-duble distile su), 2,5 µl Template DNA (kan örneklerinden ekstraksiyon kiti kullanılarak elde edilen DNA’lar) kullanılmış ve her kuyucukta toplam hacim 10 µl olacak şekilde Rt-PCR cihazına (LightCycler 96, Roche) yükleme yapılmıştır. Cihazda ayarlanan ısı dereceleri ve süreler Çizelge 2.2.3.3’de gösterilmiştir.

Çalışmada Pozitif Kontrol olarak, Ceylan ve ark (2021a)’nın Türkiye genelinde koyunlarda kenelerle nakledilen kan parazitlerini araştırdıkları çalışmada PCR testi ile pozitif olarak tespit ettikleri ve filogenetik analizlerle pozitif oldukları doğrulanan koyun DNA’ları kullanılmıştır. Negatif kontrol örneklerinin yerine ise double distile su kullanılmıştır.

Çizelge 2.2.3.1. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu analizlerinde kullanılan primer ve problar.

Primer	Prob	Kaynak
<i>A. ovis</i> gltA gene sense primer: 5’- AGGTACCGGGTATCGTTGCA-3’ <i>A. ovis</i> gltA gene anti-sense primer: 5’- AGGTTTGGATCTGCCTCTGTGA-3’	TaqMan probe FAM 5’ACATTTACAGGCACAC CTCTGGCATGC-3’ BHQ1	(Chi ve ark 2013)
<i>A. phagocytophilum</i> ApMSP2 F 5’- ATGGAAGGTAGTGTGGTTATGG TATT-3’ ApMSP2 R 5’-TTGGTCTTGAAGC GCTCGTA-3’	Sybr green (Roche)	(Courtney ve ark 2004, Almazan ve ark 2020)

Çizelge 2.2.3.2. Rt-PCR testinde örneklerin *A. phagocytophilum* etkenleri bakımından incelenirken uygulanan ısı dereceleri ve süreler.

Aşama	Sıcaklık	Süre	Döngü
Preinkübasyon	95 °C	600 s	1
	95 °C	15 s	
Amplifikasyon	55 °C	30s	40
	72 °C	30s	
	95 °C	10s	
Melting	65 °C	60s	1
	97 °C	1s	
	37 °C	30s	1

Çizelge 2.2.3.3. Rt-PCR testinde örneklerin *A. ovis* etkenleri bakımından incelenirken uygulanan ısı dereceleri ve süreler

Aşama	Sıcaklık	Süre	Döngü
Preinkübasyon	95 °C	600 s	1
	95 °C	10 s	
3 Step Amplifikasyon	60 °C	25s	45
	72 °C	1s	
	37 °C	30s	1

3. BULGULAR

3.1. Mikroskopik muayene bulguları:

Bu çalışmada Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki bütün illerden (Kilis, Gaziantep, Şanlıurfa, Adıyaman, Diyarbakır, Mardin, Batman, Siirt, Şırnak) toplam 384 koyun ve 384 keçiden kan numunesi toplanmıştır. Bu kan numuneleri mikroskopik muayene ile *A. ovis* ve *A. phagocytophilum* etkenleri yönünden incelenmiş ve koyunlara ait sonuçlar Çizelge 3.1'de, keçilere ait sonuçlar Çizelge 3.2'de gösterilmiştir. Bu çizelgelerden de anlaşılacağı gibi mikroskopik muayene ile koyun ve keçi kanlarından hazırlanan Giemsa boyalı sürme kan frotilerinin hiçbirinde *A. phagocytophilum*'a rastlanmamıştır.

Bölgeden toplanan 384 koyun kan numunesinden hazırlanan sürme kan frotilerinin 84'ünde (%21,88) *Anaplasma* spp. tespit edilmiştir.

Çizelge3.1: Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyunlarda *Anaplasma* türlerinin mikroskopik yaygınlığı.

Sıra	Şehir	n*	<i>A. ovis</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	Toplam (%)
1	Kilis	7	1	-	14,29
2	Gaziantep	23	4	-	17,39
3	Şanlıurfa	108	16	-	14,81
4	Adıyaman	9	4	-	44,44
5	Diyarbakır	91	16	-	17,58
6	Mardin	33	4	-	12,12
7	Batman	38	13	-	34,21
8	Siirt	40	19	-	47,5
9	Şırnak	35	7	-	20
Toplam		384	84	-	21,88

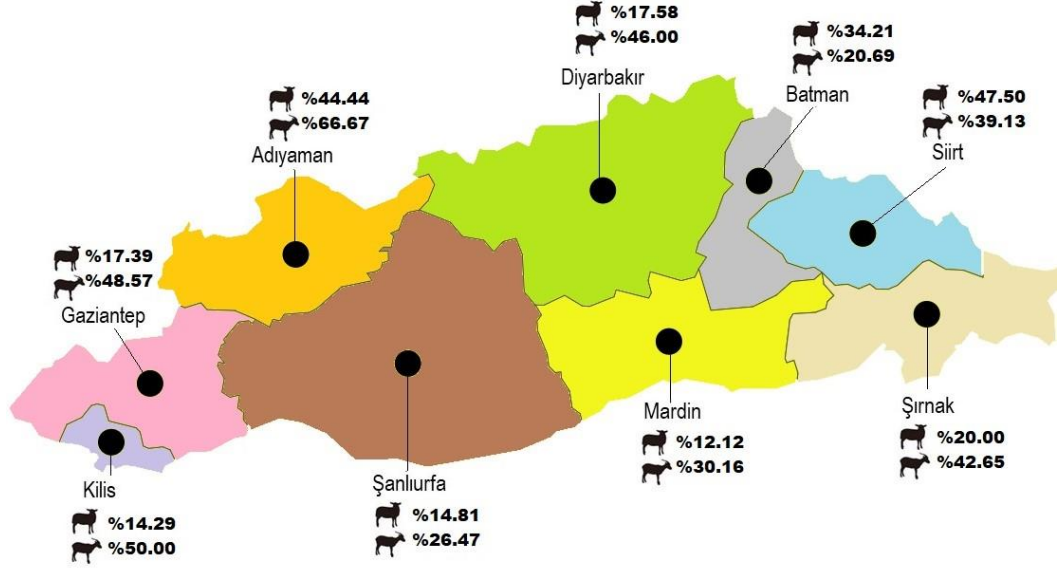
n*: İncelenen hayvan sayısı

Bölgeden toplanan 384 keçi kan numunesinden hazırlanan sürme kan frotilerinin 152 (%39,58)'sinde *Anaplasma* spp. teşhis edilmiştir. Elde edilen verilerle Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki keçilerde mikroskopik muayene yöntemi ile tespit edilen *Anaplasma* spp. oranının koyunlardan yüksek olduğu görülmüştür. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyun ve keçilerde mikroskopik muayene yöntemi ile tespit edilen *A. ovis* enfeksiyonun illere göre oranları harita üzerinde Şekil 10'da gösterilmiştir. Çalışmada mikroskopik muayene ile Batman ili koyun örneklerinde tespit edilen *Anaplasma* spp. Şekil 11'de gösterilmiştir.

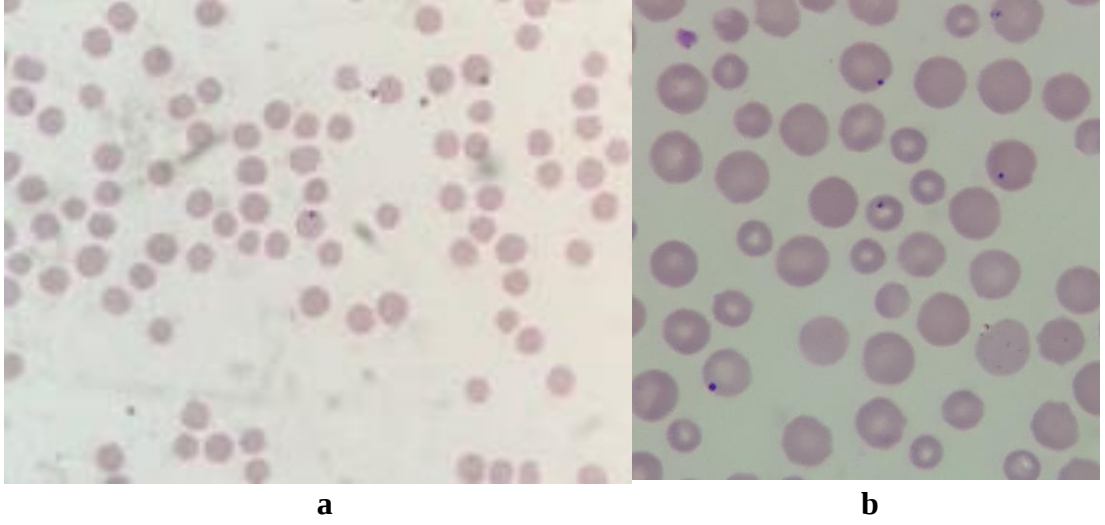
Çizelge3.2: Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki keçilerde *Anaplasma* türlerinin mikroskopik yaygınlığı.

Sıra	Şehir	n*	<i>A. ovis</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	Toplam (%)
1	Kilis	12	6	-	50,00
2	Gaziantep	35	17	-	48,57
3	Şanlıurfa	34	9	-	26,47
4	Adıyaman	24	16	-	66,67
5	Diyarbakır	50	23	-	46,00
6	Mardin	63	19	-	30,16
7	Batman	29	6	-	20,69
8	Siirt	69	27	-	39,13
9	Şırnak	68	29	-	42,65
Toplam		384	152	-	39,58

n*:İncelenen hayvan sayısı



Şekil 10. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyun ve keçilerde mikroskopik muayene yöntemi ile tespit edilen *A. ovis* enfeksiyonunun illere göre oranları.



Şekil 11: **a:** *Anaplasma* spp. (Batman koyun 20/ 100x orijinal), **b:** *Anaplasma* spp. (Batman koyun 10/100x orijinal)

3.2. Rt-PCR analizi bulguları

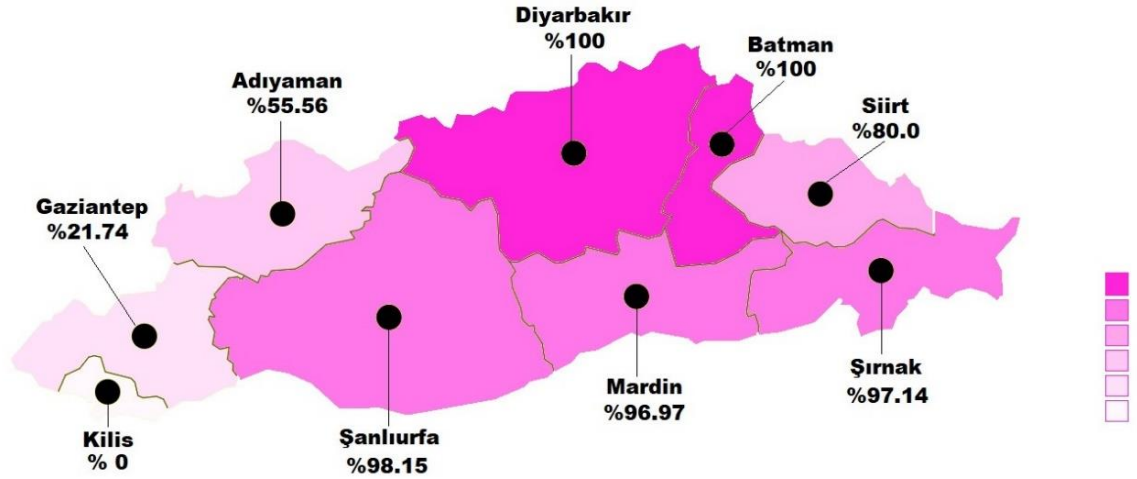
Çalışmada Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyunlarda Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *Anaplasma* türleri ve moleküler prevalans değerleri Çizelge 3.3'te, *A. ovis* ve *A. phagocytophilum*'un tekli ve birlikte enfeksiyon oranları ile total enfeksiyon oranları tablo halinde yazılarak belirtilmiştir. Koyunlarda Rt-PCR yöntemi ile tespit edilen *A. ovis* (Şekil 12) ve *A. phagocytophilum* (Şekil 13)

enfeksiyon oranları Güneydoğu Anadolu Bölgesi illerinin bölgesel konumlarını da gösteren harita üzerinde enfeksiyonun yoğunluk durumuna göre koyu ve açık renkte olacak şekilde belirtilmiştir.

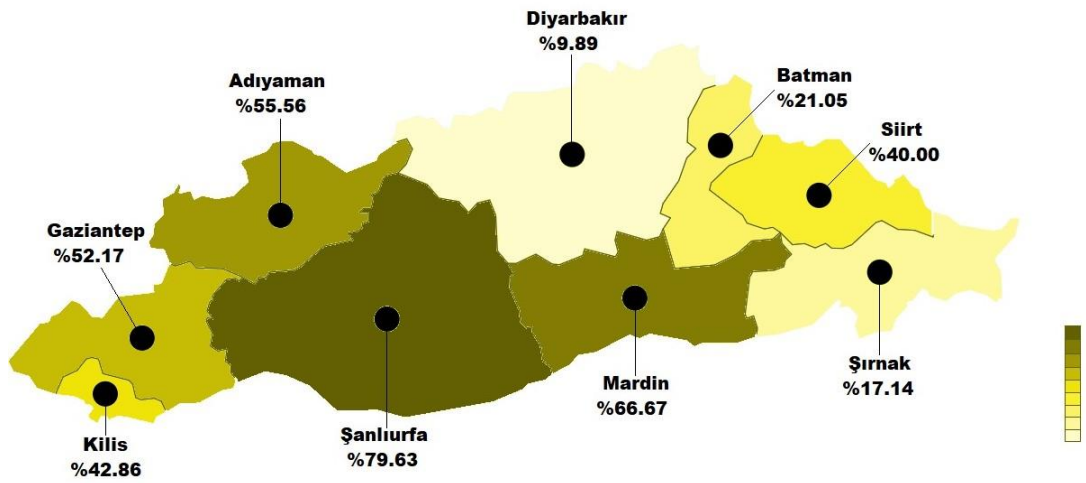
Çizelge 3.3: Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyunlarda Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *Anaplasma* türleri ve moleküler prevalans değerleri.

