

## ÖZET

Bu çalışmada Adana, Şanlıurfa, İzmir ve Bursa illerinde bulunan atlarda ehrlichiosisin (Granulositik ehrlichiosis - *Anaplasma phagocytophilum* enfeksiyonu) ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) ile tanısının konularak, seroprevalansının belirlenmesi ve bazı klinik, laboratuvar bulguların değerlendirilmesi amaçlandı.

Çalışmanın materyalini Bursa, İzmir, Adana ve Şanlıurfa illeri Türkiye Jokey Kulübü Hipodromları At Hastaneleri ve Şanlıurfa ilindeki yetiştirici çiftliklerinden farklı ırk, yaş ve cinsiyette toplam 350 adet at oluşturdu. Çalışmada Bursa ve İzmir bölgesinden 100'er adet, Adana ve Şanlıurfa bölgesinden 75'er adet at kullanıldı. Tüm atların klinik ve hematolojik muayeneleri yapıldı ve serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak *A. phagocytophilum* antikorları araştırıldı.

Yapılan ELISA analizleri sonucunda çalışma materyalini oluşturan 350 atın 33 tanesinin *A. phagocytophilum* yönünden sero-pozitif (% 9.42), 317 tanesinin sero-negatif (% 90.58) olduğu, olduğu tespit edildi.

Klinik muayene sonucunda iştahsızlık, yüksek ateş, lenf yumrularında büyüme, ikterus gibi klinik bulgular saptanan dört atın seropozitif olduğu belirlendi.

Hematolojik bulgular değerlendirildiğinde *A. phagocytophilum* seropozitif atlarda trombosit (PLT) sayılarının sero-negatif atlardan daha düşük ( $p<0.01$ ) olduğu saptandı, total lökosit (WBC), eritrosit sayısı (RBC) ve hematokrit değeri (Hct) de anlamlı bir fark tespit edilemedi.

Rutin biyokimyasal parametrelerdeki değişimler incelendiğinde *Anaplasma phagocytophilum* sero-pozitif atlarda serum kreatinin düzeylerinin belirgin düzeyde ( $p<0.001$ ) daha yüksek, albumin düzeyinin ise daha düşük ( $p<0.001$ ) olduğu saptandı.

Sonuç olarak, hastalığın ülkemizde seroprevalansının %9.42 olduğu ve aynı zamanda zoonotik potansiyeli olan bu enfeksiyonunun halk sağlığı açısından da önemli olabildiği dikkate alınmalıdır. Ayrıca, veteriner hekimlerin yüksek ateş, iştahsızlık, sarılık, peteşi ve ekimoz gibi belirtilerin görüldüğü olgularda tanı-ayırıcı tanı prosedüründe *A. phagocytophilum* enfeksiyonunu da düşünmeleri gerektiği kanısına varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** At, Ehrlichiosis, ELISA, Seroprevalans

## SUMMARY

### **Seroprevalance of Ehrlichiosis in Horses and Evaluation of Some Clinical and Laboratory Findings**

The aim of the study was to investigate the seroprevalance of ehrlichiosis (granulocytic ehrlichiosis - *Anaplasma phagocytophilum* infection) in Adana, Şanlıurfa, İzmir and Bursa provinces with ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) and evaluation of some clinical and laboratory findings of infection.

The material of the study was a total of 350 horses of different breed, age and gender from Turkish Jockey Club's Horse hospitals which found in Bursa (n=100), Adana (n=75), İzmir (n=100) and Şanlıurfa (n=75) provinces and in some breeders farms. Clinical and hematological examinations were performed in every horse and the presence of *Anaplasma phagocytophilum* antibodies was tested with ELISA.

According to the results of ELISA, 33 of 350 (%9,42) were sero-positive and 317 of 350 were sero-negative for *Anaplasma phagocytophilum* infection .

When the hematological findings were evaluated platelet count was significantly ( $p<0.01$ ) lower in sero-positive horses and hematocrit, total leukocyte count, red blood cell count showed insignificantly differences between sero-negative and sero-positive horses.

Four horses with clinical signs such as fever, anorexia, lymphadenopathy and icterus on clinical examination were determined as seropositive against *Anaplasma phagocytophilum*.

Based on the results of biochemical examination serum creatinin levels were significantly ( $p<0.001$ ) higher and serum albumin levels were lower ( $p<0.001$ ) in *Anaplasma phagocytophilum* sero-positive horses.

As a conclusion, the seroprevalance of *Anaplasma phagocytophilum* infection was found as 9,42% in Turkey and the zoonotic potential of infection was considerable for public health. Moreover, veterinarians should pay attention in their clinical practice and include *Anaplasma phagocytophilum* infection within the differential diagnosis of horses with high fever, lack of appetite, icterus petechia and echimosis.

**Key words:** Horse, Ehrlichiosis, ELISA, Seroprevalance

## GİRİŞ

At, tarih boyunca hem uygarlıkların gelişimine katkıda bulunmuş hem de insanın yanında bir dost olarak yer almıştır. Türk toplumunun atlara olan yakınlığı çok eski tarihlere kadar uzanmaktadır. Ülkemizde özellikle ulaşım ve tarımda makinizasyon sonrası önemini kaybeden atçılık son yıllarda artan at sevgisi, hipodrom sayısı ve gerek yurt içinde, gerekse yurt dışında yapılan birçok yarış neticesinde tekrar cazip hale gelmeye başlamıştır. Bu nedenle ülkemizde atçılık son zamanlarda yeniden önem kazanmaya başlayan bir sektör olarak dikkat çekmektedir. Atlarda görülen ehrlichiosis hastalığı ilk olarak 1969 yılında Amerika'da tanımlanmış ve bundan sonra dünyanın çeşitli ülkelerinde görülmeye başlanmıştır. Zoonotik potansiyelleri bakımından bu hastalık beşeri hekimlikte de önem arz etmektedirler. Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar ehrlichiosis'in tüm dünyada yaygınlığını ortaya koymuştur. Son yıllarda atların yapılan yarışlar sebebiyle çok fazla seyahat etmesi, ülkemize yabancı ülkelere damızlık ve yetiştirme amacıyla birçok hayvan girişinin gerçekleşmesi hastalığı ülkemiz için de önemli bir pozisyona sokmuştur. Ayrıca, kene popülasyonundaki artış ve ülkemizin keneleri taşıyabilen göçmen kuşların geçiş noktasında olması da bu hastalığın önemini arttırmaktadır.

Equine ehrlichiosis (granulositik ehrlichiosis, *Anaplasma phagocytophilum* enfeksiyonu) kenelerle taşınan, *A. phagocytophilum* tarafından meydana getirilen ateş (40 – 42°C), iştahsızlık, bacaklarda ödem, mukozal peteşiler, ataksi ile karakterize mevsimsel seyirli enfeksiyöz bir hastalıktır (1,2). Hastalık ilk olarak 1969 yılında Amerikanın Kuzey Kaliforniya bölgesindeki atlarda saptanmıştır ve günümüzde Güney Amerika ve Avrupa'da birçok ülkede sık olarak görülmektedir (1-3).

Ehrlichiosis köpek, kedi, koyun ve keçilerde parazitemi ve orta derecede hastalık meydana getirebilmektedir. Fareler, gine domuzları, hamsterler ve tavşanlar hastalığa duyarlı değildirler (4).

Hastalığın yerleşmiş herhangi bir coğrafi dağılımı olmamakla birlikte, sporadik tarzda ABD (5-7), Almanya (8), Kanada (9), İsveç (10), İsviçre (11,12), İtalya (13,14), Fransa (15,16), İsrail (17) gibi ülkelerde görüldüğü; hastalığın yayılımının özellikle subtropikal bölgelerde daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Etken ehrlichiae genusuna bağlı bir riketsia olan *Ehrlichia equi*'dir. Etkenin ismi son yıllarda yapılan çalışmalar sonrasında yeni taksonomide *A. phagocytophilum* olarak geçmektedir. *A. phagocytophilum* 16 S rRNA genine bağlı olarak diğer ehrlichial etkenlerden

ayrılmaktadır (4,18). Enfeksiyon daha çok sonbahar mevsiminin son aylarında görülmekle birlikte kış ve ilkbahar mevsimlerinde de görülür (1). Hastalığın bölgesel olarak yaşayan ve hastalığın taşınmasından ve yayılmasından sorumlu olan *Ixodes pacificus* türü kenelerden ileri geldiği ve endemik olarak seyrettiği bildirilmiştir (19). Enfeksiyonun Avrupa kıtasında yayılmasından sorumlu olan kene türünün ise *Ixodes ricinus* olduğu belirtilmektedir (20).

Etken kan damarlarının endotelial hücrelerine fagositoz yoluyla girdikten sonra hücre içinde fagozom membranını eriterek sitoplazmaya geçer ve çoğalmaya başlar. *A. phagocytophilum*, monosit ve lökositleri enfekte eder ve hücrede fagozom içinde yaşayarak çoğalır (4). Şekillenen lezyonlar bakterinin hücrede çoğalarak harabiyet oluşturmasının sonucudur. Endotel hücrelerinin enfeksiyonu vaskülit, tromboz, ruptur ve nekroza yol açar ve damarlardan doku boşluklarına kan sızması sonucunda organlarda patolojik lezyonlar şekillenir (4,21).

Deneyssel olarak meydana getirilen enfeksiyonlarda inkubasyon periyodu 1–9 gündür. Hastalığa ait klinik belirtiler daha çok 3 yaşın üzerindeki atlarda görülmektedir. Hastalıkta görülen klinik belirtiler; ateş (40–42°C), depresyon, iştahsızlık, bacaklarda ödem, mukozal peteşiler, ataksi, hareketlerde azalma ve isteksizliktir (1,2,22). Yaşlı atlarda bunlara ilave olarak orşitis görülebilir. Bir yaşın altındaki atlarda klinik bulgu olarak sadece yüksek ateş gözlenmektedir. Deneyssel olarak enfekte edilen gebe kısıraklarda abort gözlenmediği bildirilmiştir (1).

Hastalık hafiften şiddetliye doğru değişen derecelerde bir seyir takip etmekle birlikte genellikle öldürücü olmamaktadır. Hastalığın çoğunlukla akut olarak seyrettiği, kronik vakaların çok nadir görüldüğü bildirilmektedir (1,2,23).

Hastalığın akut fazında nötrofil ve eozinofillerin sitoplazmasında morula oluşumu gözlenmektedir (1,2,24). Hastalık etkeninin periferik kanda görülme olasılığı %0,5 - %73 arasında değiştiği belirtilmiştir (2). *A. phagocytophilum* enfeksiyonundan etkilenen atların hematolojik muayenelerinde önemli değişiklikler gözlenmektedir. Anti-trombosit antikörlerinin tahrip olması sonucu trombositopeni görülür. Ayrıca plazma ikterus indeksinde artış, hematokrit değerinde düşüş, lökopeni ve önce lenfositosis daha sonra granülositosis saptanmaktadır (4,25,26).

Anaplasmosis'in tanısında periferik kandan hazırlanan buffy-coat sürme preparatların Romanowsky metodu ile boyanması sonucunda nötrofil ve eozinofillerde bulunan karakteristik riketsiyal inklüzyon cisimciklerinin görülmesi önemlidir (22,25,26). Bu inklüzyon cisimcikleri *Ehrlichia canis* ve *A. phagocytophilum* enfeksiyonlarının akut fazında tesbit edilebilirler. Inklüzyon cisimcikleri derin kırmızı gri boyanan morula şeklinde

görülürler. Bir sürme preparatın muayenesi sırasında üç adetten fazla morulanın görülmesi hastalık için tanıyı kuvvetlendirir. Buffy-coat sürme preparatlarının muayenesi lökositler içinde morulanın identifikasyonunu kolaylaştırır. Bununla birlikte inklüzyonlar geçicidir ve nadiren görülürler. Bu nedenle riketsiyal hastalıkların tanısında en iyi yöntemin antikor titrelerinin belirlenmesi olduğu bildirilmektedir (2,25,26).

Hastalığın teşhisinde serumda antikor tespiti için İndirekt Floresan Antikor testi (IFA) ve Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) methodlarından yararlanır. *A. phagocytophilum* 16 S r RNA'sının at ve kenelerde tespiti için PCR (polimerase chain reaction) metodu faydalı olmaktadır (25,26).

Hastalığın tedavisinde destekleyici tedavi ile birlikte oksitetrasiklin uygulaması klinik belirtilerin ortadan kalkmasında oldukça faydalı olmakta ve oksitetrasiklin kullanımını takiben 24 saat içerisinde klinik olarak bir iyileşme gözlenmektedir. Bu amaçla 7 mg/kg dozda oksitetrasiklin'in 3-7 gün süreyle damar içi yolla uygulanması önerilmektedir (1,2,3,15). Daha sonraki dönemde 15 gün süreyle 12 saatte bir kez ağız yoluyla 22 mg/kg dozda oksitetrasiklin verilebilir, fakat bu tedavi uygulanırken hastalarda diyare gelişebileceği dikkate alınmalıdır. Hafif seyreden olgularda doksisisiklin de faydalı olabilir (27). Şiddetli ataksi ve ödem olan hayvanlarda ise kısa süreli günde bir kez 20 mg dozda deksamethasone verilebilir (28). Bazı olgularda hastalığı geçirip iyileşen hayvanların hastalığa karşı 200 gün serum antikor taşıdıkları bildirilmiştir (2).

Hastalıktan korunmak amacıyla yapılan kene mücadelesinin özellikle kenelerin aktif oldukları mevsimlerde, genellikle atların toplu olarak bakıldığı yerlerde yapılması gerekmektedir. Hastalığa karşı henüz yararlı bir aşı geliştirilememiştir (1).

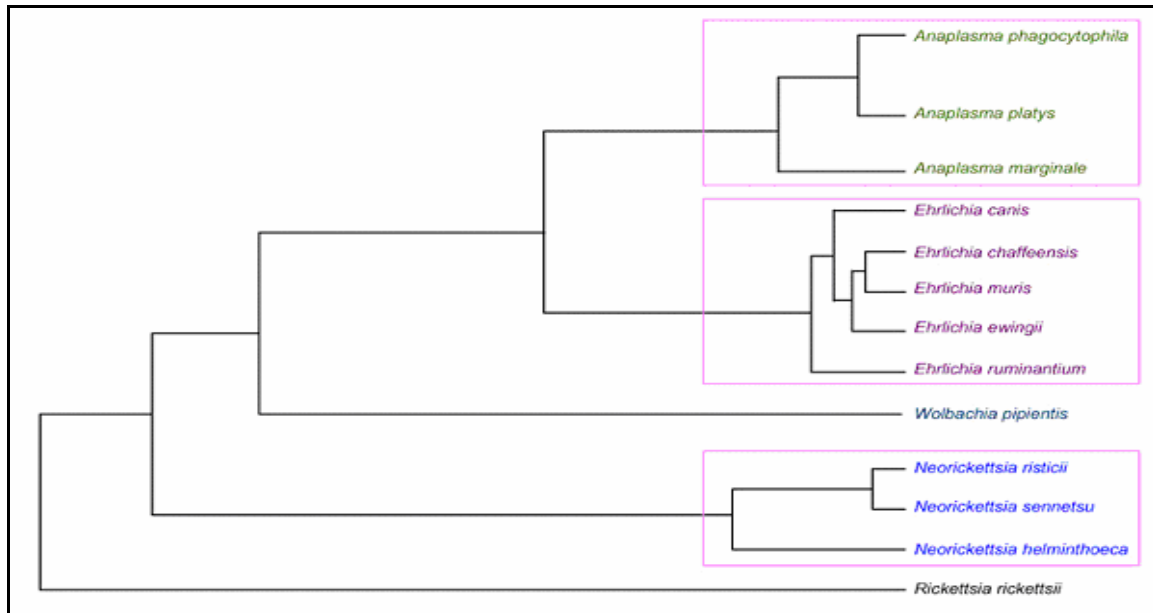
Bu çalışmada Bursa, İzmir, Adana ve Şanlıurfa illerinde bulunan atlarda *A. phagocytophilum* enfeksiyonu'nun ELISA ile tanısının konularak, sero-prevalansının belirlenmesi, bazı klinik ve laboratuvar bulguların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

Equine Ehrlichiosis (granulositik ehrlichiosis, *A. phagocytophilum* enfeksiyonu) insanlar ve hayvanlarda görülen önceleri ehrlichia genusunda sınıflandırılan patojenlerin meydana getirdiği hastalıklar olarak tanımlanır (18,29). Kenelerle taşınan *A. phagocytophilum* tarafından meydana getirilen ateş (40–42°C), iştahsızlık, bacaklarda ödem, mukozal peteşiler, ataksi ile karakterize mevsimsel seyirli enfeksiyöz bir hastalıktır (1,2). Hastalığın zoonotik potansiyeli olduğu için beşeri hekimlikte de önemle üzerinde durulmaktadır (30).

