

Şanlıurfa yöresinde koyun ve keçilerde *Anaplasma phagocytophilum*'un moleküler yöntemlerle araştırılması

Müzeyyen ATAŞ¹, Nazir DUMANLI¹, Kürşat ALTAY^{2*,3}

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Elazığ, TÜRKİYE

^{2*}Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Bişkek, KIRGIZİSTAN

³Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas, TÜRKİYE

Özet: Bu araştırma, Şanlıurfa yöresinde koyun ve keçilerde *Anaplasma phagocytophilum*'un varlığı ve yaygınlığının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, Şanlıurfa yöresinde 134 koyun ve 74 keçi olmak üzere toplam 208 hayvandan tam kan örneği alınmıştır. Bu örneklerden total genomik DNA'lar izole edilmiş, elde edilen DNA örnekleri *Anaplasma phagocytophilum*'un varlığı yönünden 16S SSU rRNA genine spesifik primerler kullanılarak, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)'na tabi tutulmuştur. Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda pozitif olduğu belirlenen örnekleri temsilen seçilen bir örneğin 16S SSU rRNA geninin DNA dizilimi belirlenmiştir. İncelenen 208 koyun ve keçiye ait kan örneğinin 9 (% 4.33)'unda *A. phagocytophilum*'un varlığını gösteren PZR amplifikasyon ürünü elde edilmiştir. *A. phagocytophilum* pozitiflik oranının koyunlarda % 5.97 (8/134), keçilerde % 1.35 (1/74) olduğu saptanmıştır. Pozitif örnekleri temsilen seçilen bir örneğinin DNA dizilimi belirlenmiş, bu dizilim BLAST analiz yoluyla GenBankasındaki diğer dizilimlerle karşılaştırıldıktan sonra GenBanka KJ183079 accession numarası ile kayıt edilmiştir. Bu çalışma ile Şanlıurfa yöresindeki koyun ve keçilerde PZR ve sekans analizi ile *A. phagocytophilum* varlığı ilk defa ortaya konmuş ve etkene ait epidemiyolojik veriler de ilk olarak elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Anaplasma phagocytophilum*, koyun, keçi, PZR, Şanlıurfa

Molecular survey of *Anaplasma phagocytophilum* in small ruminants from Şanlıurfa

Abstract: This study was performed to determine the presence and prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in sheep and goats in the Şanlıurfa region. Whole blood samples were taken from a total of 208 animals (134 sheep and 74 goats) in the Şanlıurfa region. Polymerase chain reaction (PCR) using primers specific to the *A. phagocytophilum* 16S SSU rRNA gene of the bacterium was applied to the blood samples. The amplified DNA fragments in PCR positive samples were sequenced in order to confirm their identity. PCR amplification indicated the presence of *A. phagocytophilum* in 9 animals (4.33 %). *A. phagocytophilum* was present in 5.97 % (8/134) of sheep and 1.35 % (1/74) of goats. The nucleotide sequence of a sample selected to represent the PCR positive samples was determined. The resulting DNA sequence was compared to other DNA sequences available in the GenBank using BLAST analysis and placed into GenBank under accession number as KJ183079. The presence of *A. phagocytophilum* in the sheep and goats in the Şanlıurfa region was demonstrated for the first time using PCR and sequence analyses and epidemiologic data regarding the pathogen were also obtained.

