

# 1. GİRİŞ

Hemoplazmalar olarak da bilinen hemotropik mikoplazmalar küçük, pleomorfik, hücre duvarından yoksun evcil köpekleri de kapsayan birçok memeli kanında tespit edilmiş bakterilerdir (Soto ve ark, 2017).

*Haemobartonella felis*'i de kapsayan bu türler zorunlu parazit olmaları, küçük yapısı, eritrosit tropizmi ve artropodlarla taşınma ihtimallerinden dolayı önceleri riketsiyal organizmalar olarak sınıflandırılmışlardır. Ancak moleküler sekanslama ve filogenetik veriler bu türlerin Mycoplasmaceae familyasıyla daha yakın olduğunu göstermiştir. Bu ilişki hemotropik mikoplazmaların genomu, üreme gereksinimlerinin zorluğu ve hücre duvarının bulunmaması gibi belirlenmiş fenotipik karakterlerle desteklenmiştir (Tasker, 2010). Bu yeni sınıflandırma *Haemobartonella* türlerinin mikoplazmal kökeni yansıtması için yeniden adlandırılmıştır. Moleküler analizler *Candidatus Mycoplasma haemominutum* ve *Candidatus Mycoplasma turicensis* olarak iki yeni kedi hemoplazma türünün de keşfine yol açmıştır (Tasker, 2010).

Köpeklerin hemotropik mikoplazma etkenleri olarak *Mycoplasma haemocanis* ve *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* olmak üzere iki tür tespit edilmiştir (Soto ve ark, 2017).

Kedilerde ise *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum* ve *Candidatus Mycoplasma turicensis* olmak üzere üç tür belirlenmiştir. Bulaşma enfekte kanın kan transfüzyonu yoluyla verilmesi ve kavga yoluyla olabileceği belirtilmiştir. Pire, kene gibi kan emen artropodların muhtemel vektör olabileceği düşünülmüş ancak deneysel olarak geçişi doğrulanmamıştır. Klinik semptomlar asemptomatik infeksiyondan akut hemolitik anemiye kadar değişebilmektedir ve anoreksi, letarji, dehidrasyon, kilo kaybı ve ani ölüm şekillenebilmektedir (Ravagnan ve ark, 2017).

Hemoplazma infeksiyonu tanısı, Romanowsky boyalı kan frotisinin sitolojik incelemesine dayanmaktadır. Organizmalar eritrositlerin yüzeyinde tek, çift veya bazen de zincir şeklinde görülmektedir. Diff Quick veya filtrelenmiş Giemsa boyama yöntemleri de kullanılabilir. Ancak sitolojik tanı düşük sensitivite ve spesifiteye sahiptir (Tasker, 2010). Serolojik tanı testleri üzerinde yapılan çalışmalarda çapraz reaksiyonların görülmesi nedeniyle bu testlerin kullanımının hemoplazma teşhisi için henüz uygun olmadığını göstermektedir (Tasker ve ark, 2018).

Hemoplazma infeksiyonunun tanısında PCR'ın sitolojik muayeneye göre sensitivite ve spesifitesinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Tasker, 2010).

Araştırmalar sonucunda elde edilen veriler ışığında hemotropik mikoplazma turlerinin kedi ve kpeklerde asemptomatik formdan, anemi, letarji ve ani lme kadar değişebilen klinik bulgulara neden olduğu gcrulmektedir. Rutin teşhis yontemi olarak belirlenen sitolojik muayene duşuk spesifite ve sensitivitesi nedeniyle hemoplazma infeksiyonlarının tanısında hatalı negatif ve pozitifliklere neden olmakta bu da hatalı teşhis ve tedaviye sebebiyet vermektedir.

Araştırmamızda kedi ve kpeklerde hemotropik mikoplazma varlığının ve karakterizasyonlarının molekuler teknikler kullanılarak yapılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Etiyoloji

Hemotropik mikoplazmalar (hemoplazmalar), daha önce *Haemobartonella* ve *Eperythrozoon* türleri olarak bilinen, üretilmeyen, hücre duvarı olmayan bakterilerdir. Gram negatif, zorunlu kırmızı kan hücresi parazitleridir ve pleomorfik olarak kabul edilir. Çubuk, küresel veya halka biçimli organizmalar olarak görülebilirler ve kırmızı kan hücresi yüzeyinde tek tek veya zincir halinde bulunurlar. Hemoplazmalar, köpeklerde ve kedilerde akut hemolitik anemiye neden olabilir. İnfeksiyonun klinik spektrumu, asemptomatik olandan, yaşam kalitesini tehdit eden, kısmen de evde bakılma durumuna bağlı olarak değişir (Ameldev ve Tremasol, 2018).

Hemotropik bakteriler olan *Haemobartonella* ve *Eperythrozoon* biyolojik ve fenotipik özelliklere göre Anaplasmataceae familyasının üyeleri olarak sınıflandırılmıştır. *Bartonellaceae*, insan kırmızı kan hücrelerinin parazitleri olup bakterilerin morfolojik özelliklerine ve büyüme özelliklerine sahip olmasına rağmen, *Haemobartonella* ve *Eperythrozoon* türleri *in vitro* ortamda üretilmemiştir ve elektron mikroskopik özellikleri bakteriler için tipik değildir. *Haemobartonella* ve *Eperythrozoon* türlerinin tahmin edilen bulaşma yolunun eklem bacaklı vektörler tarafından olması, Rickettsiaceae ailesine ait sınıflandırmalarıyla da uyum göstermektedir. Bununla birlikte, *Eperythrozoon* ve *Haemobartonella* türlerinin riketsiyal bakteriler olmadığı, daha ziyade Mollicutes sınıfı üyeleriyle daha yakından ilişkili olduğu konusunda uzun süre belirsizlik yaşanmıştır. Bu belirsizlik, hücre içi parazit olmamaları, küçük olmaları, hücre duvarı ve flagella bulunmayışı, penisilin ve analoglarına karşı direnç ve tetrasiklinlere duyarlılıktan kaynaklanmaktadır. *Mycoplasma* terimi genelde Mollicutes sınıfının herhangi bir üyesini tanımlamak için kullanılır (mollis, yumuşak, cutis, cilt) (Messick, 2004).

Bakteri filogenetik sınıflandırılmasının en güvenilir yöntemi 16S ribozomal RNA geninin sekans analizi ile mümkün hale gelmiştir (Messick, 2004). Rikihisa ve arkadaşları ilk olarak 1997'de *Haemobartonella* ve *Eperythrozoon spp'*ye ait 16S rRNA gen sekansları bildirmişlerdir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak, *Haemobartonella* ve *Eperythrozoon* organizmalarına ait 16S rRNA geni amplifikasyona tabi tutulmuş, sekansları yapılmış ve bilinen bakteri dizileri ile karşılaştırılmıştır. Üretilen 16S rRNA dizileri, diğer riketsiyal organizmalar ile benzerlik göstermemiş *Mycoplasma* türleri ile daha yakın bir

filogenetik ilişki göstermişlerdir. Messick ve meslektaşları daha sonra splenektomi yapılmış bir köpekten izole edilen, *H. felis*'in büyük formuna % 99,7 dizi benzerliği gösteren bir organizmaya 16S rRNA gen sekansı yapmışlardır. Taksonomik sınıflandırmalarda, *Haemobartonella* ve *Eperythrozoon* türlerinin *Mycoplasma* cinsi ile yeni tanımlanmış filogenetik dağılımı yansıtması için filogenetik ağaçta yer değiştirmesi; yeni bulunan ve tam olarak tanımlanmamış olan taksonlara bir "Candidatus" ekinin eklenmesi önerilmiştir (Messick, 2004). Böylece, *H. felis* (Ohio organizması veya büyük formu), *H. canis* ve sırasıyla *Mycoplasma haemofelis*, *M. haemocanis* olarak *Mycoplasma* cinsine dahil edilmiştir. Yeni ve tam olarak karakterize edilmemiş kedilerin hemotropik mikoplazmaları (California organizması veya küçük *H. felis* küçük formu) "*Candidatus Mycoplasma haemominutum*" olarak adlandırılmıştır (Messick, 2004). Bu eritrosit patojeni grubu ile mikoplazmaların pnömoni grubuna ait organizmalar arasında yakın bir filogenetik ilişki vardır. Bununla birlikte, bu yakın ilişkiye rağmen, hemotropik mikoplazmalar *Mycoplasma* cinsi içinde belirgin yeni bir kümeyi temsil etmektedir ve "hemoplazmalar" olarak adlandırılmaktadır. Bu nedenle, *Haemobartonella* ve *Eperythrozoon*, moleküler ilişkileri ve fenotipik özelliklerine dayanarak, *Rickettsiales* sınıfından çıkarılmış ve *Mycoplasmataceae* ailesi içine dahil edilmiştir (Messick, 2004).

PCR tabanlı testlerin geliştirilmesi, hemoplasma infeksiyonlarının teşhisinde daha etkili bir yöntem sağlamıştır. PCR, DNA'nın belli bir parçasının *in vitro* amplifikasyonunu yapan hassas bir moleküler tekniktir. 16S rRNA geni şimdiye kadarki tüm hemoplazma PCR analizlerinin temelidir (Messick, 2004).

Köpeklerde iki hemoplazma türü tespit edilmiştir. *Mycoplasma haemocanis* ve *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*, eritrositlere karşı affinitesi olan ve köpeklerde bulunan iki mycoplasma türüdür. Daha önceleri *Haemobartonella* türü olarak sınıflandırılmıştır ancak son zamanlarda 16S rRNA analizi ile *Mycoplasma* cinsi içinde yer almaktadır (Messick 2004). *Mycoplasma haemocanis* uzun zincir formunda kokoid organizmalardır (Kemming ve ark, 2004). *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* küçük (0,3 µm) kokoid organizmalardır ve genetik ve morfolojik olarak *Candidatus Mycoplasma haemominutum*'a benzerlik göstermektedir. *Candidatus Mycoplasma haemominutum* PCR kullanılarak farklı köpeklerde tespit edilmiştir ve bu organizmalar Avrupa kurtları ve Brezilya'daki sokak köpeklerinde tespit edilen *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* ve *Candidatus Mycoplasma haemominutum* ile benzerlik göstermiştir (Andre ve ark, 2011).

Köpek hemotropik mikoplazma etkeni olan *Mycoplasma haemocanis*'in taksonomisi Tablo 1'de ve günümüze kadar olan isim değişiklikleri Tablo 2'de, *Candidatus Mycoplasma*

*haematoparvum* taksonomisi Tablo 3’te ve günümüze kadar olan isim değişiklikleri ise Tablo 4’te gösterilmektedir.

**Tablo 1.** *Mycoplasma haemocanis* taksonomisi (WEB\_1)

Superkingdom	Bacteria (Terrabacteria group)
Phlum	Tenericutes
Class	Mollicutes
Order	Mycoplasmatales
Family	Mycoplasmataceae
Genus	<i>Mycoplasma</i>
Species	<i>Mycoplasma haemocanis</i>

**Tablo 2.** *Mycoplasma haemocanis*’in günümüze kadar olan adlandırılmaları (WEB\_1)

Bilimsel Ad	<i>Mycoplasma haemocanis</i>	(Messick ve ark, 2002)
Heterotipik Sinonim	<i>Bartonella canis</i>	(Kikuth, 1928)
Heterotipik Sinonim	<i>Haemobartonella (Bartonella) canis</i>	(Tyzzer ve Weinmann, 1939)
Heterotipik Sinonim	<i>Haemobartonella canis</i>	(Kreier ve Ristic, 1984)

**Tablo 3.** *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* taksonomisi (WEB\_2)

Superkingdom	Bacteria Terrabacteria group
Phlum	Tenericutes
Class	Mollicutes
Order	Mycoplasmatales
Family	Mycoplasmataceae
Genus	<i>Mycoplasma</i>
Species	<i>Candidatus Mycoplasma haematoparvum</i>

**Tablo 4.** *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*’un günümüze kadar olan adlandırılmaları (WEB\_2)

Bilimsel Ad	<i>Candidatus Mycoplasma haematoparvum</i>	(Sykes ve ark, 2005)
-------------	--	----------------------

Anemiyle ilişkili *Haemobartonella canis* infeksiyonları köpeklerde sporadik olarak bildirilmiştir. Daha sonra, *H. canis*, *Mycoplasma haemocanis* olarak yeniden sınıflandırılmıştır ve ikinci bir köpek haemoplazması olan *Candidatus M. haematoparvum*, kemoterapiye tabi tutulan anemik splenektomize edilmiş bir köpekte tanımlanmıştır (Messick ve ark, 2002; Sykes ve ark, 2004). Her iki etkenin de dünya çapında dağılım gösterdiği iddia edilmekle birlikte,

moleküler tespit yöntemlerine dayanan sınırlı prevalans verilerine henüz ulaşılabilmektedir. Bazı popülasyonlarda genç hayvanlar ve erkek köpeklerin, köpek hemoplazma infeksiyonlarına sırasıyla yetişkin ve dişi köpeklerden daha duyarlı oldukları tespit edilmiştir (Novacco ve ark, 2010; Barker ve ark, 2010). Şiddetli hemolitik anemi, nadiren yalnız hemoplazma ile infekte köpeklerde, özellikle de immün sistemi zayıflamış veya splenektomize edilmiş hayvanlarda tanımlanmıştır. Avrupa'daki köpek hemoplazmozisinin PCR tabanlı araştırmaları da bu etkenlerin düşük patojenik potansiyelini desteklemektedir (Wengi ve ark, 2008; Novacco ve ark, 2010). Daha önceki çalışmalar parvovirus, *Ehrlichia* ve *Babesia* türleri ile eşzamanlı infeksiyonların veya eşzamanlı neoplazinin, köpek haemoplazma infeksiyonlarının seyrini ağırlaştırıcı bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Uyuz enfestasyonu da köpek hemoplazma infeksiyonları ile ilişkilendirilmiştir (Novacco ve ark, 2010). Hemoplazma ile infekte köpeklerde infeksiyonların çoğu kronik, asemptomatik ortaya çıkmaktadır. Bu hayvanlarda infeksiyon tamamen yok olmamaktadır. Kantitatif real-time PCR kullanılan bir çalışmada, üç ay boyunca infekte köpeklerden toplanan tüm numuneler 13 ay boyunca pozitif olarak tespit edilmiştir (Wengi ve ark, 2008). Diğer hemoplazma infeksiyonları için belirtildiği gibi, antibiyotik tedavisinin köpek hemoplazma infeksiyonlarını tamamen ortadan kaldıramadığı ancak klinik infeksiyon belirtilerini azalttığı belirlenmiştir (Willi ve ark, 2010).