### Etyoloji

Ehrlichiosis farklı türlerde farklı etkenler tarafından oluşturulmaktadır. *E. equi* atlarda granulositik ehrlichiosis meydana getirirken, *E. phagocytophila* sığırlarda enfeksiyondan sorumlu etkindir. Ehrlichia grubundan olan human granulositik ehrlichiosis (HGE) etkeni de insanlarda HGE meydana getirir. HGE etkeni, at ve koyunların granulositik ehrlichiosis etkenleri ile morfolojik ve serolojik olarak benzerlik gösterir (4). Tıpkı HGE etkeni gibi *E. phagocytophila* ve *E. equi* kendi memeli gruplarında granulositleri hedef alırlar (1,2,4,18,29). Yapılan çalışmalarda HGE ile hasta insanlardan izole edilen etken deneysel yolla atlara nakledildiğinde atlarda hastalığa sebep olduğu bildirilmiştir (24).



Şekil 1: 16S rRNA dizisindeki benzerliğe göre Anaplasmataceae familyası

HGE etkeni, *E. phagocytophila* ve *E. equi* bakterilerinin aynı türün varyantları olduğu, sadece 16S rRNA'larında küçük farklılıkların bulunduğu ve adı geçen bu bakterilerin GroESL aminoasit parçalarının %100'e yakın bir oranda benzer olduğu bildirilmektedir. Bunların *A. marginale* ve diğer ehrlichia etkenleri ile olan genetik ilişkileri sonucu bu üç bakteri tekrar sınıflandırılarak tek bir isim altında toplanarak *A. phagocytophilum* adı verilmiştir (Şekil 1). *A. phagocytophilum*, atlarda klinik, laboratuvar ve patolojik yönden insanların granülositik ehrlichiosisine benzer özellikler gösteren hastalık meydana getirmektedir (18,29) (Tablo-1). İnsanlarda ölüm oranının atlardaki ölüm oranıyla aynı olduğu ve bu oranın %0,5–1 arasında değiştiği bildirilmiştir (31). Hastalık yaşlı insanlarda yüksek risk taşımakta ve genelde 70 yaş üzerindeki hastalarda ölümcül olabilmektedir (31,32).

**Tablo 1:** *A. phagocytophilum*'un meydana getirdiği hastalıklar, konakçıları, enfekte ettiği hücreler, vektörleri ve dağılımları.

Tür	Meydana Getirdiği Hastalık	Bilinen Doğal Konakçılar	Enfekte Ettiği Hücre Tipi	Primer Vektörleri	Dağılımı
<i>A. phagocytophilum</i> (Önceki Adı: HGE Etkeni, <i>E. equi</i> <i>E. phagocytophilum</i> )	Human Granulocytic (Granulocytotropic) Ehrlichiosis (HGE), Equine Ehrlichiosis, Tick-Borne Fever; Pasture Fever	İnsan, Geyik, At Vahşi Rodentler, Boynuzlu Geyik, Lama, Koyun, Sığır, Bizon	Granulositler	<i>Ixodes scapularis</i> ve <i>I. pacificus</i> (ABD) <i>I. ricinus</i> (Avrupa) Transstadial	ABD, İngiltere Avrupa

*A. phagocytophilum* granülositler içinde bulunur ve burada çoğalır. Bu yüzden meydana getirdiği hastalıklara granülositik ehrlichiosis adı verilmektedir. Bu genusun üyeleri sirkulasyondaki monositleri, granülositleri, lenfositleri ve trombositleri enfekte edebilme yeteneğine sahiptir (30). Bu yüzden kan yoluyla veya kan nakliyle hastalığın bulaşması söz konusu olmaktadır (24,33,34).

Equine granülositik ehrlichiosis (EGE)'in mevsimsel seyirli bir hastalık olduğu ortaya konmuştur. Hastalık genellikle sonbaharın sonlarında ve ilkbahar aylarında daha çok görülür (1,2). Bu mevsimsel döngünün sebebi kenelerin aktivitesiyle ilişkilidir. Keneler hastalığın bulaşmasında vektör görevi üstlenmiştir. Bu keneler Amerika kıtasında *I. scapularis* ve *I.*

*pacificus*, Avrupa kıtasında *I. ricinustur* (17). Ülkemizde de *I. ricinus* tarafından bulaştırıldığı düşünülmektedir (19,20).

*A. phagocytophila*, polimorf nükleer lokositlere tropizm gösteren obligat intrasellüler, küçük (0,2–2 µm çapında) kokobasiller, Gr (-) bir bakteridir. Bu etkenler genellikle yuvarlak olmakla beraber, dokularda farklı morfolojilerde de olabilirler (1). Mikroorganizmalar konakçı granülositlerin sitoplazmalarında membranla sarılı vakuoller içerisinde bulunurlar ve ortadan bölünerek çoğalırlar. Bakteri, konakçı hücresi içinde bölünüp çoğalarak morula olarak adlandırılan bir mikrokoloni oluşturur. Morula terimi, Latince karadut anlamına gelmekte ve genelde çok noktadan oluşan ve konakçı hücre çekirdeğinden daha koyu renkte olan oluşumları tanımlamaktadır (4). Bu mikrokoloniler 2–7 µm çapında yuvarlak ve Romanowsky boyama yöntemi ile koyu olarak boyanan oluşumlardır. Morulalar nötrofillerin sitoplazmasında görülmektedir (25,26). Periferik kan nötrofillerinin enfeksiyonu %0,5- %13 arasında değişmektedir. Etken kalın hücre kültürü (IDE8) veya insan hücre serisi (HL–60) üreme gösterir (13,35,36). Plasmid ve endospor varlığı ile ilgili herhangi bir bilgi mevcut değildir (13). Bu genusun üyelerinde ribozom ve DNA'lar sitoplazma içinde paketlenmiş halde bulunmaktadır; bu yüzden elektron mikroskopla yapılan muayeneler esnasında konakçı hücrelerine benzemekte ve ayrımları güç olmaktadır (4).

Etken içinde bulunduğu genusun diğer üyeleri gibi aerobik ve asakarolitik katabolizma göstermektedir. Bu grup üyeleri riketsiyaların da yaptığı gibi glutamin ve glutamat kullanarak ATP oluştururlar. *A. phagocytophilum* riketsiyalardan farklı olarak glutamini tercih eder. Bu tercihin sebebi glutaminin glutamata göre daha iyi bir şekilde fagozoma penetre olmasıdır (30). Bu genusun üyeleri enerji metabolizmalarında glukoz-6-fosfat veya glukoz kullanmazlar. *A. phagocytophilum* en iyi metabolik aktivitesini pH 7.2- 8 arasında göstermektedir. Bu pH değerlerinin altındaki aktivitesi giderek azalmakta ve bunun sonucunda *A. phagocytophilum*'un asidofilik olmadığı anlaşılmaktadır (4,30).

Hastalığın 3 yaş ve üzerindeki atlarda genç atlara göre daha şiddetli seyrettiği bildirilmekte, klinik belirtileri atın yaşına ve hastalığın şiddetine bağlı olarak hafiften şiddetliye doğru bir değişim gösterdiği belirtilmektedir (1,2).



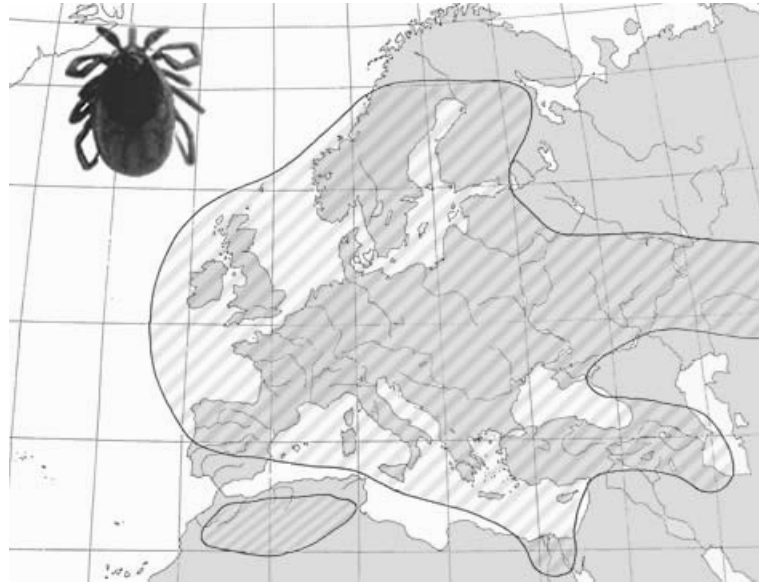
## Bulaşma

*A. phagocytophilum*'un meydana getirdiği hastalıkta attan ata bulaşma olmaz.. *A. phagocytophilum ixodes* türündeki kenelerin erişkin formlarınca taşınmaktadır. Etkenin *Ixodes* keneleri tarafından yayıldığına dair bir çalışma Pancholi ve arkadaşları (37) tarafından 1995 yılında yapılmıştır. Bu çalışmadan sonra daha çok PCR methodu kullanılarak yapılan bazı çalışmalarda (11,20,31) Amerika ve Avrupa'da Ixodidae kenelerinde *A. phagocytophilum*'un varlığı ortaya konmuştur (38). Amerika'nın kuzeydoğusunda hastalığın yayılımından *I. scapularis* sorumlu iken, Amerika'nın batısında *I. pacificus* sorumlu vektör olarak bildirilmektedir (19,39,40). Almanya'da ve Avrupa'nın diğer ülkelerinde *I. ricinus*'un hastalığın vektörü olduğu bildirilmektedir (Şekil 2). Ülkemizde de hastalığın *Ixodes ricinus* adlı kene türü tarafından taşındığı düşünülmektedir (41,42). *Ixodidae* familyasından kenelerin, Lyme hastalığı etkeni olan *Borrelia burgdorferi*'nin taşınmasından da sorumlu oldukları bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda bu kene türünün Lyme hastalığı etkeni ile birlikte *A. phagocytophilum*'u da birlikte taşıyıp bulaştırdığı ortaya konmuştur (39,41,42). *Ixodidae* keneleri arasında en yaygın olan *R. sanguineus* dünyada yüksek endemiye sahip bir kene türüdür ve bu keneler genelde köpeklerde ehrlichiosis'in bulaşmasından sorumludurlar (43). Ruminantların tick-borne fever'ı ve insan granülositik ehrlichiosis'in etkeni olan *A. phagocytophilum*'un Avrupa'da bilinen vektörü *Ixodes ricinus*'tur (17,44).

Keneler vektör olarak *E. chaffeensis*, *E. ewingi* ve *A. phagocytophilum*'un taşınmasından sorumludur ve bu keneler genelde *Ixodidae* familyasının üyesidirler. *A. phagocytophilum*'un *Ixodidae* familyasına ait kenelerde varlığı ilk kez 1995 yılında Pancholi ve arkadaşları (37) tarafından ortaya konulmuştur. Bu çalışmadan sonra PCR yöntemiyle yapılan bir çok araştırmada etkenin *Ixodidae* familyasına ait kenelerde varlığı tespit edilmiştir (45).

Kenelerin yaşam sikluslarında yumurta, larva, nimf ve erişkin dönem olmak üzere dört evre bulunmaktadır. Kanla beslenme bir kenenin larvadan nimfe, nimften erişkin forma geçişi sırasında önemli rol oynar. Erişkin keneler yaşam sikluslarını tamamlamak için mutlaka kanla beslenmek zorundadırlar. Hastalığın bulaştırılmasında bakterinin transovarial geçişinin (erişkinden yumurtaya) söz konusu olmadığı düşünülmektedir. Daha çok immatur kenelerin hastalığı bir canlıdan alıp, yaşam evreleri boyunca bunu taşıdıktan sonra bulaştırdığı

düşünülmekte ve bu olay trans-stadial geçiş olarak tanımlanmaktadır. Nimf ve yetişkin *R. sanguineus* ve *D. variabilis* kenelerinin *E. canis*'i köpeklere bulaştırdıkları deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur (43). Bu çalışmalarda yetişkin *R. sanguineus* kenelerinin beş aya kadar bir süre enfektif kalabildikleri ortaya konmuş ve bu nedenle kenelerin belirli bir düzeyde rezervuar rolü üstlenebilecekleri bildirilmiştir (13). İsviçre ve İsrail'de küçük rodentler ve çakallarda yapılan çalışmalarda bu vahşi canlıların, hastalığın yayılımında rol oynadıkları bildirilmiştir (13,17,23).



Şekil 2: *Ixodes ricinus*'un coğrafik dağılımı

Hastalığın etiolojisinde kenelerle bulaşmanın hastalığın yayılmasında tek epidemik özelliğe sahip olduğu belirtilmektedir. Laboratuvar ortamında yapılan çalışmalarda farelerin de hastalıkta rezervuar olarak rol üstlendiği ortaya konmuştur (13,23). Yapılan bir çalışmada (16) ahırlarda bulunan kırlangıçların hastalığın görülme riskini arttırabildiği rapor edilmiştir. Direkt olarak hayvandan hayvana bulaşmanın söz konusu olmadığı düşünülmektedir. Ancak, deneysel olarak hastalığın bir hastadan diğerine kan transfüzyonuyla bulaştığı bildirilmiştir (24,46). Yapılan diğer bir çalışmada (47), etkenin intravenöz yolla inokulasyonu veya keneler yoluyla bulaşması ile klinik belirtilerin şiddeti ve hastalığın gelişimi arasında herhangi bir

fark olmadığı bildirilmiştir; fakat kene ısırmasıyla meydana gelen bulaşmada inkubasyon periyodunun daha uzun olduğu rapor edilmiştir.

## **Patogenez**

Kene ısırmasını takiben *A. phagocytophilum*, kene tükürüğü ile beraber ısırık bölgesine ulaşmakta ve buradan lenf ve kan yolu ile genel dolaşıma katılmaktadır. Doğal enfekte keneler kullanılarak meydana getirilen deneysel enfeksiyon sonucu inkubasyon periyodu üç hafta olarak kaydedilmiştir (23). Bir - üç hafta arasında değişebilen bir inkubasyon dönemini takiben klinik belirtiler ortaya çıkmaktadır (13).

Hastalıkta lökopeni, trombositopeni ve anemi en önemli hematolojik değişikliklerdir. Bunların oluşumunda kan hücrelerinin aşırı yıkımı veya çevresel birikiminin etkili olabileceği düşünülmektedir (1,2,15,24,32). Etkenin bir granülositten diğer bir granülosite geçişi, enfekte hücrenin lize olması veya ekzositozu yoluyla olmaktadır (4).