Sıra	Şehir	n	Ao (%)	Ap (%)	Ao +Ap (%)	Total enfeksiyon oranı		
						Ao (%)	Ap (%)	Ao/Ap total
1	Kilis	7	-	3	-	-	3 (42,86)	3 (42.86)
2	Gaziantep	23	2	9	3	5 (21,74)	12 (52,17)	14 (60.87)
3	Şanlıurfa	108	23	1	83	106 (98,15)	84 (77,78)	107 (9.07)
4	Adıyaman	9	1	1	4	5 (55,56)	5 (55,56)	6 (66.67)
5	Diyarbakır	91	82	-	9	91 (100)	9 (9,89)	91 (100)
6	Mardin	33	11	1	21	32 (96,97)	22 (66,67)	33 (100)
7	Batman	38	30	-	8	38 (100)	8 (21,05)	38 (100)
8	Siirt	40	19	3	13	32 (80,00)	16 (40)	35 (87.50)
9	Şırnak	35	28	-	6	34 (97,14)	6 (17,14)	34 (97.14)
Toplam		384	196 (51.04)	18 (4.69)	147 (38.28)	343 (89.32)	165 (42.97)	361 (94.01)

***n:** İncelenen hayvan sayısı Ao: *Anaplasma ovis* Ap: *Anaplasma phagocytophilum*



Şekil 12. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan koyunlarda Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *A. ovis* enfeksiyonunun yüzde oranları (Renk skalası yoğunluk arttıkça koyulaşmaktadır)



Şekil 13. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan koyunlarda Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *A. phagocytophilum* enfeksiyonunun yüzde oranları (Renk skalası yoğunluk arttıkça koyulaşmaktadır)

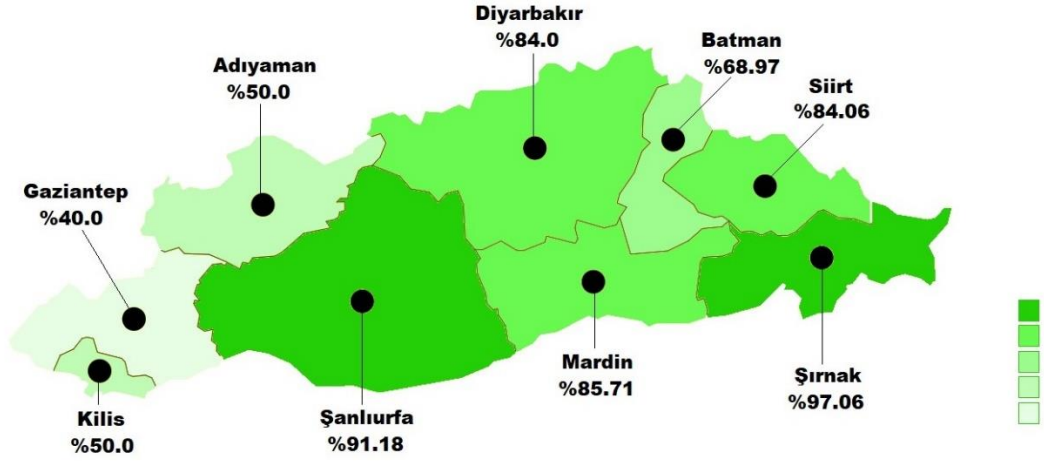
Çalışmada Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki keçilerde Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *Anaplasma* türleri ve moleküler prevalans değerleri Çizelge 3.4'te *A. ovis* ve *A. phagocytophilum*'un tekli ve birlikte enfeksiyon oranları ile total enfeksiyon oranları tablo halinde yazılarak belirtilmiştir. Koyunlarda Rt-PCR yöntemi ile tespit edilen *A. ovis* (Şekil 14) ve *A. phagocytophilum* (Şekil 15) enfeksiyon oranları

Güneydoğu Anadolu Bölgesi illerinin bölgesel konumlarını da gösteren harita üzerinde enfeksiyonun yoğunluk durumuna göre koyu ve açık renkte olacak şekilde belirtilmiştir.

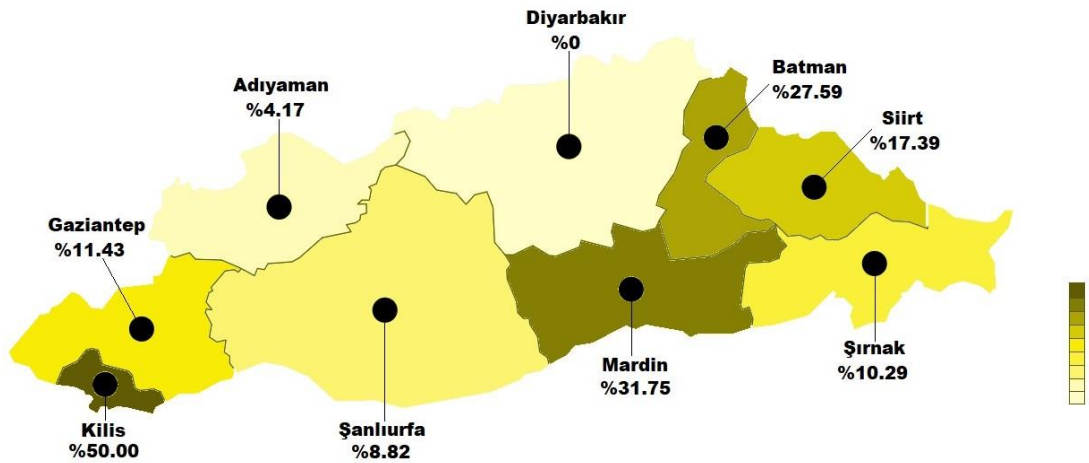
Çizelge 3.4: Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki keçilerde Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *Anaplasma* türleri ve oranları.

Sıra	Şehir	n*	Ao(%)	Ap(%)	Ao+Ap (%)	Total enfeksiyon oranı		
						Ao (%)	Ap (%)	Ao/Ap total
1	Kilis	12	3 (25,0)	3 (25,0)	3 (25,0)	6 (50,00)	6 (50,00)	9 (75,0)
2	Gaziantep	35	13 (37,14)	3 (8,57)	1 (2,86)	14 (40,00)	4 (11,43)	17 (48,57)
3	Şanlıurfa	34	28 (82,35)	-	3 (8,82)	31 (91,18)	3 (8,82)	31 (91,18)
4	Adıyaman	24	11 (45,83)	-	1 (4,17)	12 (50,00)	1 (4,17)	12 (50,00)
5	Diyarbakır	50	42 (84,0)	-	-	42 (84,00)	-	42 (84,00)
6	Mardin	63	35 (55,55)	1 (1,59)	19 (30,16)	54 (85,71)	20 (31,75)	55 (87,3)
7	Batman	29	13 (44,82)	1 (3,45)	7 (24,14)	20 (68,97)	8 (27,59)	21 (72,41)
8	Siirt	69	47 (68,12)	1 (1,45)	11 (15,94)	58 (84,06)	12 (17,39)	59 (85,5)
9	Şırnak	68	59 (86,77)	-	7 (10,29)	66 (97,06)	7 (10,29)	66 (97,06)
Toplam		384	251 (65,36)	9 (2,34)	52 (13,54)	303 (78,91)	61 (15,89)	312 (81,25)

n*: İncelenen hayvan sayısı Ao: *Anaplasma ovis* Ap: *Anaplasma phagocytophilum*

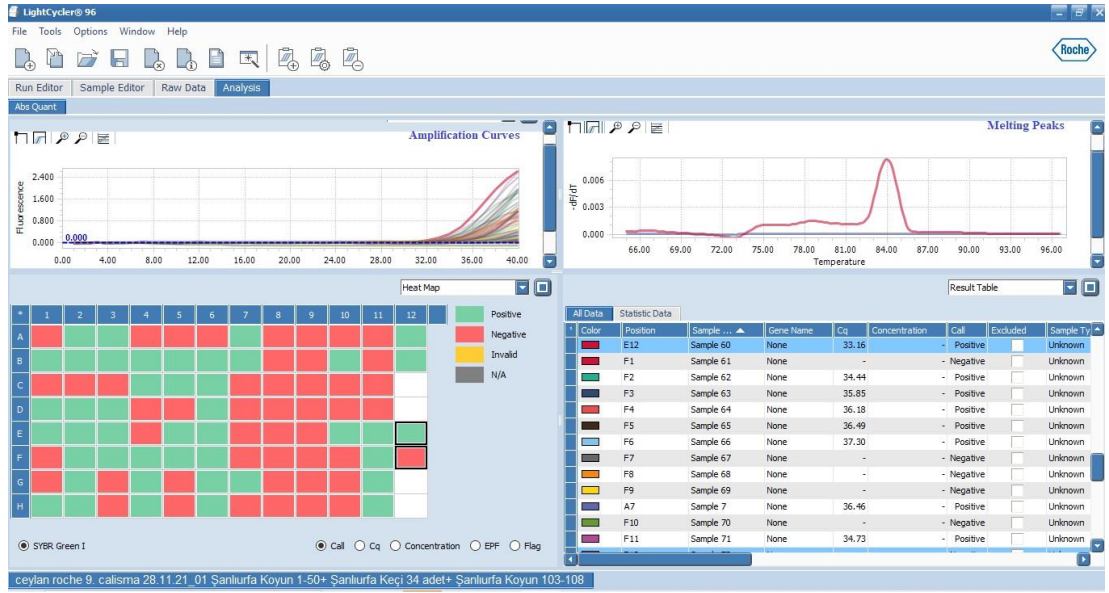


Şekil 14. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan keçilerde Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *A. ovis* enfeksiyonunun yüzde oranları (Renk skalası yoğunluk arttıkça koyulaşmaktadır)



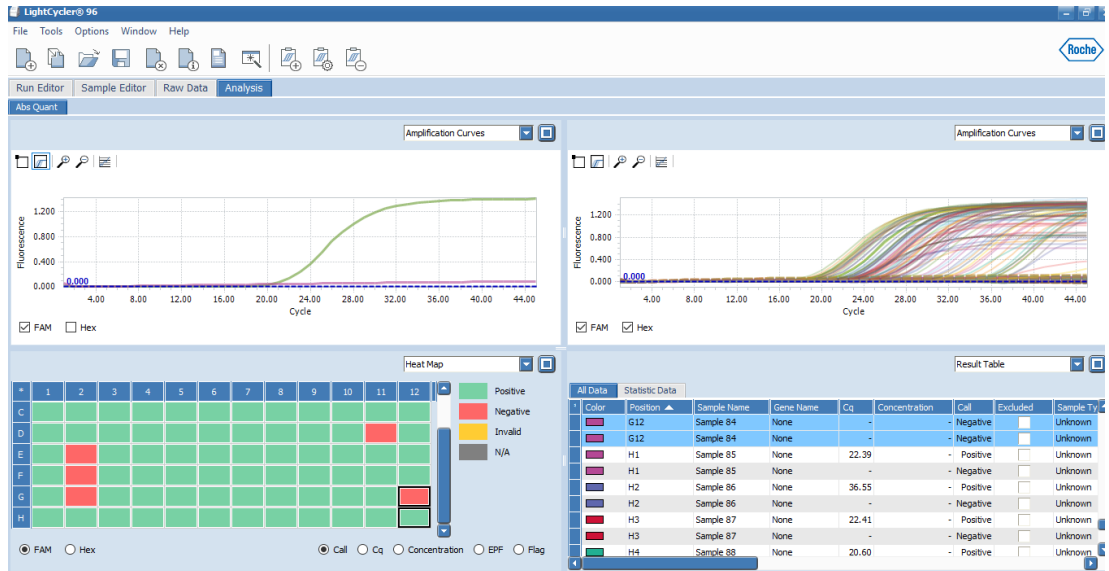
Şekil 15. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan keçilerde Rt-PCR yöntemi ile belirlenen *A. phagocytophilum* enfeksiyonunun yüzde oranları (Renk skalası yoğunluk arttıkça koyulaşmaktadır)

Çalışmada uygulanan Rt-PCR analizinin sonuçlarının görüntülendiği LightCycler 96 SW 1.1 bilgisayar programına ait görüntü Şekil 16'da verilmiştir. Görüntüde Şanlıurfa'ya ait bazı koyun ve keçi örneklerinde *A. phagocytophilum* etkenlerinin tablo görüntüsü (pozitif-yeşil, negatif-kırmızı) ile negatif ve pozitif kontrol örneklerinin ct (eşik döngüsü) değerleri gösterilmiştir.



Şekil 16. Şanlıurfa'ya ait bazı koyun ve keçi örneklerinin *A. phagocytophilum* yönünden incelendiğini gösteren Rt-PCR sonuç ekranı, Negatif ve Pozitif kontrol örneklerinin ct (eşik döngüsü) değerleri ve melting peaks değerleri

Çalışmada uygulanan Rt-PCR testinin sonuçlarının görüntülediği LightCycler 96 SW 1.1 bilgisayar programına ait bir diğer görüntü Şekil 17'de verilmiştir. Görüntüde Şanlıurfa'ya ait bazı koyun ve keçi örneklerinde *A. ovis* etkenlerinin tablo görüntüsü (pozitif-yeşil, negatif-kırmızı) ile negatif ve pozitif kontrol örneklerinin ct (eşik döngüsü) değerleri gösterilmiştir.



Şekil 17. Şanlıurfa'ya ait bazı koyun ve keçi örneklerinin *A. ovis* yönünden incelendiğini gösteren Rt-PCR sonuç ekranı, Negatif ve Pozitif kontrol örneklerinin ct (eşik döngüsü) değerleri

3.3. İstatistiksel analiz bulguları

Koyunlarda *A. ovis*, *A. phagocytophilum* ve koenfeksiyonların teşhisinde Rt-PCR ve mikroskopi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmiştir ($p<0.05$, ki-kare test). Çalışmada *A. ovis*, *A. phagocytophilum* ve koenfeksiyonların prevalans değerleri Rt-PCR ile daha yüksek düzeyde bulunmuştur.

İstatistiki analizler sonucu elde edilen veriler Çizelge 3.1.1’de verilmiştir.

Çizelge. 3.1.1. Koyunlarda Rt-PCR ve mikroskopi sonuçlarının istatistiki yönden karşılaştırılması.

	Ao	Ap	Miks	Ao+Miks	Ap+miks	Total
Rt-PCR	196/384 ^a	18/384 ^a	147/384 ^a	343/384 ^a	165/384 ^a	361/384 ^a
Mikroskopi	84/384 ^b	0/384 ^b	0/384 ^b	0/384 ^b	0/384 ^b	84/384 ^b

^{a, b}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir ($p<0.05$, ki-kare test).