*Mycoplasma haemocanis* infeksiyonu splenektomi yapılan köpeklerde, farklı infeksiyonu olan veya immün sistemi baskılayan hastalığı olan köpeklerde hemolitik anemi ile ilişkisi olduğu bildirilmiştir. *M.haemocanis*'in 16S rRNA geni *M. haemofelis* sekansı ile aynıdır ancak *M. haemocanis*'in tüm gen sekansı onu diğer türlerden ayırmaktadır (Nascimento ve ark, 2012). Bu infeksiyonun prevalansı genellikle subklinik olarak infekte barınaktan gelen köpeklerde kısmen yüksektir (Kemming ve ark, 2004).

Kedilerde, daha önceki çalışmalarda *Haemobartonella felis*'in Ohio izolatu (büyük form) ve California izolatu (küçük form) olmak üzere iki farklı hemoplazma türü tanımlanmıştır (Berent ve ark, 1998; Foley ve ark, 1998; Messick ve ark, 1998). *Mycoplasma* cinsinde önerilen yeniden sınıflandırma ile birlikte, bu izolatlar *Mycoplasma haemofelis* (*M. haemofelis*) (Neimark ve ark, 2001) ve '*Candidatus Mycoplasma haemominutum* (*Candidatus M. haemominutum*)' olarak adlandırılmıştır (Foley ve Pedersen, 2001). Hemolitik anemi görülen özel bir İsviçre kedisinde 2002 yılında üçüncü bir hemotropik *Mycoplasma* türü tespit edilmiştir; bu üçüncü tür "*Candidatus Mycoplasma turicensis*" (*Candidatus M. turicensis*) olarak belirlenmiştir (Willi ve ark, 2005; Willi ve ark, 2006). PCR tabanlı yöntemler uygulanarak, dünya genelinde ev kedilerinde ve vahşi kedilerde hemoplazma infeksiyonları teşhis edilmiştir (Willi ve ark, 2007). Kedilerde üç ana tür infeksiyona neden olmaktadır ve

bunlar *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum*, *Candidatus Mycoplasma turicensis* olarak adlandırılmaktadır (Tasker ve ark, 2003).

*Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus M. haemominutum* ve *Candidatus Mycoplasma turicensis* evcil kedilerin yanı sıra vahşi kedileri de infekte etmektedir. Sınıflandırmalarını destekleyecek daha fazla bilgiye ulaşana kadar “Candidatus” ön eki yeni keşfedilen hemoplazmalara eklenir. Hemoplazmaların laboratuvarlarda kültürü yapılamadığı için bu organizmaların tamamen tanımlanması kısıtlanmaktadır. *Mycoplasma haemofelis* (önceleri Ohio türü veya *Haemobartonella felis*'in büyük formu) en patojenik organizmadır ve immun yetmezliği olan kedilerde orta derece veya şiddetli hemolitik anemi oluşturabilmektedir. Ortaya çıkan hastalık Kedi İnfeksiyöz Anemisi olarak adlandırılmıştır. Sitolojik incelemeler kullanılan kan frotilerinde, *M. haemofelis* 3-6 mikroorganizmadan oluşan zincirler halinde koklar şeklinde görülmektedir. *M. haemofelis* üç kedi hemoplazma türünden prevalansı en az olandır. Veteriner hastanelerindeki hasta kedilerin % 0,5-5' inde PCR kullanılarak tespit edilmiştir. *M. haemofelis* ve *M. haemominutum*' un tüm gen sekansı tanımlanmıştır (Santos ve ark, 2011; Barker ve ark, 2012). *Candidatus M. haemominutum* (önceden California türü veya *H. felis*'in küçük formu) *M. haemofelis*'ten genellikle daha küçüktür ve immun sistemi baskılanmış kedilerle hastalığın bağlantısı belirlenmemiştir. Sitolojik incelemeler kullanılan kan frotilerinde *Candidatus M. haemominutum*'lar 0,3-0,6 µm çapında küçük koklar şeklinde görülür. Ancak sitolojik muayene ile *M. haemofelis* ve *Candidatus M. haemominutum*'un ayrımı her zaman güvenilir şekilde yapılamamaktadır (Jensen ve ark, 2001; Sykes ve ark, 2007).

Kedi hemotropik mikoplazma etkeni olan *Mycoplasma haemofelis*'in taksonomisi Tablo 5'te, günümüze kadar olan isim değişiklikleri Tablo 6'da, *Candidatus Mycoplasma haemominutum*'un taksonomisi Tablo 7'de, günümüze kadar olan isimlendirmesi Tablo 8'de, *Candidatus Mycoplasma turicensis*'in taksonomisi Tablo 9'da, günümüze kadar olan isimlendirmesi Tablo 10'da gösterilmektedir.

**Tablo 5.** *Mycoplasma haemofelis*'in taksonomisi (WEB\_3)

Superkingdom	Bacteria (Terrabacteria group)
Phlum	Tenericutes
Class	Mollicutes
Order	Mycoplasmatales
Family	Mycoplasmataceae
Genus	<i>Mycoplasma</i>
Species	<i>Mycoplasma haemofelis</i>

**Tablo 6.** *Mycoplasma haemofelis*'in günümüze kadar olan isim değişiklikleri (WEB\_3)

Bilimsel Ad	<i>Mycoplasma haemofelis</i>	(Neimark ve ark, 2002)
Homotipik Sinonim	<i>Candidatus Mycoplasma haemofelis</i>	(Neimark ve ark, 2001)
Homotipik Sinonim	<i>Haemobartonella felis</i>	(Kreier ve Ristic, 1984)
Basionim	<i>Eperythrozoon felis</i>	(Clark, 1942)
Homotipik Sinonim	<i>Haemobartonella felis</i>	(Flint ve ark, 1955)
Homotipik Sinonim	<i>Haemobartonella felis</i>	(Flint ve ark, 1958)

**Tablo 7.** *Candidatus Mycoplasma haemominutum* taksonomisi (WEB\_4)

Superkingdom	Bacteria (Terrabacteria group)
Phlum	Tenericutes
Class	Mollicutes
Order	Mycoplasmatales
Family	Mycoplasmataceae
Genus	<i>Mycoplasma</i>
Species	<i>Candidatus Mycoplasma haemominutum</i>

**Tablo 8.** *Candidatus Mycoplasma haemominutum*'un günümüze kadar olan isimlendirmesi (WEB\_4)

Bilimsel Ad	<i>Candidatus Mycoplasma haemominutum</i>	(Foley ve Pedersen, 2001)
-------------	---	---------------------------

**Tablo 9.** *Candidatus Mycoplasma turicensis* taksonomisi (WEB\_5)

Superkingdom	Bacteria (Terrabacteria group)
Phlum	Tenericutes
Class	Mollicutes
Order	Mycoplasmatales
Family	Mycoplasmataceae
Genus	<i>Mycoplasma</i>
Species	<i>Candidatus Mycoplasma turicensis</i>

**Tablo 10.** *Candidatus Mycoplasma turicensis*'in günümüze kadar olan isimlendirmesi (WEB\_5)

Bilimsel Ad	<i>Candidatus Mycoplasma turicensis</i>	(Willi ve ark, 2006)
-------------	---	----------------------

İnfeksiyonu saptamak amacıyla PCR kullanan epidemiyolojik çalışmaların çoğunda, *M. haemofelis*, veteriner hastanelerini ziyaret eden hasta kedilerin %0,5 -6'sında bulunan 3 kedi hemoplazması arasında prevalansı en düşük organizma olmasına rağmen, birkaç coğrafi bölgede *Candidatus M. turicensis* daha az yaygındır (Willi ve ark, 2006; Macieira ve ark, 2008; Gentilini ve ark, 2009; Laberke ve ark, 2010). *Mycoplasma haemofelis* ile kedilerin deneysel



olarak inokulasyonu, orta ila şiddetli anemiye yol açmaktadır ve *M. haemofelis* ile infekte kedilerde infeksiyon sırasında organizma sayısında dalgalanmalar görülmektedir (Tasker ve ark, 2009). Genç kediler infeksiyon ve hastalığa daha duyarlı olabilmektedir (Sykes ve ark, 2008; Tasker ve ark, 2009).

Akut deneysel *M. haemofelis* infeksiyonu sıklıkla hemolitik anemi ile sonuçlanırken, doğal infekte kedilerin prevalans çalışmalarında anemi ile *M. haemofelis* infeksiyonu arasındaki bağlantı tutarlı bulunmamıştır. Örnekleme yapılan kedilerin farklı popülasyonları veya bu çalışmaların kapsadığı *M. haemofelis*'in farklı izolatları ve/veya *M. haemofelis*'in akut veya kronik oluşu gibi nedenlerden dolayı farklı sonuçlar ortaya çıkabilmektedir (Willi ve ark, 2006). Bilinen kedi hemoplazma türlerinden *M. haemofelis*'in en patojenik ve klinik belirtilerle en bağlantılı tür olduğu düşünülmektedir (Tasker, 2010).

*Candidatus M. haemominutum* evcil kedilerde en sık görülen türdür (prevalans çalışmalarında hasta kedilerde %0-46,7 bulunmuştur), bunu *M. haemofelis* (kedilerde %0-46,6) ve *Candidatus M. turicensis* (kedilerde %0-26) takip etmektedir. Rapor edilen prevalanslar hem coğrafik olarak hem de farklı çalışmalardaki popülasyon örneklemelerinin farklılığından dolayı değişkenlik göstermektedir. Örneğin bazı örnekler sadece hasta anemik kedilerden, bazı örnekler sadece sağlıklı kedilerden, bazı örnekler sahipsiz sokak kedilerinden oluşurken diğerleri sahipli kedilere odaklanmıştır (Tasker ve ark, 2018).

*Candidatus M. haemominutum* infeksiyonlarının çoğu kroniktir ve anemi veya diğer klinik anormallikler ile ilişkili değildir. *Candidatus M. haemominutum*, çeşitli nedenlerle veteriner hastanelerini ziyaret eden kedilerin %20'si ile %50'si kadarında PCR kullanarak tespit edilebilir, infeksiyon prevalansı genellikle yaşla birlikte artmaktadır (Tasker ve ark, 2003; Willi ve ark, 2006; Macieira ve ark, 2008; Gentilini ve ark, 2009; Laberke ve ark, 2010). Kedilere *Candidatus M. haemominutum* inokulasyonunu takiben önce hematokritte hafif bir düşüş gözlemlenebilir, ancak hematokrit genellikle 4-6 hafta sonra normale dönmektedir (Tasker ve ark, 2003; Tasker ve ark, 2009). İnfeksiyondan sonra organizma sayıları (kantitatif PCR analizleri kullanılarak belirlendiği şekilde) yavaş yavaş artar, sonra sabitlenir (Tasker ve ark, 2003). Anemik kedilerde infeksiyon prevalansı, anemik olmayan kedilerde infeksiyon prevalansı ile aynı veya daha düşük olmuştur; bu, *Candidatus M. haemominutum* ile infeksiyonun anemi ile ilişkili olmadığını göstermektedir (Sykes, 2010). Ayrıca, glukokortikoid uygulanmış, splenektomize edilmiş kedilere *Candidatus M. haemominutum* inokulasyonu, anemi gelişimi ile ilişkili olmadığı görülmüş ve daha sonra *Bartonella henselae* ile birlikte koinfeksiyon, anemi gelişimini hızlandırmadığı belirtilmiştir (Sykes, 2010).