*E.canis*, *E.chaffeensis* ve bunlara antijenik olarak yakın olan *A. phagocytophilum*, bazı mekanizmalar ile konakçı hücre biyolojisini kendi lehlerine değiştirebilmekte ve konakçı immun sisteminden korunabilmektedirler. Savunma sistemini uyarabilen lipopolisakarit ve peptidoglikandan yoksun olan bu ajanlar, bunların yerine hücre içine yönlendirmeli endositoz ile girmektedirler (30). Bu etkenler içinde buldukları endozom/ fagozomların lizozom ile füzyonunu engelleyebilme yeteneğine sahiptirler. Etken ayrıca NADPH oksidaz sistemini, fagosit aktivasyonunu ve farklılaşmasını inhibe ederek immun sistemin öldürücü etkisinden kaçabilmektedir (4).

*A. phagocytophilum* ile granülosit arasındaki ilişki bakteri-nötrofil ilişkisine ilginç örneklerden biridir. Mikroorganizma nötrofiller içerisinde yaşar ve bölünerek çoğalabilir. *A.phagocytophilum* konakçı intrasellüler ortamında kendine has stratejiler geliştirebilen benzersiz bir örnek olarak gösterilebilir (30).

*A. phagocytophilum* fagositoz ile nötrofil içine alındıktan sonra nötrofillerde sadece O<sub>2</sub> üretimini bloke etmez. Aynı zamanda hücrelerin farklı stimülasyonlara yanıt olarak oksijen üretimini engeller. Enfeksiyon sırasında meydana gelen superoksit üretimindeki azalmanın mekanizması henüz anlaşılacakla beraber NADPH oksidazın supresyonu bu olayda rol

oynar gibi görülmektedir (4). Carlyon ve arkadaşları (30) yaptığı çalışmada NADPH membran bağımlı komponent gp91phox ve sitosolik protein Rac2'nin değişikliğe uğradığını bildirmişlerdir. Anaplasma enfeksiyonu sırasında NADPH oksidazın geri kullanılması aktif değildir. Anaplasma hastalarında meydana gelen sekonder enfeksiyonların NADPH oksidaz aktivitesinde meydana gelen azalmayla korelasyonu olup olmadığı henüz anlaşılamamıştır. Günümüze kadar yapılan çalışmalar bu nötrofil spesifik patojen olan anaplasmanın virulens faktörleri ve bunların invivo enfeksiyon fonksiyonları hakkında yeterince bilgi vermemektedir (23,30).

Hastalığın klinik belirtiler gösteren formunun yaygınlığı bilinmemektedir, fakat birçok atın klinik belirti göstermeksizin bu hastalık için titre göstermesi endemik bölgelerde *A. phagocytophilum* ile subklinik enfeksiyonların meydana gelebileceğini düşündürmektedir (7).

Equine Granülositik Ehrlichiosis ilk kez 1969 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nin Kuzey Kaliforniya (2) eyaletinde olmak üzere Kolorado, Illinois, Florida ve New Jersey'de ortaya konmuştur (1,2). Hastalığın tanımlanmasından sonra İngiltere (1,2), Danimarka (32), Kanada (9), İsveç (10), İsviçre (11), Fransa (15,16), Almanya (8) ve İtalya (13,14) gibi Avrupa ülkelerinde ve Güney Amerika'da (32) ve İsrail (17)'de vakalar bildirilmiştir.

İtalya'da 1996 yılında 6 yaşlı bir binek ata bildirilen ilk vakada İndirekt Floeresan Antikor (IFA) testine pozitif yanıt, nötrofillerde karakteristik morula ve oksitetrasiklin tedavisi sonucu iyileşme gözlenmiştir (13,23). 1997 yılında Latium bölgesinde 563 at serumunun IFAT ile değerlendirilmesi sonucunda % 0,3 oranında *E. phagocytophila* pozitif reaksiyon bulunmuştur. 1998 yılında semptomatik belirti gösteren 14 yarış atında serolojik olarak pozitif yanıt alınmamıştır (23).

Kalifornia'nın endemik bölgelerinde atların serum antikorlarına göre %10 prevalans saptanırken, endemik olmayan bölgelerde %3 saptanmıştır (7). Hastalığın sık sık görüldüğü çiftliklerde atların %50'sinde hastalığa karşı antikor geliştiği bildirilmiştir (3).

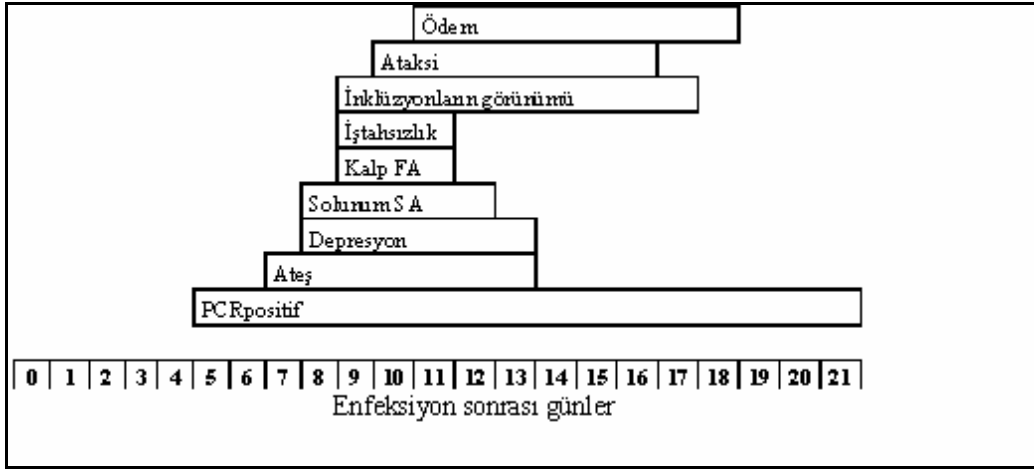
## Klinik Bulgular

*A. phagocytophilum* 'un neden olduğu, equine granulositik ehrlichiosisin en önemli klinik belirtileri ateş, peteşiler, myalji ve ödemdir (1,2,9,15,24,32). Lökopeni, trombositopeni, c-reaktive protein ve hepatik transaminaz seviyesinde artışın olması da belirlenen diğer bulgulardır (Şekil 3). Hastalıkta uzun süren dalgalı ateş, titremeler, hemorajiler, rhabdomyelitis ve oportunistik enfeksiyonlar sonucu ölüm şekillenebilmektedir (15,32).

Hastalığın klinik bulgularından olan ödem hastalık sırasında gelişen karakteristik vasculitis sonucu meydana gelir (32). Spontan olarak gelişen hastalığın inkubasyon periyodu iki haftadan azdır (15). Klinik olarak 40-42°C ateş, mukozal solgunluk, sarılık, anoreksi, depresyon, solunum hareketlerinde artış, inkoordinasyon ve genel hareketlerde azalma meydana gelir. Bunu takip eden 3-4 gün içerisinde ekstremitelerde ödem şekillenir (1,2). Gelişen trombositopeni neticesinde mukoz membranlarda peteşi ve hemorajiler görülebilir (32). Kalpte aritmiler genellikle hastalığın akut fazında görülmektedir. Akut fazda gelişen ventriküler prematüre vurumlar, myokardiyal kaslarda meydana gelen vaskülitis ile ilişkilendirilmektedir (1,2,3,22). Meydana gelen generalize vasculitis sonucunda at ayakta durmakta güçlük çeker. Bu yüzden klinisyenlerin yatan bir ata tanısal anlamda yaklaşırken mutlaka Equine Granulositik Ehrlichiosisi akıllarına getirmeleri tavsiye edilmektedir (28). Atlarda *A. phagocytophilum* enfeksiyonu sonrasında bildirilen ataksi benzeri nörolojik bulgulara *A. phagocytophilum* ve *E. chaffeensis* ile enfekte insanlarda ve *E. canis* ile enfekte köpeklerde rastlanmaktadır (32,39,48).

Hastalığın akut fazı süresince orta şiddette anemi ve trombositopeni meydana gelir. Tedavi olmaksızın sekonder bakteriyel bir kontaminasyon olmadığında hastalığın kendini 2-3 hafta içerisinde sınırladığı gözlenmiştir (1,22). Hastalığın kronik fazı bildirilmemiştir (2,3).

Hastalığın doğal sürecinde ölüm genellikle inkoordinasyon sonucu meydana gelen travmalara bağlı olarak veya etken ile ilişkili immunsupresyona bağlı gelişen sekonder bakteriyel kontaminasyonlara bağlı görülmektedir (32). Hastalığın ölüm oranı Dumler ve arkadaşları (31) tarafından %1'den daha az olarak bildirilmiştir. Deneysel olarak enfekte edilen bir atın hastalığın akut fazında öldüğü rapor edilmiştir (32). Gebe kısraklarda hastalıkta abort vakası bildirilmemiştir (1,2). İnsanlarda da HGE'ye bağlı olarak ölüm görüldüğü rapor edilmiştir (32).



Şekil 3 : Deneysel enfekte edilen atlarda klinik bulguların oluşum günlerini gösteren tablo. Kalp FA : Kalp frekansında artış, Solunum SA : solunum sayısında artış (24)

Deneysel olarak enfekte edilen atlarda hastalığa özgü belirtilen klinik bulgular doğal enfeksiyonda olduğu gibi sırasıyla gelişir. Bu bulgular; ateş, depresyon, kısmi veya tam iştahsızlık, kalp frekansında artış, solunum sayısında artış, ataksi, yürürken sendeleme, hareketlerde isteksizlik ve ekstremitelerin distalinde ödemdir (1,2,3,22). Yüksek dozda enfektif kanla deneysel olarak enfekte edilen iki attan birinin akut klinik belirtilerin görülmesinden 2 gün sonra öldüğü, diğer attan ise klinik bulguların daha kısa zamanda ortaya çıktığı bildirilmiştir (32).

Deneysel enfeksiyon oluşturulan atlarda inkübasyon periyodunun 4–9 gün arasında olduğu ve ateşli dönemin 5–10 gün arasında değiştiği belirtilmiştir. Bu çalışmada kullanılan diğer atlarda ateş düştükten 1–2 gün sonra klinik bulguların ortadan kalkmaya başladığı rapor edilmiştir. Bütün atlarda görülen ilk bulgu ateş ve sonrasında solunum sayılarındaki değişim olarak gözlenmiş, bunu kalp frekansındaki artışın ve iştah kaybının takip ettiği bildirilmiştir (32). Klinik belirtilerin başlamasından 2–4 gün sonra ataksi gelişirken, hastalığın 4. gününde ekstremitelerde ödem meydana geldiği gözlenmiştir. Tüm vakalarda enfeksiyondan 22 gün sonra herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadığı rapor edilmiştir (15,32). Hastalıkla ilgili immün yanıtın yeterli düzeyde olmadığı, primer enfeksiyon sonrası 100. günde tekrar deneysel enfekte edilen attan antikorların yeterli korunmayı sağlamadığı, fakat hastalığında şiddetli seyretmediği orta derecede klinik bulgular gösterdiği saptanmıştır (22,32).

## Tanı

Olgulardaki klinik ve laboratuvar bulguları Equine Granulositik Ehrlichiosis'den şüphelendirir, fakat bunların neredeyse tamamı hastalığa özgün değildir. Bu bulguların yanında anamnezde kene ısırması veya kenelerle endemik olan bölgelere seyahat gibi bilgilere ulaşılması hastalığı düşündürmelidir; fakat hastalığın kesin tanısı için laboratuvar muayenelerine gereksinim duyulmaktadır (1,25,43).

Hastalığın ayırıcı tanısında equine herpes virüs-1 enfeksiyonu, eastern equine encephalitis virusu, west nile viral encephalitis virusu, equine protozoal myeloencephalitis virusu ve yangısal meningitiser ile kuduz, botulismus, neoplaziler, parazit migrasyonları ve muskuloskeletal hastalıklar göz önünde bulundurulmalı, hastalıkların klinik ve laboratuvar bulgularıyla ayırıcı tanıları yapılmalıdır (1,2,3,15,22,32).

*A. phagocytophilum* enfeksiyonunun tanısında PCR (polimerase chain reaction) ve IFA testi, ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) ve Immunoblot teknikleri gibi serolojik testler kullanılmaktadır (14,24,32,49-51).

**PCR:** PCR yöntemi *A. phagocytophilum* enfeksiyonlarının tanısında yaygın olarak kullanılan bir test yöntemidir. Bu yöntemle etken tür düzeyine kadar ayrılabilir. 16S rRNA geni başta olmak üzere ısı şok proteinleri geni ve yüzey antijenlerini kodlayan genler PCR'da hedef genler olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda (24,49,51,52) anaplasma etkenlerinin vektörlerdeki yaygınlığının belirlenmesinde PCR yönteminin etkin olarak kullanılabilirliği ortaya konulmuştur.

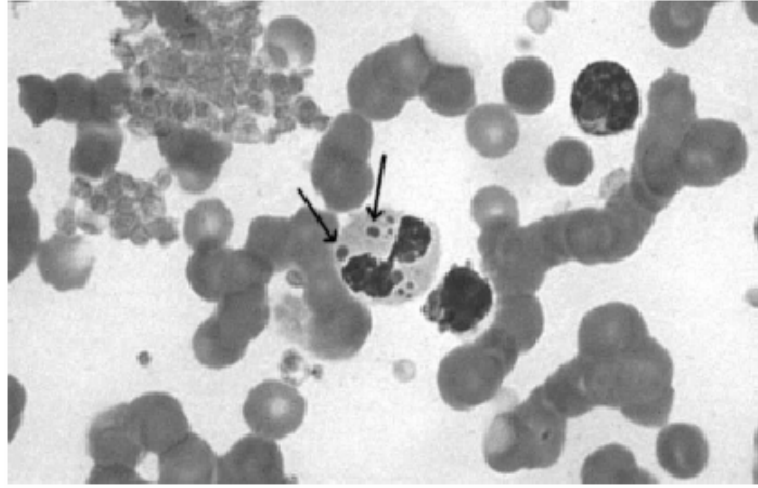
**Serolojik Testler:** Anaplasma etkenlerine karşı gelişen humoral immün yanıtın belirlenmesiyle hastalığın serolojik teşhisi yapılabilir. Bu amaçla IFA, ELISA ve Immunoblot teknikleri kullanılmaktadır (26). Deneysel olarak enfekte edilen bir atta serolojik olarak muayene yapıldığında hastalığın 7. gününde atın 1:40 oranında serokonvert olduğu bildirilmiştir (32).

Hastalığın teşhisinde kullanılan IFA ve ELISA testleri karşılaştırıldığında IFA testi ve ELISA'nın uyumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir (1,2,53). ELISA testleri IFA'ya göre daha

kolay kullanılır olması, çok sayıda örneğe kısa zamanda bakmadaki kolaylık ve düşük maliyet sebebiyle tercih edilmektedir (54,55).

**Mikroskopi:** Rutin farklı hücre sayımları sırasında bazen spesifik hastalık teşhisini sağlayan, nötrofillerde intrasitoplazmik inklüzyonlar (morula) gözlenebilir (Şekil 4,5). Bu inklüzyonlar viral, riketsiyal, fungal veya protozoal enfeksiyonlarda oluşabilir (25).

Giemsa boyama ile aynı prensibe dayanan hızlı boyama yöntemleri ile kandan veya dokulardan yapılan preparatlarda etken aranabilir. Bu yöntemlerin başında Diff Quick ve Romanowsky gelmektedir. Bu boyamalar sonucunda granülositler içerisinde ehrlichia inklüzyon cisimcikleri görülebilir (25,26). Acridin orange ile boyanan kan frotileri, flüoresent mikroskoplarda muayene edilebilir. Inklüzyon cisimcikleri yönünden muayene yapılırken her kan frotisinde en az 200 adet nötrofil muayene edilmelidir (32).