Keywords: *Anaplasma phagocytophilum*, goat, PCR, sheep, Şanlıurfa

***Sorumlu Yazar:** Kürşat Altay

Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Bişkek, KIRGIZİSTAN

Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas, TÜRKİYE

E-mail: altayvet@hotmail.com

GİRİŞ

Anaplasma phagocytophilum ilk olarak 1940 yılında tanımlanmış ve o tarihte *Rickettsia phagocytophila* olarak isimlendirilmiştir. 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 kabul edilmiş ve *Ehrlichia equi* olarak tanımlanmıştır (1,2). 1980'li yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'nde insan granulositik ehrlichiosis (HGA) vakaları tespit edilmiş (3), benzer insan granulositik vakaları izleyen yıllarda Avrupa'da da ortaya çıkmıştır (4). Ribosomal RNA genlerinin sekans homolojilerine göre 2001 yılında yeniden yapılan sınıflandırmada ruminant, at ve insanlardaki granulositik ehrlichiosis etkenlerinin aynı türün farklı varyantları olduğu ifade edilmiştir (5). Günümüzde koyun, keçi, sığır, at, kedi, köpek gibi hayvanlar ve insanlarda granulositik ehrlichiosis etkeninin *Anaplasma phagocytophilum* olduğu kabul edilmektedir (6). *A. phagocytophilum*'un neden olduğu enfeksiyon insanlarda human granulositik ehrlichiosis/anaplasmosis (HGE/HGA), hayvanlarda tick borne fever (TBF), sığırlardaki hastalık ise pasture fever (mera humması) olarak isimlendirilir (7).

Anaplasma phagocytophilum'un neden olduğu akut enfeksiyonların teşhisi, klinik bulgular ve Giemsa ile boyalı preparatlarda eosinofiller içerisindeki etkenlerin görülmesiyle yapılır (8,9). Akut enfeksiyonu atlatan hayvanlar portör duruma geçer ve bu konaklar enfeksiyon kaynağı olarak hizmet görür. Mikroskopik muayene ile etkenlerin her zaman perifer kanda tespit edilememesi, populasyon içindeki portör hayvanların belirlenmesini zorlaştırır. Bu durum ise daha duyarlı teşhis metotlarının kullanılmasını zorunlu kılan faktörlerin başında gelir. Serolojik metotlar mikroskopik muayeneye göre daha duyarlıdır. Fakat serolojik metotların da, türler arasında çapraz reaksiyonların görülebilmesi, spesifik immun yanıtın zayıf olabilmesi ve uzun süreli taşıyıcılık durumunda antikorların her zaman tespit edilememesi gibi olumsuzlukları söz konusudur. *A. phagocytophilum* spesifik PZR gibi moleküler teşhis metotları ile özgüllük ve duyarlılık artmaktadır. Bu metotlar, etkenin epidemiyolojisini belirlemeye yönelik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (9-15).

Anaplasma phagocytophilum'un koyun ve keçilerdeki varlığı mikroskopik, serolojik ve moleküler metotların kullanıldığı çalışmalarla dünyanın birçok ülkesinde ortaya konulmuştur (11,16-21). Türkiye'de *A. phagocytophilum*'un varlığı ve yaygınlığı üzerine sınırlı sayıda çalışma yapılmış, serolojik ve moleküler yöntemlerle koyun, keçi ve sığırlar ile bazı kene türlerinde etkenin varlığı belirlenmiştir (10,11,14,17,22,23). Koyun ve keçi populasyonunun yüksek olduğu Şanlıurfa yöresinde *A. phagocytophilum* ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma, *A. phagocytophilum*'un Şanlıurfa yöresindeki koyun ve keçilerde varlığı ve yaygınlığının moleküler yöntemlerle ortaya konması amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Kan örneklerinin toplanması

Bu çalışmada kullanılan kan örnekleri Nisan-Temmuz 2013 tarihleri arasında Şanlıurfa merkez, Akçakale ve Harran ilçeleri ve bu odaklara bağlı köylerden toplanmıştır. 134 koyun ve 74 keçi olmak üzere toplam 208 hayvandan EDTA'lı kan örneği alınmıştır. Örneklemede, sürünün büyüklüğüne göre her sürüden 3-15 hayvan rastgele seçilmiş ve bunların en az bir hastalık sezonu (Nisan-Eylül ayları arası) geçirmiş olmalarına dikkat edilmiştir. EDTA'lı kanlar, +4°C'yi sağlayan termosta muhafaza edilmiştir. Soğuk zincirde laboratuvara getirilen kan örnekleri DNA izolasyonunda kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve DNA dizi analizi

Şanlıurfa yöresinde koyun ve keçilerden toplanan kan örneklerinden total DNA'lar, izolasyon kiti ile (GeneJETGenomic DNA Purification Kit, Fermentas, K0722) yapılmıştır. Genomic DNA örnekleri PZR'da kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Koyun ve keçilerden alınan kanlardan izole edilen genomik DNA örnekleri, *A. phagocytophilum*'un varlığı yönünden PZR ile çoğaltma işlemine tabi tutulmuştur. Poimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan primerler, *A. phagocytophilum*'un 16S SSU rRNA genine spesifik olup, primerlerin spesifitesi Kawara ve ark. (2006) tarafından gösterilmiştir (Tablo 1) (15).