Bununla birlikte, *Candidatus M. haemominutum* 'nin hastalık meydana getirmekte rol oynayabileceği konusunda bazı görüşler vardır. *Candidatus M. haemominutum* dışında hiçbir belirgin nedensel ajan bulunmayan kedilerde akut hemolitik anemi vakaları bildirilmiştir (de Lorimier ve ark, 2004; Hornok ve ark, 2008). Hem kedi lösemi virüsü hem de *Candidatus M. haemominutum* ile koinfekte olan kedilerde, sadece *Candidatus M. haemominutum* ile infekte olmuş kedilere göre daha şiddetli anemi görülmektedir (George ve ark, 2002). Ayrıca, FeLV ve *Candidatus M. haemominutum* ile koinfekte olan kedilerin, sadece FeLV ile infekte olmuş kedilere göre miyeloproliferatif hastalık görülme olasılığı daha yüksektir. Hemoplazmozis şüpheli kedilerde, benzer bir coğrafi bölgeden çeşitli nedenlerle hastalanan kedilerde olduğundan daha fazla *Candidatus M. haemominutum* enfeksiyonuna rastlanmıştır (Sykes ve ark, 2008). Ek olarak, anemik kediler arasında, *Candidatus M. haemominutum* ile enfeksiyon, hemoplazmalar ile infekte olmayan kedilerden daha yüksek ortalama korpüsküler hacim değerleriyle ilişkilendirilmiştir (Sykes, 2010).

Deneysel *Candidatus M. haemominutum* enfeksiyonu nadiren klinik belirtilere neden olmakta ve anemi genellikle şekillenmemektedir ancak kan parametrelerinde düşüş oluşturabilmektedir (Tasker ve ark, 2006; Tasker ve ark, 2009). *Candidatus M. haemominutum* retrovirus ile infekte kedilerde özellikle feline leukemia virüs enfeksiyonu olan kedilerde *Candidatus M. haemominutum* enfeksiyonunu takiben önemli şekillenebilmesinin nedeni ilgili organizmanın kemik iliği problemlerinde rol oynamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Doğal olarak infekte kedilerin araştırıldığı çalışmalar anemi ve *Candidatus M. haemominutum* arasındaki ilişkinin ortaya konulmasında başarısız olmasına rağmen *Candidatus M. haemominutum* ilişkili anemi lenfoma tedavisinde kemoterapi alan bir kedide rapor edilmiştir ve birincil neden olarak da birkaç vakada *Candidatus M. haemominutum* ilişkili anemi tanımlanmıştır (Reynolds ve Lappin, 2007; Hornok ve ark, 2008).

*Candidatus M. haemominutum* enfeksiyonunun patojenitesini özetlemek zordur. Farklı *Candidatus M. haemominutum* izolatlarının değişken patojeniteye sahip olması muhtemeldir ve kedilerin sağlık durumları enfeksiyonun sonucunda rol oynamaktadır (Tasker, 2010).

*Candidatus M. turicensis* (*turicensis* Turicum ile ilişkilidir. Zürih'in latince ismidir) ilk olarak şiddetli intravaskular hemolizi olan İsviçre'deki bir kedide tanımlanmıştır (Willi ve ark, 2005). *Candidatus M. turicensis* enfeksiyonunun anemiye neden olmaksızın kırmızı kan hücreleri parametrelerinde düşüşe neden olduğunu belirlenmiştir (Tasker ve ark, 2009). Sadece *Candidatus M. turicensis* 'le infekte veya *Candidatus M. haemominutum* veya *M. haemofelis* 'le koinfekte kediler hemoplazmalarla infekte olmayan kedilerle karşılaştırıldığında PVC'lerinde önemli düşüş görülmüştür. *Candidatus M. turicensis* ile infekte kedilerin önemli bir kısmında

Feline Immunodeficiency Virus (FIV) veya neoplazi gibi birlikte seyreden hastalıklar mevcuttur (Willi ve ark, 2006) ve bu kofaktörler ve immüno-supresyonun hemoplazma kaynaklı oluşan hastalığın patogeneziinde önemli olduğu düşünölmektedir (Tasker, 2010).

*Candidatus M. turicensis* kan frotilerinin ışık mikroskopuyla yapılan incelemelerinde görölememektedir ve infekte kedilerdeki organizma yükü genellikle düşüktür. *Candidatus M. turicensis* infeksiyonu kedi popülasyonunda *M. haemofelis* infeksiyonuna göre bir parça daha yüksek prevalanslıdır. Birçok çalışma veteriner hastanesindeki hasta kedilerin prevalansının %0,5-10 arasında olduğunu göstermiştir. Bu organizmanın patojenik potansiyeli tam anlamıyla anlaşılammıştır. İmmun sistemi baskılanmış kedilere *Candidatus M. turicensis* inokule edildiğinde şiddetli anemi ile sonuçlanmıştır (Willi ve ark, 2005) ancak immün yetmezliğı olan kedilere *Candidatus M. turicensis* inokulasyonundan sonra anemi oluşmamış veya hafif anemi şekillenmiştir. Diğer hemoplazmalarla koinfeksiyon veya eş zamanlı immün yetmezlik gibi kofaktörler *Candidatus M. turicensis* ile infekte kedilerde aneminin gelişmesine etki edebilmektedir (Sykes ve Tasker, 2013).

Kedi popülasyonunda *Candidatus M. turicensis* ile infeksiyon prevalansı *M. haemofelis*'e benzerdir, çoğı çalışma veteriner hastanelerini ziyaret eden hasta kedilerde % 0,5 ile % 10 arasında bir prevalans göstermektedir (Willi ve ark, 2006; Laberke ve ark, 2010). *Candidatus M. turicensis* 'nin patojenik potansiyeli, az sayıda kediye deneysel olarak inokule edilmesinin ardından hafif anemiye neden olmasına rağmen, düşük görünmektedir (Willi ve ark, 2006; Sykes ve ark, 2008; Tasker ve ark, 2009). Koinfeksiyon veya eş zamanlı immüno-supresyon gibi kofaktörler, *Candidatus M. turicensis* ile infekte olmuş kedilerde anemi gelişiminde önemli olabilmektedir (Sykes, 2010).

## 2.2. Patogenezi

Hemoplazma infeksiyonuyla ilişkili hemolizislerin çoğunluğunun normalde ekstravasküler olarak, özellikle karaciğer ve dalakta oluşurken akciğerler ve kemik iliğinde de meydana geldiğı ileri sürölmektedir. İnvasküler hemolizisin hemoplazma organizmaları ile infekte kırmızı kan hücrelerinin osmotik basıncının artmasından dolayı oluştuğı bildirilmiştir (Willi ve ark, 2005).

Kedi hemoplazmaları ile birlikte seyreden infeksiyonlar bildirilmiştir. Kedi hemoplazma infeksiyonlarının İsviçre'nin Batı ve Güney bölgelerinde, ülkenin geri kalanından daha yaygın olduğı bildirilmiştir (Willi ve ark, 2005). Farklı kedi hemoplazma türlerinin patojenik potansiyeli değışkenlik gösterir ve immüno-supresyon veya önceden mevcut retroviral

infeksiyonlar gibi yardımcı faktörler hastalığın şiddetini artırabilmektedir. Genel olarak, *M. haemofelis*, *Candidatus M. haemominutum*'dan daha patojenik bulunmuştur (Foley ve ark, 1998; Westfall ve ark, 2001). *Candidatus M. turicensis*, deneysel olarak infekte olmuş evcil kedilerde hafif ile orta derecede anemiye neden olabilir, ancak her zaman anemi ile sonuçlanmamaktadır (Willi ve ark, 2005; Museux ve ark, 2009; Tasker ve ark, 2009). Doğal olarak infekte kedilerde, kedi hemoplazma infeksiyonları için risk faktörleri; erkek cinsiyet, yaşlılık, kedi ısırığı apseleri, retroviral infeksiyon, geçmiş bilgisi olmaması ve ev dışına çıkma olarak belirlenmiştir. Klinik tablo infeksiyonun evresine bağlı olabilir: Akut *M. haemofelis* infeksiyonunun ciddi anemiye indüklediği tespit edilirken, kronik taşıyıcı olan kedilerde yüksek bakteri yüklerinde bile asemptomatik seyredebilir (Willi ve ark, 2006). Genel olarak, infeksiyonun bazı kedilerde hayati tehlike arz eden anemi geliştirdiği, diğerlerinde ise asemptomatik ve bireysel duyarlılıklar gösterdiği veya muhtemelen infekte olmuş kedinin kan türünün (Museux ve ark, 2009) hastalık gelişiminin ciddiyetinde rol oynadığı anlaşılmamıştır (Willi ve ark, 2010).

Deney kedilerine *M. haemofelis* inokulasyonundan sonra, klinik belirtilerin ortaya çıkmasına kadar 2-34 gün arasında bir inkubasyon periyodu vardır. Kediler tedavi edilmediği takdirde veteriner hekimler tarafından şiddetli anemi ve bakteriyemi ile ilişkili akut hastalık fazında bulunurlar. Hematokritteki keskin düşüşler sıklıkla organizmaların kan frotilerinde görülmesiyle eş zamanlıdır (Sykes, 2010). Meydana gelen anemi, organizma tarafından veya eritrositin doğrudan hasar görmesinden veya infekte kedilerde soğuk ve sıcak reaktif eritrosit bağlı antikorların tespiti ile desteklenen bağışıklık aracılı mekanizmalar yoluyla oluşabilmektedir, soğuk reaktif antikorlar infeksiyon sırasında daha erken ortaya çıkmaktadır (Tasker ve ark, 2009). Bir çalışmada, bu tür antikorlar sadece *Candidatus M. haemominutum* veya *Candidatus M. turicensis* ile değil *M. haemofelis* ile infekte olmuş kedilerde tespit edilmiştir, bu da *M. haemofelis* 'in diğerlerine göre daha yüksek patojeniteye sahip olduğunu desteklemiştir (Tasker ve ark, 2009). Antikorlar, aneminin gelişmesinden kısa bir süre sonra tespit edilmiştir. Anemi primer olarak ekstravasküler hemolizden kaynaklanır, ancak bazı infekte olmuş kedilerde intravasküler hemoliz tanımlanmıştır (Willi ve ark, 2005; Hornok ve ark, 2010). Hemoplazmozisli kedilerde artmış ozmotik frajilite ve eritrosit ömründe azalma olduğu da belirtilmiştir. (Willi ve ark, 2005). Kan frotilerinin sitolojik incelemesi kullanılarak belirlenen infekte eritrositlerin sayısı, 3 saatten az bir sürede % 90'dan % 1'e düşebilmektedir (Sykes, 2010). Ancak PCR kullanılarak belirlenen *M. haemofelis* 'in sayısındaki dalgalanma, infeksiyonun ardından meydana gelmektedir ancak organizmanın belirlenememesi sadece eritrosit sitoplazmasına girmesi durumunda oluşmaktadır. Organizmanın splenik veya

pulmoner makrofajlarda sekanslanması olası bir açıklama olarak varsayılmıştır, ancak, periferik kandaki organizma sayısının düşük olduğu zamanlarda araştırma kedilerinin deneysel olarak inokülasyonunun ardından, *M. haemofelis*'in dokuya invaze olduğu tespit edilmemiştir (Tasker ve ark, 2003).

Klinik iyileşme sağlanmasına rağmen, PCR sonuçlarının pozitif devam edebildiği bildirilmiştir. İyileşmiş kediler yıllarca subklinik taşıyıcı olarak kalabilmekte, organizma konakçı bağışıklık sistemini bozabilmekte, hastalık stres, hamilelik, birlikte seyreden infeksiyon veya neoplazi ile muhtemel yeniden aktifleşebileceği düşünülmektedir (Berent ve ark, 1998). *M. haemofelis* için PCR pozitifliği genellikle kedilerde anemi varlığı ile ilişkilidir, glukokortikoid veya siklofosfamid uygulaması ve splenektomi yoluyla deneysel olarak hastalık reaktivasyonunu girişimleri başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Berent ve arkadaşlarının 1998 yılında yaptığı çalışmada, antimikrobiallerin kesilmesinden sonra akut infeksiyondan iyileştikten 6 ay sonra pozitif PCR sonuçlar tespit edilmiştir ve metilprednizolonun uygulanması, organizmaların kan frotilerinde tekrar ortaya çıkmasına neden olmuştur.

Kanda *M. haemofelis* sayısının infeksiyonu seyreden birkaç ay içinde belirgin dalgalanma gösterebileceği bilinmektedir; nedeni açıklanamamıştır ancak antijenik varyasyonla ilişkili olabilmektedir. Kanda azalan organizma miktarının açıklanmasında *M. haemofelis*'in dokuya geçişiyle alakalı bir veri bulunmamaktadır (Tasker ve ark, 2009). Bu durum PCR negatif kedilerde doku geçişi bulunan *Candidatus M. turicensis*'e zıttır (Novacco ve ark, 2011).

Eritrosite-bağlı antikor varlığını gösteren pozitif Coombs Testi ve otoaglutinasyon, anemisi olmayan *M. haemofelis* infekte kedileri belirlemektedir. Bu eritrosite bağli antikorlar immun kaynaklı kırmızı kan hücrelerinin yıkılmasından sorumlu olabilmektedir. *M. haemofelis* ile infekte kedilerdeki pozitif Coombs testinin mekanizmasının tanımlandığı bir çalışmada (Tasker ve ark, 2009) 4°C'de reaktif edilen eritrosite bağli antikorlar (hem Ig M hem Ig G) 37°C'de reaktif edilenlere göre daha erken günlerde ortaya çıkmıştır. Bunun aksine eritrosite bağli antikorlar birçok kedide anemi başladıktan sonra görülmeye başlamıştır. Bu anemi gelişiminin başlangıcındaki eritrosite bağli antikorların varlığında duyarlılık tespitinin problem oluşturabileceğini göstermektedir ancak eritrosite bağımlı antikor görülmesinin alternatif açıklaması başlangıç hemolizinden ziyade hemoplazma ile uyarılmış hemolizinin sonucu olarak görülmektedir (Tasker, 2010).