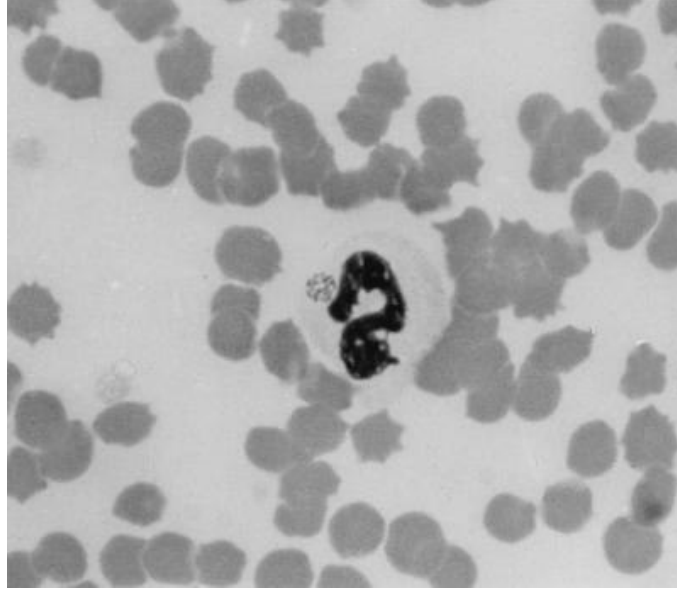


**Şekil 4:** At granülositleri içerisinde *A. phagocytophilum*'a ait morula (oklar) oluşumu. Hemacolor x 1.000

Riketsiyal inklüzyonlar, riketsiyal hastalıkların akut döneminde değişik lökositler içinde bulunurlar. Buffy coat sürme preparatlarının muayenesi lökositler içerisinde morulanın identifikasyonunu kolaylaştırabilir. Bununla birlikte, inklüzyon cisimcikleri geçicidirler ve ender olarak ortaya çıkarlar. Bu şekilde hastalığın tanısını koymak oldukça zordur (25). Bu nedenle riketsiyal hastalıklar en iyi akut ve inkübasyon periyodunda antikor titrelerinin belirlenmesiyle teşhis edilebilirler (4,25,26). Deneysel olarak enfekte edilen bir atta inokulasyon sonrası ilk olarak 6. günde nötrofiller içerisinde inklüzyon cisimciklerine



rastlandığı bildirilmiş, hastalığın 7. gününde nötrofillerin %9'unun içerisinde inklüzyon cisimciğine rastlandığı belirtilmiştir (32).



Şekil 5: 12 yaşlı bir Arap atın nötrofilinde *A. phagocytophilum*'a ait morula. Buffy coat smear, May-Grünwald Giemsa boyama ile, büyütme, x 1.000

**Patolojik Muayene:** Deneysel olarak meydana getirilen hastalık sonucu ölen bir atta yapılan patolojik muayene sırasında makroskopik olarak görünen en önemli bulgunun hemoraji olduğu belirtilmektedir (1,2). Nasal mukoza ve sinüslerde peteşi ve ekimozların olduğu, aynı zamanda boyun bölgesinde ve trachea'nın toraks girişinde intramusküler alanda ve deri altı dokuda ödem olduğu bildirilmiştir (33). Klinik olarak etkilenen atların nekropsisinde toraks bölgesi açıldığında yaklaşık 500 ml miktarda serbest kanla karşılaşıldığı, bunun yanında kalbin subepikardiyal ve subendokardiyal bölümlerinde değişen derecelerde ekimozların olduğu belirtilmiştir. Diyaframın torasik bölümünde ve akciğer paransiminde ve mediastinumda değişen derecelerde ödem ve hemoraji görüldüğü saptanmış, abdominal bölgede dalak, karaciğer ve böbreklerde hemorajiye rastlanmıştır (32).

Patolojik olarak en büyük lezyon böbreklerde belirlenmiştir. Glomerulusların konjeste olduğu, endotelial hücrelerin şiştiği ve perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonuna ve hemorajiye bağlı olarak kapillar damarların duvarlarının kalınlaştığı, bununla birlikte birçok damarın lumeninde hyalin trombusuna rastlandığı bildirilmiştir (32,33). Mikroskopik olarak

dalak ve karaciğerde hücre nekrozları ve hemosiderozise rastlanmıştır. Kas, kas fasiyası, beyin ve spinal kord bölgesinde herhangi bir histolojik değişikliğe rastlanmamıştır. Dokulardan yapılan bakteriyolojik muayenelerin negatif sonuç verdiği belirtilmiştir (32,33).

## **Tedavi**

Anaplasmosisin tedavisine başlamadan önce hastalığın laboratuvar destekli tanısının konması gerekir. Hastalık kendisini sınırlayabilen bir karaktere sahiptir ve eğer sekonder bir kontaminasyon söz konusu olmaz ise hastalık 2 gün ile 3 hafta arasındaki bir süreç içerisinde kendini sınırlar (15).

*A. phagocytophilum* enfeksiyonunun tedavisinde kullanılacak antibiyotikler üzerine yapılan bir çalışmada (27) ehrlichiosis etkeninin ve tüm türlerinin ampisilin ve ceftriakson içeren Beta-Laktam grubu antibiyotiklere, aminoglikozid grubunda bulunan amikasin, makrolid grubu üyesi olan eritromisine ve azalid grubundan azitromisine karşı dirençli olduğu ortaya konmuştur. Trimetoprim-sulfametoksazole kombinasyonunun yüksek dozlarda efektif olduğu, fakat bu dozda dahi birkaç morulanın gözlenebildiği, kloramfenikolün aktivitesinin ise zayıf olduğu bildirilmiştir (27,28).

Hastalığın spesifik tedavisi için 7 mg/kg dozda 24 saate bir intravenöz yolla oksitetrasiklin uygulanmalı ve tedaviye ortalama 5-7 gün boyunca devam edilmelidir (1,2). Tetrasiklin tedavisine yanıtın saptanmasındaki önemli kriterler ateşin 12-24 saat içerisinde hızla düşmesi ve klinik bulguların 5-7 gün içerisinde iyileşmesidir. Oksitetrasiklin tedavisine başladıktan 24 saat sonra inklüzyon cisimciklerinin azaldığı, hatta inklüzyon cisimciklerinin tamamen ortadan kalktığı bildirilmiştir (15).

Hastalığın tedavisinde Maurin ve arkadaşları (27)'nin belirttiği gibi doksisiklin, rifampin ve levofloxacinin kullanılabilmesi ve ilk tercih olarak doksisiklin seçilmesi gerektiği bildirilmiştir.

## **Korunma**

Keneler kan emerek ve birçok hastalık etkeninin vektörü olarak hayvan ve insan sağlığını tehdit eden önemli ektoparazitlerdir(43). Türkiye, iklimi, yüzey şekli ve bitki örtüsü bakımından kenelerin biyolojik aktivitelerini sürdürmeleri için uygun koşullara sahip bir ülkedir.

Atların kenelerden korunabilmesi için öncelikle barınaklarının düzenli inşa edilmesi, yarık ve çatlakların kapatılması gereklidir. Ayrıca, toprağa uygulanabilen ilaçlar ile barınaklar düzenli olarak ilaçlanmalıdır (56). Özellikle bahar aylarından başlanarak, kenelerin aktivasyon gösterdikleri dönemlerde hayvanlara sistemik ve uzun süre etkili akarisitler uygulanmalıdır. Hayvanların ilaçlanmasında organik fosforlu, pretrinli, piretroidli ve karbamatlı ilaçların kullanılması önerilmektedir. İvermektin grubu ilaçlar kenelere etkili olmakla beraber etkileri gecikmeli olarak ortaya çıktığı için hastalık bulaşmalarını engellemede başarısız kalabilmektedir (57).

Mera ve otlakların kontrol altında tutulması gereklidir. Kenelerin rahatça saklanabileceği, ot boylarının çok yüksek ve düzensiz olduğu meralar ıslah edilmelidir. İçerisinde çalılık-ağaçlık alanların olduğu alanlar kene yönünden incelenmeli, sakıncalı alanlar ilaçlanmalıdır. Meralar, çok yoğun kene içeriyor ise genel açık alan ilaçlamaları ile kene popülasyonu kontrol altına alınmaya çalışılabilir. Bir hektar alana Deltametrin ve Lamdacyalotrin 0,003–0,3 kg, Permetrin 0,03–0,3kg, Primiphos methyl 0,1–1 kg oranlarında uygulanabilir. Ancak, geniş otlaklar düşünüldüğünde bunun oldukça masraflı olduğu ve tek uygulamanın yetersiz olduğu unutulmamalıdır. Özellikle hayvanların yoğun olarak kullandığı dinlenme ve sulama alanları, gübre birikim bölgeleri ilaçlanmalıdır. İlaçlamalara, iklim şartlarına göre 3–4 hafta aralar ile kene aktivasyon süresince devam edilmelidir. Bu ilaçlamalarda çevreye ve ortamdaki diğer canlılara zarar vermeyecek ilaçlar seçilmelidir ve zorunluluk olmadıkça bu yolla mücadele tercih edilmemelidir (56,57).

Daha etkili ve başarılı mücadele için, evcil hayvanlara ek olarak yabani hayatı da kapsayan ulusal çaplı kontrol programları hazırlanmalıdır. Bu amaçla ülke genelinde kene yaygınlığı ve aktivasyon dönemleri tespit edilmelidir. Bölgelerin iklim ve coğrafik özellikleri dikkate alınarak ilaçlama dönemleri ve tekrar oranları ayarlanmalıdır. Sıcak ve nemli bölgelerde her üç haftada bir ilaçlamalar tekrarlanmalıdır (56).

Hastalıktan korunmada řu ana kadar bildirilen herhangi bir koruyucu aşı bulunmamaktadır (1-3), fakat laboratuvar ortamında *I. scapularis* cDNA'sından elde edilen ve potansiyel bir kene koruyucu protein olarak bilinen ve ilk zamanlarda 4D8 olarak adlandırılan şimdilerde ise subolesin olarak isimlendirilen bir protein immunizasyon amacıyla kullanılmaktadır. Rekombinant subolesin kullanılarak yapılan immunizasyon çalışmalarında subolesinin larval, nimfal ve ergin *I. scapularis* enfestasyonlarını azalttığı saptanmış; daha sonra ise proteinin ixodes kene türlerinde korumada kullanılabileceği bulunmuştur. De La Fuente ve arkadaşları (58) subolesinin birçok kene türünü kontrol etmede ve kenelerden doğan hastalıklardan korunmada etkili bir aşı antijeni olabileceğini bildirilmişlerdir.

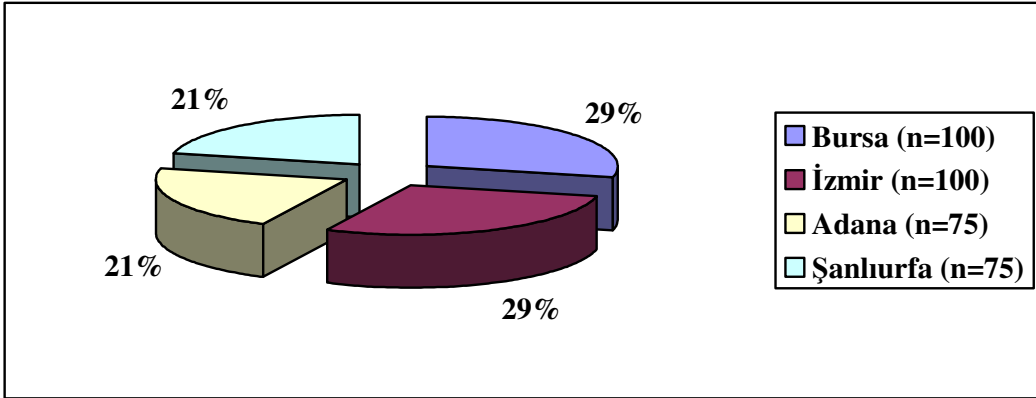
## GEREÇ ve YÖNTEM

### GEREÇ

Çalışmanın materyalini 2005 yılı Mayıs – Ekim aylarında Bursa, İzmir, Adana ve Şanlıurfa illeri Türkiye Jokey Kulübü Hipodromları At Hastaneleri ve Şanlıurfa ilindeki yetiştirici çiftliklerinden farklı ırk, yaş ve cinsiyette toplam 350 adet at oluşturdu (Şekil 6). Çalışmada Bursa ve İzmir bölgesinden 100'er adet, Adana ve Şanlıurfa bölgesinden 75'er adet at kullanıldı (Şekil 7).

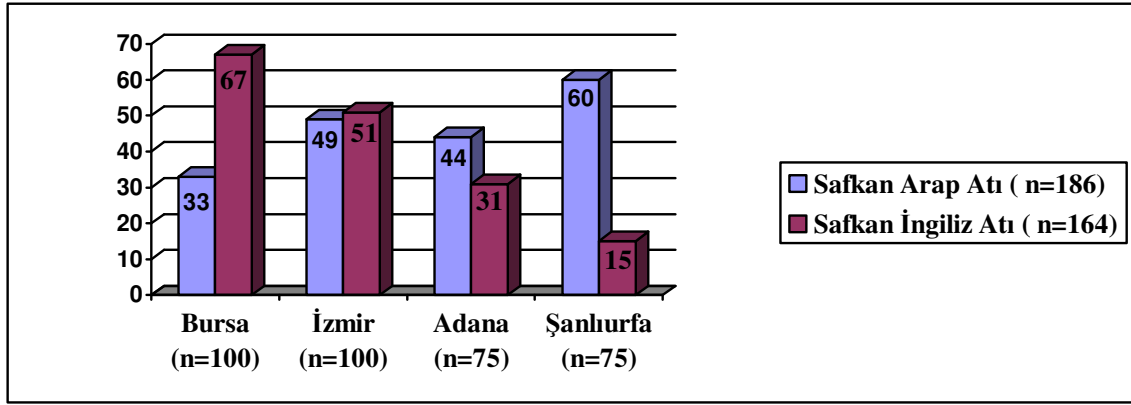


Şekil 6: Çalışma materyallerinin illere göre dağılımı



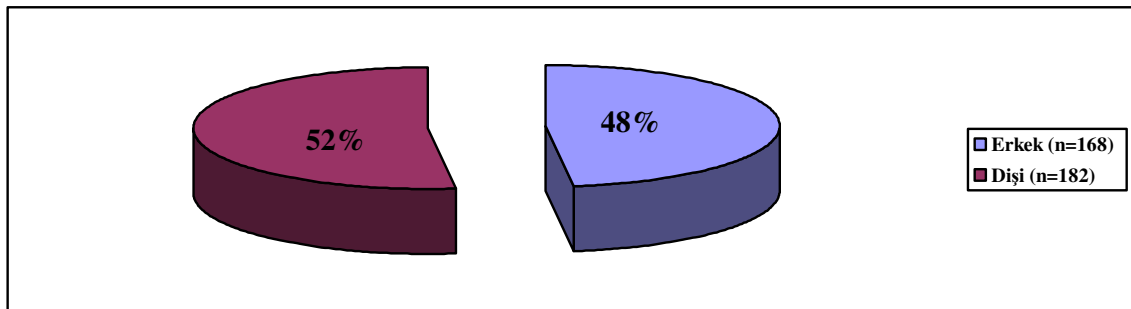
Şekil 7: Çalışma materyalini oluşturan atların illere göre dağılımı.

Bursa bölgesine ait materyali oluşturan atların 33 tanesi Safkan Arap atı, 67'si Safkan İngiliz atı oluştururken, İzmir bölgesine ait atların 49'u Safkan Arap, 51'i Safkan İngiliz atı, Adana bölgesine ait materyalin 44'ü Safkan Arap, 31'i Safkan İngiliz, Şanlıurfa bölgesine ait materyalin ise 60'ı Safkan Arap, 15'i Safkan İngiliz atı idi. Çalışma materyali olarak kullanılan toplam 350 atın 186'sını Safkan Arap atı (% 53.14) ve 164'ünü Safkan İngiliz atı (% 46.86) oluşturdu (Şekil 8).