Tablo 1. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan *Anaplasma phagocytophilum*-spesifik primerler

Primer Adı	Gen Bölgesi	Nükleotid Dizilimi (5'-3')	Ürün Büyüklüğü (bp)	Kaynak
SSAP2F	16S SSU	GCTGAATGTGGGGATAATTTAT	641	Kawahara ve ark., 2006 (15)
SSAP2R	rRNA	ATGGCTGCTTCCTTCGGTTA		

Polimeraz zincir reaksiyonu MJ Minicycler (England) cihazında gerçekleştirilmiştir. Toplam 50 µl hacimde hazırlanan PZR karışımına, 125 µM dNTP miks, 1.25 IU Taq-DNA polimeraz enzimi, 5 mM MgCl₂, 10X PCR Buffer (750 mM Tris-HCl (pH 8,8), 200 mM (NH₄)₂SO₄, % 0.1 Tween 20), 2.5 µl (20 pmol/µl) primerlerin her birinden ve hedef DNA'dan (template) 5 µl ilave edilmiştir. *A. phagocytophilum*-spesifik PZR 36 siklus olarak gerçekleştirilmiş ve her siklus 94°C'de 1 dk denaturasyon, 56 °C'de 1 dk hibridizasyon ve 72°C'de 1 dk sentez aşamalarından oluşmuştur. Reaksiyona 94 °C'de 5 dk ön denaturasyon ve 72°C'de 10 dk son uzama ilave edilmiştir. PZR'da elde edilen ürünler agaroz jel elektroforeze tabi tutulmuştur. Buna göre %1.5'lik agaroz jel hazırlandıktan sonra, 20 µl PZR ürünü, 5 µl yükleme solüsyonu (Loading Dye) ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez işlemi Tris-Borik asit-EDTA (TBE) tampon solüsyonu kullanılarak jel tankında 90 voltta 1 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Daha sonra jel, ethidium bromide (10 mg/ml) ile 30 dk boyanıp, UV transillüminatörde spesifik bantların varlığı yönünden incelenmiştir. Metodun herhangi bir aşamasında oluşabilecek muhtemel kontaminasyonları belirlemek için, hem DNA izolasyonu hem de PZR aşamasında pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır.

A. phagocytophilum pozitif kan örneği, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında daha önce yapılan bir çalışmada DNA dizi analizi ile teyit edilmiştir (GenBankası, JF807995) (14). Negatif kontrol DNA örneği elde etmek için, bir aylık kuzudan kan alınmış ve bu kandan yukarıda elde edilen DNA örneği, bütün *Anaplasma* ve *Ehrlichia* türlerinin 16S SSU rRNA geninin 492-498 bp'lik kısmını amplifiye ettiği eden 16S8FE (5'-GGAATTCAGAGTTGGATCATGGCTCAG-3') ve BGA1B (5'-CGGGATCCCCGAGTTTCCGGGACTTCTTCT-3') primerleri ile PZR'de amplifikasyona tabi tutulmuştur (24,25). *Anaplasma* türleri yönünden ari olduğu kabul edilen bu örnek çalışma süresince DNA izolasyonu ve PZR testinde negatif kontrol DNA örneği olarak kullanılmıştır.

PZR sonucunda pozitif olduğu belirlenen örnekleri temsilen seçilen bir amplifikasyon ürününün DNA dizisi belirlenmiştir. İlk olarak DNA dizisi belirlenecek örneğin 16S SSU rRNA gen kısmı bölgesi SSAP2F ve SSAP2R primerleri ile PZR'de tekrar çoğaltılmıştır. Bu örnek % 1.6'lık agaroz jelde elektroforeze tabi tutulduktan sonra hedef bölge kesilerek jelden ayrılmış ve ticari kit (Wizard, PCR Clean-up system, Promega, A.B.D) kullanılarak purifiye edilmiştir. Purifiye DNA örneğinin sekans belirleme reaksiyonu ticari bir firmaya yaptırılmıştır (İontek, İstanbul, Türkiye).