Hemolitik anemi, bu hastalık durumunda en önemli patojenik etkidir. Hemoplazma infeksiyonu ile ilişkili hemolizin çoğunun ekstrasvasküler olduğuna, özellikle dalakta ve karaciğerde, aynı zamanda akciğerlerde ve kemik iliğinde meydana geldiği düşünülmektedir.

Hemoplazma ile infekte olan kırmızı kan hücrelerinin ozmotik fragilitesini arttırarak intravasküler hemoliz oluşturduğu da bildirilmiştir. Pozitif Coombs Testi ve otoaglutinasyon eritrosit-bağlı antikörlerin varlığını göstermektedir. Bu eritrosit-bağlı antikörler, kırmızı kan hücrelerinin immün aracılı yıkımından sorumlu olabilir. *M. haemofelis* tarafından oluşturulan hastalığın şiddeti, bazı kedilerde hafif anemi görülmesi ve klinik belirtileri olmamasından, belirgin bir depresyon ve ölümlerle sonuçlanan şiddetli anemiye kadar değişmektedir. Eritrositlerde meydana gelen bazı hasarlar doğrudan organizma tarafından meydana gelebilir, ancak immün kaynaklı hasarlar daha önemli görünmektedir. Organizmaların eritrositlere bağlanması ile gizli eritrosit antijenleri ya da değiştirilmiş eritrosit antijenlerinin ortaya çıkması sonucu ve antiertirosit antikörleri üreten bir konak yanıtı meydana gelmektedir. Bununla birlikte, başka bir olası immün kaynaklı hasar mekanizması da düşünülmelidir. Antikor kaynaklı komplement fiksasyonu gerçekleşirse, eritrositik membran hasar görebilmektedir. Anemi, öncelikle, dalak, karaciğer, akciğer ve kemik iliğinde makrofajlar tarafından ekstravasküler eritrofagoitozun bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Ameldev ve Tremasol, 2018).

*Mycoplasma haemofelis* en patojenik kedi türüdür. Bazı kedilerde akut infeksiyonu takiben şiddetli, bazen ölümcül hemolitik anemi şekillenebilirken diğerlerinde orta şiddette anemi gelişebilmektedir. Bu farklı konakçı yanıtından veya *M. haemofelis* suşu varyasyonundan kaynaklanabilmektedir. Ancak hastalık immün sistemi normal kedilerde de oluşabilmektedir. Kronik infeksiyonlar genellikle önemli anemiyle ilişkili değildir ve taşıyıcı hayvanlarda anemi görülmemektedir. Buna uygun olarak bazı epidemiyolojik çalışmalarda *M. haemofelis* infeksiyonuyla anemi arasında bağlantı görülmemiştir (Tasker ve ark, 2018).

*Candidatus M. haemominutum* infeksiyonu eritrosit parametrelerini değiştirebilmesine rağmen immün supressif ilaç veya kemoterapi uygulanması gibi birlikte seyreden problemler olmadan infeksiyonu takiben anemi sıklıkla görülmemektedir. *Candidatus H. haemominutum*'un asemptomatik taşıyıcısı olan kediler de tespit edilmiştir. Deneysel bir çalışmada FeLV infeksiyonu olan kedilerdeki myeloproliferatif hastalığın gelişmesiyle ilişkilendirilmiştir (George ve ark, 2002). Ancak anemi vakaları sadece *Candidatus M. haemominutum* infeksiyonu tanımlanmış olanlarda rapor edilmiştir ve bu da birlikte seyreden bir hastalık olmadığında da *Candidatus M. haemominutum*'un anemi oluşturabileceğini göstermektedir (Weingart ve ark, 2016).

Yapılan bir çalışmada *Candidatus Mycoplasma turicensis*, glukokortikoidle tedavi edilen bir kedide hafif anemiye neden olmuştur ve anemi derecesi inokule edilen organizma yüküyle orantılı olduğu bildirilmiştir (Musseux ve ark, 2009). *Candidatus Mycoplasma*

*turicensis* ayrıca spesifik patojen bulunmayan kedilere inokule edildiğinde kansızlığa neden olamamıştır (Musseux ve ark, 2009; Tasker ve ark, 2009). *Candidatus Mycoplasma turicensis* ile infekte kedilerde Kantitatif PCR analizleri kullanılarak belirlenen dolaşımdaki organizma yükleri tipik olarak çok düşüktür (Willi ve ark, 2006; Musseux ve ark, 2009; Tasker ve ark, 2009). Araştırma kedilerine *Candidatus Mycoplasma turicensis* 'in inokulasyonundan 40 gün sonra organizma sayısında keskin bir düşüş izlenmiş ve inokulasyondan 45 gün sonra bütün kediler organizma içi negatif hale gelmiştir (Tasker ve ark, 2009). Aralıklı olarak düşük seviye pozitif PCR sonuçları bazı kedilerde daha sonra yapılan testlerde tespit edilmiştir, bu da organizmanın tamamen yok edilmediğini göstermektedir. Başka bir çalışmada, inokulasyondan 10 ila 21 hafta sonra infeksiyonun kendiliğinden temizlendiği görülmüştür (Musseux ve ark, 2009).

*Candidatus M. turicensis* infeksiyonu bazı deneysel çalışmalarda anemi veya eritrosit parametrelerinde hafif düşüğe neden olmuştur ancak genellikle anemi yaygın değildir. Birlikte seyreden hastalık veya immunsupresyon *Candidatus M. haemominutum*'a benzer olarak *Candidatus M. turicensis*'in patogenezisinde rol oynadığı düşünülmektedir (Tasker ve ark, 2018).

Taşıyıcı kedilerde sıklıkla subklinik infeksiyonlar mevcuttur, bu nedenle infeksiyon tekrar aktif hale geçebilmekte ve klinik hastalıkla sonuçlanabilmektedir (Weingart ve ark, 2016). *Mycoplasma haemofelis* infeksiyonundan iyileşmiş kedilerde *M. haemofelis*'in homologunun tekrar verilmesine karşı koruma sağlanmıştır, koruyucu immunité varlığının tespiti ile infeksiyonun eliminasyonunun mümkün olduğu bildirilmiştir (Hicks ve ark, 2014). Diğer bir çalışmada *Candidatus M. turicensis* infeksiyonundan iyileşen kedilerde *M. haemofelis* infeksiyonunun belirtileri *M. haemofelis*'le infekte kedilerden daha hızlı ve şiddetli geliştiği bildirilmiştir (Baumann ve ark, 2015). Bu nedenle farklı hemoplazma türleri ile infeksiyonların patogenezis ve bağışıklık arasındaki ilişki için daha fazla araştırma gerektiği belirtilmiştir (Tasker ve ark, 2018).

### **2.3. Klinik Bulgular**

*Candidatus M. haemominutum* infeksiyonu olan kedilerin hematokritlerinde hafif düşüş görülmektedir. Bu da *Candidatus M. haemominutum*'un hastalıkta rol oynayabileceğini göstermektedir. Örneğin FeLV ve *Candidatus M. haemominutum*'la koinfekte olan kedilerde sadece *Candidatus M. haemominutum* olan kedilerden daha şiddetli anemi gelişmektedir ve

FeLV kaynaklı myeloproliferatif hastalıkların ilerlemesi daha hızlı şekillenmektedir (George ve ark, 2002).

*Candidatus M. haemominutum*'un neden olduğu anemiler de hemolitik anemi olarak tanımlanmıştır. *Candidatus M. haemominutum* genellikle *Candidatus M. turicensis* veya *M. haemofelis* ile koinfeksiyonlar meydana getirir. Üç hemoplazma türünün miks infeksiyonları da bildirilmiştir. Hemoplazmalar, omurgalı konakçıda akut hemolitik anemi ve çeşitli kronik hastalıklara neden olabilmektedir. İnfeksiyonun klinik spektrumu konakçı hassasiyetine bağlı olarak asemptomatik seyirden ölüme kadar değişmektedir. Hayvanlar yaş, birlikte seyreden hastalık, immünosupresyon veya splenektomi ile akut infeksiyona yatkın olabilmektedir. Kronik infekte hayvanlar hastalığın gizli seyretmesine veya yetersiz tanımlanmasına neden olabilmektedir. *M. haemocanis* infeksiyonu sıklıkla latent seyretmekte ve köpeğe splenektomi operasyonu yapılmadığı sürece subklinik olarak kalmaktadır ve operasyondan sonra akut hemolitik anemi gelişmektedir. Aksine, *M. haemofelis*, splenektomize edilmeyen kedilerde akut hemolitik anemiye neden olmaktadır. Bazı hemoplazma türlerinin veya suşlarının doğal patojenitesi de muhtemelen hastalığın gelişiminde kilit rol oynamaktadır. Ayrıca etkenin yolu ve dozu infeksiyon şiddetini etkileyebilmektedir (Messick, 2004).

Mukozalarda solgunluk, iştahsızlık ve dehidratasyon *M. haemofelis* infeksiyonlarında sık görülen infeksiyon belirtileridir ve bazı kedilerle ileri kilo kaybı görülmektedir. Anemi uyusukluk, mukozal solgunluk, taşipne, taşikardi, hemik kardiyak üfürüm gelişimi ve anemi akut ve şiddetli ise zaman zaman senkop veya nörolojik bulgularla kendini gösterir. Bazı hasta sahipleri, kedilerinin çöp veya kedi pisliği yediğini veya çimento yaladığını bildirebilmektedir. Diğer fiziksel muayene anomalileri splenomegali ve nadiren ikterustur. Bazı kediler ateşli olabilir ve moribund kediler hipotermik olabilir. Tam kan sayımında en karakteristik anormallik, anizositoz, makrositoz, retikülositoz, polikromazisi, Howell-Jolly cisimleri ve bazen de belirgin normoblastemi ile birlikte rejeneratif anemidir. İnfekte kedilerden yapılan kan frotilerinde otoaglutinasyon görülebilir. Hemoplazmalar ile eşzamanlı gizli infeksiyon, retikülositoz olmasa bile, makrositozlu FeLV pozitif kedilerde düşünülmelidir. FIV veya FeLV ile infekte olmuş anemik kediler, mutlaka hemoplazma infeksiyonu için de test edilmelidir (Sykes 2010).

*M. haemofelis* ile infekte olmuş kedilerde beyaz kan hücresi sayısı normal, artmış veya düşük olabilir. Serum kimyası profili, alanin aminotransferaz aktivitesinde, hiperbilirubinemide ve nadiren prerrenal azotemide artış gösterebilir. Hemoplazmalar ile infekte çiftlik hayvan türlerinde hipoglisemi bildirilmiştir ancak deneysel olarak infekte edilen kedilerde tespit edilmemiştir (Tasker ve ark, 2009).



*M. haemofelis* infeksiyonu kedilerde görülen şiddetli anemi ile ilişkili olduğu için bu türlerin neden olduğu hastalığın patogenezisini de açıklamak gerekmektedir. Deneysel infeksiyondan sonra klinik belirtiler 2 ila 34 günde ortaya çıkar. Anemi oluşur ve yaklaşık 18-30 gün sürer ancak şiddeti ve kronikliği infekte kediler arasında oldukça değişkendir. Anemi ağırlıklı olarak ekstrasvasküler hemolizden kaynaklanmaktadır ve aneminin başlangıcında genellikle retikülositoz ile güçlü bir rejeneratif yanıt gelir. Organizma eritrosit yüzeyindeki girintilere yerleşir. İnfekte kedilerin eritrositlerinde artan osmotik parçalanma ve azalan eritrosit yaşam süresi kaydedilmiştir. Eritrosit bağımlı antikor formasyonu ve retikülozis *Candidatus M. haemominutum* veya *Candidatus M. turicensis* ile infekte kedilerde henüz belirlenmemiştir (Sykes ve Tasker, 2013).

Anemi, letarji, iştahsızlık, halsizlik ve zayıflama belirtileri görülebilmektedir. Bazı hayvan sahipleri kedilerinin çöp yediğini veya çimento yaladığını belirtmişlerdir. Kilo kaybı ve dehidrasyon oluşabilir. Aneminin hızlı gelişmesi nörolojik belirtiler, garip sesler çıkarma, kollaps ve ölümlerle sonuçlanabilir. Bazı infekte kedilerde hematokritte döngüsel değişiklikler ve infekte eritrositler oluşur ve hematokritteki keskin düşüşler kan frotilerinde çok sayıda organizmanın görülmesiyle korelasyon göstermektedir (Foley ve ark, 1998). Kan frotilerinde görülebilir eritrositlerle bağlantılı organizmaların oranı 3 saatten kısa sürede %90'dan %1'lere düşebilir. Organizma sayısındaki bu ani dalgalanmalar *M. haemofelis*'in hızlı replikasyonundan kaynaklı görünmektedir ve bunu konakçı immün yanıtından dolayı kandan hızla temizlenmesi izlemektedir. *M. haemofelis*'teki tekrar eden antijenik varyasyonlar bu mikroorganizmanın immün yanıtı tekrar uyarır ve bu da organizma sayısındaki dalgalanmalara katkıda bulunur (Sykes ve Tasker, 2013).