Keçilerde de *A. ovis*, *A. phagocytophilum* ve koenfeksiyonların teşhisinde Rt-PCR ve mikroskopi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmiştir ($p<0.05$, ki-kare test). Çalışmada *A. ovis*, *A. phagocytophilum* ve koenfeksiyonların prevalans değerleri Rt-PCR ile daha yüksek düzeyde bulunmuştur.

İstatistiki analizler sonucu elde edilen veriler Çizelge 3.1.2’de verilmiştir.

Çizelge. 3.1.2. Keçilerde Rt-PCR ve mikroskopi sonuçlarının istatistiki yönden karşılaştırılması.

	Ao	Ap	Miks	Ao+Miks	Ap+miks	Total
Rt-PCR	251/384 ^a	9/384 ^a	52/384 ^a	303/384 ^a	61/384 ^a	312/384 ^a
Mikroskopi	152/384 ^b	0/384 ^b	0/384 ^b	0/384 ^b	0/384 ^b	152/384 ^b

^{a, b}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir ($p<0.05$, ki-kare test).

Çalışmada mikroskopi yöntemiyle *A. ovis*'e ait elde edilen veriler sonucunda koyun ve keçiler arasında istatistiksel olarak anlamlı (yüksek oranda) bir fark belirlenmiştir ($p<0.001$). Çalışmada keçilerde mikroskopi yöntemiyle elde edilen veriler sonucunda *A. ovis*'e ait prevalans değerleri koyunlara göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur. *Anaplasma phagocytophilum* mikroskobik muayene yönteminde tespit edilmediği için *A. phagocytophilum*'a ait istatistiksel veriler değerlendirilmemiştir.

İstatistiki analizler sonucu elde edilen veriler Çizelge 3.1.3'de verilmiştir.

Çizelge. 3.1.3. Koyun ve keçilerde mikroskopi sonuçlarının istatistiki yönden karşılaştırılması.

	Ao	Ap	Miks	Ao+Miks	Ap+miks	Total
Koyun-Mikroskopi	84/300 ^a	0/384	0/384	0/384	0/384	84/300 ^a
Keçi-Mikroskopi	152/232 ^b	0/384	0/384	0/384	0/384	152/232 ^b

a, b: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir ($p<0.05$, ki-kare test).

Çalışmada *A. ovis* ve koenfeksiyonlar bakımından Rt-PCR yöntemiyle elde edilen veriler sonucunda koyun ve keçiler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmiştir ($p<0.001$). Çalışma sonucunda koyun ve keçilerde Rt-PCR ile *A. ovis* ve koenfeksiyon görülme oranları karşılaştırıldığında enfeksiyonun koyunlarda keçilere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. İstatistiksel analizler sonucunda koyun ve keçilerde *A. phagocytophilum*'a ait verilerde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Bunun nedeni tekli enfeksiyon oranlarının *A. phagocytophilum*'da düşük olmasıdır fakat total enfeksiyon oranlarına bakıldığında elde edilen diğer sonuçlar gibi Rt-PCR'da da koyunlarda *A. phagocytophilum* oranı keçilerden daha yüksek tespit edilmiştir.

İstatistiki analizler sonucu elde edilen veriler Çizelge 3.1.4'de verilmiştir.

Çizelge. 3.1.4. Koyun ve keçilerde Rt-PCR sonuçlarının istatistiki yönden karşılaştırılması.

	Ao	Ap	Miks	Ao+Miks	Ap+miks	Total
Koyun-Rt-PCR	188/196 ^a	18/366	147/237 ^a	41/343 ^a	165/219 ^a	23/361 ^a
Keçi-Rt-PCR	133/251 ^b	9/375	52/332 ^b	81/303 ^b	61/323 ^b	72/312 ^b

a, b: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (p<0.05, ki-kare test).

4. TARTIŞMA

Anaplasmosis tropikal bovine ehrlichiosis veya gall sickness olarak da bilinen, *Anaplasma* soyuna bağlı çeşitli türlerin neden olduğu, tropik ve subtropik bölgelerdeki evcil ve yabani hayvanlarda yaygın olarak görülen, kenelerle nakledilen ve hayvancılık sektörünü olumsuz yönde etkileyen önemli enfeksiyöz bir hastalıktır (İnci ve ark 2013). *Anaplasma* türleri konaklarında farklı hücreleri enfekte ederler. *Anaplasma marginale*, *A. centrale* ve *A. ovis* ruminantların eritrositlerine, *A. platys* köpeklerin trombositlerine, *A. phagocytophilum* ise insan ve evcil hayvanların granülositlerine yerleşmektedir (Torina ve Santo 2012). *Anaplasma* türleri keneler (*Dermacentor*, *Amblyomma*, *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Hyalomma* ve *Ornitodoros* türleri) ile biyolojik olarak, kan emen bazı sinekler (Tabanidler, *Stomoxys* spp. ve birçok sivrisinek türü) ile mekanik olarak ve ayrıca iatrojenik olarak konaklara taşınırlar (Hornok ve ark 2011). Koyun ve keçilerde anaplasmosise sebep olan türlerin başında *A. ovis* ve *A. phagocytophilum* gelmektedir. *Anaplasma ovis*'in neden olduğu anaplasmosis genellikle asemptomatiktir, ancak bazen şiddetli anemiye sebep olabilmektedir (Stuen 2016). *Anaplasma phagocytophilum*'un neden olduğu enfeksiyon ise insanlarda human granulositik ehrlichiosis/anaplasmosis, hayvanlarda kene kaynaklı ateş (tick borne fever/ TBF), sığırlarda ise ayrıca mera humması (pasture fever) olarak adlandırılan hastalıklara sebep olmaktadır (Ataş ve ark 2016).

Küçük ruminant anaplasmosisi dünya genelinde birçok bölgede yaygın olarak bildirilmektedir. Küçük ruminant anaplasmosisinin yaygınlığı ile ilgili elde edilen veriler çalışmalarda kullanılan metotların spesifite ve sensitivite ile yakından ilgili olarak güncellenmektedir. Örneğin, Giemsa ile boyanmış sürme frotilerin mikroskopik muayenesi hassas bir yöntem olmadığı ve büyük uzmanlık gerektirdiği için *A. ovis* enfeksiyonlarının gerçek durumunu yansıtmada yetersiz kalmaktadır. Bu çalışmada mikroskopik muayene sonucunda elde edilen enfeksiyon oranları ile Türkiye'de ve dünyanın çeşitli bölgelerinde aynı metotla yapılan diğer çalışmaların sonuçları arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Bu farklılıkların temel sebebinin yukarıda sayılan nedenlerden kaynaklandığı düşünülebilir. Ayrıca ara konak ve son konak ilişkisinin coğrafik bölgelere göre farklılıklar göstermesi ve mikroskopik olarak muayene edilen hayvanların hastalığa spesifik klinik belirtilere sahip olup olmamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Renneker ve ark 2013b).

Kan protozonlarının teşhisi uzun yıllar boyunca hastalığa özel klinik bulguların görülmesi ve kan frotilerinin mikroskopik bakışı ile yapılmıştır. Türkiye'nin farklı yerlerinde yapılan çalışmalarda mikroskopik olarak koyunlarda *A. ovis*'in yaygınlığı %0,2-10 arasında değişmektedir (Göksu 1967, Hoffman ve ark 1971, Güralp ve ark 1975, Özer ve ark 1993, Ekici 2016). *Anaplasma ovis* Türkiye'de ilk olarak Ekrem (1931) tarafından bir koyunda mikroskopik muayene ile tespit edilmiştir. Aynı şekilde Bursa'da Lestoquard ve Ekrem (1931) tarafından bir koyunda tespit edilmiştir. Göksu (1967) klinik olarak şüpheli ve sağlıklı koyun ve keçilerde mikroskopik muayene yöntemini kullanarak yaptığı bir çalışmada İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde *A. ovis*'i %1,34 ve %2,23 oranında bildirmiştir. Hoffmann ve ark (1971) Akdeniz Bölgesi'nde mikroskopik muayene yöntemini kullanarak iki keçinin *Anaplasma* türleri ile enfekte olduğunu bildirmiştir. Güralp ve ark (1975), Balıkesir, Kırklareli ve Tekirdağ illerindeki sağlıklı koyunlarda yaptıkları çalışmada mikroskopik prevalansı %0,72 olarak bildirmişlerdir. Özer ve ark (1993) da mikroskopik olarak Malatya, Adıyaman, Şanlıurfa, Mardin ve Diyarbakır illerindeki sağlıklı koyun ve keçilerde yaptıkları çalışmada *Anaplasma* etkenlerini %0,2 oranında tespit etmiştir. Dünya genelinde de klinik ve mikroskopik muayene metotları kullanılarak yapılan çok sayıda çalışma bildirilmiştir (Ndung'u ve ark 1995, Talat ve ark 2005, Razmi ve ark 2006, Al saad ve ark 2009, Naqid ve Zangana 2011, Ahmadi Hamedani ve ark 2012). Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyun ve keçilerde anaplasmosis etkenlerinin yaygınlığını belirlemek için mikroskopik muayene yönteminin kullanıldığı bu çalışma sonucunda mikroskopik muayene ile 384 koyun kan numunesinden hazırlanan sürme kan frotilerinin 84 (%21,88)'ünde, 384 keçi kan numunesinden hazırlanan sürme kan frotilerinin 152 (%39,58)'sinde *A. ovis* tespit edilmiştir. Çalışmada mikroskopik muayene sonucunda elde edilen enfeksiyon oranları ile Türkiye'de ve dünyanın çeşitli bölgelerinde aynı metotla yapılan diğer çalışmalardaki oranlardan daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Moleküler biyolojideki gelişmeler, patojenlerin hassas ve spesifik tespitini büyük ölçüde ilerletmiştir. *Anaplasma ovis* DNA'sının tespiti için spesifik bir PCR protokolü oluşturulmasının ardından (de la Fuente ve ark 2002, 2007) bu patojen hakkında yeni veriler elde edilmiştir. Türkiye'de küçük ruminantlarda anaplasmosisin moleküler prevalansını belirlemek için yapılan çalışmalarda başta

konvansiyonel PCR olmak üzere diğerk moleküler yöntemlerden yararlanılmış, Rt-PCR metodu kullanılmamıştır. Türkiye genelinde moleküler yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda *A. ovis* oranı %18-67,06 (Renneker ve ark 2013b, Altay ve ark 2014, Öter ve ark 2016, Bilgiç ve ark 2017, Zhou ve ark 2017, Aktaş ve Özúbek 2018, Sevinç ve ark 2018, Benedicto ve ark 2020, Ceylan ve ark 2021) olarak tespit edilmiştir. 2013 yılından sonra küçükbaş hayvanlarda *A. ovis*'in gerçek prevalansını belirlemek için moleküler tabanlı çalışmalara ağırlık verilmeye başlanmıştır (Aydın ve Dumanlı 2019). Aydın, Muğla, Denizli, Burdur, Uşak, Aksaray, Konya, Van ve Şanlıurfa illerinden 830 sağlıklı koyunda türe özgü PCR kullanılarak yapılan araştırmaya göre, *A. ovis*'in prevalansı %31,4 olarak bildirilmiştir (Renneker ve ark 2013b). Altay ve ark (2014), PCR ile Bingöl, Elazığ, Malatya ve Muş illerinden 422 sağlıklı koyun ve keçiyi incelemiş ve örneklerin %67,6'sının *A. ovis* bakımından pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Ekici (2016), Konya ve Karaman illerinden 832 sağlıklı koyun ve keçi üzerinde mikroskopik muayene ve serolojik yöntemler kullanarak yaptığı çalışma ile *A. ovis*'in prevalansını %10 ve %75,12 olarak bildirmiştir. Öter ve ark (2016) Mayıs-Eylül 2014 tarihleri arasında İstanbul, Tekirdağ, Edirne ve Kırklareli illerinde yürüttükleri bir çalışmada klinik semptom göstermelerine bakılmaksızın rastgele seçilen 423 küçük ruminanttan (216 koyun ve 207 keçi) kan örneği toplanmışlar ve tür identifikasyonu için major surface protein 4 (msp4) genini hedef alan tür-spesifik PCR ve sekans analizi ile *Anaplasma* türlerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *A. ovis* koyun ve keçilerde sırayla %58,8 ve %42,51 oranında tespit edilmiştir. Bu çalışma, *A. ovis* ve *A. phagocytophilum*'un Türkiye'nin Trakya bölgesindeki koyun ve keçilerde varlığı ve dağılımı üzerine PCR ve sekans analizi ile yapılan ilk araştırmadır (Öter ve ark 2016). Bilgiç ve ark (2017)'nın, sağlıklı küçükbaş hayvanlarda türe özgü PCR kullanarak yaptıkları çalışmada, *A. ovis*'in yaygınlığının %63,3 olduğu bildirilmiştir. Zhou ve ark (2017) Konya ve Karaman illerinde kene ile bulaşan protozoer ve riketsial hastalıkların moleküler prevalansını belirlemek için yaptıkları bir çalışmada *A. ovis*'in moleküler prevalansını %60 olarak bildirmişlerdir. Han ve ark (2017) tarafından yapılan bir çalışmada koyunlar için patojen tür olan *A. ovis*'in keçiler için de patojen olduğu ve keçilerdeki enfeksiyon oranının yüksek olduğu bildirilmiştir. Sevinç ve ark (2018)'nın Konya ve Karaman illerinde babesiosis benzeri klinik bulgular gösteren koyunlarda PCR ve mikroskopik muayene yöntemiyle kan protozoonlarını araştırdıkları bir çalışmada mikroskopik muayene ve PCR metoduyla *A. ovis* oranını