Şanlıurfa yöresinde elde edilen DNA dizilimi, daha önce GenBankasına kaydı yapılmış

DNA dizilimleri ile karşılaştırılması BLAST analizi ile yapıldıktan sonra GenBank'a sunularak kabul numarası alınmıştır.

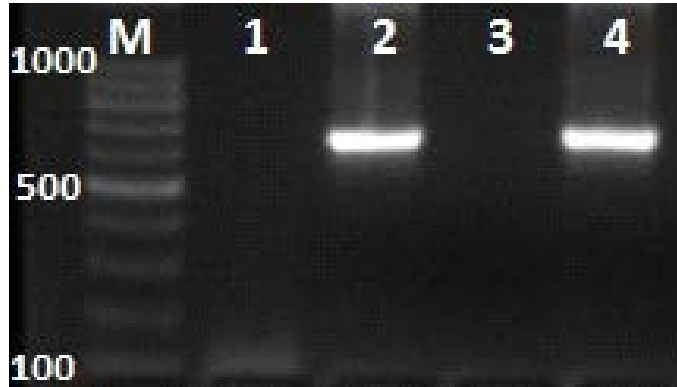
BULGULAR

Koyun ve keçilerden alınan kan örneklerine ait PZR sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Şanlıurfa yöresinde koyun ve keçilerden alınan örneklerin PZR sonuçları

Odak	Koyun			Keçi			Toplam		
	n	+	%	n	+	%	n	+	%
Merkez	33	1	3.03	30	0	0	63	1	1.59
Akçakale	57	5	8.77	26	0	0	83	5	6.02
Harran	44	2	4.54	18	1	5.55	62	3	4.84
Toplam	134	8	5.97	74	1	1.35	208	9	4.33

Tablo 2'de de görüldüğü Şanlıurfa yöresinden incelenen 208 kan örneğinin 9'unda (% 4.33) *A. phagocytophilum* spesifik PZR pozitiflik tespit edilmiştir (Şekil 1). Koyunlara ait 134 örneğin 8'inde (% 5.97), keçilere ait 74 örneğin 1'inde (% 1.35) *A. phagocytophilum* spesifik PZR pozitiflik saptanmıştır. İncelenen örneklerden 63'ü Şanlıurfa il merkezi, 83'ü Akçakale ve 62'si Harran ilçelerindeki koyun ve keçilerden alınmıştır. İl merkezindeki örneklerin % 1.59'unda (1/63), Akçakale ilçesindeki örneklerin % 6.02'sinde (5/83), Harran ilçesindeki örneklerin ise % 4.84'ünde (3/62) *A. phagocytophilum* spesifik PZR pozitiflik belirlenmiştir.



Şekil 1. PZR jel görünümü. M: Marker (100 bç), 1: Negatif kontrol DNA, 2: Pozitif kontrol, 3: Negatif örnek, 4: Pozitif örnek

Şanlıurfa yöresinde *A. phagocytophilum* yönünden PZR ile incelenen 208 koyun ve keçinin 9'unda pozitif amplifikasyon ürünü elde edilmiştir. Bu örnekleri temsilen seçilen bir örneğin 16S SSU rRNA geni, DNA dizisi GenBank'ta kayıtlı diğer DNA dizilimleri ile karşılaştırılmıştır (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome). Daha sonra bu DNA dizisi GenBankasına kaydedilerek (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/WebSub/?tool=genbank>) kayıt numarası (Accession Number) alınmıştır (KJ183079).