Akut fazdaki kedilerde hematokrit normale veya normale yakın seviyeye ulaşabilir (iyileşme fazı) ve organizma kan frotilerinde görülmeyebilirler. İyileşen kedilerin en az birkaç tanesi organizma konakçı immün sisteminden kaçtığı için persiste infekte olarak kalır ve stres, gebelik, farklı infeksiyon veya neoplazileri takiben anemi tekrar şekillenebilir. Hemoplazmaların konakçı içinde yaşayabilme yeteneğinde farklılıklar olabileceğine dair kanıtlar vardır ve *Candidatus M. haemominutum* için daha sık görülürken *M. haemofelis* ve *Candidatus M. turicensis*'de daha az görülmektedir. Kedilerde splenektomi sonrası tekrar anemi ve bakteremi belirlenmiştir ancak diğer çalışmalarda splenektomi olan kedilerde önemli bir anemi olmadan da kan frotilerinde görünür organizmaların sayısında artışa neden olmuştur (Sykes ve Tasker, 2013). *Candidatus M. haemominutum*'la infekte splenektomi yapılan kedilerde bu mikroorganizmanın patojenitesinde artış görülmemiştir (Sykes ve ark, 2007).

Generalize solgunluk, splenomegali ve bazı kedilerde ikterus hemoplazmozisin sonucunda ötenazi uygulanan veya ölen kedilerde temel nekropsi bulgusudur. Histopatolojik bulgular arasında ekstramedullar hematopoezis, foliküler hiperplazi ve dalakta eritrofagositozis bulunmaktadır (Sykes ve Tasker, 2013).

Klinik hemoplazma görülen köpeklerin geçmişinde splenektomi veya daha az yaygın olarak birlikte seyreden immun supresif hastalık veya ilaç tedavisi veya *Babesia sp.* veya *Ehrlichia canis* gibi başka kan yoluyla bulaşan koinfeksiyonlar vardır. Klinik belirtilerde zayıflık, letarji ve solgunluk ve bazı köpeklerde iştahsızlık vardır (Sykes ve Tasker, 2013).

Akut *M. haemofelis* infeksiyonu olan kedilerin fiziksel muayene bulgularında ateş, zayıflık, mukozal solgunluk, taşipne, taşikardi ve zayıf femoral nabız vardır. Diğer fiziksel muayene abnormalliklerinde dehidrasyon, kardiyak murmur, splenomegali ve bazen orta şiddette ikterus bulunabilir. Ölmek üzere olan kediler hipotermik olabilirler (Sykes ve Tasker, 2013).

*Candidatus M. haemominutum* veya *Candidatus M. turicensis*'le infekte kedilerde ve *Candidatus M. haematoparvum*'la infekte köpekler birlikte seyreden bir hastalık olmadıkça sağlıklı görünmektedir (Sykes ve Tasker, 2013).

Klinik bulgularda solgunluk, uyuklama hali, aşırı zayıflama, kilo kaybı, depresyon ve yüksek ateş mevcuttur (Tasker, 2010).

Hastalık parazitemik, akut, iyileşme ve taşıyıcı faz olarak dört faza ayrılmıştır. Parazitemi öncesi faz genellikle intravenöz enjeksiyondan sonra yaklaşık 1-3 haftadır. Hastalığın akut fazı, ilk parazitemiden son parazitemiye kadar geçen süreyi temsil etmektedir. Organizmalar genellikle kanda parazitemik ataklar halinde döngüsel bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Organizmaların sayısı genellikle bir ila beş gün arasında bir pik değere ulaşmakta ardından hızlı bir düşüş görülmektedir. Tekrarlayan parazit atakları, ilerleyici eritrosit hasarına neden olmakta ve eritrositlerin yaşam süresini kısaltmaktadır. Hemoplazma infeksiyonunun klinik belirtileri bakteri türü, infeksiyonun evresi ve birlikte seyreden infeksiyonların varlığı gibi faktörlere bağlıdır. Yaygın görülen klinik belirtiler mukozalardaki solgunluk, uyuşukluk, iştahsızlık, kilo kaybı, depresyon ve dehidratasyondur. Özellikle hastalığın akut evresinde aralıklı ateş görülmesi ekstramedüller hematopoezisi yansıtabilmektedir. Şiddetli akut hemoliz oluşmadıkça sarılık nadiren görülmektedir (Ameldev ve Tremasol, 2018).

Akut formun klinik özellikleri çeşitli hayvan türlerinde yoğun olarak çalışılmıştır. Kedilerde, kırmızı kan hücrelerinin yoğun bakteriyemisiyle ilişkili olan *M. haemofelis*'in akut formu, şiddetli ve bazen ölümcül hemolitik anemiye neden olmaktadır. Hem doğal hem de deneysel olarak infekte olmuş kedilerde uyuşukluk, iştahsızlık, ateş ve anemi hastalığın klinik

belirtilerdir. PCR, klinik hastalığın şiddeti ile bakteriyemi varlığını ilişkilendirmek için kullanılmıştır ve böylece *M. haemofelis*' in sebep olduğu hastalık moleküler olarak da incelenmiştir. Ancak, *Candidatus M. haemominutum* ile deneysel olarak infekte edilen sağlıklı kedilerde, akut hastalığın klinik bulgularının hafif seyrettiği gözlemlenmiştir. Klinik hastalığın şiddetindeki farklılıklar kedi hemoplazmalarının patojenitelerindeki farklılıkları gösterse de, Westfall ve arkadaşları tarafından ileri sürülen doza bağımlı etkileri yansıtmaları da mümkündür (Messick, 2004).

Patojenik hemoplazma infeksiyonları tipik olarak rejeneratif makrositik hipokromik anemiye neden olmaktadır ancak belirgin retikulositozis her zaman görülmemektedir (Kewish ve ark, 2004). Normoblast bulunabilir. Lökopeni, lenfopeni, eozinopeni ve monositozisi kapsayan beyaz kan hücrelerinde değişiklikler görülebilmektedir. Pozitif Coombs testi eritrosit bağımlı antikorların varlığını belirleyen Coombs testi pozitiflik verebilir, özellikle soğuk aglütininerle ve akut hemoplazmoziste persistent otoaglutinasyon bildirilmiştir. Ancak deneysel çalışmalarda bu antikorlar anemi gelişmesinden sonra görülmektedir. Aneminin başlangıcında eritrosit bağımlı antikorların tespit edilmemesi Coombs testinin erken dönem infeksiyonda antikorların tespitinde yeterli olamamasından veya eritrosit bağımlı antikorların hemoplazma kaynaklı hemolizisin sonucu olarak görünmesinden dolayı kaynaklanabilmektedir. Eritrosit bağımlı antikorlar glikokortikoid tedavisi olmaksızın antibiyotik ve destekleyici tedaviyle ortadan kaybolmaktadır (Tasker ve ark, 2018).

*M. haemocanis* ve *M. haemofelis* ile infekte sırasıyla köpek ve kedilerin en karakteristik kan anomalileri makrositozis, anisitozis, retikülozis, polikromoz, Howell- Jolly cisimcikleri ile rejeneratif anemidir ve özellikle kedilerde normoblastomi dikkat çekicidir. Hemoplazma infekte eritrositlerle metilen mavisi ile boyanan kan frotilerindeki retikülositler aynı görüldüğü için *M. haemofelis* ile infekte kedilerde yapılan retikülosit miktarı sayımı dikkatle yorumlanmalıdır. Otoaglutinasyon kan frotilerinde tespit edilemeyebilir. Anemisi bulunan FeLV pozitif kedilerde retikülozis tespit edilmese bile birlikte seyreden hemoplazma infeksiyonundan şüphe edilmelidir. Nötrofil miktarı normal, yükselmiş veya düşük olabilir ve lymfopeni görülebilir. İnfekte kedi ve köpeklerde trombositopeni oluşabilir ancak sıklıkla platelet miktarı referans değerdedir (Sykes ve Tasker, 2013). Hemoplazmozis olan kedilerdeki serum biyokimyasal profilinde hipoksi, metabolik asidozis veya orta şiddette hiperbilirubinemi ve prerenal azoteminin sonucu olarak artan ALT ve AST aktivitesi ortaya çıkabilir. Bazı kedilerde hiperproteinemi görülebilir (Sykes ve Tasker, 2013).

Serum biyokimyasında dehidratasyon veya akut faz yanıtı nedeniyle hiperproteinemi ortaya çıkarabilmekte ve karaciğer enzim düzeylerinin yükselmesi hepatik hipoksik hasardan kaynaklanabilmektedir. Hiperbilirubinemi hemolizden kaynaklanabilmektedir (Tasker, 2010). İdrar analizi genellikle normaldir, bilirubinemi hiperbilirubinemi olan kedilerde görülebilmektedir (Sykes ve Tasker, 2013).

Hemoplazma infeksiyonu ilişkili anemi, tipik olarak rejeneratif makrosik ve normo veya hipokromiktir. Dalaktan ayrılan eritrositlerin salınması, beraberinde bir retikülositozis olmaksızın alyuvar sayısında belirgin bir artışa neden olabilmektedir. Pozitif Coombs testi ve otoaglutinasyon oluşabilmektedir (Ameldev ve Tremasol, 2018).

#### **2.4. Risk Faktörleri ve Bulaşma Yolları**

Yetişkin kediler, gençlere göre infeksiyona daha yatkındırlar, hayvan bir kere infekte olduktan sonra, uzun süreli antibiyotik tedavilerinden sonra bile organizmayı elimine etmek zordur. Hayvanlar asemptomatik taşıyıcı olabilmektedir. Agresif yapılarından dolayı erkek kedilerin infeksiyona yakalanma olasılığının daha yüksek olduğu, kavga yaralanmalarının en önemli bulaşma kaynağı olduğu düşünülmektedir. Köpeklerde hemoplazmozis vakaları zaman zaman bildirilmiştir, ancak splenektomi, immünsüpresyon veya birlikte seyreden infeksiyonlar gibi kofaktörlerin patogeneze rol oynadığı görülmektedir (Ameldev ve Tremasol, 2018). Kedi hemoplazma infeksiyonları genellikle erkek, dışarıya çıkabilen, geçmişte yaşadığı alan bilgisi olmayan ve kedi ısırık apseleri bulunanlarda daha sık görülmektedir. *Candidatus M. haemominutum* ile infeksiyon olgun kedilerde daha sık görülmektedir, bunun nedeni ise hayatları boyunca kronik sublinik infeksiyona yakalanma riskinin artmasıdır. Bazı çalışmalar hemoplazma infeksiyonu ile Feline Immundeficiency Virus (FIV) infeksiyonu arasında bağlantı bulmasına rağmen (Macieira ve ark, 2008; Gentilini ve ark, 2009) diğerleri bağlantı bulmamıştır ve hemoplazma infeksiyonu ile Feline Leukemia Virus (FeLV) arasındaki ilişkiyi göstermede başarısız olmuştur (Willi ve ark 2006). Tüm bu değişken sonuçlar retrovirusların hemoplazma infeksiyonu için risk faktörü olarak düşünülebileceğini göstermektedir (Tasker ve ark, 2018).

Erkek kedilerdeki yüksek prevalans horizontal bulaşmanın kavga yoluyla oluşabileceğini düşündürmektedir. Hem *Candidatus M. haemominutum* hem de *Candidatus M. turicensis* DNA'sı infekte kedilerin salyasında tespit edilmiştir (Willi ve ark, 2006; Dean ve ark, 2008). *Candidatus M. turicensis* ile infekte salyanın oral yolla veya subkutan olarak inokulasyonunun kediler arasında *Candidatus M. turicensis*'in aktarılmasında başarısız

olduğunu görülmüştür ancak kandaki *Candidatus M. turicensis*'in aynı dozu subkutan olarak inokule edildiğinde başarılı bir şekilde aktarılmıştır (Musseux ve ark, 2009).

Kan emen artropodlar, kedi ve köpek hemoplazmalarının bulaşmasında rol oynayabilmektedir. Kedi piresi olan *Ctenocephalides felis* dışkılarında *M. haemofelis* ve *Candidatus M. haemominutum* DNA'sı tespit edilmiştir. *Ctenocephalides felis* aracılığıyla *M. haemofelis* ve *Candidatus M. haemominutum* bulaştırılması için yapılan deneysel çalışma başarısızlıkla sonuçlanmıştır (Shaw ve ark, 2004; Woods ve ark, 2005; Lappin ve ark, 2006; Woods ve ark, 2006; Willi ve ark, 2007; Kamrani ve ark, 2008).

Yapılan çalışmalarda infeksiyonun coğrafik dağılımının bir yerde toplanmış olması hemoplazma bulaşmasında artropod vektörlerinin rolü olduğunu desteklemektedir (Sykes ve ark, 2007; Wengi ve ark, 2008; Novacco ve ark, 2010). Kedi piresi (*Ctenocephalides felis*), kedi hemoplazmalarının bulaşmasından sorumlu tutulmaktadır. Yalnızca çok bulaşıcı olan *M. haemofelis* infeksiyonunun pirelerin kan emmesi vasıtasıyla etkeni bulaştırdığı bildirilmesine rağmen deneysel bir çalışmada alıcı kedide *M. haemofelis*'in hematolojik ve klinik belirtileri ortaya çıkmamıştır (Woods ve ark, 2005). Ek olarak yapılan bir çalışmada birlikte beslenen kedi grubunda deneysel olarak hemoplazmaların bulaşmasında pirelerin rol oynadığına dair bir veri bulunamamıştır (Lappin, 2014).