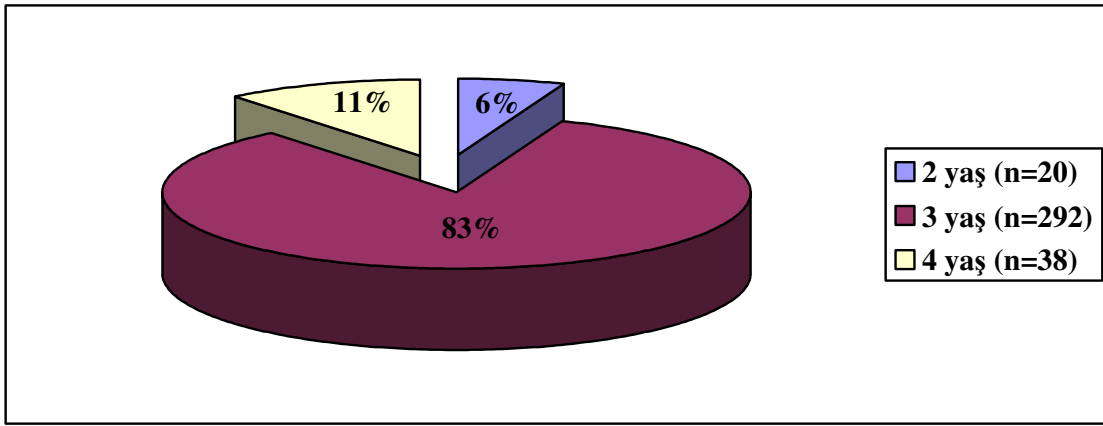
Şekil 8: Çalışma materyalinin ırklara göre dağılımı

Bursa bölgesine ait materyali oluşturan 100 atın 52 tanesi erkek, 48 tanesi dişi, Adana iline ait 75 atın 32 tanesi erkek, 43 tanesi dişi, Şanlıurfa ilinde çalışma materyalini oluşturan 75 atın 42 tanesi erkek, 33 tanesi dişi iken, İzmir iline ait materyali oluşturan 100 atın 42 tanesi erkek, 58 tanesi ise dişidir (Şekil 9).

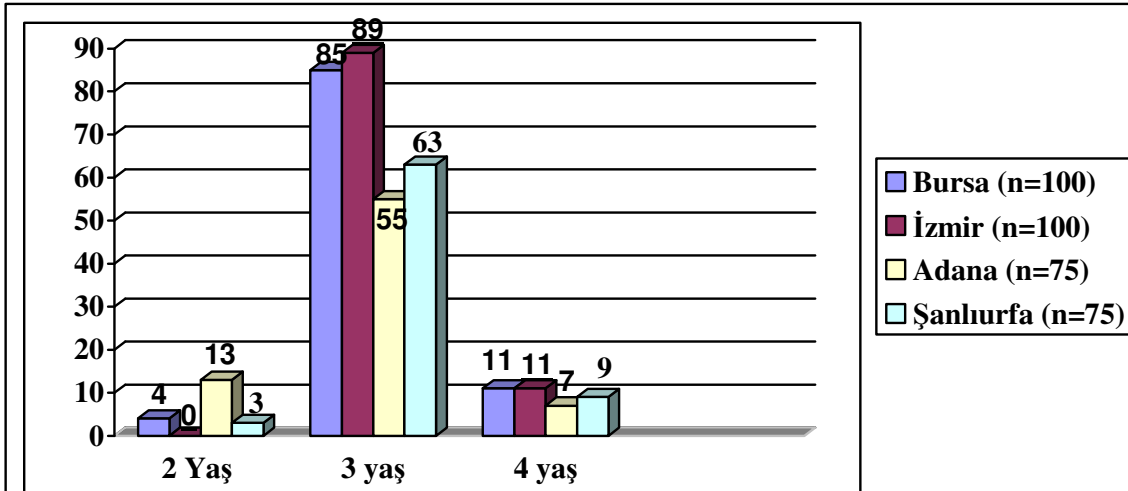


Şekil 9: Çalışma materyalinin (n=350) cinsiyet dağılımları.

Çalışmada Bursa iline ait materyalin 4 tanesi 2 yaşlı, 85 tanesi 3 yaşlı ve 11 tanesi 4 yaşlı atlardan oluşurken, Şanlıurfa iline ait materyalin 3 tanesini 2 yaşlı, 63 tanesini 3 yaşlı ve 9 tanesini ise 4 yaşlı atlar oluşturdu. Adana iline ait materyalin 13 tanesini 2 yaşlı atlar oluştururken, 55 tanesini 3 yaşlı ve 7 tanesini ise 4 yaşlı atlar oluşturdu. İzmir iline ait atların 89 tanesi 3 yaşında 11 tanesi ise 4 yaşında idi (Şekil 10,11).



Şekil 10: Çalışma materyalinin yaşa göre dağılımı



Şekil 11: Çalışma materyalinin iller bazında yaşa göre dağılımı

Çalışmada kullanılan atların hepsinin klinik muayeneleri yapıldı ve beden sıcaklığı, kalp frekansı ve solunum sayıları kaydedildi.

## YÖNTEM

Materyali oluşturan tüm atların vena jugularis'inden antikoagülanlı (K<sub>3</sub>EDTA, 5 ml, Vacutest Kima, Arzergrande - Italy) ve antikoagülanlı (10 ml, Becton Dickinson vacuteiner system, Belgium) tüplere kan örnekleri alındı. Antikoagülanlı kan örnekleri kısa sürede santrifüj (3000 rpm) edildi ve elde edilen serumlar analiz edilinceye kadar derin dondurucuda -20 °C'de ependolf tüplerinde muhafaza edildi.

Alınan antikoagülanlı kan örneklerinden otomatik kan sayım cihazı (Abott Celldynn 3500 R, Pennsylvania, USA) total lökosit sayısı (WBC), eritrosit sayısı (RBC), hematokrit (Hct), trombosit (PLT) sayısı yönünden değerlendirildi.

Çalışmada *A. phagocytophilum* antikorları yönünden pozitif olduğu saptanan 33 ve negatif olduğu saptanan 20 (kontrol) atın serum biyokimyasal analizlerde Vet Scan (Abaxis Inc., California, USA) otomatik biyokimyasal analiz cihazında equine profil rotorları (Abaxis, California, USA) kullanılarak albumin (ALB), aspartate aminotransferase (AST), kalsiyum (Ca), total bilirubin (TBİL), gamma glutamyltransferase (GGT), total protein (TP), globulin (GLOB), kan üre nitrojen (BUN), kreatinin (Cr), glukoz (GLU) ve creatinin phosphokinase (CK) düzeyleri belirlendi.

Toplanan serum örneklerinden *A. phagocytophilum* antikorlarının belirlenmesi amacıyla Helica *Ehrlichia equi* Equine ELISA (Helica BioSystems, Inc, USA) test kiti kullanıldı ve test sonuçları U.Ü Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki ELISA reader (Biotek 808, USA)'da okundu.

Tüm hayvanlardan elde edilen serum örnekleri aşağıda belirtilen ELISA prosedürü doğrultusunda analiz edildi.



## **ELISA Prosedürü**

Kullanılan ELISA test kitleri Helica Biosystems Inc. şirketinden temin edildi. Materyali oluşturan atlardan elde edilen serumlar ilk inkubasyon bölümü için 96 çukurlu mikropleytler içerisine 100 µl oluşacak şekilde kaplandı. Bu işlemden sonra pozitif ve negatif kontrol solüsyonlarından kontrol kuyucuklarına ikişer damla damlatıldı ve bu işlemi takiben mikropleytler oda sıcaklığında 15 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon periyodunun ardından mikropleytler üç kez pisetlere konulan buffer ile yıkandı. İlk inkubasyon periyodu bu işlemlerin yapılması ile sonlandırıldı. Bunu takiben ikinci inkubasyon periyodunda her kuyucuğa ikişer damla konjugattan damlatıldı ve yine oda sıcaklığında 15 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon işlemi ardında mikropleytler ilk inkubasyon periyodunun sonunda yapıldığı gibi pisetlere konulan buffer yardımıyla üç defa daha yıkandı. İkinci inkubasyon periyodu da bu aşama ile sonlandırıldıktan sonra sonuç bölümünde her kuyucuğa ikişer damla substrat damlatılarak 5 dakika oda sıcaklığında inkubasyona bırakıldı bu son inkubasyonun ardından her kuyucuğa stop solüsyonları eklenerek prosedür sonlandırıldı.

## **ELISA Sonuçlarının Değerlendirilmesi**

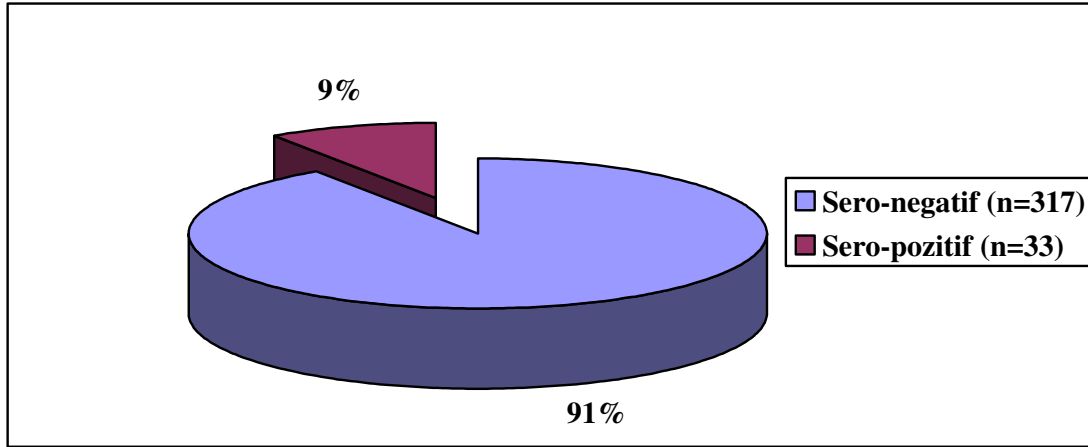
Testler ELISA reader (Biotek 808, USA)'da okundu ve cut-off değeri olarak 0,5 değeri saptandı ve saptanan değerden büyük değerde olan test serumları pozitif olarak kabul edildi (54).

## **İstatistik Analizler**

Bu çalışmanın verileri bilgisayar ortamında istatistik programı (Sigma Stat Version 2,0, San Rafael, CA) kullanılarak analiz edildi. Çalışmada *A. Phagocytophilum* seropozitif ve seronegatif atların klinik ve hematolojik bulgularının karşılaştırmalarında Studen-t testi kullanıldı (59).  $P < 0,05$  değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi. Grafikler Excel programında (Microsoft XP) oluşturuldu.

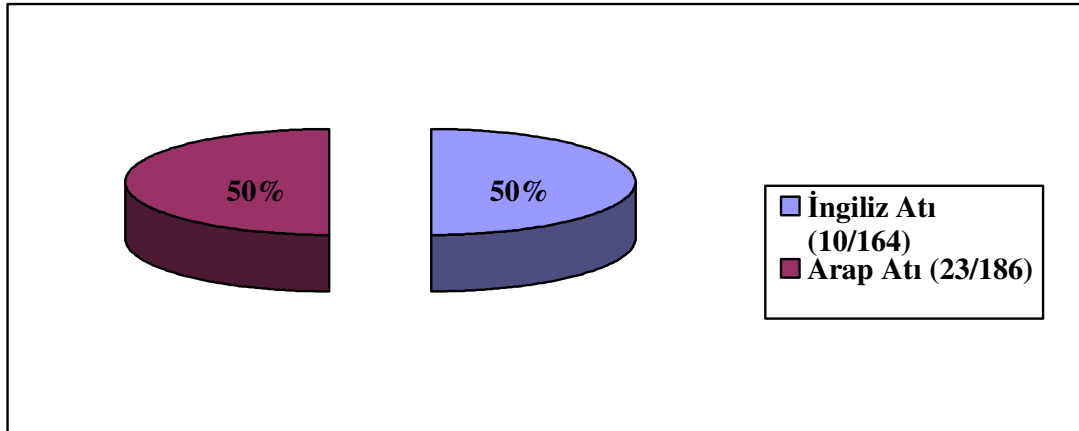
## BULGULAR

Yapılan ELISA analizleri sonucunda çalışma materyalini oluşturan 350 atın 33 tanesinin *A. phagocytophilum* yönünden sero-pozitif (% 9.42), 317 tanesinin sero-negatif (% 90.58) olduğu, olduğu tespit edildi (Şekil 12).

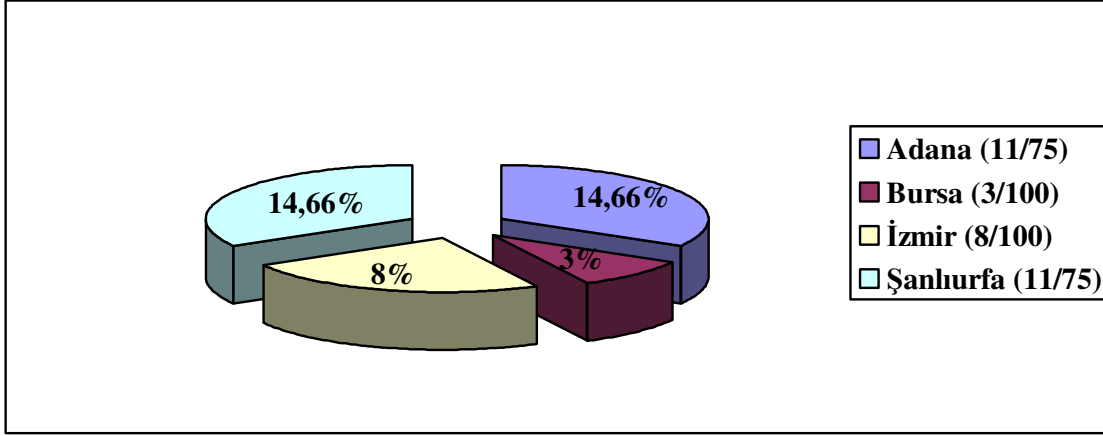


Şekil 12: *A. phagocytophilum* sero-pozitif ve sero-negatif atların dağılımı.

Seropozitif atlar ırklar temelinde irdelendiğinde 186 adet safkan Arap atın 23'ünün (%13.44), 164 safkan İngiliz atın 10'unun (% 13.41) seropozitif olduğu saptandı (Şekil 13)

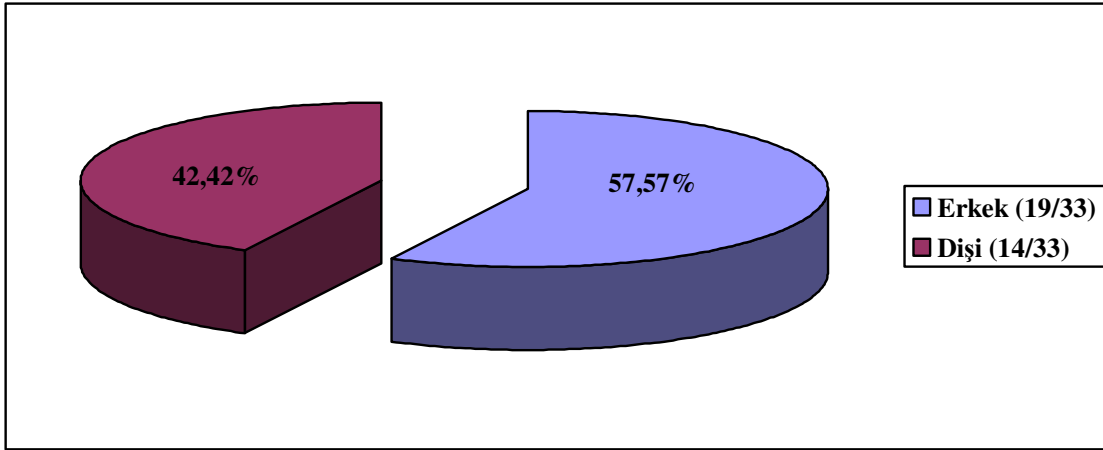


Şekil 13 : *A. phagocytophilum* seropozitif atların (n=33) ırklara göre dağılımı.