sırayla %39,71 ve %56,94 olarak bildirmişlerdir. Türkiye’de koyun ve keçilerde *A. ovis* ve *A. phagocytophilum* ile ilgili çalışmalar mevcuttur fakat Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nin prevalansını bütün bölgeyi kapsayacak şekilde belirten bir çalışma mevcut değildir. Renneker ve ark (2013b)’nın Türkiye (Van ve Şanlıurfa), Irak, Sudan ve Portekiz’de, koyunlarda *Anaplasma* etkenlerini moleküler olarak araştırdıkları bir çalışmada Van ve Urfa’da *A. ovis* etkenlerinin oranını 14/132 (%10,6) olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada Şanlıurfa’dan topladığımız örneklerde Rt-PCR analizi ile *A. ovis*’e %98,15 gibi yüksek bir oranda (106/108) rastlanmıştır. Aktaş ve Özübek (2018)’in Güneydoğu illerinden Gaziantep ve Adıyaman ile Türkiye’nin başka bölgesinden iki şehirden topladıkları örneklerle küçük ruminantlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada Gaziantep’ten 68 koyun ve 38 keçiden; Adıyaman’dan 63 koyun ve 44 keçiden topladıkları örnekleri *A. ovis* yönünden MSP1a proteinlerini hedef belirleyerek PCR ile incelemiş, sırasıyla Gaziantep’te 12 (%17,64) koyun ve 7 (%18,42) keçi; Adıyaman’da 12 (%19,04) koyun ve 5 (%11,36) keçi etkenlere rastlamışlardır. Bu çalışmada ayrıca koyun ve keçilerde *A. ovis* etkenleri bakımından bir farklılık gözlemlenmediği, fakat etkenleri taşıyan hayvanların aynı zamanda *Rhipicephalus bursa* ve *Rhipicephalus turanicus* türü kenelerle enfeste olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmamızda Rt-PCR metoduyla *A. ovis*’e Gaziantep’te koyunlarda 5/23 (%21,74), keçilerde 14/35 (%40) oranında; Adıyaman’da koyunlarda 5/9 (%55,56), keçilerde 12/24 (%50) oranında rastlanmıştır. Çalışmamızda tespit edilen oran Aktaş ve Özübek (2018)’in yaptığı çalışmada elde edilen oranlardan daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Benedicto ve ark (2020)’nin Türkiye’nin 10 şehrinden koyun ve keçilerde kene kaynaklı hastalıkları mikroskopi ve PCR yöntemiyle araştırdıkları bir çalışmada Diyarbakır’da *A. ovis*’e mikroskobide %22,6 oranında, PCR’da ise %46,6 oranında rastlamışlardır. Çalışmamızda Diyarbakır’dan alınan koyun örneklerinde *A. ovis*’e mikroskobide %17,58; Rt-PCR’da ise %100 gibi yüksek bir oranda rastlanmıştır. Ceylan ve ark (2021a)’nın Türkiye genelinde koyunlara kenelerle bulaşan hastalıkların prevalansını moleküler olarak belirlemek için yaptıkları bir çalışmada Batman ve Mardin’den topladıkları numunelerde Batman’da %43,37 oranında *A. ovis*; Mardin’de %35 oranında *A. ovis*’e rastladıklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda koyunlarda *A. ovis*’e Batman’da 38/38 (%100), Mardin’de 32/33 (%96,97) gibi yüksek bir oranda rastlanılmıştır. Çalışmamızda tespit ettiğimiz değerler Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde yapılan diğer çalışmaların genelinden yüksek tespit edilmiştir. Aradaki

bu farkın örnek toplama sırasında mevsim koşullarının diğer çalışmalardaki bölgelerden farklı olması nedeniyle hastalığın naklinde görev alan kene popülasyonlarının değişmesinden, örnek alınan bölgelerin hastalığın yüksek oranda görüldüğü sınır bölgelere (Suriye, Irak) yakın olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca kene kontrolü uygulamalarının yetersiz olması ve bölge halkının hastalıklardan korunma konusunda yeterince bilinçlendirilmiş olmaması da bu etkenler arasında sayılabilmektedir.

Dünya genelinde *A. ovis*'in moleküler yöntemlerle tespiti için yapılan birçok çalışma mevcuttur. Küçükbaş hayvanlarda anaplasmosise sebep olan *A. ovis* ilk olarak 1912 yılında Bevan tarafından bir koyunda bildirilmiş daha sonra Asya, Avrupa, Afrika ve Amerika gibi dünyanın birçok ülkesinden vakalar bildirilmiştir (Renneker ve ark 2013a). Ndung'u ve ark (1995)'nin Kenya'da yaptıkları bir çalışmada mikroskopik bakı ve DNA hibridizasyonu yöntemiyle inceledikleri 149 keçinin 127'sinde *A. ovis* tespit edilmiş ve pozitif 127 keçinin 119 'u (%94) cELISA testi ile de seropozitif olarak belirlenmiştir. Ahmadi-Hamedani ve ark (2009)'nın İran'da yaptığı bir çalışmada keçilerden toplanan 193 kan örneği *A. ovis* yönünden PCR tekniğiyle incelenmiş, 123 örnek (%63,73) *A. ovis* yönünden pozitif bulunmuştur. İtalya'da, doğal enfekte ve hastalık semptomu gösteren kötü durumdaki bir koyun sürüsünden toplanan örneklerin %37'sinin *A. ovis* bakımından pozitif olduğu bildirilmiştir (Torina ve ark 2010). Shabana ve ark (2018) Suudi Arabistan'da *A. ovis*'i PCR ile koyunlarda %25,3; keçilerde %15,5 oranında bildirmiştir. Ghaffar ve ark (2020) *A. ovis*'i PCR ile koyunlarda %29,33 ve keçilerde %25,3 olarak tespit etmişlerdir. Lacasta ve ark (2021)'nin İspanya'da *A. ovis*'in moleküler prevalansını belirlemek için Rt-PCR kullanarak yapmış olduğu bir çalışmada *A. ovis*'in oranını %91,1 olarak bildirmişlerdir. Kasozi ve ark (2021) Uganda'da *A. ovis*'i PCR ile koyunlarda %26,1; keçilerde %25,4 olarak bildirmişlerdir. Bauer ve ark (2021) qPCR ile koyunlarda *A. ovis*'i %32 oranında tespit etmişlerdir. Noaman ve Samand (2022) İran'da koyunlarda *A. ovis*'i PCR yöntemi kullanarak %28,3 oranında tespit etmişlerdir. Bu ve diğer PCR verileri (de la Fuente ve ark 2005, Hornok ve ark 2007, Liu ve ark 2012), *A. ovis*'in birçok coğrafi bölgede endemik olduğunu göstermektedir (Renneker ve ark 2013b).

Chi ve ark (2013)'nin Rt-PCR yöntemini kullanarak ilk defa koyunlarda *A. ovis*'i tespit etmek için yaptıkları çalışmada, aynı anda PCR yöntemini de

uygulayarak iki testin karşılaştırması yapılmış, test sonuçları karşılaştırıldığında Rt-PCR'ın *A. ovis*'in teşhisinde çok daha yüksek duyarlılığa ve kullanışlılığa sahip olduğu ortaya koyulmuştur. Aynı zamanda çalışmamızda *A. ovis* etkenlerinin Rt-PCR ile teşhisinde Chi ve ark (2013) tarafından dizayn edilen primerler ve prob kullanılmıştır. Çalışmamızda koyun ve keçi kan numunelerinin tamamına DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra Rt-PCR testi uygulanarak koyun numunelerinin %89,32 (343)'sinde *A. ovis*, keçi numunelerinin %78,91 (303)'inde *A. ovis* tespit edilmiştir. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyun ve keçilerde anaplasmosis etkenlerinin yaygınlığını belirlemek için Rt-PCR metodunun kullanıldığı çalışmamızda elde edilen sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmada mikroskopik muayene yöntemi ve Rt-PCR kullanılmasının başlıca nedeni mikroskopik muayenenin saha şartlarında dahi yapılabilmesi ve hızlı sonuç alınması iken Rt-PCR'ın daha spesifik ve kesin sonuçlar vermesidir. Bu çalışmada koyun ve keçilerde mikroskopik muayene metodu ile *A. ovis*'e ait elde ettiğimiz sonuçlar (%21,88/%39,58) ile Rt-PCR metodu ile elde ettiğimiz sonuçlar (%89,32/%78,91) arasında yüksek oranda farklılık çıktığı gözlenmiştir. Bu durumun sebebi olarak Rt-PCR metodunun, mikroskopik muayene metoduna göre daha spesifik ve hassas bir yöntem olması düşünülmüştür. Bu çalışmada mikroskopik muayene bulguları ile Rt-PCR analizleri arasında çıkan yüksek orandaki farklılığın bir diğer nedeni klinik semptom göstermeyen sağlıklı hayvanlardan kan alınması ve kan alındığı sırada mevsim sıcaklığının, etkenin naklini sağlayan kenelerin yaşamaları için uygun olmaması olarak gösterilebilir. Ayrıca parazitemi seviyesinin %0,1-0,2'nin üzerinde seyrettiği akut vakalarda etken tespiti mikroskopik muayene ile kolayca yapılabilirken, subklinik veya latent enfeksiyonlarda paraziteminin düşük oluşu etkenlerin tespitini zorlaştırmaktadır (Shompole ve ark 1989, Renneker ve ark 2013). Diğer yandan enfeksiyon esnasında enfekte eritrositlerin retiküloendotelyal sistem tarafından dolaşımdan uzaklaştırılması akut vakalarda dahi parazitemi seviyesinin hızla düşmesine sebep olmaktadır. Bundan dolayı akut enfeksiyon sırasında aynı hayvandan farklı saatlerde yapılan mikroskopik muayenelerde dahi parazitemi seviyelerinde büyük farklılıklar ortaya çıkabilmektedir. Çalışmada mikroskopide pozitif çıkan bazı örnekler (Kilis 1 numaralı koyun örneği) Rt-PCR'da negatif sonuç vermiştir. Bunun nedeninin frotilerin mikroskopik muayenesi sırasında

eritrositlerdeki Howell Jolly cisimcikleri, retikülositlerdeki bazofilik noktalar ve boya kalıntılarının *Anaplasma* etkenleri ile karıştırılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Anaplasmosis enfeksiyonlarında saydığımız etmenler nedeniyle mikroskopik muayene ile etkenlerin teşhisi zorlaşmakta ve teşhiste hatalara sebep olmaktadır. Böyle hayvanların teşhisinde serolojik testlerden (ELISA ve IFA testleri gibi) ve moleküler tekniklerden (PCR, RFLP, LAMP) de yararlanılmaktadır (Kocan ve ark 2000, Waal 2000, Dik ve Sevinç 2002, Sevinç 2004, Gökçe ve ark 2008). Yapılan çalışmalarda *Anaplasma* türlerinin teşhisi için mikroskopik muayene ve cELISA testi kombinasyonunun "Altın standart" olarak kabul edildiği bildirilmiştir (Ekici ve Sevinç 2011). İndirekt immüno Floresan antikor testinin de kan protozoonlarının ve Rickettsial etkenlerin teşhisinde düşük maliyeti nedeniyle epidemiyolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir (De Kroon ve ark 1990, Hungerford ve Smith 1997).

Mikroskopik muayene ile teşhisteki zorluklara benzer şekilde, serolojik çalışmalarda da genetik olarak birbirine benzeyen patojenlerin çapraz reaksiyon oluşturma riski bulunmaktadır. Bu duruma örnek olarak, *A. marginale* etkenlerinin saptanması için gerçekleştirilen bir çalışmada, *A. marginale*'ye özgü MSP-5 yüzey proteini kullanılarak gerçekleştirilen ELISA testinin sonucunda *A. marginale*'nin yanı sıra *A. centrale*, *A. ovis* ve *A. phagocytophilum*'a karşı da antikor oluşumu saptanmıştır (Palmer ve ark 1994, Dreher ve ark 2005). Ayrıca yapılan başka bir çalışmada, *A. marginale* antijenlerine karşı oluşan antikorların spesifik olarak tespiti için yapılan tamamlayıcı fiksasyon testinde (complement fixation test-CFT) *A. ovis* antijenleri ile çapraz reaksiyon oluştuğu bildirilmiştir (Kuttler 1984). Yapılan çok sayıda çalışmada PCR metodunun mikroskopik muayene ve serolojik testlere kıyasla birçok avantaja sahip olduğu bildirilmiştir. Bu avantajlardan bazıları ise PCR'ın birden fazla *Anaplasma* alt türünü ve koenfeksiyonları tespit edebilmesi ile *Anaplasma* alt türlerinin tespitinde de hassas ve güvenilir tanı yöntemi olarak kabul edilmesidir (Dumler ve Brouqui 2004, Torina ve ark 2012, Shabana ve ark 2018).

Küçük ruminantlarda *A. phagocytophilum*'un mikroskopik muayene ile teşhisi için yapılan çalışmalar az sayıda da olsa mevcuttur. Bu çalışmalar sonucunda küçük ruminantlarda *A. phagocytophilum*'un oranı %0- %9,86 (Gökçe ve ark 2008, Sevinç ve ark 2018) olarak bildirilmiştir. Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyun ve keçilerde *Anaplasma* etkenlerinin yaygınlığını belirlemek

için gerçekleştirilen bu çalışmada elde edilen sonuçlar daha önce elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada koyunlardan ve keçilerden alınan kan numunelerinden hazırlanan frotilerden hiçbirinde mikroskopik muayene yöntemi ile *A. phagocytophilum* etkenleri tespit edilememiştir. Bunun nedeni olarak *A. phagocytophilum* etkenlerinin vücuda girdikten sonra enfeksiyonu izleyen 3-4 hafta boyunca granülositlerde bulunmalarına rağmen, frotilerde enfeksiyondan sonraki 3-15. günler arasında görülmeleri gösterilebilir. Bu sebeple froti ile teşhis ancak enfeksiyonun ateşli dönemi olarak adlandırılan ilk 3-8 günlük evrede yapılabilmektedir. Saha taramalarında enfekte hayvanları enfeksiyonun ateşli döneminde yakalama şansı düşük olduğundan ve enfekte hayvanların büyük bir bölümünün kronik dönemde olup bu dönemde hazırlanan frotilerde morfolojik detayları belirgin olmayan tekli formların görülmesinden dolayı *A. phagocytophilum*'un mikroskopik muayenede kesin teşhisi oldukça güçtür (Gökçe ve ark 2003).