Kedi piresi *Ctenocephalides felis*'in kan emme özelliğinden dolayı *M. haemofelis*'in kedilere sadece geçici olarak bulaştırdığı gösterilmiştir (Woods ve ark, 2005). Yapılan araştırmalarda kedilerden toplanan pirelerde (Shaw ve ark, 2004; Hornok ve ark, 2008; Kamrani ve ark, 2008; Hornok ve ark, 2010) ve bazı kenelerde (Taroura ve ark, 2005; Willi ve ark, 2007) kedi hemoplazma infeksiyonu varlığını belirlemişlerdir. Hemoplazma infeksiyonlarının kümeleşmiş coğrafik dağılımıyla ilgili yapılan çalışmalar artropod kaynaklı bulaşmayı desteklemektedir (Willi ve ark, 2006; Sykes ve ark, 2007). Ancak, destekleyici kanıtlara rağmen, kediler arasında hemoplazmaların doğal bulaşması tam olarak açıklanamamıştır (Tasker, 2010).

İsviçre'de, doğrudan hayvanlardan toplanan bazı *Ixodes* ve *Rhipicephalus* kenelerinde *Candidatus M. haemominutum* ve *Candidatus M. turicensis* için pozitif sonuçlar elde edilirken bitki örtüsünden toplanan *Ixodes* kenelerinde hemoplazma DNA'sı tespit edilmemiştir. Çalışma neticesinde *Ixodes* kenelerinin İsviçre'deki hemotropik mikoplazmalar için büyük bir rezervuar olmadığı yorumu yapılmıştır (Willi ve ark, 2007; Willi ve ark, 2009). Avrupa'da, kahverengi köpek kenesi *Rhipicephalus sanguineus*, Akdeniz iklimi olan bölgelerde yaygın olarak görülmektedir ve bu ülkelerde bulunan köpek hemoplazma infeksiyonlarının yüksek

prevalansı, enfeksiyonun bulaşmasında olası bir kene vektörü olduğu hipotezini desteklemektedir (Kenny ve ark, 2004; Barker ve ark, 2010; Novacco ve ark, 2010).

Köpek kenesi *Rhipicephalus sanguineus*, köpek hemoplazmalarının bulaşmasında rol oynadığı düşünülen bir vektördür (Roura ve ark, 2010). Kenelerde transstadial ve transovarial bulaşma da tanımlanmıştır, bu da kenelerin enfeksiyonun bir vektörü olmasının yanı sıra önemli bir rezervuar olabileceğini de göstermektedir (Ameldev ve Tremasol, 2018).

İnfeksiyonun erken evresinde tükürükte ve infekte kedilerin dışkıında *Candidatus M. turicensis* saptanırken, deneysel olarak infekte edilen kedilerin tükürük ve tükürük bezlerinde *Candidatus M. haemominutum* PCR ile tespit edilmiştir ve hemoplazmaların tükürük yoluyla doğrudan bulaşmasının önemli olabileceği vurgulanmıştır (Willi ve ark, 2007; Dean ve ark, 2008; Museux ve ark, 2009). Kediler arasında sosyal temas yoluyla *Candidatus M. turicensis* aktarımının araştırıldığı bir *in vivo* çalışmada, *Candidatus M. turicensis* PCR-pozitif tükürüğün deri altından veya ağızdan inokulasyonu ile kedileri infekte edememiştir. Buna karşılık, 10 µl PCR-pozitif kanın deri altından inokulasyonu ile bulaşma başarılı olmuştur; bu olgu, *Candidatus M. turicensis*'in kediler arasında bulaşması için agresif etkileşimin gerekli olduğunu gösterebilmektedir (Museux ve ark, 2009). Japon dövüş köpeklerinde prevalansın diğer ırklara göre daha yüksek olması *M. haemocanis* enfeksiyonları ile kavga arasında ilişki kurulmasına neden olmuştur (Sasaki ve ark, 2008). *M. haemocanis*'in doğrudan bulaştırılması kavga sırasında infekte kan yoluyla olduğu düşünülmektedir (Willi ve ark, 2010).

Kedi hemoplazma enfeksiyonu erkek cinsiyeti, geçmiş kaydının bulunmaması ve dış mekana erişim ile ilişkilendirilmiştir (Sykes, 2010). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada, *M. haemofelis* ile infekte olmuş kedilerin yaklaşık % 90'ının erkek olduğu ve *M. haemofelis* ile infekte olmuş erkek kedi sayısının infekte olmayan erkek kedilerden 7 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Sykes ve ark, 2008). Bazı çalışmalar hemoplazmosis ile retrovirus enfeksiyonları arasında ilişki olduğunu göstermiştir (Sykes ve ark, 2007; Sykes ve ark, 2008; Gentilini ve ark, 2009; Laberke ve ark, 2010). Kedi hemoplazmalarının bulaşma şekli uzun zamandır çözülememiştir. *Mycoplasma haemofelis*'in yayılmasında pirelerin rol oynadığı tahmin edilmektedir (Woods ve ark, 2005) ancak pire istilasının nadir olduğu bazı bölgelerde de enfeksiyon yaygın olabilmektedir (Jensen ve ark, 2001). Kedilerden toplanan pirelerin hemoplazma DNA'sı içerdiği ancak pirelerin kan emme özellikleri göz önüne alındığında bunun beklenen bir durum olduğu bildirilmiştir (Willi ve ark, 2007; Kamrani ve ark, 2008). Kedi hemoplazmalarını bulaştırmak için pire kullanma girişimleri, altı kediden birinde hastalık görülmeksizin geçici PCR pozitiflikle sonuçlanmıştır (Woods ve ark, 2005). Avrupa'da bazı *Ixodes ricinus* kenelerinde PCR kullanılarak *M. haemofelis* tespit edilmiştir (Willi ve ark, 2007)

ve Japonya’da kan emmemiş *Ixodes ovatus* kenelerinde *Candidatus M.haemominutum* tespit edilmiştir (Taroura ve ark, 2005). Bununla birlikte, İsviçre’de yaklaşık 2000 beslenmemiş *Ixodes spp* kenesini inceleyen çalışmada PCR kullanarak hemoplazma DNA’sı tespit edilmemiştir (Willi ve ark, 2007; Willi ve ark, 2010) ve infeksiyonlar, kene maruziyetinin minimum düzeyde olduğu banliyö alanlarında tanımlanmıştır (Sykes ve ark, 2007). Kedilerde hemoplazma infeksiyonu prevalansındaki coğrafi varyasyon, bulaşmada artropod vektörlerinin rolünü destekler niteliktedir (Willi ve ark, 2006; Sykes ve ark, 2007). Her 3 kedi hemoplazma türü yaygın olarak yabancı kedilerde tespit edilebilmektedir, bu da bulaşmada artropodların infeksiyon rezervuarları olarak işlev görme ihtimalini göstermektedir (Willi ve ark, 2007).

Sivrisineklerin bulaşmada rol oynadıkları öne sürülmüştür (Sykes ve ark, 2007). Colorado’da havuzdan yakalanmış sivrisinekler incelendiğinde, sadece sığır hemoplazması olan *Mycoplasma wenyonii* DNA’sı tespit edilmiştir (Sykes 2010).

Transplasental bulaşma da ileri sürülmektedir. Erkek cinsiyette daha sık görülmesi ve retroviral infeksiyonlarla ilişki, hemoplazmaların ısırma ve kavga faaliyeti ile doğrudan bulaşma ihtimaline olan ilginin artmasına neden olmuştur. Kedi infeksiyöz aneminin bilinen kavga veya ısırma olaylarından sonraki haftalar içerisinde ortaya çıktığı gözlemlenmiştir (Sykes, 2010). Kedi ısırığı apseleri ile ilişki uzun süre önce bildirilmiştir ve bu apselerin kavga veya ısırık yaralarıyla birlikte aktive olmaları da mümkündür. Hemoplazmalar, infeksiyonun başlangıcında deneysel olarak infekte olmuş kedilerin tükürüklerinde ve dışkılarında ve doğal olarak infekte olmuş kedilerin tükürüklerinde, diş etlerinde ve pençe yastıklarında saptanmıştır. Bu salgılarda organizma seviyelerinin düşük olduğu bildirilmiştir (Willi ve ark, 2007; Dean ve ark, 2008; Lappin ve ark, 2008). Kedilere yaklaşık 5 ml infekte kan oral yolla verildiğinde infekte oldukları tespit edilmiştir ve bu işlem ısırıcı hayvan veya ısırılmış hayvan, agresif aktivitelerden sonra infeksiyonun bulaştırılabildiğini düşündürmüştür (Sykes, 2010). *Candidatus M. turicensis* 'in kemirgen hemoplazmalarına genetik benzerliği nedeniyle (*Mycoplasma coccooides* ve *Mycoplasma haemomuris*), kemirgenler organizmanın potansiyel rezervuarı olarak araştırılmıştır, kedi hemoplazma türleri kemirgen popülasyonunda tespit edilmediği bildirilmiştir (Willi ve ark, 2005). Kan transfüzyonu bulaşmada farklı bir yoldur ve kan donörlerinin hemoplazma infeksiyonları yönünden taranması önerilmektedir (Tasker ve ark, 2018).

Bulaşma deneysel olarak etkenin sindirim yoluyla verilmesiyle veya infekte kanın enjeksiyonuyla oluşabilmektedir. Hemoplazma infeksiyonlarının doğal yayılma yolu bilinmemektedir. Şüphelenilen yol ısırma veya agresif etkileşimlerdir ve bulaşma muhtemelen vertikal de olabilmektedir. Erkek, kayıtsız, dışarı ile bağlantılı kedilerin hemoplazmalarla

infekte olması daha olasıdır (Tasker ve ark, 2018). Kenelerin *M. haemocanis*'i taşıdığından şüphelenilmektedir. Tanımlanmamış diğer artropod vektörler de düşünülmektedir (Sykes ve Tasker, 2013).

Hemoplazma infeksiyonu için risk faktörlerinin değerlendirilmesi çalışmalarında genellikle dışarıyla ilişkisi olan yaşlı erkek kedilerin infekte olmasının daha olası olduğunu göstermiştir. *Candidatus M. haemominutum*'un yaşlı kedilerde daha yaygın olduğu bildirilmiştir (Tasker ve ark, 2018).

Bu alanda daha çok çalışma gerekmesine rağmen hemoplazma bulaşmasının yaşam alanıyla ilgili olmadığı, etkenin bulaşabilmesi için kedinin sadece salya yerine kedi ısırıkları yoluyla infekte kanla teması halinde bulaşma olabileceği düşünülmektedir (Tasker, 2010).

Kan transfüzyonlarının *M. haemofelis* ve *Candidatus M. haemominutum* infeksiyonlarının kaynağı olduğu bildirilmiştir (Gary ve ark, 2006; Willi ve ark, 2006).

Kontamine kan transfüzyonuyla bulaşma rapor edilmiştir (Willi ve ark, 2006) ve transfüzyon için hemoplazma infeksiyonu olan kan donöründen alınan taze kanın kullanımıyla alıcı kediye infeksiyonun bulaşması daha muhtemeldir. Transfüzyon için saklanan kanlar kullanıldığında hemoplazma bulaşma riski hemoplazmaların saklanan kanlarda yaşayabilirliğine bağlıdır.

Bir çalışmada Sitrat Fosfat Dekstroz Adenin (CPDA) antikoagulanlı tüplere toplanan kanlardaki hemoplazmaların canlılığını sürdürmesi araştırılmıştır. Hemoplazmaların canlılığını sürdürmesi CPDA antikoagulantta 1 saat, 1 hafta veya 1 ay saklanmış infekte kanların intravenöz olarak sağlıklı kedilere *M. haemofelis* veya *Candidatus M. haemominutum* aktarabilme yeteneğine bakılarak değerlendirilmiştir. Sadece 1 saat saklanan kanların verildiği sağlıklı kedilere *M. haemofelis* başarılı şekilde aktarılmıştır. *In vivo M. haemofelis* verilen alıcı kedilerde inokulasyondan sonraki 3 hafta izlenen kedilerde organizma sayısının arttığı görülmüştür. Bazı bulgular 1 saat saklanan kanların *Candidatus M. haemominutum*'u aktardığını göstermiştir ancak inokulasyondan sonra alıcı sağlıklı kedilerde organizma sayısı artmamıştır. Bir hafta saklanmış *Candidatus M. haemominutum* infekte kan sağlıklı alıcı kedilerde yapılan 2 PCR'dan sadece birinde pozitif sonuç vermiştir bu nedenle başarılı bir kalıcı aktarım sağlanamamıştır. Ancak bu çalışma *Candidatus M. haemominutum*'un CPDA antikoagulantında 1 hafta kadar canlılığını sürdürebildiğini ileri sürmektedir (Gary ve ark, 2006).

Bristol Üniversitesi'ndeki deneysel çalışmalar EDTA veya heparin antikoagulantına alınmış kanlarda hemoplazmaların canlılığının 1 saatten az olduğunu bulmuşlardır. Hemoplazmaların konak dışında canlılığını sürdürebilmelerinin daha çok araştırılmaya ihtiyacı



vardır. *In vitro* kültür sistemlerinde hemoplazmaların üretilmemesi araştırmaları zorlaştırmaktadır (Tasker, 2010).