Bu çalışmada elde edilen *A. phagocytophilum* 16S SSU rRNA kısmi sekansı, GenBank'ta mevcut diğer sekanslar ile karşılaştırıldığında *A. phagocytophilum* koyun izolatları ile (KJ782386, KJ782387) % 100 oranında benzerliğe sahip olduğu ortaya çıkmıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kenelerle nakledilen hastalıkların bir bölgede varlığı ve yaygınlığı kene-konak-patojen zincirinin uygun bir çevrede etkileşimi ve tamamlanmasına bağlıdır. Bu etkileşimler doğrultusunda, hastalıkların prevalansı ülkeler arasında hatta aynı ülkenin coğrafi bölgeleri

arasında önemli farklılıklar gösterir. Keneler ve konaklarının yaşadığı habitatlardaki değişiklikler, şehirleşme, ağaçsızlaştırma ya da yeniden ağaçlandırma, ormanlık alanlardaki toprakların kullanımı ve bölgeler arası hayvan nakilleri yukarıdaki döngüyü etkileyen önemli faktörlerdir. Ancak hastalığın bir bölgede varlığını direk etkileyecek en önemli faktör hastalığı nakledecek kene türünün bir bölgedeki varlığıdır. Kene türünün bölgedeki varlığı ve devamı, coğrafi bölgedeki mikroklima, iklim, habitat özellikleri, uygun konakların varlığı ve oranına bağlıdır (26). Türkiye’de kenelerle nakledilen hastalıklara ilişkin epidemiyolojik çalışmalar; hastalığı nakleden kene türü/türlerinin görüldüğü bölgelerle, vektörlüğünü yaptıkları hastalıkların görüldüğü bölgelerin paralel olduğunu göstermektedir. *Ixodes* soyuna bağlı türler, Türkiye’de daha yoğun olarak Karadeniz, Ege ve Akdeniz bölgeleri gibi nemli ve ılıman iklim özelliklerinin hüküm sürdüğü ormanlık alanlarda bulunur (27-29). *A. phagocytophilum*’un başta *Ixodes* soyuna bağlı türler olmak üzere *Ixodes* kenelerle nakledildiği bilinmektedir (30,31). Karadeniz bölgesinde sığırlarda ve *I. ricinus*’ta *A. phagocytophilum* belirlenmiştir (22,23,32). *A. phagocytophilum*’un dünyanın diğer bölgelerinde farklı *Ixodes* kene türlerinde tespit edilmiş olması, *Ixodes* türleri dışındaki kene türlerinin de bu patojeni nakledebileceğini düşündürmektedir (10,33). Nitekim Türkiye’de Doğu Anadolu Bölgesindeki koyun ve keçiler üzerinde yürütülen bir çalışmada *A. phagocytophilum* belirlenmiştir (11). Polimeraz zincir reaksiyonu ve sekans analizlerinin kullanıldığı bu çalışma sonucunda Güneydoğu Anadolu bölgesinde koyun ve keçilerde *A. phagocytophilum*’un varlığı ortaya konulmuştur. Bu sonuç etkenin *Ixodes ricinus* dışında farklı kene türleri tarafından nakledilebileceği kanaatini desteklemektedir.

Anaplasma phagocytophilum’un koyun ve keçilerdeki varlığını belirlemeye yönelik çalışmalarda mikroskopik, serolojik ve son yıllarda moleküler metotların kullanıldığı görülmektedir (11,16-21). Mikroskopik muayenenin sensitivitesinin düşük olması ve serolojik testlerde çapraz reaksiyonların görülmesi, moleküler teşhis metotlarını öne çıkarmaktadır. Bu çalışmada da koyun ve keçilerden elde edilen kanlarda *A. phagocytophilum*’un araştırılmasında polimeraz zincir reaksiyonu ve sekans analizi yöntemleri kullanılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonunda SSAP2F ve SSAP2R primerleri kullanılarak etkenin 16S SSU rRNA geni spesifik olarak amplifiye edilmiştir. Ayrıca pozitif örnekleri temsilen seçilen bir örneğin sekans analiz yapılarak, *A. phagocytophilum* Şanlıurfa izolatının 16S SSU rRNA geninin kısmi DNA dizilimi belirlenmiştir. Elde edilen DNA diziliminin (KJ183079) BLAST analizi sonucunda Gen Bankasında kayıtlı koyunlara ait diğer *A. phagocytophilum* izolatlarıyla (KJ782386, KJ782387) % 100 benzerliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Böylece PZR ile tespit edilen *A. phagocytophilum* pozitifliklerinin doğruluğu ortaya konmuştur.