**Şekil 14:** *A. phagocytophilum* sero-pozitif atların (n=33) illere göre dağılımı.

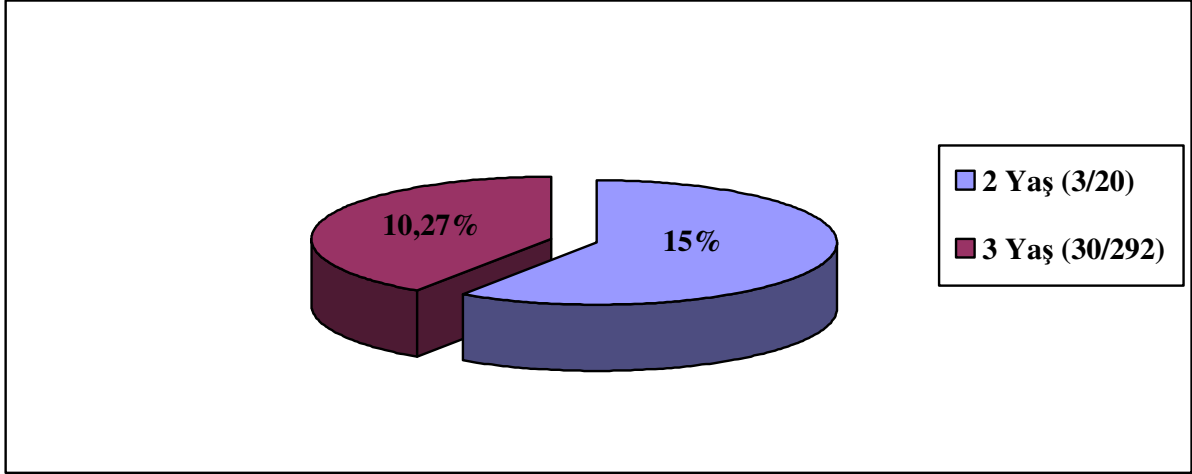
Çalışmada *A. phagocytophilum* yönünden test edilen 350 at iller bazında incelendiğinde Şanlıurfa bölgesindeki 75 atın 11'inin (% 14.66), İzmir bölgesindeki 100 atın 8'inin (% 8), Adana bölgesindeki 75 atın 11'inin (% 14.66) ve Bursa bölgesindeki 100 atın 3'ünün (% 3) seropozitif olduğu belirlenmiştir (Şekil 14).



**Şekil 15:** *A. phagocytophilum* sero-pozitif atların (n=33) cinsiyet dağılımları.

Çalışmada *A. phagocytophilum* yönünden sero-pozitif olan atların 19 tanesi erkek (%57,57), 14 tanesi dişi (42,42) olarak bulunmuştur (Şekil 15).

Çalışmadaki atların tümü yaş bazında değerlendirildiğinde 2 yaşlı 20 atın 3'ünün (% 15), 3 yaşlı 292 atın 30'unun (% 10,27) seropozitif olduğu saptanmıştır. Dört yaşlı 38 atta *A. phagocytophilum* antikorları belirlenememiştir (Şekil 16).



**Şekil 16:** *A. phagocytophilum* sero-pozitif atların (n=33) yaşa göre dağılımı

Çalışma materyalini oluşturan hayvanların klinik muayeneleri yapıldı ve 346 atın klinik muayenesinde sağlıklı oldukları belirlenirken dört atta iştahsızlık, yüksek ateş, lenf yumrularında büyüme, ikterus gibi klinik bulgular saptandı. Seropozitif ve seronegatif atlarda değerlendirilen klinik bulgular Tablo 2’de, klinik şikayeti olan seropozitif olduğu belirlenen dört atın klinik bulguları Tablo 3’de gösterilmiştir.

**Tablo 2:** *A. phagocytophilum* enfeksiyonu yönünden sero-pozitif ve sero-negatif atların klinik parametrelerindeki değişiklikler

Parametre	Sero-negatif	Sero-pozitif	P değeri
T (°C)	37,97 ± 0,02 <sup>a</sup>	38,34±0,08 <sup>b</sup>	0,031
R (/Dak)	14,90±0,19	15,16±0,33	0,654
P (/Dak)	38,45±0,24	38,72±0,47	0,402

**a,b:** Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur.

Tablo 2’de görüldüğü gibi seropozitif atlarda beden sıcaklığının referans değer aralığında olmakla birlikte seronegatif atlardan daha yüksek ( $p<0.05$ ) olduğu belirlenmiştir.

**Tablo 3:** Klinik bulgu gösteren ve *A. phagocytophilum* enfeksiyonu yönünden sero-pozitif olan dört ata ait klinik parametrelerdeki değişiklikler.

Parametre	Olgu I	Olgu II	Olgu III	Olgu IV
T (°C)	39.3	39.5	40.1	39.4
R (/Dak)	20	21	28	20
P (/Dak)	42	46	48	44
Lenf Yumruları	+	++	+	++
İkterus	-	-	+	-

Klinik bulgu gösteren ve *A. phagocytophilum* enfeksiyonu yönünden sero-pozitif olan dört ata ait klinik parametrelerdeki değişiklikler Tablo 3’de verilmiştir. Tablo 3’de verilen olguların tümünde beden sıcaklığı ve solunum sayılarının, iki olguda (olgu II, III) kalp frekansının arttığı, bir olguda (olgu III) ikterus ve olguların tümünde lenf yumrularının büyüme olduğu saptanmıştır.

Seropozitif ve seronegatif atlarda değerlendirilen rutin hematolojik bulguları Tablo 4’de, klinik şikayeti olan seropozitif dört atın rutin hematolojik bulguları Tablo 5’de gösterilmiştir.

**Tablo 4:** *A. phagocytophilum* enfeksiyonu yönünden sero-pozitif ve sero-negatif atların rutin hematolojik parametrelerindeki değişiklikler

Parametre	Sero-negatif	Sero-pozitif	Referans değer	P değeri
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	8,17 $\pm$ 1,96	7,99 $\pm$ 1,94	4,5-10,6	0,608
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	9,87 $\pm$ 1,78	9,36 $\pm$ 2,50	7,0-13,00	0,516
HCT (%)	37,42 $\pm$ 4,36	35,23 $\pm$ 5,18	32-52	0.234
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	196,58 $\pm$ 73,82 <sup>a</sup>	161,31 $\pm$ 42,23 <sup>b</sup>	90-350	0,009

**a,b:** Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur.

Tablo 4’de görüldüğü gibi *A. phagocytophilum* seropozitif atlarda trombosit (PLT) sayılarının sero-negatif atlardan daha düşük ( $p < 0.01$ ) olduğu belirlenmiş, total lökosit (WBC), eritrosit sayısı (RBC) ve hematokrit değeri (Hct) de anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

**Tablo 5:** Klinik bulgu gösteren ve *A. phagocytophilum* enfeksiyonu yönünden sero-pozitif olan dört ata ait hematolojik parametrelerdeki değişiklikler.

Parametre	Olgu I	Olgu II	Olgu III	Olgu IV	Referans değer
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	6.54	8.12	4.38	7.34	4,5-10,6
RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	6.85	7.68	5.71	8.26	7,0-13,00
HCT (%)	33.8	29.7	28.6	34.8	31-48
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	145	95	75	181	90-350

Klinik bulgu gösteren ve *A. phagocytophilum* enfeksiyonu yönünden sero-pozitif olan dört ata ait hematolojik parametrelerdeki değişiklikler Tablo 5’de verilmiştir. Tabloda verilen

iki olguda (olgu I, III) eritrosit sayısı ve hematokrit değerinin düştüğü, bir olguda (olgu III) da trombosit sayısının azaldığı saptanmıştır.

Seropozitif ve seronegatif atlarda değerlendirilen serobiyokimyasal bulgular Tablo 6’de, klinik şikayeti olan seropozitif dört atın serobiyokimyasal bulguları Tablo 7’de gösterilmiştir.

**Tablo 6:** *A. phagocytophilum* enfeksiyonu yönünden sero-pozitif ve sero-negatif atların serum biyokimyasal parametrelerindeki değişiklikler

Parametre	Sero-negatif	Sero-pozitif	Referans Değer	P değeri
ALB (g/dL)	3,53±0,30 <sup>a</sup>	2,52±0,26 <sup>b</sup>	2,6-3,7	<0,001
AST (U/L)	182,96±63,86	199,64±35,90	175-340	0,234
CA (mg/dL)	10,89±2,45	12,2±2,03	11,2-13,6	0,065
TBIL (mg/dL)	0,65±0,43	0,73±0,168	0,5-2,3	0,935
GGT (U/L)	14,07±8,21	12,00±3,67	4-13,4	0,229
TP (g/dL)	6,82±0,58	6,66±0,62	5,2-7,9	0,313
GLOB (g/dL)	3,29±0,5	3,16±0,50	2,6-4,0	0,317
BUN (mg/dL)	15,17±2,99	15,96±5,40	10-24	0,534
CREA (mg/dL)	1,15±0,31 <sup>a</sup>	1,51±0,40 <sup>b</sup>	1,2-1,9	<0,001
GLU (mg/dL)	78,50±34,95	80,82±13,91	75-115	0,249
CK (U/L)	97,17±48,44	104,14±29,43	86-140	0,386

**a,b:** Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 6’da bazı serum biyokimyasal değerlerindeki değişimler aktarılmıştır. *A. phagocytophilum* sero-pozitif atlarda serum kreatinin düzeylerinin belirgin düzeyde ( $p<0.001$ ) daha yüksek, albumin düzeyinin ise daha düşük ( $p<0.001$ ) olduğu saptanmıştır.

**Tablo 7:** Klinik bulgu gösteren ve *A. phagocytophilum* enfeksiyonu yönünden sero-pozitif olan dört ata ait serobiyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler.

Parametre	Olgu 1	Olgu 2	Olgu 3	Olgu 4	Referans Değer
ALB (g/dL)	3,3	3,2	3,4	3,6	2,6-3,7
AST (U/L)	189	224	420	280	175-340
CA (mg/dL)	11,7	12,4	11,8	12,7	11,2-13,6
TBIL (mg/dL)	1,0	0,5	7,8	3,2	0,5-2,3
GGT (U/L)	13	14	18,2	10	4-13,4
TP (g/dL)	7,2	7,1	7,7	7,2	5,2-7,9
GLOB (g/dL)	3,9	3,9	3,3	3,6	2,6-4,0
BUN (mg/dL)	16	17	35	18	10-24
CREA (mg/dL)	1,4	1,9	2,4	1,8	1,2-1,9
GLU (mg/dL)	91	84	79	108	75-115
CK (U/L)	186	145	284	216	125-349

Tablo 7’de görüldüğü gibi, III no’lu olguda AST, bilirubin, kreatinin ve kan üre nitrojen düzeylerinin, IV no’lu olguda ise bilirubin düzeyinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Ehrlichiosis (Equine Granulositik Ehrlichiosis – EGE, *A. Phagocytophilum* enfeksiyonu) atlarda *A. phagocytophilum* tarafından meydana getirilen, ateş (40-42°C), iştahsızlık, bacaklarda ödem, mukozal peteşiler, ataksi ile karakterize mevsimsel seyirli enfeksiyöz bir hastalıktır (1,2,15,32). *A. phagocytophilum* atlarda klinik, laboratuvar ve patolojik yönden insanların granulositik ehrlichiosisine benzer özellikler gösteren hastalık meydana getirmektedir (18). İnsanlarda ölüm oranının atlardaki oranla aynı olduğu ve bu oranın %0.5-1 arasında değiştiği bildirilmiştir (31,32). Bu bağlamda atlarda granulositik ehrlichiosis zoonotik potansiyele sahip olması nedeniyle ayrı bir önem taşımaktadır.

Hastalık ilk olarak 1969 yılında Amerika'nın Kuzey Kaliforniya bölgesindeki atlarda saptanmış, daha sonra dünyada pek çok ülkede görülmüştür (1). Equine granulositik ehrlichiosis'in yerleşmiş herhangi bir coğrafi dağılımı olmamakla birlikte, daha çok subtropik ülkelerde görüldüğü belirtilmektedir (2). Ülkemiz de subtropik iklim kuşağında olması ve kene popülasyonunun yoğun olması nedeniyle atlarda bu hastalığın görülme olasılığı yüksektir (60); ancak günümüze kadar *E. risticii*'nin neden olduğu monositik ehrlichiosis (61) dışında, atlarda granulositik ehrlichiosis ile ilgili bir yayın bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada ülkemizde bulunan atlarda granulositik ehrlichiosis'in serolojik olarak ortaya konulması, seroprevalansının belirlenmesi, bazı klinik ve laboratuvar bulguların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Günümüze dek yapılan çalışmalarda ırklarla ilgili bir karşılaştırılmada bulunulmamış ve hastalığın ortaya çıkmasında herhangi bir ırk predispozisyonun bulunduğu belirtilmemiştir. Çalışmada 186 adet safkan Arap atın 23'ünün (%13.44), 164 safkan İngiliz atın 10'unun (%13.41) seropozitif olduğu belirlenmiştir. Ak ve arkadaşları (61) 100 adet safkan İngiliz yarış atında IFA tekniğiyle monositik ehrlichiosis seroprevalansının %10 olduğunu bildirmişlerdir. Ak ve arkadaşları (61)'nin safkan İngiliz yarış atlarında bildirmiş oldukları monositik ehrlichiosis seroprevalans değeri (%10), safkan İngiliz yarış atlarında bizim belirlediğimiz granulositik ehrlichiosis seroprevalans değerlerine yakın olduğu görülmektedir.

Hastalığın oluşumunda yaşın etkili olduğu bildirilmiştir (3). Madigan (2) hastalığın 2-3 yaşın üstündeki atlarda daha çok görüldüğünü bildirirken, Franzen ve arkadaşları (32) tarafından yapılan çalışmada yaşın immünkomponent durumu etkilediği ve hastalığın daha çok 10 yaşın üzerindeki atlarda daha yaygın olduğu vurgulanmıştır. Çalışmada sero-pozitif olarak belirlediğimiz atların tümünün 3 yaş ve altında olması bu araştırmacıların bulgularıyla uyumlu değildir. Ancak, çalışma materyalini oluşturan atların büyük bir çoğunluğunun



sahadaki koşan atlardan oluşması ve koşan atların yaşlarının genellikle 5 yaşın altında olması nedeniyle çalışmada değerlendirilen atların yaş aralıkları geniş tutulamamıştır.

Atlarda granulositik ehrlichiosisde cinsiyetin önemli olduğu ve erkeklerde hastalığın daha çok görüldüğü bildirilmiştir (2,16). Leblond ve arkadaşları (16) aygırların, kısraklar ve iğdiş edilmiş atlara göre hastalığa daha duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada sero-pozitif olarak belirlediğimiz atlarda erkek atların oranının daha fazla (%57,5) oluşu Leblond ve arkadaşları'nın(16) yaptığı çalışmayı destekler niteliktedir.