Diğer bulaşma yolları arasında gebelikte anneden yavruya geçiş, doğum veya emzirme bulunmaktadır. Bildirilmemesine rağmen, transmisyon ayrıca, çoklu kullanılabilen flakonların kullanılması veya aynı ekipmanın uygun temizlik / sterilizasyon olmaksızın farklı hayvanlarda uygunsuz kullanımı ile de olabilmektedir. Özellikle kan alımı-aktarımı arası süre kısıtlıysa kan kontaminasyonu önemlidir (Tasker, 2010). Diğer olası hemoplazma bulaşma yolları arasında, anneden yavruya hamilelik sırasında, doğumda veya emzirme döneminde vertikal bulaşma yer almaktadır (Ameldev ve Tremasol, 2018).

Kan transfüzyonlarının enfeksiyona neden olduğu bildirilmiştir (Willi ve ark, 2007). Transfüzyon için hemoplazma ile infekte olan bir kan donöründen yeni alınan kanın kullanılması, büyük olasılıkla alıcı kediye enfeksiyonun bulaşmasına yol açacaktır. Kan transfüzyonuyla bulaşma oluşabilir ve tüm kan donörleri hemoplazma enfeksiyonları yönünden taranmalıdır (Tasker ve ark, 2018).

## 2.5. Halk Sağlığına Etkileri

Kan frotilerinin sitolojik muayenesi kullanılarak hemoplazmalara benzeyen hemotropik organizmalar, zaman zaman kazanılmış immün yetmezlik sendromlu anemik hastalar ve sistemik lupus eritematozusu bulunan insanlarda tespit edilmiştir (Sykes 2010). Brezilya'da *Bartonella henselae* ile birlikte Immunodeficiency virus ile infekte bir insanda PCR kullanılarak *M. haemofelis* tespit edilmiştir ve bu da *M. haemofelis*'in zoonotik potansiyeli olduğunu düşündürmektedir (Santos ve ark, 2009). Bu nedenle, bu organizmaların zoonotik potansiyeli daha fazla anlaşılana kadar, infekte kedilerden kan veya doku alırken dikkatli olunması önerilmektedir (Sykes 2010).

Hemoplazma benzeri organizmalar 10 yıl önce insan kan frotilerinde belirlenmiştir. Kedi ve köpek hemoplazmalarının tespiti için dizayn edilen moleküler teknikler insanlar için de uygulandığında çeşitli hemoplazma türleri identifiye edilmiştir (Tasker ve ark, 2010). *Candidatus M. haemohominis* olarak tanımlanan bir hemoplazma enfeksiyonu hemolitik anemili bir insanda belirlenmiştir (Steer ve ark, 2011).

*Bartonella henselae* ile koinfekte Teksas'lı bir veteriner hekimde *Mycoplasma ovis* DNA'sı tespit edilmiştir (Sykes ve ark, 2010). Çin'deki bir çiftlik çalışanında *Mycoplasma suis* DNA'sı bulunmuştur (Yuan ve ark, 2009). Bildirilen çalışmaların her birinde hemoplazma genomunun yalnızca küçük bir kısmı veya kısımları tespit edildiği için insanlardaki hayvan

hemoplazmalarının DNA identifikasyonu dikkatle incelenmelidir. *Mycoplasma haemocanis* ve *M. haemofelis* aynı 16S rRNA gen sekansına sahiptir ancak farklı konakçı tropizmine sahiptir ve bu insanlarda tespit edilen organizmalar evcil hayvan türlerini infekte edenlerle aynı olmayabilir. Daha fazla bilgiye ulaşıncaya kadar veteriner hekimler hayvanlardan kan alırken dikkatli olmalıdır (Sykes ve Tasker, 2013).

## 2.6. Teşhis

Hemoplazmozis şüpheli kedilerde dikkat edilmesi gereken, benzer klinik tablo gösteren hastalıklar Tablo 11’de gösterilmektedir.

**Tablo 11.** Hemoplazma ile karışabilen hastalıklar

Primer immün bağlantılı hemolitik anemi
Feline Leukemia Virus infeksiyonu
Feline Immunodeficiency Virus infeksiyonu
Feline İnfeksiyöz Peritonitis infeksiyonu
Cytauxzoon felis infeksiyonu
Heinz cisimciği hemolitik anemi (Çinko, soğan, sarımsak, lokal anestezikler, propofol, balık)
Piruvat kinaz yetersizliği
Habeş ve Somali kedilerinin eritrosit fragilite hastalığı
Gizli gastrointestinal hemoraji

Sykes (2010)’dan modifiye edilmiştir.

Köpek ve kedilerdeki hemoplazmozisin tanısı için kullanılan testler Tablo 12’de listelenmiştir.

**Tablo 12.** Köpek ve kedilerde hemoplazmozis tanısı için kullanılabilen testler

Test	Örnek Türü	Hedef	Test Performansı
Sitolojik Muayene	Kan Frotileri	Hemoplazmalar	Özellikle etkilenen kedilerde düşük sensitiviteye sahiptir. Organizmalar hasta kedilerin %50'sinden azında kan frotilerinde görülmektedir. Boya kalıntıları, boya artefaktları, Howell-Jolly cisimcikleri hemoplazmalar olarak yanlış yorumlandığında hatalı pozitiflik oluşabilmektedir. Spesifite ve sensitivite testin dizaynına bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir.
PCR	Tam kan, kan frotileri	Hemoplazma DNA'sı	Sonuçlar tespit edilen tür ve klinik bulgular ışığında değerlendirilmelidir. <i>Mycoplasma haemofelis</i> ve <i>Mycoplasma haemocanis</i> anemiyle daha ilişkilidir.

Sykes ve Tasker (2013)'ten modifiye edilmiştir.

### 2.6.1. Sitolojik Muayene

Hemoplazma infeksiyonunun teşhisi Romanowsky boyama yapılmış kan frotilerinde organizmaların tekli çiftli veya zincir şeklinde eritrositlerin yüzeyinde görülmesiyle yapılmaktadır. Diff-Quick veya süzölmüş Giemsa boya da kullanılabilir. Ancak sitolojik tanı düşük spesifite ve sensitivite (özgüllük ve hassaslık)'ye sahiptir. Rapor edilen bazı çalışmalarda sensitivite %0-37,5 oranla spesifiteden daha düşüktür (Westfall ve ark, 2001; Tasker ve ark, 2003). Spesifite genellikle yüksektir, raporlanan değerler %84-98 (Tasker ve ark, 2003; Bauer ve ark, 2008) arasındadır, bu araştırmacıların gözlemlerine ve kan frotilerinin yorumlarına dayalıdır.

İnfekte hayvanlardan alınan Giemsa ile boyanmış kan frotilerinin ışık mikroskobuyla incelemesinin hemoplazma infeksiyonlarının teşhisinde güvenilir olmadığı gösterilmiştir. Bu yöntem için % 20'nin altında tanısal duyarlılık bildirilmiştir ve tanısal özgüllük organizmaların boya kalıntıları veya Howell-Jolly cisimleriyle karıştırılmasıyla azalmaktadır. Özellikle, ışık mikroskopisi, *Candidatus M. turicensis*'in kandaki miktarının genellikle düşük olması nedeniyle *Candidatus M. turicensis* infeksiyonunu teşhis etmek için uygun değildir. En yüksek *Candidatus M. turicensis* bakteriyemisinde bile,  $10^3 - 10^4$  eritrosit başına sadece bir *Candidatus M. turicensis* düşmektedir ve bu rutin ışık mikroskobu ile saptanamayan bir sayıdır (Museux ve ark, 2009). İlk olarak elektron mikroskobu kullanılarak görüntülenebilmiştir. Pleomorfik şeklindeki *Candidatus M. turicensis* organizmalarının çapı yaklaşık 0,3 µm'dir ve infekte kedilerin eritrositlerine üzerine bağlanır (Willi ve ark, 2010).

Kan frotisi yorumları güvenilirse, akut infeksiyon süresince organizmaların sitolojik tespiti kolay ve hızlı teşhis testi olarak faydalı olabilmektedir. Ancak, pratikte kan frotisi gözlemine dayalı olarak hemoplazma infekte olduğu tespit edilen birçok vakada boya kalıntıları, Howell-Jolly cisimcikleri ve kan frotisinin yavaş kurumasından kaynaklanan artefaktlardan dolayı hatalı pozitiflikler görülmektedir. Ayrıca sitolojii hemoplazma türlerini birbirinden ayırt edememektedir (Tasker, 2010).

Özellikle kedi infeksiyöz anemisinin teşhisinde kullanılan sitolojik muayene düşük spesifite ve sensitiviteye sahiptir. Organizmalar infeksiyon seyri sırasında kan frotilerinde incelenmeden önce eritrositlerden ayrılabilirdiği için infekte kedilerin akut seyri sırasında yapılan kan frotilerde *M. haemofelis* % 50'den daha az görülmektedir. Kan alındığı ilk saatlerde organizma eritrositlere bağlı olduğu için taze kan frotilerinden sitolojik muayene yapılmalıdır. Presipitasyon gibi boyama artefaktları oluştuğunda organizma ile karıştırılarak yanlış pozitif teşhise neden olmakta bu nedenle de kontamine olmayan, uygun şekilde hazırlanmış Romanowsky boyama solüsyonu ile dikkatli boyama yapmak gerekmektedir. Organizmaların bazofillerden ve Howell-Jolly cisimciklerinden ayırt edilmesi gerekmektedir. *Candidatus M. haemominutum* küçüktür ve kronik infekte kedilerde gözlemlenmemektedir. *Candidatus M. turicensis* ışık mikroskopuyla gözlemlenen kan frotilerinde hiçbir zaman görülmemektedir. Hemoplazmalar klinik olarak etkilenmiş birçok köpekte görülebilir ve *M. haemocanis* zincir formundan dolayı boyama artefaktlarından ve eritrositlerin morfolojik değişikliklerinden daha kolay ayırt edilmektedir. Ancak hemoplazma etkenleri kronik olarak infekte veya *Candidatus M. hematoparvum*'u olan köpeklerin kan frotilerinde genellikle görülmemektedir (Sykes ve Tasker, 2013).

Kedi hemotropik mikoplazmaları laboratuvarında üretilmemektedir. Hemoplazmaların sitolojik muayenesi çok düşük sensitiviteye sahiptir (Tasker ve ark, 2003). *Mycoplasma haemofelis* akut hemolitik anemisi olan kedilerinde sitolojik muayene yapılan kan frotilerinde % 50'den daha az oranda görülmektedir. Çünkü organizmalar hastalık süresince kan frotilerinde yeniden ortaya çıkmadan önce birkaç gün kaybolabilmektedir. Organizma Etilen Diamin Tetraasetik Asit varlığında eritrositlerden ayrılabilirdiğinden, taze frotilerin incelenmesi önerilmektedir. Kan frotisinde görülen organizmalar genellikle *M. haemofelis*'dir (Sykes ve ark, 2008). *Candidatus M. turicensis* kan frotilerinde hiçbir zaman görülmemektedir. *Candidatus M. haemominutum* genellikle kronik olarak infekte kedilerde görülmez ve *M. haemofelis*'den daha küçük olmasına rağmen sadece boyutuna göre *M. haemofelis*'den ayırt etmek zor veya imkansız olabilmektedir (Tasker ve ark, 2003).

Yanlış pozitif teşhisler genellikle organizmalarla boya kalıntısı, bazofilik stippling ve Howell-Jolly cisimleriyle karıştırıldığında ortaya çıkar, bu nedenle kan frotilerindeki organizmaların varlığını doğrulamak için uygun veteriner teşhis laboratuvarlarının kullanılması önerilmektedir (Sykes 2010).

Romanowsky boyası ilk boyanmış kan frotilerinin sitolojisinde hemoplazmalar eritrosit çevresinde görülebilmektedir ancak bu teşhis için hassas bir yöntem değildir ve sitoloji ile farklı hemoplazma türleri ayırt edilememektedir. Tecrübeli olmayan araştırmacı boya kalıntıları ve Howell-Jolly cisimcikleri ile hemoplazmaları ayırt etmede başarısız olabilmektedir (Tasker ve ark, 2018).

Kan frotilerinin mikroskopik olarak incelenmesi mikoplazmaları tespit etmenin en yaygın yöntemidir. Kan frotileri Giemsa, Wright ve Wright-Giemsa gibi Romanesky boya ile boyanır. Mikroskopik gözlemede bakteriler eritrositlerin yüzeyinde tek, çift veya zincir halinde görülmektedir. Hatalı boyama veya fiksasyonun neden olduğu boya kalıntısı bakterilerle karıştırılabildiği için hatalı sonuçlar alınabilmektedir. Bununla birlikte, Howell-Jolly cisimcikleri de bakterilerle karıştırılabilmektedir. Bu nedenle, kan frotilerinin muayenesinin özgüllüğü zayıftır, ancak birincil tarama için bir araç olarak kullanılabilir. Ek olarak sitoloji hemoplazma türleri arasında ayırım yapamamaktadır (Ameldev ve Tremasol, 2018).