Anaplasma phagocytophilum’un koyun ve keçilerde prevalansını belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar, etkenin prevalansında coğrafi bölgeler arasında farklılıklar bulunmasına rağmen tüm dünyada görüldüğünü göstermektedir. Norveç’te koyunlarda etkenin seroprevalansı indirek floresan antikor testi (IFAT) ile % 30 olarak bulunmuştur (20). Aynı ülkede yine IFAT ile yürütülen başka bir çalışmada etkenin kuzulardaki seroprevalansı % 55 olarak tespit edilmiştir (18). İtalya’da IFAT ile yapılan bir seroprevalans çalışmasında incelenen koyunların % 13.3’ünde *A. phagocytophilum*’a karşı şekillenen antikorlar tespit edilmiştir (19). Çin’de koyun ve keçilerde real time PZR ile yapılan bir çalışmada incelenen koyunların % 7.1’inde ve keçilerin % 5.7’sinde *A. phagocytophilum* pozitifliği saptanmıştır (21). Slovakya’da koyun ve keçilerde *A. phagocytophilum*’un prevalansı PZR ile % 2.8 olarak tespit edilmiştir (16). Türkiye’de sınırlı sayıda da olsa koyun ve keçilerde *A. phagocytophilum*’un varlığı ve yaygınlığının belirlendiği çalışmalar mevcuttur (11,17). Karadeniz bölgesinde koyunlarda *A. phagocytophilum*’un prevalansı mikroskopik, serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılmış, Artvin, Rize, Trabzon, Giresun, Ordu ve Samsun illerindeki 720 koyuna ait kan frotilerinin mikroskopik muayenesinde 71 frotide (% 9.86) *A. phagocytophilum* benzeri inklüzyon

cisimciklerine rastlanmış; aynı hayvanlara ait kan serumlarında IFAT ile 107 örnekte (% 14.86) *A. phagocytophilum*'a karşı şekillenen antikorlar belirlenmiş; 178 koyuna ait kan örnekleri PZR ile analiz edilmiş ve 22'sinde (% 12.35) *A. phagocytophilum* spesifik band belirlenmiştir (17). Doğu Anadolu Bölgesindeki koyun ve keçiler üzerinde yürütülen diğer bir çalışmada; Bingöl, Elazığ, Malatya ve Muş illerinde 291 koyun ve 131 keçi olmak üzere toplam 422 hayvana ait kan örnekleri PZR ile incelenmiş; koyunların 55'inde (% 18.90) ve keçilerin 28'inde (% 21.37) *A. phagocytophilum* pozitiflik belirlenmiştir (11). İstanbul, Tekirdeğ, Edirne ve Kırklareli illerinde yürütülen bir çalışma ise PZR ile incelenen toplam 423 koyun ve keçinin 36'sında (%8.51) *A. phagocytophilum* varlığı ortaya konulmuştur (34) Güney Doğu Anadolu Bölgesinde koyun ve keçilerde *A. phagocytophilum*'un varlığı ve yaygınlığı üzerine herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada PZR yöntemi kullanılarak Şanlıurfa yöresindeki koyun ve keçilerde *A. phagocytophilum*'un varlığı ve yaygınlığı araştırılmış, koyun ve keçilerden elde edilen 208 (134 koyun, 74 keçi) kan örneği PZR ile analiz edilmiş, 8 koyun (% 5.97) ve 1 keçi (% 1.35) olmak üzere toplam 9 hayvanda (% 4.33) *A. phagocytophilum*'un varlığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; hastalıklar hakkındaki epidemiyolojik bilgiler, hastalığı karşı koruma ve kontrol stratejilerinin belirlenmesi ve uygulamasında temel oluşturmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan metotların duyarlılık ve özgüllük değerleri ise hastalığın yaygınlığının en doğru biçimde ortaya konulması bakımından önem taşımaktadır. Son yıllarda epidemiyolojik çalışmalarda yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip moleküler metotlar sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada PZR ve sekans analizi ile Şanlıurfa yöresinde ilk defa ortaya konulmuştur. Etkenin temel vektörlerinin çalışma bölgesinde bulunmayışı sebebiyle, etkenin vektörlerinin belirlenmesine yönelik çalışmaların yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