Atlarda klinik granulositik ehrlichiosis olgularındaki klinik ve laboratuvar bulguları ehrlichiosis'den şüphelendirir, fakat bunların neredeyse tamamı hastalığa özgün değildir (1,2,15,28,32). Hastalığın kesin tanısı için enfeksiyonun akut döneminde sürme preparatlarda granülositler içerisinde riketsiyal inklüzyonların bulunması veya akut ve inkübasyon periyodunda antikor titrelerinin belirlenmesi gerekmektedir (1,2,22,25,26). Inklüzyon cisimcikleri geçicidir ve ender olarak ortaya çıkarlar. Bu yüzden inklüzyon cisimcikleri ile hastalığın tanısını koymak oldukça zordur. Özellikle klinik bulgu göstermeyen subklinik olguların inklüzyon cisimciklerinin belirlenmesi ile tanısı mümkün değildir. Bu nedenle ehrlichiosis'in tanısı için serolojik tekniklerin (ELISA, IFA) yanı sıra moleküler biyoloji teknikleri (PCR) kullanılmaktadır. Tajima ve arkadaşları (54) ELISA ve IFA testlerini karşılaştırmışlar ve verilerin birbiriyle çok büyük bir oranda korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Bununla beraber ELISA testleri hastalığın tanısında ve taşıyıcı olan hayvanların belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemlerden biridir. ELISA testleri IFA'ya göre daha kolay kullanılır olması, çok sayıda örneğe kısa zamanda bakmadaki kolaylık ve düşük maliyet sebebiyle tercih edilmektedir (54). Bu yüzden, çalışmanın materyalini oluşturan atlardan alınan serum örneklerinin ehrlichiosis yönünden incelenmesi sırasında ELISA tekniği kullanılmıştır.

Ülkemizde, atlarda *A. phagocytophilum* enfeksiyonunun seroprevalansı ile ilgili herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Bununla birlikte, dünyada at hareketlerinin fazlalaşması, Türkiye'ye yabancı ülkelerden damızlık olarak ve yetiştirme maksadıyla birçok hayvan girişi, kene popülasyonundaki artış ve ülkemizin keneleri taşıyabilen göçmen kuşların geçiş noktasında olması bunun yanında etkenin zoonotik potansiyeli hastalığın ülkemiz içinde önemli olabileceğini göstermektedir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ülkeler bazında atlarda hastalığın seroprevalansının İsveç'te IFA testi ile %16,7 (10) Fransa'da ELISA yöntemi ile %11,3 (16), Amerika Birleşik Devletleri'nin Kuzeydoğusunda ELISA yöntemi ile %15,9 (6), Amerika Birleşik Devletleri'nde Sacramento'da IFA testi ile %3,1, Kaliforniya eyaletinde IFA testi ile %10,4 (7), Wisconsin ve Minnesota eyaletlerinde IFA testi ile %17,6

(62), Guatemala'da PCR yöntemi ile %28.4 (51), olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada toplam 350 atın 33'ünde sero-pozitiflik saptanmış ve hastalığın seroprevalansı % 9,42 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuç Amerika Birleşik Devletleri'nin Kaliforniya eyaletinde (%10,47) ve Fransa'da (%11,3) belirlenen seroprevalans değerine yakın bir oranda iken, Amerika Birleşik Devletleri'nde Sacramento'da (%3.1) belirlenen değerden daha yüksek, Amerika Birleşik Devletleri'nin Wisconsin ile Minnesota eyaletlerinde ve Guatemala'dan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Farklı bölgelerde yapılan seroprevalans çalışmalarında farklı sonuçlar elde edilmesi kullanılan test yöntemine ve o bölgedeki vektör kenelerin yaygınlığıyla ilişkili olabilir. İsrail'de 300 attan alınan numuneler IFA testi ile analiz edilmiş ve seropozitif hayvan bulunamamıştır (17). Araştırmacılar bunun nedeninin çalışmanın yapıldığı bölgelerde hastalığın etkeni *A. phagocytophilum*'un spesifik vektörü olan *I. ricinus* kenelerinin olmayışından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmada Bursa ilindeki atlardan 3'ünün (%3), İzmir'deki atlardan 8'inin (%8), Adana ilindeki atlardan 11 (%14,66)'inin ve Şanlıurfa ilindeki atlardan 11 (%14,66)'inin seropozitif olduğu saptandı. Bu sonuçlara göre *A. phagocytophilum* enfeksiyonu yönünden Bursa ilinde seropozitiflik oranının en düşük olduğu, Adana ve Şanlıurfa illerindeki en yüksek olduğu saptandı. Adana ve Şanlıurfa illerindeki bu farklılığın sebebinin bu bölgelerin Bursa ve İzmir illeri ile kıyaslandığında daha güneyde bulunmaları ve dolayısıyla hava sıcaklığının daha yüksek olması ve bu nedenle bu yörelerde kene popülasyonunun daha fazla olması ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca, seroprevalans değerlerindeki farklılığın atların bakım koşullarının farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Madigan ve arkadaşları (7) Amerika Birleşik Devletleri'nin Kaliforniya Eyaletinde *A. phagocytophilum* enfeksiyonunun prevalansını %10,4, hastalığın endemik olmadığı Sacramento'da ise %3,1 olarak bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar (7) hastalığın görüldüğü çiftliklerde atların yaklaşık %50'sinin hastalığa karşı antikor geliştirdiğini saptamışlardır.

*A. phagocytophilum* atlarda enfeksiyon oluşturma potansiyelinin yanı sıra insanlarda da human granulositik ehrlichiosis olarak bilinen enfeksiyona neden olmaktadır. Hastalığın insanlarda yüksek ateş, baş ağrısı, letharji, generalize miyalji ile seyrettiği bildirilmektedir (41,48). Ongut ve arkadaşları (42) Antalya ilinde yapılan bir çalışmada insanlarda granulositik ehrlichiosis seroprevalansının %8 olduğunu bildirmişlerdir. Aynı etkenin *I. ricinus* türü kenelerle taşındığı göz önüne alındığında atlarda belirlenen seroprevalans (%9.42) oranına yakın olduğu ve tehlikeli boyutta yayılım gösterdiği görülmektedir.

Atların *A. phagocytophilum* enfeksiyonunda klinik bulguların yüksek ateş (>39,3°C), solunum sayısı ve kalp frekansında artış (>48), letarji, kısmi iştahsızlık, inkoordinasyon, hareket etmede isteksizlik, lenf yumrularında büyüme, ekstremitelerde ödem, peteşiler ve ikterus olduğu bildirilmiştir (1-3,15,24,32). Çalışmada 350 adet atın 346'sında herhangi bir klinik bulguya rastlanmamıştır. Seropozitif olduğu belirlenen 33 atın beden sıcaklığı, solunum ve kalp frekansları seronegatif olanlarla karşılaştırılmış ve seropozitif olan atlarda beden sıcaklığının normal değerler içinde olmakla birlikte daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sağlıklı hayvanlarda antikor titresinin yüksek olması hayvanın daha önce hastalık etkenine maruz kaldığını ya da numunelerin alındığı sırada hayvanların subklinik enfeksiyon geçirdiği görüşüyle (7) desteklenebilir. Çalışmada değerlendirilen ve yüksek ateş (>39,3°C), solunum ve kalp frekansında artış, lenf yumrularında büyüme ve ikterus (III. Olgu) gibi klinik bulgular gösteren dört atta yapılan ELISA analizleri sonucunda *A. phagocytophilum* antikoru saptanmış olması bu klinik bulguların hastalığın akut formuyla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Madigan ve arkadaşları (7) bu çalışmaya benzer seroepidemiolojik bir çalışmada da yüksek ateş, iştahsızlık, anoreksi, ataksi, kalp ve solunum sayılarında artış ve sarılık gibi benzer klinik bulgular gösteren 38 atın IFA testi ile seropozitif olduğunu belirlemişlerdir.

Seropozitif olgularda, sağlıklı atların oluşturduğu kontrol grubuna göre, irdelenen klinik muayene bulgularının hastalık için çok tipik olmaması nedeniyle istatistiksel olarak önemli bir farklılık belirlenememesi, klinisyen açısından *A. phagocytophilum* pozitif olguların tespitinde rutin tanısal prosedürün yetersizliğini ortaya koymak açısından dikkate değer görülmektedir. Klinik verileri takiben tanısal prosedürü desteklemek ve prognozun yorumlanmasına katkı sağlamak adına hematolojik ve serum biyokimyasal değerlendirmelere ihtiyaç duyulmaktadır (1,2).

Atların *A. phagocytophilum* enfeksiyonunda hematolojik bulguların; lökopeni, orta şiddette anemi, hematokrit değerinde düşme ve hastalığın akut fazında trombositopeni olduğu belirtilmektedir (1-3). Çalışmada seropozitif 33 ata ait hematolojik bulgular (total lökosit sayısı, eritrosit sayısı, hematokrit değer, trombosit sayısı) seronegatiflerle karşılaştırılmıştır. Total lökosit değerinin seropozitif olan atlarda seronegatif atlara göre daha düşük olmakla birlikte normal sınırlar içerisinde yer aldığı görülmektedir. Klinik bulgu gösteren ve seropozitif atların birinde (Olgu III) lökopeni saptanmıştır. Bu durum, etkenin (*A. phagocytophilum*) bir granülositten diğer bir granülosite geçişi veya enfekte hücrenin lize olması ile ilişkili olabileceği görüşüyle (23,30) uyum göstermektedir.

*Atlarda A. phagocytophilum* enfeksiyonunda trombosit sayıları ve fonksiyonlarında önemli değişimler gösterdiği, kalitatif ya da kantitatif trombosit anormallikleri geliştiği bildirilmektedir (1,54). Bu değişimin ilk yansımalarının, klinik olarak kanama eğiliminin artması ya da hastada peteşi, ekimoz gibi kanama belirtilerinin olduğu ifade edilmektedir (24). Hastalıkta şekillenen kanama sonucunda orta derecede anemi geliştiği belirtilmektedir. Çalışmada *A. phagocytophilum* seropozitif 33 atta trombosit (PLT) sayılarının sero-negatif atlardan daha düşük ( $p<0.01$ ) olduğu saptanmış, eritrosit sayısı (RBC) ve hematokrit değerin (Hct) istatistiki önemde olmamakla birlikte daha düşük olduğu belirlenmiş; fakat anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Diğer yandan, klinik bulgu gösteren ve seropozitif olduğu belirlenen olgularda (olgu I, III) eritrosit sayısı ve hematokrit değerin, bir olguda (olgu III) da trombosit sayısının referans değerlerin altında olduğu saptanmıştır. Bu tarzda hematolojik bulgular gösteren dört atta yapılan ELISA analizleri sonucunda *A. phagocytophilum* antikoru saptanmış olması bu hematolojik bulguların hastalığın akut formuyla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Franzen ve arkadaşları (24), Bermann ve arkadaşları (15) ve Walston ve arkadaşları (28) da atlarda klinik *A. phagocytophilum* enfeksiyonunda trombositopeni, anemi ve lökopeni saptadıklarını bildirmişlerdir. Franzen ve arkadaşları (32) hastalıkta şekillenen trombositopeninin inflamasyona bağlı olarak meydana gelen immunkomponent oluşumlarının DIC ve vaskulitise neden olması ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Klinik düzeyde çok şiddetli ve tipik hastalık tablosu oluşturmayan *A. phagocytophilum* enfeksiyonlarında serum biyokimyasal parametrelerde de çok önemli değişimler meydana gelmediği belirtilmektedir (15). Çalışmada *A. phagocytophilum* antikoru yönünden pozitif olduğu saptanan 33 atın ve negatif olduğu saptanan 20 atın (kontrol) serum albumin (ALB), aspartate aminotransferase (AST), kalsiyum (Ca), total bilirubin (TBİL), gamma glutamyltransferase (GGT), total protein (TP), globulin (GLOB), kan üre nitrojen (BUN), kreatinin (Cr), glukoz (GLU) ve kreatinin phosphokinase (CK) düzeyleri belirlendi. *A. phagocytophilum* sero-pozitif atlarda referans değerler arasında olmakla birlikte serum kreatinin düzeylerinin belirgin düzeyde ( $p<0.001$ ) daha yüksek, albumin düzeylerinin ise daha düşük ( $p<0.001$ ) olduğu saptanmıştır. Özellikle klinik bulgu göstermeyen seropozitif atlarda referans değerler içinde olan bu farklılıklar klinik yönden anlam ifade etmemektedir. Diğer yandan, klinik bulgu gösteren ve *A. phagocytophilum* sero-pozitif olduğu belirlenen atlarda III no'lu olguda AST, bilirubin, kreatinin ve kan üre nitrojen düzeylerinin, IV no'lu olguda ise bilirubin düzeyinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Hastalıkta karaciğer, böbrek, lenf yumruları ve kemik iliği gibi birçok organ ve dokuda granülatöz yangı ve plazma hücresi

infiltrasyonu oluştuğu ve bu organlarda çok şiddetli olmamakla birlikte etkilenim olabileceği belirtilmektedir (24). Çalışmada özellikle klinik bulgu gösteren seropozitif III no'lu olguda AST, bilirubin, kreatinin ve kan üre nitrojen düzeylerinin yüksek olması, bu atta hastalığa bağlı karaciğer ve böbrek etkilenimi olduğunu ortaya koymaktadır. Franzen ve arkadaşları (32) hastalıkta karaciğer, böbrek ve diğer organlarda şekillenen DIC ve vaskulitisin sonucunda mononuklear hücrelerin infiltrasyonuna ve bu organlarda inflamasyona neden olduğunu belirtmişlerdir. Glomerular filtrasyon oranının göstergesi olarak ta değerlendirilen serum kreatinin ve kan üre nitrojen düzeyleri III no'lu olguda yüksek düzeyde belirlenmesi bu görüşü desteklemektedir. Birlikte değerlendirildiklerinde karaciğer fonksiyonlarını ortaya koyan serum AST, bilirubin, albumin düzeyleri irdelendiğinde klinik bulgu gösteren ve seropozitif III no'lu olguda serum AST ve bilirubin konsantrasyonlarının yüksek olması bu olguda karaciğer etkileniminin olduğunu düşündürmektedir. Walston ve arkadaşları (28) da klinik *A. phagocytophilum* tanısı koydukları 11 yaşlı bir atta karaciğer fonksiyonlarının etkilendiğini bildirmişlerdir.

Hastalıkta ayrıca bacaklarda vaskulitis sonucu şekillenen ödeme bağlı olarak atların genellikle yatmayı tercih etmeleri nedeniyle serum CPK enzim aktivitesinde artış olduğu belirtilmektedir (32). Çalışmada değerlendirilen klinik bulgu gösteren seropozitif atlarda bacaklarda ödeme rastlanmamış ve dolayısıyla bu hayvanlarda serum CPK enzim aktivitesinde bir artış belirlenmemiştir.