Bu çalışmada koyun ve keçi kan numunelerinin tamamına DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra Rt-PCR testi uygulanarak koyun numunelerinin %42,97 (165)'sinde; keçi numunelerinin ise %15,89 (61)'unda *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. Türkiye genelinde moleküler yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda *A. phagocytophilum*'un moleküler prevalansı %0- 66,7 (Gökçe ve ark 2008, Altay ve ark 2014, Öter ve ark 2016, Bilgiç ve ark 2017, Zhou ve ark 2017, Sevinç ve ark 2018, Benedicto ve ark 2020, Ceylan ve ark 2021a) olarak bildirilmiştir. Türkiye'de küçük ruminantlarda *A. phagocytophilum*'a ait ilk veriler, Kars ilinde bulunan 104 sağlıklı koyun üzerinde serolojik yöntemler kullanılarak yapılan çalışma ile bildirilmiştir. Çalışmada *A. phagocytophilum*'un seroprevalansı %19,2 olarak tespit edilmiştir (Ünver ve ark 2005). Gökçe ve ark (2008)'nın Artvin, Rize, Trabzon, Giresun, Ordu ve Samsun illerinden 750 sağlıklı koyunda mikroskopik muayene, serolojik testler ve PCR yöntemlerini kullanarak *Anaplasma* etkenlerinin prevalansını araştırmak için yaptıkları bir çalışmada, *A. phagocytophilum*'un prevalansını sırayla %9,86, %14,86 ve %12,35 olarak bildirmişlerdir. Altay ve ark (2014)'nın Bingöl, Elazığ, Malatya ve Muş illerinde koyun ve keçilerde anaplasmosisin prevalansını belirlemek için yaptıkları çalışmada *A. ovis* ve *A. phagocytophilum*'u PCR metoduyla sırasıyla %67,06, %19,66 olarak bildirmişlerdir. Ataş ve ark (2016)'nın Şanlıurfa yöresindeki koyun ve keçilerde PCR

ve sekans analizi ile yaptıkları çalışmada *A. phagocytophilum*'un varlığı bu ilde ilk defa ortaya konmuş ve etkene ait epidemiyolojik veriler de ilk olarak elde edilmiştir. Çalışmada 134 koyun ve 74 keçiden aldıkları örnekleri *A. phagocytophilum* yönünden PCR yöntemiyle incelemişler ve 134 koyunun 8'inde (%5,97); 74 keçinin 1'inde (%1,35) etkenlere rastlamışlardır. Çalışmamızda Şanlıurfa'da koyunlarda Rt-PCR ile *A. phagocytophilum*'a %77,78 (84/108); keçilerde de %8,82 (3/34) gibi daha yüksek oranda rastlanmıştır. Öter ve ark (2016)'nın İstanbul, Tekirdağ, Edirne ve Kırklareli illerinde koyun ve keçilerde *Anaplasma* türlerinin prevalansını belirlemek için yürüttükleri bir çalışmada PCR metodu ile *A. phagocytophilum* yönünden pozitif koyun ve keçilerin yüzdesini sırayla %11,11 ve %5,8 olarak bildirmişlerdir. Bilgiç ve ark (2017)'nin Türkiye'nin 18 ilinde küçükbaş hayvanlarda kan protozoonlarını türe özgü PCR kullanarak araştırdıkları bir çalışmada Adana (1 koyun) ve Muğla (30 keçi) illerinde tespit ettikleri *A. phagocytophilum*'un prevalansını %2,9 olarak bildirmiştir. Konya ve Karaman'da Sevinç ve ark (2018) tarafından yapılan bir çalışmada babesiosis benzeri klinik bulgular gösteren koyunlarda kan protozoonlarını araştırdıkları bir çalışmada mikroskopik muayene ve PCR metoduyla *A. phagocytophilum* yaygınlığını %0 ve %2,3 olarak bildirmişlerdir. Benedicto ve ark (2020)'nin Türkiye'nin 10 şehrinden kene ile enfeste koyun ve keçilerde kene kaynaklı hastalıkları mikroskopi ve PCR yöntemiyle araştırdıkları bir çalışmada, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nden Diyarbakır ilinden de örnek toplamışlardır. Yapılan çalışmada *A. phagocytophilum* mikroskopik olarak tespit edilmemiş olup, PCR metodu sonucunda yüksek düzeyde *A. phagocytophilum* (%66,7) pozitifliği belirlenmiştir. Çalışmamızda Diyarbakır'dan toplanan koyun örneklerinde mikroskobide *A. phagocytophilum*'a rastlanmazken; Rt-PCR ile etkenin moleküler prevalansı 9/91 (%9,89) olarak belirlenmiştir. Benedicto ve ark (2020)'nin yaptığı çalışmada toplanan kanlar kene ile enfeste hayvanlardan toplanmış, çalışmamızda örnek alınan koyunlar kene yönünden muayene edilmiş ve keneye rastalanmamıştır. İki çalışma arasındaki bu yüksek farkın nedeninin bu durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ceylan ve ark (2021a)'nın Türkiye genelinde koyunlara kenelerle bulaşan hastalıkların prevalansını moleküler olarak belirlemek için yaptıkları bir çalışmada Güneydoğu Anadolu'nun iki ilinden topladıkları numunelerde; Mardin'de %70 Batman'da ise %42,11 oranında *A. phagocytophilum* pozitifliği saptamışlardır. Çalışmamızda koyun örneklerinde Rt-PCR metoduyla Mardin'de %66,67 (22/33), Batman'da %21,05 (8/38) oranında *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz oranlar Ceylan ve ark (2021a)'nın yapmış olduğu çalışmada elde edilen oranlardan daha düşük bulunmuştur. Bu farklılığın nedeninin metottaki farklılıklar ve çalışmada kullanılan koyun kan örneklerinin enfeksiyonun geçişini sağlayan kenelerin yaşamlarına daha uygun olan, mevsimin daha sıcak olduğu aylarda (Mayıs-Ağustos) toplanmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Dünya genelinde *A. phagocytophilum*'un yaygınlığını belirlemeye yönelik yapılan birçok çalışma mevcuttur. Yang ve ark (2016b)'nın Güneydoğu Çin'de koyun ve keçilerde *A. phagocytophilum* etkenlerini PCR yöntemiyle araştırdıkları bir çalışmada 421 örnekten 106'sı (%25,2) pozitif tespit edilmiş; çalışmada enfeksiyon oranının koyunlarda (%35,1; 40/114), keçilerden (%26,4; 66/307) daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Song ve ark (2020)'nın keçilerde *A. phagocytophilum* ve *A. capra*'yı duplex rtPCR ve konvensiyonel PCR kullanarak araştırdıkları bir çalışmada duplex rtPCR ile 124 kan örneğinden 31'inin (%25,0) *A. capra* ve 108'inin (%87,1) *A. phagocytophilum* yönünden pozitif olduğu tespit edilmiştir. İki yöntem karşılaştırıldığında, referans olarak da belirlenen konvensiyonel PCR ile pozitif oran *A. capra* için %20,2 (25/124) ve *A. phagocytophilum* için %76,6 (95/124) olarak tespit edilmiş ve bu iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Bauer ve ark (2021) qPCR ile koyunlarda *A. phagocytophilum*'u %25 oranında tespit etmişlerdir. Yan ve ark (2022) koyun ve keçilerde *A. phagocytophilum*'u RFLP metodu ile araştırdıkları bir çalışmada *A. phagocytophilum*'u keçilerde %27,6 (285/1031); koyunlarda %9,1 (28/307) olarak bildirmişlerdir.

Çalışmada elde edilen bulguların, Türkiye ve dünya genelinde *A. phagocytophilum*'un moleküler yöntemlerle tespiti için yapılan çalışmalarla uyumluluk gösterdiği ancak bazı çalışmalarda elde edilen verilerden farklı olduğu görülmüştür. Bu farklılığın nedeninin araştırmaların yapıldığı bölgeler arasındaki coğrafik ve iklimsel farklılıklar, vektör kene türlerinin varlığı ve enfeksiyonun devamlılığında rol oynayan rezervuar konakların varlığı *Anaplasma* enfeksiyonlarının görülme sıklığını direkt olarak etkileyen faktörler olduğu düşünülmektedir (Ahmadi-Hamedani ve ark 2009, Altay ve ark 2014). Bu farklılıklara ek olarak numune toplanan hayvanların kene yönünden muayene edilip kene enfestasyonu saptanmaması enfeksiyonun durumundaki değişikliğe sebep olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca kene kontrolü uygulamalarının yetersiz olması,

bölge halkının hastalıklardan korunma konusunda yeterince bilinçlendirilmiş olmaması da bu etkenler arasında sayılabilmektedir.

Türkiye, Etiyopya, Tunus, Sudan ve Çin'den bazı araştırmacılar, koyunların kene kaynaklı patojenlerle keçilere göre daha yüksek oranda enfekte olduğunu bildirmiş ve bu durumu keçilerin hastalıklara doğal dirençli olması ile koyunlarda kene enfestasyonunun fark edilmemesine neden olan geniş tüy örtüsü bulunmasına bağlamışlardır (Guo ve ark 2002, Aydın ve ark 2013, Gebrekidan ve ark 2014, Rjeibi ve ark 2014, Lee ve ark 2018). Bu çalışmada *A. ovis* ve *A. phagocytophilum* oranlarında koyun ve keçiler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Her iki türde ve her iki teşhis metodunda da enfeksiyon oranı koyunlarda keçilere göre daha yüksek tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen istatistiki veriler dünya genelinde yapılan çalışmalardaki sonuçlarla benzer bulunmuştur.

Bu çalışmada *A. ovis* ve *A. phagocytophilum* ile miks enfekte olan koyun (%38,28) ve keçi (%13,54) enfeksiyon oranı nispeten yüksek bulunmuştur. İki veya daha fazla patojen ile eş zamanlı enfeksiyon, enfekte hayvanlarda hastalığın şiddetinin artmasına sebep olmaktadır (Renneker ve ark 2013b). Miks enfeksiyonlar özellikle stresli koşullarda, tek türle enfekte hayvanlara kıyasla kene kaynaklı hastalıkların prognozunu olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Zhou ve ark 2017, Sevinç ve ark 2018). *Anaplasma* türleri ve diğer piroplasm etkenleri ile miks enfeksiyona sahip koyun ve keçilerde yeni etkileşimleri keşfetmek, hastalığın klinik etkilerini belirlemek ve uygulanacak olan en iyi terapötik uygulamayı seçmek için daha fazla çalışma yapılmalıdır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Türkiye dahil tüm dünyada kene kaynaklı hastalıkların önemi giderek artmaktadır. Küresel ısınma, çevresel ve ekolojik değişiklikler ve uygun habitatların varlığı, kenelerin etkisini artırmakta ve zoonotik özelliklere sahip kene kaynaklı hastalıkların sıklıkla ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Türkiye'de hayvanlarda ve insanlarda protozoer (babesiosis, theileriosis, cytauxzoonosis, hepatozoonosis), filariyal (acanthocheilonemiasis), riketsiyel (anaplasmosis, ehrlichiosis, aegyptianellosis, kene kaynaklı tifüs, *Candidatus Rickettsia vini*, *Lyme borreliosis*, kene kaynaklı tekrarlayan ateş, tularaemi, bartonellosis, hemoplasmosis) ve viral (kene kaynaklı ensefalit, Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi, luping hastalığı, yumru cilt hastalığı) olmak üzere birçok kene kaynaklı hastalık bulunmaktadır (İnci ve ark 2016). Özellikle insanlarda görülen ölümcül viral salgınlar başta olmak üzere, artan kene kaynaklı hastalık vakaları, insanlar arasında bu hastalıklar açısından farkındalık oluşturmuş ve aynı zamanda endişeye yol açmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) özellikle insanlarda ve hayvanlarda kene istilasına ve kene kaynaklı hastalıkların kontrolüne karşı stratejiler geliştirmekle ilgilenen 'Tek Sağlık' girişimi adı verilen yeni bir strateji geliştirmiştir. Türkiye'nin bu yeni stratejiyi benimsemesi ve DSÖ, Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE), Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC), Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) gibi uluslararası kuruluşlarla koordineli olarak özel araştırma ve kontrol programları oluşturması kene kaynaklı hastalıklarla mücadele için faydalı olacaktır.

Anaplasma türleri insanlar dahil olmak üzere geniş bir konak yelpazesine sahiptir ve dünya genelinde yayılım göstermektedir. *Anaplasma* cinsinde bulunan bazı türlerin zoonotik potansiyeli halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Karlsen ve ark 2020). Anaplasmosis; *A. marginale*, *A. centrale*, *A. bovis*, *A. ovis*, *A. platys*, *A. capra* ve *A. phagocytophilum* gibi *Anaplasma* türlerinin neden olduğu, insan ve hayvanlarda sıklıkla görülen iatrojenik yollarla ve kenelerle bulaşan vektör kaynaklı bir enfeksiyondur.

Diğer kan paraziti enfeksiyonlarında olduğu gibi anaplasmosisin teşhisinde de güvenilir test metotlarının kullanılması gerekmektedir. Bu nedenle mevcut tanı yöntemlerinin değerlendirilerek doğru metodun seçilmesi önemlidir. Metot seçimi ise

testin saha ve/veya laboratuvar şartlarına uygun olup olmadığı; maliyeti ve testin yapılması için gereken sürenin uzunluğu gibi şartlar gözetilerek yapılmaktadır. Bu çalışmada kullandığımız yöntemlerden biri olan mikroskopik muayene yöntemi güvenilir sonuçlar sağlamakta, ancak taşıyıcı hayvanların teşhisinde diğer yöntemler kadar verim sağlamamaktadır. Bu çalışmada kullandığımız bir diğer yöntem olan PCR yöntemi ise farklı *Anaplasma* alt türleri arasında eş zamanlı ayırım sağlayan en hassas ve güvenilir tanı aracı olması ile diğer yöntemlerin önüne geçmektedir.

Bu çalışma Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki koyun ve keçilerde *Anaplasma* etkenlerinin yaygınlığını belirlemek amacıyla mikroskopik muayene yöntemi ve Rt-PCR testi uygulanarak yapılmıştır. Anaplasmosisle mücadele edebilmek için epidemiyolojik özelliklerinin açıklığa kavuşturulması, endemik bölgelerin belirlenmesi, bulaşmada rol oynayan vektörlerin tespiti, hasta hayvanların teşhis ve tedavilerinin yapılması gerekmektedir. Bu nedenle, hastalığın Türkiye koyun popülasyonu içerisinde önemli bir yer tutan Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki yoğunluğunun belirlenmesi ve gerekli tedbirlerin alınması oldukça önemlidir. Bu amaçla, bu araştırmada mikroskopik bakıya ilave olarak moleküler teşhis yönteminden de yararlanılmış olup, *Anaplasma ovis* ve *Anaplasma phagocytophilum*'un Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki prevalansının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamız Türkiye'de anaplasmosisin koyun ve keçilerde Rt-PCR ile tespitine dayalı ilk çalışmadır.