AÇIKLAMALAR

Bu makale “Şanlıurfa Yöresinde Koyun ve Keçilerde *Anaplasma phagocytophilum*'un Moleküler Yöntemlerle Araştırılması” isimli yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

KAYNAKLAR

1. **Dumler, J.S.** (2005). *Anaplasma* and *Ehrlichia* Infection. Ann NY Acad Sci, 1063, 361-373.
2. **Woldehiwet, Z.** (2010). The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. Vet Parasitol, 167, 108-122.
3. **McQuiston, J.H., Paddock, C.D., Holman, R.C., Childs, J.E.** (1999). Human ehrlichiosis in the United States. Emerg Infect Dis, 5, 635-642.
4. **Lotric-Furlan, S., Petrovec, M., Zupanc, T.A., Nicholson, W.L., Sumner, J.W., Childs, J.E., Strle, F.** (1998). Human granulocytic ehrlichiosis in Europe: clinical and laboratory findings for four patients from Slovenia. Clin Infect Dis, 27, 424-428.
5. **Dumler, J.S., Barbet, A.F., Bekker, C.P., Dasch, G.A., Palmer, G.H., Ray, S.C., Rikihisa, Y., Rurangirwa, F.R.** (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 phagocytophila*. Int J Syst Evol Micr, 51, 2145-2165
6. **Dumler, J.S., Madigan, J.E., Pusterla, N., Bakken, J.S.** (2007). Ehrlichiosis in humans epidemiology, clinical presentation, diagnosis and treatment. Clin Infect Dis, 45(1), 45-51.
7. **Alessandra, T., Caracappa, S.** (2012). Tick-borne diseases in sheep and goats : Clinical and diagnostic aspects. Small Ruminant Res, 1065, 6-11.
8. **Karatepe, M., Karatepe, B.** (2013). Anaplasmosis. Parazit Hastalıkları, Edr., İnci, A., Köroğlu, K., Karaer, Z., Eren, H., Yukarı, B.A., Dumanlı, N., Aydın, L., Yıldırım, A. 812-815, Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir.