Sonuc olarak, Türkiye'de ilk kez atlarda *Anaplasma phagocytophilum* serolojik düzeydeki araştırma verileri bu çalışma ile rapor edilmiştir. Hastalığın lkemizde seroprevalansının %9.42 olduğu ve aynı zamanda zoonotik potansiyeli olan bu enfeksiyonunun halk sağlığı açısından da önemli olduğu dikkate alınmalıdır. Ayrıca, yüksek ateş, iştahsızlık, sarılık, peteşi ve ekimoz gibi kanama belirtilerinin görüldüğü olgularda tanı-ayırıcı tanı prosedüründe bu enfeksiyonun da düşünülmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. MADIGAN J.E., PUSTERLA N., Ehrlichial Diseases, Veterinary Clinics Of North America: Equine Practice, Vol 18 No:3, 2000
2. MADIGAN J.E., Equine Ehrlichiosis, Vol: 9 No: 2, 1993
3. RADOSTITIS OM., GAY C.C., BLOOD D.C, HINCHCLIFF KW. Veterinary Medicine, 9<sup>th</sup> edition, W.B SANDERS, London, page 1272, 2000.
4. RIKIHISA Y., The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. J.Clin. Microbiol. 4: 286-308, 1991
5. MAGNARELLI L. A., ANDERSON J. F., Serologic evidence of canine and equine Ehrlichiosis in northeastern United States, Journal of Clinical Microbiology, vol 31, no 11 2857-2860, Nov. 1993
6. MAGNARELLI L.A., IJDO J.W., VAN ANDEL A. E., WU C., PADULA S. J., FİKRİĞ E., Serologic confirmation of Ehrlichia equi an Borrelia burgdorferi infections in horses from the northeastern United States, JAVMA, Vol. 217, No. 7, October 1, 2000
7. MADIGAN J.E., HIETALA S., CHALMERS S., DEROCK E., Seroepidemiologic survey of antibodies to Ehrlichia equi in horses of northern California., JAVMA, Jun 15;196(12):1962-4. 1990
8. VON LOEWENICH FD, STUMPF G, BAUMGARTEN BU, ROLLINGHOFF M, DUMLER JS, BOGDAN C., A case of equine granulocytic ehrlichiosis provides molecular evidence for the presence of pathogenic A. phagocytophilum (HGE agent) in Germany, European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2003 May;22(5):303-5. 2003
9. BERRINGTON A, MOATS R, LESTER S., A case of Ehrlichia equi in an adult horse in British Columbia, Canadian Veterinary Journal Mar;37(3):174-5,1996
10. EGENVALL A., FRANZEN P., GUNNARSSON A., ENGVALL E.O., VAGSHOLM I., WIKSTROM UB., ARTURSSON K., Cross-sectional study of the seroprevalence to Borrelia burgdorferi sensu lato and granulocytic Ehrlichia spp. and demographic, clinical and tick-exposure factors in Swedish horses, Prev Vet Med. May 1;49(3-4):191-208. 2001
11. PUSTERLA N., HUDER J., LUTZ H., BRAU U., Detection of Ehrlichia phagocytophila DNA in ixodes ricinus Ticks from areas in Switzerland Where Tick-Borne Fever is Endemic. Journal of Clinical Microbiology, Vol 36, No.9, 2735-2736,1998

12. PUSTERLA N., HUDER J. B., FEIGE K., LUTZ H., Identification of a Granulocytic Ehrlichia Strain Isolated from a Horse in Switzerland and Comparison with Other Rickettsiae of the Ehrlichia phagocytophila Genogroup. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 36, No. 7, 2035-2037, 1998
13. SCARPULLA M., CARISTO E. M., MACRI G., LILLINI E., Equine ehrlichiosis in Italy. *Ann N.Y. Acad. Sci.* 990: 259–263, 2003
14. ALBERTI A., ZOBBA R., CHESSA B., ADDIS M. F., SPARAGANO O., PAPPAGLIA M. L. P., CUBEDDU T., PINTORI G., PITTAU M., Equine and canine *A. phagocytophilum* strains isolated on the Island of Sardinia (Italy) are phylogenetically related to pathogenic strains from the United States, *Applied and environmental microbiology*, 6418-6422, 2005
15. BERMAN F., DAVOUST B., FOURNIER P. E., LAPOINTE-BRISOU A. V., Ehrlichia equi (*A. phagocytophila*) infection in an adult horse in France, *The Veterinary Record*, June 22, 2002
16. LEBLOND A, PRADIER S, PITEL PH, FORTIER G, BOIREAU P, CHADOEUF J, SABATIER P., An epidemiological survey of equine anaplasmosis (*A. phagocytophilum*) in southern France, *Rev Sci Tech.* Dec;24(3):899-908, 2005
17. LEVI O., WANER T., BANETH G., KEYSARY A., BRUCHIM Y., SILVERMAN J., HARRUS S., Seroprevalence of *A. phagocytophilum* among Healthy dogs and horses in Israel. *Journal of Veterinary Medicine B*, 53, 78–80, 2006
18. DUMLER J. S., BARBET A. F., BEKKER A.P.J., DASCH G.A. PALMER G. H., RAY S.C., RIKIHISA Y., RURANGIRWA F., R., 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 agent2 as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila, *International journal of Systematic and evolutionary Microbiology* 51, 2145-2165, 2001
19. LEIBY D., CHUNG A., CABLE R., TROUERN-TREND J., MCCULLOUGH J., HOMER M., REYNOLDS L., HOUGHTON R., LODES M., PERSING D., Relationship between tick bites and the seroprevalence of Babesia microti and *A. phagocytophila* (previously Ehrlichia sp.) in blood donors. *Transfusion*, volume 42 1585-1591, 2002
20. PUSTERLA N., HUDER J., LEUTENEGGER, C.M., BRAUN U. MADIGAN J.E., LUTZ H., Quantitative real-Time Pcr for Detection of Members of members of the Ehrlichia phagocytophila genogroup in Host Animals and Ixodes ricinus Ticks, *Journal of Clinical Microbiology* Vol 37, No.5, 1329-1331, 1999

21. SCHOLL-MAYER A., AVERHOFF P., ZYCHLINSKY, How do neutrophils and pathogens interact?. *Current Opinion in Microbiology*, 7, 62–66, 2004
22. SMITH PB., *Large Animal Internal Medicine*, Mosby, 3<sup>th</sup> edition, California, page 1073-1074, 2001
23. LILLINI E., MACRI G., PROIETTI G., SCARPULA M., New findings on anaplasmosis caused by infection with *A. phagocytophilum*. *N.Y. Acad. Sci.* 1081: 360–370, 2006
24. FRANZEN P., ASPAN A., EGENVALL A., GUNNARSON A., ABERG L. PRINGLE J., Acute Clinical, hematologic, serologic, and polymerase Chain Reaction Findings in Horses Experimentally Infected with a European Strain of *A. phagocytophilum*, *J. Vet. Intern Med.* 19: 232–239, 2005
25. TURGUT K. *Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Bahçivanlar Basım Sanayi A.Ş.* Konya, sayfa 92–95, 2000
26. MOODY A. H., CHIODINI P. L., Methods for the detection of blood parasites. *Clin. Lab. Haem.* 22, 189-202, 2000
27. MAURIN M., BAKKEN J. S., DUMLER J.S., Antibiotic Susceptibilities of *Anaplasma (Ehrlichia) phagocytophilum* Strains from various geographic areas in the United States, *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, Vol. 47, No. 1, Jan. 413-415, 2003
28. NOLEN-WATSON D.R., D’OENCHM.S, HANELT M.L., SHARKEY C.L., PARADIS R.M., Acute recumbency associated with *A. phagocytophilum* infection in a horse., *JAVMA*, Vol 224, No.12, June 15, 2004
29. DUMLER J. S., ASANOVICH K. M., BAKKEN J. S., RICHTER P., KIMSEY R., MADIGAN J., Serologic Cross- Reactions among *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila*, and Human Granulocytic Ehrlichia, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 33, No.5, 1098–1103, 1995
30. CARLYON J.A., FIKRIG E., Invasion and survival strategies of *A. phagocytophilum*, *Cellular Microbiology* 5(11), 743-754, 2003
31. BAKKEN JS., DUMLER SJ., Human granulocytic ehrlichiosis. *Clinical Infectious Diseases* 3,554-560,2000
32. FRANZEN P., BERG A-L, ASPAN A., GUNNARSON A., PRINGLE J., Death of a horse infected experimentally with *A. phagocytophilum*. *The Veterinary Record* (160), 122–125, 2007.
33. CHANG Y., NOVOSEL V., DUBOVI E., WONG S., CHU F., CHANG C., DEL PIERO F., SHIN S., LEIN D., Experimental infection of the human granulocytic ehrlichiosis agent in horses. *Veterinary Parasitology* 78, 137–145, 1998



34. PUSTERLA N., ANDERSON R.J., HOUSE J.K., PUSTERLA J.B., DEROCK E., MADIGAN J.E., Susceptibility of cattle to infection with Ehrlichia equi and the agent of human granulocytic ehrlichiosis. JAVMA Vol. 218 no.7, April 1 1160-1162, 2001
35. BJOERSDORFF A., BAGERT B., MASSUNG R. F., GUSA A., ELIASSON I., Isolation and Characterization of Two European Strains of Ehrlichia phagocytophila of Equine Origin. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, Vol.9, No.2, 341-343, 2002
36. HEIMER R., ANDEL V.A., WORMSER P.G., WILSON L.M., Propagation of Granulocytic Ehrlichia spp. from Human and Equine Sources in HL-60 Cells Induced To Differentiate into Functional Granulocytes. Journal of Clinical Microbiology, Vol 35, No.4, 923-927, 1997
37. PANCHOLI P, KOLBERT CP, MITCHELL PD, REED KD JR, DUMLER JS, BAKKEN JS, TELFORD SR 3RD, PERSING DH., Ixodes dammini as a potential vector of human granulocytic ehrlichiosis, Journal of Infectious Disease. Oct;172(4):1007-12,1995
38. PUSTERLA N., CHAE J., KIMSEY R.B., PUSTERLA J.B., DEROCK E., DUMLER J.S., MADIGAN J.E., Transmission of A. phagocytophila (Human granulocytic Ehrlichiosis Agent)
39. MCQUISTON J., MCCALL C. L., NICHOLSON W. L., Ehrlichiosis and related infections, JAVMA, vol 223, December 15, 2003
40. REUBEL G.H., KIMSEY B.R., BARLOUGH E.J., MADIGAN E.J., Experimental Transmission of Ehrlichia equi to Horses through Naturally Infected Ticks (Ixodes pacifinus) from Northern California. Journal of Clinical Microbiology, Vol 36, No.7, 2131-2134, 1998
41. BRATON R. L., COREY G. R., Tick Borne Disease, American Family Physician web site [www.aafp.org/afp](http://www.aafp.org/afp), 2005
42. ONGUT G, ÖGÜNC D, MUTLU G, ÇOLAK D, GULTEKİN M, GÜNSEREN F, DÖNMEZ L, TUNCER D., Seroprevalence of Antibodies to A. phagocytophilum in Antalya, Turkey, Infection. Apr;34(2):107-109,2006
43. ÜNVER A., Köpeklerde Monositik Ehrlichia infeksiyonları, Veterinarium 16(2): 71-76,2005
44. MUNDERLOH U. G., JAURON S. D., FINGERLE V., LEITRITZ L., HAYES F. S., HAUTMAN J. M., NELSON C. M., HUBERTY B. W., KURTTI T. J., AHLSTRAND G. G., GREIG B., MELLENCAMP M. A., GOODMAN J. L., Invasion and intracellular development of the Human Granulocytic ehrlichiosis agent in Tick cell culture, journal of clinical microbiology, vol 37, no 8, 2518-2524, 1999

45. BARLOUGH J.E., MADIGAN J.E., KRAMER V., CLOVER J., HUI L.T., WEBB J.P., VREDEVOE L.K., Ehrlichia phagocytophila Genogroup Rickettsiae in Ixodid Ticks from California collected in 1995 and 1996, Journal of Clinical Microbiology, Vol.35, No.8, 2018-2021, 1997
46. PUSTERLA N., MADIGAN J., ASANOVICH K. M., CHAE J., DEROCK E., LEUTENEGGER C. M., PUSTERLA J. B., LUTZ H., DUMLER J.S., Experimental Inoculation with Human Granulocytic ehrlichia Agent Derived from High- and Low-Passage Cell Culture in Horses, Journal of Clinical Microbiology, Vol.38, No. 3, 1276-1278, 2000
47. PUSTERLA N., LEUTENEGGER C.M., CHAE J.,LUTZ H., KIMSEY R., DUMLER J. MADIGAN J., Quantative Evaluation of Ehrlichial Burden in Horses after Experimental transmission of Human Granulocytic Ehrlichia Agent by Intravenous Inoculation with Infected Leukocytes and by Infected Ticks, Journal of Clinical Microbiology, Vol.37 No.12, 4042-4044, 1999
48. WEN B., CAO W., PAN H., Ehrlichiae and Ehrlichial Diseases in China. Ann N.Y. Acad. Sci. 990: 45–53, 2003
49. HULINSKA D., LANGROVA K., PEJCOCH M., PAVLASEK I., Detection of A. phagocytophilum in animals by real-time polymerase chain reaction. APMIS 112: 239–47, 2004
50. MUNDERLOCH U. G., LYCH M. J., HERRON M. J., PALMER A. T., KURTTI T. J., NELSON R. D., GOODMAN J. L., Infection of endothelial cells with Anaplasma marginale and A. phagocytophilum, Veterinary Microbiology 101, 53-64, 2004
51. TEGLAS M., MATERN E., LEIN S., FOLEY P., MAHAN S. M., FOLEY J., Ticks and tick-borne disease in Guatemalan cattle and horses. Veterinary Parasitology 131, 119–127, 2005.
52. CAO W., ZHAO Q., ZHANG P., DUNLER J. S., ZHANG X., FANG L., YANG H., Granulocytic Ehrlichiae in Ixodes persulcatus Ticks from an area in China Where Lyme Disease is Endemic. J.Clin. Microbiol, Vol. 38, No.11, 4208–4210, 2000
53. ERDEĞER J., SANCAK A., ATASEVEN L., Köpeklerde Ehrlichia canis'in İndirekt Fluresan Antikor (IFA) Testi ve Dot- ELISA ile saptanması, Turk J. Vet. Anim. Sci., 27, 767-773, 2003
54. TAJIMA T., ZHI N.,LIN Q., RIKIHISA Y., HOROWITZ H., RALFALLI J., WORMSER G.P.,HECHEMY K.E., Comparison of Two Recombinant Major Outer Membrane Proteins of the Human Granulocytic Ehrlichiosis Agent for Use in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology, Vol.7 No.4,p. 652–657, 2000

- 55.** CORSTVET RE, GAUNT SD, KARNS PA, MC BRIDE JW, BATTISTINI RA, MAUTERER LA, AUSTIN FW., Detection of humoral antigen and antibody by enzyme-linked immunosorbent assay in horses with experimentally induced Ehrlichia equi infection. J Vet Diagn Invest. Jan;5(1):37-9. 1993
- 56.** BUZGAN T., Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi, T.C Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hiz. Genel Müdürlüğü, sayfa 9, Ankara 2005
- 57.** KAYA G., Keneler, Bulaştırdıkları Hastalıklar ve Korunma Yolları,, abveteriner.org/dosyalar/kenehasta
- 58.** DE LA FUENTE J, ALMAZÁN C, BLOUIN EF, NARANJO V, KOCAN KM., Reduction of tick infections with Anaplasma marginale and A. phagocytophilum by targeting the tick protective antigen subolesin, Parasitol Res. Dec;100(1):85-91. 2006
- 59.** SÜMBÜLOĞLU K, SÜMBÜLOĞLU V. Biyoistatistik, Özdemir Basım Yayımları ve Dağıtım Ltd. Şti., Ankara, 1995.
- 60.** AYDIN L. Güney Marmara Bölgesi Ruminantlarında Görülen Kene Türleri ve Yayılışları. U.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 147, 1994.
- 61.** AK S., TURAN N., MİNBAY A., DUTTA S. K., Detection of Antibodies to Ehrlichia risticii in Horses. Tr. J. Of Veterinary and Animal Sciences 22, 415-419, 1998
- 62.** BULLOCK PM, AMES TR, ROBINSON RA, GREIG B, MELLENCAMP MA, DUMLER JS. Ehrlichia equi infection of horses from Minnesota and Wisconsin: detection of seroconversion and acute disease investigation. J Vet Intern Med. May-Jun;14(3):250-1. 2000.

## **TEŐEKKÖR**

Çalıőmamn tÖm aőamalarını planlayan ve yönlendiren doktora danıőmanım Prof. Dr. Engin KENNERMAN başta olmak Özere anabilim dalı baőkanımız Prof. Dr. NilÖfer AYTUĞ, Prof. Dr. Hasan BATMAZ, Doç. Dr. Sezgin ŐENTÖRK ve Prof. Dr. Levent AYDIN'a ve çalışmanın her aőamasında ve istatistik analizlerde yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Zeki YILMAZ'a ve analizlerin yapılmasındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Kadir YEŐİLBAĐ'a teőekkür ederim.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1978 yılında Adana'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana'da tamamladım. 1996 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni kazandım ve 2001 yılında eğitimimi tamamladım. 2001 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım. 2002 yılında aynı anabilim dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. 2007 yılı Nisan ayından buyana Nilüfer Belediyesi Veteriner İşleri Müdürlüğünde Veteriner Hekim olarak görev yapmaktayım.