Çalışmada klinik olarak sağlıklı görünen 768 koyun ve keçi mikroskopik olarak *A. ovis* ve *A. phagocytophilum* yönünden muayene edilmiştir. Mikroskopik muayene ile 384 koyunun 84 (%21,88)'ünde, 384 keçinin 152 (%39,58)'sinde *Anaplasma* spp. etkenleri tespit edilmiştir. Koyun ve keçilere ait kan numunelerinin tamamına Rt-PCR testi uygulanarak koyun numunelerinin %89,32 (n:343)'sinde *A. ovis*, %42,97 (n:165)'sinde *A. phagocytophilum*; keçi numunelerinin %78,91 (n:303)'inde *A. ovis*, %15,89 (n:61)'unda *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, mikroskopik muayenede *A. phagocytophilum* tespit edilmemesi ve *A. ovis*'e ait verilerin mikroskopik muayene ve Rt-PCR test sonuçlarında büyük farklılık göstermesi nedeniyle moleküler yöntemlerin *Anaplasma* türlerinin tespitinde daha yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada da tespit edildiği üzere polimeraz zincir reaksiyonu testleri

(Rt-PCR, PCR-RFLP gibi) ve sekans analizleri dahil olmak üzere moleküler düzeydeki ilerlemeler, patojenlerin hassas ve spesifik tespitini gün geçtikçe daha da kolaylaştıracaktır.

Mevcut çalışmanın, Türkiye'deki kene kaynaklı patojenlerden *Anaplasma* türlerinin moleküler epidemiyolojisine ve bu hastalıkların öngörülen kontrol stratejilerine ilişkin verilere katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Ahmadi-Hamedani M, Khaki Z, Rahbari S, Kazemi B, Bandehpour M, 2009. Molecular identification of anaplasmosis in goats using a new PCR-RFLP method. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, Vol. 10, No. 4, Ser. No. 29.
- Ahmadi-Hamedani M, Khaki Z, Rahbari S, Ahmadi-hamedani MA, 2012. Hematological profiles of goats naturally infected with *Anaplasma ovis* in the north and northeast Iran. *Comparative Clinical Pathology*, 21, 1179-82
- Aktas M, Altay K, Dumanli N, Kalkan A, 2009. Molecular detection and identification of Ehrlichia and Anaplasma species in ixodid ticks. *Parasitol. Res.* 104, 1243–1248.
- Aktaş M, 2015. Ixodida (Keneler). In: *Arthropodoloji*. Eds: K. Zafer Karaer ve Nazir Dumanlı. Medisan yayın serisi: 81. Birinci baskı. Medisan Yayınevi. Pp: 68-82.
- Aktaş M, Özübek S, 2018. *Anaplasma ovis* genetic diversity was detected by major surface protein 1a and its prevalence in small ruminants. *Vet Microbiol* 217:13-17. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.02.026>
- Almazán C, Fourniol L, Rouxel C, Alberdi P, Gandoin C, Lagrée A-C, Boulouis H-J, de la Fuente J and Bonnet SI, 2020. Experimental Ixodes ricinus-Sheep Cycle of *Anaplasma phagocytophilum* NV2Os Propagated in Tick Cell Cultures. *Front. Vet. Sci.* 7:40. doi: 10.3389/fvets.2020.00040
- Altay K, Dumanlı N, Aktaş M, Özübek S, 2014. Survey of *Anaplasma* infections in small ruminants from east part of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 20(1):1-4. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2013.9189>
- Altay K, Erol U, Şahin ÖF, 2022. The first molecular detection of *Anaplasma capra* in domestic ruminants in the central part of Turkey, with genetic diversity and genotyping of *Anaplasma capra*. *Tropical Animal Health and Production*, 54, 129.
- Alsaad KM, Al-obaidi QT, Esmael SA, 2009. Hematological and biochemical study on the effect of some common blood parasites in native goats in Mosul area. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 23, 101-6.
- Aouadi A, Leulmi H, Boucheikhchoukh M, Benakhla A, Raoult D, Parola P, 2017. Molecular evidence of tick-borne hemoprotozoan-parasites (*Theileria ovis* and *Babesia ovis*) and bacteria in ticks and blood from small ruminants in Northern Algeria. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 50, 34–39.
- Araz E, Tanyüksel M, 2009. Moleküler Amplifikasyon Teknikleri. Ed, Özcel MA, Tanyüksel M, Eren H, Meta Basım Matbaa, İzmir, s. 337-366.
- Ataş M, Dumanlı N, Altay K, 2016. Şanlıurfa yöresinde koyun ve keçilerde *Anaplasma phagocytophilum*'un moleküler yöntemlerle araştırılması. *Manas J Agr Vet Life Sci*, 6, 2, 1-8.
- Atıf FA, 2016. Alpha proteobacteria of genus *Anaplasma* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): Epidemiology and characteristics of *Anaplasma* species related to veterinary and public health importance. *Parasitology*, 143, 659–685.
- Aydemir C, Pıçak M, 2007. Gap Bölgesinde Hayvancılığın Gelişimi ve Türkiye İçindeki Konumu. *Elektronik Sosyal Bilimler Dergisi*. Güz-2007 C.6 S. 22, 13-37.
- Aydın MF, Aktas M, Dumanlı N, 2013. Molecular identification of *Theileria* and *Babesia* in sheep and goats in the Black Sea Region in Turkey. *Parasitol Res* 112:2817–2824. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3452-x>
- Aydın L, Bakırcı S, 2007. Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitol Res.* 101 (Suppl 2), S163–S166.

- Aydın MF, Dumanlı N, 2019. Tick-borne pathogens in small ruminants in Turkey: A systematic review. *Turk Vet J*, 1(2): 74-83.
- Barbet AF, Al Khedery B, Stuen S, Granquist EG, Felsheim RF, Munderloh UG, 2013. An emerging tick-borne disease of humans is caused by a subset of strains with conserved genome structure. *Pathogens*, 2, 544-555.
- Battilani M, De Arcangeli S, Balboni A, Dondi F, 2017. Genetic diversity and molecular epidemiology of *Anaplasma*. *Infection, Genetics and Evolution*, 49, 195–211.
- Bauer BU, Răileanu C, Tauchmann O, Fischer S, Ambros C, Silaghi C, Ganter M, 2021. *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma ovis* Emerging Pathogens in the German Sheep Population. *Pathogens*, 10, 1298. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101298>
- Becker S, Franco JR, Simarro PP, Stich A, Abel PM, Steverding D, 2004. Real-time PCR for detection of *Trypanosoma brucei* in human blood samples. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 50, 193–199.
- Becker A, Reith A, Napiwotzki J, Kadenbach B, 1996. A quantitative method of determining initial amounts of DNA by polymerase chain reaction cycle titration using digital imaging and a novel DNA stain. *Anal. Biochem.* 237, 204–207.
- Ben Said M, Belkahia H, El Mabrouk N, Saidani M, Alberti A, Zobba R, Cherif A, Mahjoub T, Bouattour A, Messadi L, 2017. *Anaplasma platys*-like strains in ruminants from Tunisia. *Infection, Genetics and Evolution* 49, 226–233.
- Ben Said M, Belkahia H, Messadi L, 2018. *Anaplasma* spp. in North Africa: A review on molecular epidemiology, associated risk factors, and genetic characteristics. *Ticks and Tick-borne Diseases* 9, 543–555.
- Benedicto B, Ceylan O, Adjou Moumouni PF, Lee SH, Tumwebaze MA, Li J, Galon EM, Liu M, Li Y, Ji S, Ringo A, Rizk M, Sevinc F, Xuan X, 2020. Molecular Detection and Assessment of Risk Factors for Tick-Borne Diseases in Sheep and Goats from Turkey. *Acta Parasitologica*, 65:723–732.
- Bilgiç HB, Bakırcı S, Köse O, Ünlü AH, Hacılarlıoğlu S, Eren H, Weir W, Karagenç T, 2017. Prevalence of tick-borne haemoparasites in small ruminants in Turkey and diagnostic sensitivity of single-PCR and RLB. *Parasites & vectors* 10(1): 211. <https://doi.org/doi:10.1186/s13071-017-2151-3>
- Bradway DS, Torioni de Echaide S, Knowles DP, Hennager SG, McElwain TF, 2001. Sensitivity and specificity of the complement fixation test for detection of cattle persistently infected with *Anaplasma marginale*. *J Vet Diagn Investig.* 13 (1), 79–81.
- Brown WC, 2012. Adaptive immunity to *Anaplasma* pathogens and immune dysregulation: implications for bacterial persistence. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 35, 241-52.
- Bursalı A, Keskin A, Tekin S, 2012. A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Turkey: species diversity, hosts, and geographical distribution. *Exp Appl Acarol*, 57,91–104.
- Cabezas-Cruz A, Gallois M, Fontugne M, Allain E, Denoual M, Moutailler S, Devillers E, Zientara S, Memmi M, Chauvin A, 2019. Epidemiology and genetic diversity of *Anaplasma ovis* in goats in Corsica, France. *Parasites Vectors*, 12, 1, 3.
- Carrade DD, Foley JE, Borjesson DL, Saykes JE, 2009. Canine granulocytic anaplasmosis: A review. *J Vet Int Med*, 23,6, 1129-41.
- Ceylan O, 2019. Koyunlarda *Babesia ovis* Enfeksiyonunun Türkiye’deki Endemik Durumunun Belirlenmesi. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

- Ceylan O, Byamukama B, Ceylan C, Galon EM, Liu M, Masatani T, Xuan X, Sevinc F, 2021a. Tick-Borne Hemoparasites of Sheep: A Molecular Research in Turkey. *Pathogens*, 10, 162. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020162>
- Ceylan O, Xuan X, Sevinc F, 2021b. Primary Tick-Borne Protozoan and Rickettsial Infections of Animals in Turkey. *Pathogens*. 10, 2, 231. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020231>
- Chen SM, Dumler JS, Bakken JS, 1994. Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease. *J Clin Microbiol* 32, 589-595.
- Chi Q, Liu Z, Li Y, Yang J, Chen Z, Yue C, Luo J, Yin H, 2013. Development of a Real-Time PCR Assay for Detection and Quantification of *Anaplasma ovis* Infection. *Transboundary and Emerging Diseases*. 60, 119–124.
- Chochlakis, D, Ioannou I, Tselentis Y, Psaroulaki A, 2010. Human anaplasmosis and *Anaplasma ovis* variant. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 1031–1032.
- Courtney JW, Kostelnik LM, Zeidner NS, Massung RF, 2004. Multiplex real-time PCR for detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol*, 42 (7), 3164-3168.
- Dantas-Torres F, Otranto D, 2017. Anaplasmosis. In: *Arthropod-Borne Diseases*. Ed: Carlos Brisola Marcondes. Springer International Publishing Switzerland. 215-22.
- De Kroon JF, NM PÃ, Franssen FF, Uilenberg G, 1990. The indirect fluorescent antibody test for bovine anaplasmosis. *VetQ.* 12,2,124–8.
- De la Fuente J, Atkinson MW, Naranjo V, Fernandez de Mera IG, Mangold AJ, Keating K A, Kocan KM, 2007. Sequence analysis of the msp4 gene of *Anaplasma ovis* strains. *Vet. Microbiol.* 119, 375–381.
- De la Fuente J, Moreno-CID JA, Galindo RC, Almazan C, Kocan KM, Merino O, Perez de la Lastra JM, Estrada Peña A, Blouin EF, 2013. Subolesin/Akirin vaccines for the control of arthropod vectors and vector-borne pathogens. *Transboundary and Emerging Diseases* 60, 172–178.
- De la Fuente J, Naranjo V, Ruiz-Fons F, Hofle U, Fernandez de Mera IG, Villanua D, Almazan C, Torina A, Caracappa S, Kocan KM, Gortazar C, 2005. Potential vertebrate hosts and invertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum* in central Spain. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 5, 390-401.
- De la Fuente J, Van Den Bussche RA, Garcia-Garcia JC, Rodriguez SD, Garcia MA, Guglielmo AA, Mangold AJ, Friche Passos LM, Blouin EF, Kocan KM, 2002. Phylogeography of New World isolates of *Anaplasma marginale* (Rickettsiaceae: Ehrlichieae) based on major surface protein sequences. *Vet. Microbiol.* 88, 275–285.
- De la Fuente J, Torina A, Naranjo V, Nicosia S, Alongi A, Mantia F, Kocan KM, 2006. Molecular characterization of *Anaplasma platys* strains from dogs in Sicily, Italy. *BMC Veterinary Research*, 2, 24.
- Decaro N, Carelli G, Lorusso E, Lucente MS, Greco G, Lorusso A, Radogna A, Ceci L, Buonavoglia C, 2008. Duplex real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection and quantification of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma centrale*. *J Vet Diagn Invest*, 20, 606-611.
- Lacasta D, Lorenzo M, González JM, Ruiz de Arcaute M, Benito AÁ, Baselga C, Milian ME, Lorenzo N, Jiménez C, Villanueva-Saz S, 2021. Epidemiological Study Related to the First Outbreak of Ovine Anaplasmosis in Spain. *Animals*, 11, 2036. <https://doi.org/10.3390/ani11072036>
- Dik B, 2015. Ixodida (Metastigmata). In: *Veteriner Entomoloji. Ofset Baskı SÜ Basımevi*. Pp:190-214.