9. Leah, A.C. (2014). Ehrlichiosis and related infections. *Vet Clin N Am-Small*, 33, 863-884.
10. Aktas, M. (2014). A survey of ixodid tick species and molecular identification of tick-borne pathogens. *Vet Parasitol*, 200 (3-4), 276-283.
11. Altay, K., Dumanli, N., Aktas, M., Ozübek, S. (2014). Survey of *Anaplasma* infections in small ruminants from East part of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 20(1), 1-4.
12. d'Oliveria, C., van der Weide, M., Habela, M.A., Jacquiet, P., Jongejan, F. (1995). Detection of *Theileria annulata* in blood by PCR. *J Clin Microbiol*, 33, 2665-2669.
13. Dumanli, N., Aktas, M., Cetinkaya, B., Cakmak, A., Koroglu, E., Saki, C.E., Erdogmus, Z., Nalbantoglu, S., Ongör, H., Simsek, S., Karahan, M., Altay, K. (2005). Prevalence and distribution of tropical theileriosis in eastern Turkey. *Vet Parasitol*, 127(1), 15-21.
14. Hoşgör, M, Bilgiç, H.B, Bakırcı, S, Ünlü, A.H., Karagenc, T., Eren, H. (2015). Aydın yöresinde sığırlarda ve kenelerde *Anaplasma/Ehrlichia* türlerinin belirlenmesi. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 39, 291-298.
15. Kawahara, M., Rikihisa, Y., Lin, Q., Isogai, E., Tahara, K., Itagaki, A., Hiramitsu, Y., Talima, T. (2006). Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia* sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan. *Appl Environ Microb*, 72, 1102-1109.
16. Derdakova, M., Stefancikova, A., Spitalska, E., Tarageova, V., Kostalova, T., Hrklova, G., Kybicova, K., Schanilec, P., Majlathova, V., Varady, M., Petko, B. (2011). Emergence and genetic variability of *Anaplasma* species in small ruminants and ticks from Central Europe. *Vet Microbiol*, 153, 293-298.
17. Gökçe, H.I., Genç, O., Akça, A., Vatanserver, Z., Unver, A., Erdoğan, H.M. (2008). Molecular and serological evidence of *Anaplasma phagocytophilum* infection farm animals in the Black Sea Region of Turkey. *Acta Vet Hung*, 56(3), 281-292.
18. Grova, L., Olesen, I., Steinshamn, H., Stuen, S. (2011). Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* infection and effect on lamb growth. *Acta Vet Scand*, 53, 30-36.
19. Lillini, E., Macri, G., Proietti, G., Scapulla, M. (2006). New findings on anaplasmosis caused by infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Ann NY Acad Sci*, 1081, 360-370.
20. Stuen, S., Bergström, K. (2001). Serological investigation of granulocytic *Ehrlichia* infection in sheep in Norway. *Acta Vet Scand*, 42, 331-338.
21. Zhan, L., Cao, W.C., Jiang, J.F., Zhang, X.A., Wu, X.M., Zhang, W.Y., Liu, W., Zuo, S.Q., Cao, Z.W., Yang, H., Richardus, J.H., Habbema, J.D. (2010). *Anaplasma phagocytophilum* in livestock and small rodents. *Vet Microbiol*, 144, 405-408.
22. Aktas, M., Vatanserver, Z., Altay, K., Aydın, M.F., Dumanli, N. (2010). Molecular evidence for *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* from Turkey. *T Roy Soc Trop Med H*, 104: 10-15.
23. Selçuk, Ö., Alver, O., Çatık, S., Aydın, L., Şenlik, B. (2015). Determination of diagnostic value of cELISA for the diagnosis of *Anaplasma* in clinically suspected ruminants. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 21 (5), 691-695.
24. Bekker, C.P., de Vos, S., Taoufik, A., Sparagano, O.A., Jongejan, F. (2002). Simultaneous detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ruminants and detection of *Ehrlichia ruminantum* in *Amblyomma variegatum* ticks by reverse line blot hybridization. *Vet Mic*, 89(2-3), 223-228.
25. Schouls, L.M., Van de Pol, I., Rijpkema, S.G., Schot, C.S. (1999). Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, and *Bartonella* species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks. *J Clin Microbiol*, 37(7), 2215-2222.
26. Pfaffle, M., Littwin, N., Muders, S.V., Petney, T.V. (2013). The ecology of tick-borne diseases. *Int J Parasitol*, 43(12-13), 1059-1077.
27. Aydın, L., Bakırcı, S. (2007). Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitol Res*, 101, 163-166.

28. **Dumanlı, N., Altay, K., Aydın, M.F.** (2012). Türkiye’de sığır, koyun ve keçilerde belirlenen kene türleri. Türkiye Klinikleri Vet Bilim Derg, 3(2), 67-72.
29. **Karaer, Z., Yukarı, B.A., Aydın, L.** (1997). Türkiye keneleri ve vektörlükleri. Parazitolojide Artropod Hastalıkları ve Vektörler, Edr., Özcel, M.A., Daldal N., 363-433, Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir.
30. **Ogden, N.H., Casey, A.N.J., French, N.P., Woldehiwet, Z.** (2002). Review of studies on the transmission of *Anaplasma phagocytophilum* from sheep: implications for the force of infection in endemic cycles. Exp and Appl Acarol, 28(1-4), 195-202.
31. **Richter, P., Kimsey, R., Madigan, J., Barlough, J.E., Dumler, J.S., Brooks, D.L.** (1996). *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) as vector of *Ehrlichia equi* (Rickettsiales: Ehrlichieae). J Med Entomol, 33, 1–5.
32. **Aktas, M., Altay, K., Dumanli, N.** (2011). Molecular detection and identification of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in cattle from Turkey. Ticks Tick Borne Dis, 2, 62-66.
33. **Stuen, S.** (2013). Tick-borne infections in small ruminants in northern Europe. Small Ruminant Res, 110, 142-144.
34. **Öter, K., Çetinkaya, H., Vuruşaner, C., Toparlak, M., Ergünay, K.** (2015). Molecular detection and typing of *Anaplasma* species in small ruminants in Thrace region of Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 22 (1), 133-138.