- Dik B, Sevinç F, 2002. Veteriner protozooloji. Konya, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, s. 1-145.
- Dreher UM, Fuente J, Hofmann-Lehmann R, Meli ML, Pusterla N, Kocan KM, Woldehiwet Z, Braun U, Regula G, Staerk KD, Lutz H, 2005. Serologic crossreactivity between *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum*. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 12, 1177–1183.
- Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, Rikihisa Y, Rurangirwa FR, 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia, and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophilum. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51, 2145–2165.
- Dumler JS, Brouqui P, 2004. Molecular diagnosis of human granulocytic anaplasmosis. Expert Rev Mol Diagn. 4, 559–69.
- Dumler JS, Rikihisa Y, Dasch GA, 2005. Family II. Anaplasmataceae. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Proteobacteria, Part C, Alpha, Beta, Delta and Epsilonproteobacteria, Eds: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, Garrity GM, New York: Springer, p. 117-25.
- Dyachenko V, Pantchev N, Balzer HJ, Meyersen A, Straubinger RK, 2012. First case of *Anaplasma platys* infection in a dog from Croatia. Parasites & Vectors 2012, 5:49
- Ekici OD, Sevinc F, 2011. Comparison of cELISA and IFA tests in the serodiagnosis of anaplasmosis in cattle. Afri J Microbiol Res. 5 (10), 1188–91.
- Ekici S, 2016. Konya ve Karaman Yöresinde Koyun ve Keçilerde Anaplazmozisin Yaygınlığı. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Eren H, Karagenç T, Orkun Ö, 2015. Rickettsiales. In: Veteriner Protozooloji, Eds: Nazir Dumanlı, K. Zafer Karaer. Medisan Yayın Serisi 80. S.245.
- Foil LD, 1989. Tabanids as vectors of disease agents. Parasitology Today, 5,3, 88-96.
- Gale KR, Mimmock CM, Gartside M, 1996. Leatch G: *Anaplasma marginale*: Detection of carrier cattle by PCR-ELI. Int J Parasitol, 26, 1103-1109.
- Garcia-Perez AL, Barandika J, Oporto B, Povenado I, Juste RA, 2003. *Anaplasma phagocytophila* as an Abortifacient Agent in Sheep Farms from Northern Spain. Ann. N.Y. Acad. Sci. 990, 429–432.
- Gasser RB, 1999. PCR-based technology in veterinary parasitology. Veterinary Parasitology 84, 229-258.
- Gasser RB, 2006. Molecular tools-advances, opportunities, and prospects. Veterinary parasitology, 136,2, 69-89.
- Gebrekidan H, Hailu A, Kassahun A, Rohoušová I, Maia C, Talmi-Frank D, Baneth G, 2014. Theileria infection in domestic ruminants in northern Ethiopia. Vet Parasitol 200:31–38. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.11.017>
- Ghaffar A, Ijaz M, Ali A, Farooqi SH, Rehman A, Ali MM, Zafar MZ, Naeem MA, 2020. First Report on Molecular Characterization of Anaplasmosis in Small Ruminants in Pakistan. J Parasitol. Jun 1;106(3):360-368. doi: 10.1645/19-90. PMID: 32227225.
- Goff WL, Stiller D, Roeder RA, Johnson LW, Falk D, Gorham JR, McGuire TC, 1990. Comparison of a DNA probe, complement fixation, and indirect immunofluorescence tests for diagnosing *Anaplasma marginale* in suspected carrier cattle. Vet Microbiol. 24, 381–90.

- Gökçe HI, Genç O, Akça A, Erdoğan HM, 2003. Evcil hayvan ve insanlarda granulocytic ehrlichiosisün araştırılması. TÜBİTAK Projesi, Proje Kodu: VHAG 1778, 1-34.
- Gökçe G, Kırmızıgül AH, Yıldırım Y, Erkiş EE, 2013. Kars Yöresindeki Sığırlarda *Anaplasma marginale* Seroprevalansı. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, A187-A190.
- Gökçe HI, Genç O, Akça A, Vatansever Z, Ünver A, Erdoğan HM, 2008. Molecular and serological evidence of *Anaplasma phagocytophilum* infection of farm animals in the Black Sea region of Turkey. Acta Vet Hung 56:281-292.
- Göksu K, 1967. Yerli koyunlarımızda Babesidae ve Theileridae'lerin epizootiolojik durumlarıyla biyolojilerine dair araştırmalar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları No:205, Ankara, Turkey
- Guglielmone A., Nava S, Bazan-Leon, EA, Vasquez RA, Mangold AJ, 2010. Redescription of the male and description of the female of *Ixodes abrocomae* Lahille, 1916 (Acari: Ixodidae). Syst. Parasitol. 77, 153–160. <https://doi.org/10.1007/s11230-010-9262-y>.
- Guo S, Yuan Z, Wu G, Wang W, Ma D, Du H, 2002. Epidemiology of ovine theileriosis in Ganan region, Gansu Province, China. Parasitol Res 88, S36–S37. <https://doi.org/10.1007/s00436-001-0568-1>
- Güralp N, Sayın F, Tigin Y, 1975. Texel merinos ve kıvrıcık koyunları ile melezlerinde görülen parazit türler, bunların enfeksiyon oranları ve savaş çareleri. Ankara Üniv Vet Fak Derg 22:1-7.
- Gürsoy O, 2006. Economics and profitability of sheep and goat production in Turkey under new support regimes and market conditions. Small Rumin Res 62:181–191. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.08.013>
- Grøva L, Olesen I, Steinshamn H, Stuen S, 2011. Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* infection and effect on lamb growth. Acta Vet Scand, 53, 30, 1-7.
- Han R, Yang J, Liu Z, Gao S, Niu Q, Hassan MA, Luo J, Yin H, 2017. Characterization of *Anaplasma ovis* strains using the major surface protein 1a repeat sequences. Parasites & Vectors, 10, 447.
- Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, Watson R, 1993. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. Biotechnology (NY) 11, 1026–1030.
- Hoffmann G, Hörchner F, Schein E, Gerber HC, 1971. Seasonal appearance of ticks and piroplasms in domestic animals in the Asiatic provinces of Turkey. Berl Munch Tierarztl Wochenschr; 84 (8) :152-6. German.
- Hornok S, Elek V, de la Fuente J, Naranjo V, Farkas R, Majoros G, Foldvari G, 2007. First serological and molecular evidence on the endemicity of *Anaplasma ovis* and *A. marginale* in Hungary. Veterinary Microbiology, 122, 316–322.
- Hornok S, de la Fuente J, Biro N, Fernandez De Mera IG, Meli ML, Elek V, Gönczi E, Meili T, Tánzos B, Farkas R, Lutz H, Hofmann-Lehmann R, 2011. First Molecular Evidence of *Anaplasma ovis* and *Rickettsia* spp. in Keds (Diptera: Hippoboscidae) of Sheep and Wild Ruminants. Vector-Borne and Zoonotic Diseases Volume 11, Number 10, 1319-1321.
- Hornok S, Micsutka A, Fernández de Mera IG, Meli ML, Gönczi E, Tánzos B, Mangold AJ, Farkas R, Lutz H, Hofmann-Lehmann R, de la Fuente J, 2012. Fatal bovine anaplasmosis in a herd with new genotypes of *Anaplasma marginale*, *A. ovis* and concurrent haemoplasmosis. Res Vet Sci, 92, 30-5.
- Hoşgör M, 2011. Aydın Yöresinde Sığır ve Kenelerde Ehrlichia/Anaplasma Türlerinin Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji AD. Aydın.

- Hulinska D, Langrova K, Pejcoch M, Pavlasek I, 2004. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in animals by real-time polymerase chain reaction. *APMIS*, 112 (4-5), 239-247.
- Hungerford LL, Smith RD, 1997. Variations in seroprevalence and host factors for bovine Anaplasmosis in Illinois. *Vet Res Comm*. 21, 9–18.
- Inci A, Yazar S, Tunçbilek AS, Canhilal R, Doğanay M, Aydın L, Aktaş M, Vatansever Z, Özdarendeli A, Özbek Y, Yıldırım A, Düzlü Ö, 2013. Vectors and Vector-Borne Diseases in Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 60, 281-296.
- Inci A, Yıldırım A, Düzlü Ö, Doğanay M, Aksoy S, 2016. Tick-Borne Diseases in Turkey: A Review Based on One Health Perspective. *PLoS Negl Trop Dis* 10,12.
- Jalali SM, Khaki, Z, Kazemi, Bandehpour, Rahbari S, Razi Jalali M, Yasini SP, 2013. Molecular detection and identification of *Anaplasma* species in sheep from Ahvaz, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, Vol. 14, No. 1, Pages 50-56.
- Jessup DA, Goff WL, Stiller D, Oliver MN, Bleich VC, Boyce WM, 1993. A retrospective serologic survey for anaplasma spp. infection in three bighorn sheep (*Ovis canadensis*) populations in California. *Journal of Wildlife Diseases*. 29,4, pp. 547-554.
- Jiménez C, Benito A, Arnal JL, Ortín A, Gómez M, López A, Villanueva-Saz S, 2019. *Anaplasma ovis* in sheep: Experimental infection, vertical transmission and colostral immunity. *Small Ruminant Research* 178, 7-14.
- Jongejan F, Uilenberg G, 1994. Ticks and control methods. *Rev. Sci. Tech.* 13, 1201–1226. <https://doi.org/10.20506/rst.13.4.818>.
- Jonsson NN, Mayer DG, Matschoss AL, Green PE, Ansell J, 1998. Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high-yielding dairy cows. *Veterinary Parasitology* 78, 65–77.
- Karlsen A, Vojtek B, Mojžišová J, Prokeš M, Drážovská M, 2020. Anaplasmosis in animals. *FOLIA VETERINARIA*, 64, 4: 17-26.
- Kasaija PD, Estrada-Pena A, Contreras M, Kirunda H, de la Fuente a H, 2021. Cattle ticks and tick-borne diseases: a review of Uganda's situation. *Ticks and Tick-borne Diseases* 12, 101756.
- Kasozi KI, Welburn SC, Batiha GE, Marraiki N, Nalumenya DP, Namayanja M, Matama K, Zalwango KK, Matovu W, Zirintunda G, Ekou J, Kembabazi S, Mugasa CM, Kitibwa A, Tayebwa DS, Musinguzi SP, Mahero M, Ssengendo I, Nanteza A, Matovu E, MacLeod ET, 2021. Molecular epidemiology of anaplasmosis in small ruminants along a human-livestock-wildlife interface in Uganda, *Heliyon*, Volume 7, Issue 1. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05688>.
- Keskin A, Selçuk AY, 2021. A survey for tick (Acari: Ixodidae) infestation on some wild mammals and the first record of *Ixodes triangulatus* Birula in Turkey. *Systematic and Applied Acarology*, Vol 26, 12.
- Knowles D, Torioni de Echaide S, Palmer G, McGuire T, Stiller D, McElwain T, 1996. Antibody against an *Anaplasma marginale* MSP5 epitope common to tick and erythrocyte stages identifies persistently infected cattle. *J Clin Microbiol*. 34, 2225–30.
- Kocan KM, Blouin EF, Barbet AF, 2000. Anaplasmosis control: past, present, and future *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 916: 501-509.
- Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF, Ewing SA, 2010. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet Parasitol*, 167, 95-107.

- Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF, Garcia-Garcia JC, 2004. *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host-pathogen adaptations of a tick-borne Rickettsia. *Parasitology*, 129, 285–300.
- Kocan KM, de la Fuente J, Guglielmone AA, Melendez RD, 2003. Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 698–712.
- Kocan KM, Stiller D, Goff WL, 1989. The developmental cycle of *Anaplasma marginale* in *Dermacentor* spp. In: Proceedings of the 8th National Veterinary Hemoparasite Disease Conference, St. Louis, p 149-160.
- Koval'chuk SN, Kosovskii GY, Arkhipov AV, Glazko TT, Glazko VI, 2015. Development of real-time PCR assay for detection of *Anaplasma marginale*. *Agricultural Biology*, 50 (6), 825-831.
- Kuttler KL, 1984. *Anaplasma* infections in wild and domestic ruminants: A review. *J Wildlife Dis*, 20, 12-20.
- Lee SH, Mossaad E, Ibrahim AM, Ismail AA, Moumouni PFA, Liu M, Efstratiou A, 2018. Detection and molecular characterization of tick-borne pathogens infecting sheep and goats in the Blue Nile and West Kordofan state in Sudan. *Ticks Tick Borne Dis* 9:598–604. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.01.014>
- Li H, Zheng YC, Ma L, Jia N, Jiang BG, Jiang RR, 2015. Human infection with a novel tick-borne *Anaplasma* species in China: a surveillance study. *Lancet Infect Dis*. 15, 6, 663–70.
- Liu Z, Ma M, Wang Z, Wang J, Peng Y, Li Y, 2012. Molecular survey and genetic identification of *Anaplasma* species in goats from central and southern China. *Appl Environ Microbiol*. 78, 2, 464–70.
- Mason KL, Gonzalez MV, Chung C, Mousel MR, White SN, Taylor JB, Scoles GA, 2017. Validation of an improved *Anaplasma* antibody competitive ELISA for detection of *Anaplasma ovis* antibody in domestic sheep. *J Vet Diagn Investig*. 29 (5), 763–766.
- McQuiston JH, Paddock CD, 2012. PUBLIC HEALTH: RICKETTSIAL INFECTIONS AND EPIDEMIOLOGY. In: *Intracellular Pathogens II: Rickettsiales*. Eds: Guy H Palmer and Abdu F Azad. ASM Press, 1752 N St, NW, Washington, DC 20036-2904, USA, pp. 65.
- Mimioğlu M, Göksu K, Sayın F, 1969. Veteriner ve Tıbbi Protozooloji II. Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Yayın No: 248, Ders Kitabı 150, Ankara Üniversitesi Basımevi, s. 880-966.
- Minjauw B, McLeod A, 2003. Tick-Borne Diseases and Poverty: The Impact of Ticks and Tick-Borne Diseases on the Livelihoods of Small Scale and Marginal Livestock Owners in India and Eastern and Southern Africa. Centre For Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh, UK first edition.
- Naranjo V, Ruiz-Fons F, Hofle U, Fernandez de Mera IG, Villanua D, Almazan C, Torina A, Caracappa S, Kocan KM, Gortazar C, de la Fuente J, 2006. Molecular epidemiology of human and bovine anaplasmosis in southern Europe. *Annals of the New York Academy of Science*, 1078, 95–99.
- Naqid IA, Zangana IK, 2011. Hematological and serological (cELISA) studies of caprine anaplasmosis in Duhok governorate of Kurdistan region in Iraq. *Journal of Duhok University (Agriculture and Veterinary Sciences)*, 13,1, 153-61.
- Ndung'u LW, Aguirre C, Rurangirwa FR, McElwain TF, McGuire TC, Knowles DP, Palmer GH, 1995. Detection of *Anaplasma ovis* infection in goats by major surface protein 5 competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol*, 33(3), 675-9.
- Nicolas L, Prina E, Lang T, Milon G, 2002. Real-time PCR for detection and quantitation of *Leishmania* in mouse tissues. *J. Clin. Microbiol*. 40, 1666–1669.

- Noaman V, Sazmand A, 2022. *Anaplasma ovis* infection in sheep from Iran: molecular prevalence, associated risk factors, and spatial clustering. *Tropical Animal Health and Production* (2022) 54: 6. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-03007-4>
- Orkun Ö, Vatansever Z, 2021. Rediscovery and first genetic description of some poorly known tick species: *Haemaphysalis kopetdaghica* Kerbabaev, 1962 and *Dermacentor raskemensis* Pomerantzev, 1946. *Ticks and Tick-borne Diseases* 12, 101726.
- Öter K, Çetinkaya H, Vuruşaner C, Toparlak M, Ergünay K, 2016. Molecular detection and typing of *Anaplasma* species in small ruminants in Thrace region of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 22:133-138.
- Özer E, Erdoğan SZ, Köroğlu E, 1993. Malatya ve Güneydoğu Anadolu illerinde sığır, koyun ve keçilerde bulunan kan parazitleri ve yayılışları. *Türk J Vet Am Sci* 17(3): 209-215
- Palmer, GH, McElwain TF, McGuire TC, Kappmeyer L, Davis WC, Stiller D, Visser E, Tebele N, Ndung'u L, Pipano E, Shkap V, Knowles DP, 1994. Recent Advances in Serological Diagnosis of Anaplasmosis: development of the MSP-5 Competitive Inhibition ELISA. In: Uilenberg, G., A. Permin, and J. W. Hansen (eds), *Use of Applicable Biotechnological Methods for Diagnosing Haemoparasites*, pp. 102–104. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Petrovec M, Lotric FS, Zupanc TA, 1997. Human disease in Europe is caused by a granulocytic *Ehrlichia* species. *J Clin Microbiol.* 35,1556-1559.
- Rar V, Golovljova I, 2011. *Anaplasma*, *Ehrlichia*, and “*Candidatus Neoehrlichia*” bacteria: Pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infection, Genetics and Evolution* 11, 1842–1861.
- Razmi GR, Dastjerdi K, Hosseini H, Naghibi A, Barati F, Aslani MR, 2006. An epidemiological study on *Anaplasma* infection in cattle, sheep, and goats in Mashhad suburb, Khorasan province, Iran. *Ann N Y Acad Sci*, 1078, 479-81.
- Reinbold JB, Coetzee JF, Hollis LC, Nickell JS, Riegel C, Olson KC, Ganta RR, 2010. The efficacy of three chlortetracycline regimens in the treatment of persistent *Anaplasma marginale* infection. *Veterinary Microbiology* 145, 69–75.
- Renneker S, Abdo J, Bakheit M, Kullmann B, Beyer D, Ahmed J, Seitzer U, 2013a. Coinfection of Sheep with *Anaplasma*, *Theileria* and *Babesia* Species in the Kurdistan Region, Iraq. *Transboundary and Emerging Diseases*. 60, 113–118
- Renneker S, Abdo J, Salih DEA, Karagenc T, Bilgic H, Torina A, Oliva AG, Campos J, Kullmann B, Ahmed J, Seitzer U, 2013b. Can *Anaplasma ovis* in Small Ruminants be Neglected any Longer? *Transboundary and Emerging Diseases*. 60, 105–112.
- Ristic M, 1977. Bovine anaplasmosis. In: KREIER, J. P. (ed.), *Parasitic Protozoa*. Vol. IV, 235-249. New York & London: Academic Press.
- Rikihisa Y, 2011. Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Clin Microbiol Rev*, 24, 469-89.
- Ringo AE, Moumouni PFA, Taioe M, Jirapattarasate C, Liu M, Wang G, Gao Y, Guo H, Lee S, Zheng W, 2018. Molecular analysis of tick-borne protozoan and rickettsial pathogens in small ruminants from two South African provinces. *Parasitol. Int*, 67, 144–149.
- Rjeibi MR, Gharbi M, Mhadhbi M, Mabrouk W, Ayari B, Nasf I, Darghouth MA, 2014. Prevalence of piroplasms in small ruminants in North-West Tunisia and the first genetic characterization of *Babesia ovis* in Africa. *Parasite* 21:23. <https://doi.org/10.1051/parasite/2014025>
- Rodriguez SD, Ortiz MAG, Ocampo RJ, Vega CA, 2009. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico. *Infect. Genet. Evol.*, 9(6): 1092–1101.

- Rymaszewska A, Grenda S, 2008. Bacteria of the genus *Anaplasma* – characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. *Veterinari Medicina*, 53, 11, 573–584.
- Sainz A, Roura X, Miró G, Estrada-Peña A, Kohn B, Harrus S, Solano-Gallego L, 2015. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasites & Vectors*. 8,75.
- Sato M, Nishizawa I, Fujihara M, Nishimura T, Matsubara K, Harasawa R, 2009. Phylogenetic analysis of the 16S rRNA gene of *Anaplasma* species detected from Japanese serows (*Capricornis crispus*). *J Vet Med Sci*.71, 12, 1677–9.
- Scoles GA, Miller A, Foil D, 2008. Comparison of the Efficiency of Biological Transmission of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) by *Dermacentor andersoni* Stiles (Acari: Ixodidae) with Mechanical Transmission by the Horse Fly, *Tabanus fuscicostatus* Hine (Diptera: Muscidae). *J. Med. Entomol.* 45(1): 109–114.
- Sevinc F, Xuan X, 2015. Major tick-borne parasitic diseases of animals: A frame of references in Turkey. *Eurasian J Vet Sci*, 31, 3, 132-142.
- Sevinç F, 2004. Sığırlarda Anaplasmosis. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 1,2, 113-118.
- Sevinç F, Zhou M, Cao S, Ceylan O, Aydin MF, Sevinç M, Xuan X, 2018. Haemoparasitic agents associated with ovine babesiosis: A possible negative interaction between *Babesia ovis* and *Theileria ovis*. *Vet Parasitol* 252:143-147. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.02.013>
- Shabana II, Alhadlag NM, Zaraket H, 2018. Diagnostic tools of caprine and ovine anaplasmosis: a direct comparative study. *BMC Veterinary Research*, 14,165.
- Shkap V, Molad T, Fish L, Palmer GH, 2002. Detection of the *Anaplasma centrale* Vaccine Strain and Specific Differentiation from *Anaplasma marginale* in Vaccinated and Infected Cattle. *Parasitol. Res.* 88,6, 546–552.
- Shompole S, Waghela SD, Rurangirwa FR, McGuire TC, 1989. Cloned DNA probes identify *Anaplasma ovis* in goats and reveal a high prevalence of infection. *J Clin Microbiol*, 27(12), 2730- 35.
- Song J, Zhao S, Li Y, Wang H, Zhang L, Wang J, Ning C, Peng Y, 2020. Duplex TaqMan real-time PCR assay for simultaneous detection and quantification of *Anaplasma capra* and *Anaplasma phagocytophilum* infection, *Molecular and Cellular Probes*, Volume 49, 101487, <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2019.101487>.
- Stoltz WH, 2004. Ovine and caprine anaplasmosis. In: *Infectious disease of livestock*. Ed: Coetzer JAW, Tustin RC, 2nd ed. Oxford University Press, p. 617-24.
- Stuen S, 2007. *Anaplasma phagocytophilum*- the Most Widespread Tick-Borne Infection in Animals in Europe. *Veterinary Research Communications*, 31(Suppl. 1) 79–84.
- Stuen S, 2016. Haemoparasites in small ruminants in European countries: Challenges and clinical relevance. *Small Rumin. Res.* 142, 22–27.
- Stuen S, 2020. Haemoparasites-Challenging and Wasting Infections in Small Ruminants: A Review. *Animals*, 10, 2179.
- Stuen S, Granquist EG, Silaghi C, 2013. *Anaplasma phagocytophilum*—a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 3, 1-33.

- Stuen S, Nevians S, Moum T, 2003. Fatal cases of tick-borne fever (TBF) in sheep are caused by several 16SrRNA gene variants of *Anaplasma phagocytophilum*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 990,434-443.
- Sykes JE, Foley JE, 2014. Anaplasmosis, Canine and Feline Infectious Diseases, 1st ed.; Elsevier: St. Louis, MO, USA, pp. 290–299.
- Talat R, Khanum T, Hayat A, 2005. Studies on mammalian haematozoan parasites of NWFP Pakistan. Journal of Biological Sciences, 8, 726-9.
- Torina A, Agnone A, Blanda V, Alongi A, D’Agostino R, Caracappa S, Marino AMF, Di Marco V, de la Fuente J, 2012. Development and validation of two PCR tests for the detection of and differentiation between *Anaplasma ovis* and *Anaplasma marginale*. Ticks Tick-Borne Dis. 3 (5-6), 283–287.
- Torina A, Caracappa S, 2012. Tick-borne diseases in sheep and goats: Clinical and diagnostic aspects. Small Ruminant Research 106S, S6–S11.
- Torina A, Galindo RC, Vicente J, Di Marco V, Russo M, Aronica V, Fiasconaro M, Scimeca S, Alongi A, Caracappa S, Kocan KM, Gortazar C, de la Fuente J, 2010. Characterization of *Anaplasma phagocytophilum* and *A. ovis* infection in a naturally infected sheep flock with a poor health condition. Trop. Anim. Health Prod. 42, 1327–1331.
- TÜİK, 2018. <https://biruni.tuik.gov.tr/ilgosterge/?locale=tr>.
- Ünver A, Şahin M, Erdoğan HM, Çelebi O, 2005. Koyunlarda *Anaplasma phagocytophilum*’a karşı antikorların Western blot yöntemiyle araştırılması. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 11(2): 99-102.
- Visser ES, McGuire TC, Palmer GH, Davis WC, Shkap V, Pipano E, Knowles DP, 1992. The *Anaplasma marginale* MSP 5 gene encodes a 19-kilodalton protein conserved in all recognized *Anaplasma* species. Infect Immun. 60, 5139–44.
- Waal DTD, 2000. Anaplasmosis control and diagnosis in South Africa. Ann N Y Aca Sci, 916, 474-83.
- Waner T, Mahan S, Kelly P, Harris S, 2010. Rickettsiales. In: Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Eds: Carlton L. Gyles, John F. Prescott, J. Glenn Songer, and Charles O. Thoen. Blackwell Publishing. ISBN-13: 978-0-8138-1237-3. Pp: 589-621.
- Widmer G, Feng X, Tanrıverdi S, 2004. Genotyping of *Cryptosporidium parvum* with microsatellite markers. Methods Mol. Biol. 268, 177–187.
- Woldehiwet Z, 2006. *Anaplasma phagocytophilum* in Ruminants in Europe. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1078: 446–460.
- Woldehiwet Z, 2010. The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. Veterinary Parasitology 167, 108–122.
- Yan Y, Lu C, Gong P, Pei Z, Peng Y, Jian F, Wang R, Zhang L, Qi M, Ning C, 2022. Molecular detection and phylogeny of *Anaplasma* spp. closely related to *Anaplasma phagocytophilum* in small ruminants from China, Ticks and Tick-borne Diseases, Volume 13, Issue 5, <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.101992>.
- Yang J, Liu Z, Niu Q, Liu J, Han R, Guan G, Hassan MA, Liu G, Luo J, Yin H, 2017. A novel zoonotic *Anaplasma* species is prevalent in small ruminants: potential public health implications. Parasites & Vectors 10, 264.
- Yang J, Liu Z, Niu Q, Liu J, Han R, Liu G, 2016a. Molecular survey and characterization of a novel *Anaplasma* species closely related to *Anaplasma capra* in ticks, northwestern China. Parasit Vectors.9, 1,603.

- Yang J, Liu Z, Niu Q, Liu J, Han R, Guan G, Li Y, Liu G, Luo J, Yin H, 2016b. *Anaplasma phagocytophilum* in sheep and goats in central and southeastern China. *Parasites & Vectors*, 9:593.
- Yasini SP, Khaki Z, Rahbari S, Kazemi B, Salar Amoli J, Gharabaghi A, Jalal SM, 2012. Hematologic and Clinical Aspects of Experimental Ovine Anaplasmosis Caused by *Anaplasma ovis* in Iran. *Iranian J Parasitol*: Vol. 7, No.4, pp. 91-98.
- Yu Xue J, Walker DH, 2006. The Order Rickettsiales, *Prokaryotes*, 5, 493-528.
- Zhan L, Cao WC, Jiang JF, Zhang XA, Wua XM, Zhang WY, Liu W, Zuo SQ, Cao ZW, Yang H, Richardus JH, Habbema JDF, 2010. *Anaplasma phagocytophilum* in livestock and small rodents. *Veterinary Microbiology* 144, 405–408.
- Zhou M, Cao S, Sevinç F, Sevinç M, Ceylan O, Ekici S, Jirapattharasate C, Moumouni PF, Liu M, Wang G, Iguchi A, Vudriko P, Suzuki H, Xuan X, 2017. Molecular detection and genetic characterization of *Babesia*, *Theileria*, and *Anaplasma* amongst apparently healthy sheep and goats in the central region of Turkey. *Ticks Tick Borne Dis* 8(2): 246-252. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.11.006>
- Zhou Z, Nie K, Tang C, Wang Z, Zhou R, Hu S, 2010. Phylogenetic analysis of the genus *Anaplasma* in Southwestern China based on 16S rRNA sequence. *Res Vet Sci*.89,2, 262–5.

7. EKLER

EK-A: Turnitin Raporu

GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDEKİ KOYUN VE KEÇİLERDE ANAPLASMOSİSİN PREVALANSININ BELİRLENMESİ

Yazar Ceylan Ceylan

Gönderim Tarihi: 14-Haz-2022 03:36PM (UTC+0300)

Gönderim Numarası: 1856682478

Dosya adı: KOYUN_VE_KE_LERDE_ANAPLASMOS_S_N_PREVALANSININ_BEL_RLENMES.docx (3.47M)

Kelime sayısı: 16922

Karakter sayısı: 116394

GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİNDEKİ KOYUN VE KEÇİLERDE ANAPLASMOSİSİN PREVALANSININ BELİRLENMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 16 BENZERLİK ENDEKSİ	% 15 İNTERNET KAYNAKLARI	% 3 YAYINLAR	% 8 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	------------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 6
2	journals.manas.edu.kg İnternet Kaynağı	% 2
3	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 2
4	acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
5	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
6	vetdergi.kafkas.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
7	arastirma.tarimorman.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	9lib.net İnternet Kaynağı	<% 1
9	d0140d5e-48f8-42f2-be61-99767cc1d735.filesusr.com	<% 1