## 2.6.2. Serolojik Tanı

Hemoplazmozis tanısı için serolojik test geliştirilmesi laboratuvarlarda hemoplazmaların kültürünün yapılamamasından dolayı mümkün olmamaktadır. Ancak, moleküler teknik uygulamaları serolojik test gelişimi için antijenlerin identifikasyonlarını sağlamaktadır. Özellikle ELISA *M. haemofelis*'in immunodominant proteini olan DnaK'ya karşı oluşan antikorların tespiti için geliştirilmiştir. Kediler infeksiyondan sonra bu antijene karşı antikor üretmektedirler (Barker ve ark, 2010; Novacco ve ark, 2012) ve *Candidatus M. turicensis* infeksiyona immun yanıtı araştıran bir çalışmada antimikrobiyal ilaç tedavisiyle DnaK'ya karşı oluşan antikorların düştüğü tespit edilmiştir (Novacco ve ark, 2012). Üç kedi hemoplazma türüne karşı oluşan bu antijen serolojik çapraz reaksiyonlara neden olmaktadır (Barker ve ark, 2010) bu nedenle test *M. haemofelis* ve diğer hemoplazmaları ayırt edememektedir ancak akut veya iyileşen hasta antikor titrelerinin tespiti ve kronik infeksiyonlardan akut olanları ayırt etmede yardımcı olabilmektedir. Günümüzde serolojik testler yalnızca araştırma bazında kullanılabilir (Sykes ve Tasker, 2013).

Serolojik testleri geliştirmek, hemoplazmaların *in vitro* olarak kültüre edilememesi, serolojik analizlerde hemoplazma proteinlerinin kolay şekilde elde edilememesi nedeniyle zordur. Böyle testler şuan yalnızca deneysel çalışmalarda kullanılmak için ulaşılabilmektedir. *M. haemofelis* DnaK proteinine dayalı bu testler *M. haemofelis*'in akut ve kronik infeksiyonları arasındaki antikor farklılıklarını göstermektedir (Barker ve ark, 2010) ve hemoplazma varlığının tespitinde PCR'dan daha hassas olduğu bildirilmiştir (PCR negatif seropozitif kediler belirlenmiştir) (Novacco ve ark, 2011). Ancak apraz reaksiyonlar bu testlerin kedilerde kullanımı için henüz uygun olmadığını göstermektedir (Tasker ve ark, 2018).

### 2.6.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Hemoplazmalar için tanısal PCR analizleri, 16S rRNA genini saptamak için tasarlanmıştır ve veteriner teşhis laboratuvarları ve veteriner araştırma enstitüleri aracılığıyla ticari olarak ulaşılabilmektedir. Bu analizler, asemptomatik taşıyıcı kedilerde organizmayı tutarlı bir şekilde tespit etmemelerine rağmen, kan frotilerinin değerlendirildiği sitolojik muayeneye oranla önemli ölçüde daha hassastır (Sykes 2010). Mevcut analizler, 1) konvansiyonel PCR analizlerinde jel üzerindeki bantlar pozitif sonuçlar olarak yorumlanır; ve 2) PCR ürününün florometrik tespitine dayanan ve organizma yükü hakkında bilgi sağlayabilen gerçek zamanlı PCR analizleri olarak gruplandırılabilir. Bazı konvansiyonel PCR analizleri *Candidatus M. turicensis*'i *M. haemofelis*'ten ayıramamaktadır. Gerçek zamanlı PCR analizleri genellikle tre özgüdür ve PCR ürününü tespit etmek için tüpler genellikle açılmadığı için kontaminasyon riski azalacağından yanlış pozitif sonuçlar daha nadir görülmektedir. Nadiren, varyant hemoplazma suşları, gerçek zamanlı PCR analizleri kullanılarak saptanamayabilir, bu da yanlış negatif bir test sonucuna neden olmaktadır. Tanısal test sonuçlarını yorumlarken her bir hemoplazma türünün farklı patojenik potansiyeli kritik öneme sahiptir. Herhangi bir hemoplazma için pozitif test sonuçları, özellikle *Candidatus M. turicensis* ve *Candidatus M. haemominutum*, bu organizmaların bir kedinin anemisine neden olduğu anlamına gelmez ve diğer ayırıcı tanılar her zaman göz önünde bulundurulmalıdır. Sunulan testlerin tür spesifikliğini belirlemek için laboratuvara danışılmalıdır. Kurumuş kan frotileri PCR için de kullanılabilir, ancak sıvı tam kandan kullanılarak yapılandan daha az hassastır (Sykes ve ark, 2008). Antimikrobiyal ilaçlarla tedavi, PCR kullanılarak yanlış negatif sonuçlara yol açabilir, bu nedenle mümkün olduğunda antimikrobiyal tedaviye başlamadan önce kan alınması gerekmektedir (Sykes 2010).

Spesifik konvansiyonel ve kantitatif gerçek zamanlı TaqMan PCR sistemleri piyasaya sürülmüştür ve kedi ve köpek haemoplazma türlerinin tespiti ve birbirinden ayırt edilmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir (Tasker ve ark, 2003; Willi ve ark, 2007; Peters ve ark, 2009; Wengi ve ark, 2008; Willi ve ark, 2009; Barker ve ark, 2010). Ayrıca deneysel çalışmalarda patogenez ve hemoplazma doku yüklerini araştırmak için uygulanmaktadırlar (Tasker ve ark, 2009). Kedi ve köpek hemoplazmalarının konaklarının dışında üreyebilmesi için bugüne kadar in vitro kültür sistemi kurulmamıştır.

Kedi ve köpeklerdeki hemoplazmozis'in teşhisi için PCR günümüzdeki test seçeneklerindedir. Bugüne kadar genellikle 16S rRNA geninin tespitine dayalı birçok analiz tanımlanmıştır. Bunlar kan froti değerlendirmesine göre çok daha hassas olmasına rağmen kanlarda PCR'ın tespit sınırlarının altındaki miktarlarda organizma olan, sağlıklı gibi görünen kedilerde infeksiyon tespit edilememektedir (Foley ve ark, 1998; Berent ve ark, 1998; Messick ve ark, 1998; Jensen ve ark, 2001). Hem konvansiyonel hem de real-time PCR ile tanımlanabilmektedir. Bazı konvansiyonel PCR testleri *M. haemofelis* ve *Candidatus M. turicensis*'i ayırt edememektedir çünkü testte kullanılan primerler bir veya her iki tür bulunduğu zaman aynı büyüklükte PCR ürünü üretirler. Real-time PCR testleri genellikle tür spesifiktirler. Patojenik potansiyeldeki her hemoplazma türü farklı olduğu için mevcut testlerin tür spesifitesini belirlemede laboratuvara danışılmalıdır. Özellikle *Candidatus M. haemominutum* veya *Candidatus M. turicensis* testi pozitif olanlarda aneminin farklı nedenleri her zaman düşünülmelidir çünkü bu organizmalardan kaynaklanan infeksiyon genellikle anemiyle bağlantılı değildir. Aslında tüm PCR sonuçları hastaların klinik belirtileri, aneminin nedeni ve derecesi ve klinik bulgulara neden olabilecek mevcut hastalık veya eşlik eden herhangi bir belirtiyi bağlantılı olarak yorumlanmalıdır. Kurutulmuş kan frotileri test edilebilir ancak taze kan örneklerine oranla daha düşük hassasiyete sahiptir (Sykes ve ark, 2008). *Mycoplasma haemofelis* ve *M. haemocanis* arasındaki 16S rRNA gen sekanslarının yüksek homolojilerinden dolayı *M. haemofelis*'i tespit etmek için dizayn edilen PCR testleri genellikle *M. haemocanis*'i de tespit etmektedir fakat *Candidatus M. haematoparvum*'un tespiti için ayırıcı test gereklidir.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) spesifik DNA kısımlarını çoğaltır böylece örneklerdeki çok küçük miktarlardaki DNA'lar tespit edilir. Uygun şekilde dizayn edildiğinde PCR hemoplazma teşhisi için oldukça sensitif ve spesifiktir (Tasker ve Lappin, 2002). PCR uygulanan laboratuvarlar testteki kontaminasyonları veya problemleri gözlemlemek için internal amplifikasyon kontrolünün yanında her zaman uygun pozitif ve negatif kontrol kullanılmalıdır (Tasker, 2010).

PCR hemoplazma tespiti için sitolojiden çok daha hassas olarak bilinmektedir (Foley ve ark, 1998; Berent ve ark, 1998; Westfall ve ark, 2001; Tasker ve ark, 2003). Günümüze kadar tanımlanan tüm kedi hemoplazma PCR testleri 16S rRNA geni segmentinin çoğaltılmasına dayanmaktadır. Kantitatif olmayan konvansiyonel PCR testleri hem *Candidatus M. haemominutum* hem de *M. haemofelis*'i (Berent ve ark, 1998; Jensen ve ark, 2001; Criado-Fornelio ve ark, 2003) tespit edip ayırırken *Candidatus M. turicensis*'i ayırt edememekte ve çoğaltmamaktadır, ancak bir çalışmada *Candidatus M. turicensis* için spesifik cPCR tanımlamıştır (Santos ve ark, 2009). Real time kantitatif PCR (qPCR) testleri (Peters ve ark, 2009) cPCR ile karşılaştırıldığında primerlere ek olarak florojenik probalar kullanıldığından dolayı spesifitesi daha yüksektir. Kantitatif PCR testlerinin üç kedi hemoplazma türünü ayırıp çoğalttığı gösterilmiştir (Tasker, 2010).

Kantitatif PCR ayrıca hasta kanındaki mevcut hemoplazma DNA'sı miktarının belirlenmesini de sağlar bu da önemli hemoplazma infeksiyonlarının tespit edilmesine veya tedaviye olan yanıtın gözlemlenmesinde yardımcı olabilmektedir. Ayrıca kantitatif PCR cPCR'a göre çok daha hızlı ve analiz boyunca PCR ürünleri açılmadığı için cPCR'a göre daha az kontaminasyon riskine sahiptir (Tasker, 2010).

Polimeraz zincir reaksiyonu, DNA'nın belirli uzunluklarını artırmakta, böylece numunelerdeki az orandaki DNA miktarları saptanabilmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonunun, hemoplazma tespitinde sitolojiden daha duyarlı olduğu bilinmektedir. PCR testi Mikoplazma türlerini ayırt etme potansiyeline sahiptir ve analizler hemoplazma 16S rRNA geninin segmentlerinin amplifikasyonuna dayanmaktadır (Ghazisaeedi ve ark, 2014).

Hemoplazmaların teşhis metodlarında PCR bir seçenektir. Polimeraz zincir reaksiyonu sitolojiden daha sensitif ve spesifiktir. Kantitatif PCR testleri analiz edilen örnekteki hemoplazma DNA'sının miktarının belirlenmesini sağlayarak tedaviye olan yanıtın gözlemlenmesine izin vermektedir (Tasker ve ark, 2018).

## 2.7. Tedavi

Herhangi bir tedaviden önce, *M. haemofelis*, *Candidatus M. turicensis* ve *Candidatus M. haemominutum* için PCR testi yanında taze kan frotisi değerlendirmesi, lam aglütinasyon testi, tam kan sayımı, Coombs testi, kan tiplendirilmesi, FeLV ve FIV için serolojik testler, kimyasal testler ve idrar tahlili göz önünde bulundurulması gereken tanısal testler arasındadır. Pıhtılaşmayı değerlendirmek için de testler düşünülebilir (Sykes, 2010).



Tedavi, sadece kedi enfeksiyöz anemisi ile uyumlu klinik bulguları ve laboratuvar anomalileri olan kediler için endikedir. Anemik olmayan PCR-pozitif kedilerde (*Candidatus M. haemominutum* ile infekte olanlar gibi) tedavi tavsiye edilmemektedir, çünkü organizmayı tamamen ortadan kaldıran hiçbir tedavi tespit edilmemiştir. *Candidatus M. haemominutum* 'nin, *M. haemofelis*'in doksisisiklin veya florokinolonlarla tedaviye yanıt verdiği gibi bir yanıt görülmemektedir ve *Candidatus M. haemominutum* infekte kediler antimikrobiyel ilaç tedavisi boyunca da kalıcı PCR pozitif olarak görülmektedir(Sykes, 2010).

Hemoplazmaların depolanan kan ürünlerinde 1 haftaya kadar hayatta kaldıkları bildirilmiştir (Gary ve ark, 2006). Potansiyel kan donörü kedileri, PCR kullanarak *M. haemofelis* infeksiyonu için her zaman taranmalı ve pozitif olduğu tespit edilen kediler kan donörlüğünden çıkarılmalıdır. Pozitif test sonuçlarının diğer 2 hemoplazma türü için önemi henüz netleşmemiştir(Sykes, 2010).

Doksisisiklin, enrofloksasin ve marbofloksasin tedavisinin, infekte kedilerde kedi hemoplazma kan miktarını ve klinik belirtileri azalttığı gösterilmiştir (Dowers ve ark, 2002; Tasker ve ark, 2004; Tasker ve ark, 2006). Yüksek doz veya intravenöz enrofloksasin ile tedavi edilen bazı kediler, retinotoksisiteden kaynaklanan akut körlük geliştirebildiğinden, doksisisiklin (10 mg/kg/gün) dozunda oral yolla verilmesi kedi hemolazma infeksiyonunu tedavi etmek için tercih edilmektedir. Oral doksisisiklin tedavisinin ardından özofajit ve özofageal darlıklar oluşabilir; bu nedenle, tablet yutulduktan sonra tamamen yutmayı teşvik etmek için su veya yiyecek sağlanması önerilmektedir. Antibiyotik tedavilerinin hemoplazma infeksiyonlarını tamamen ortadan kaldırması mümkün değildir ve infekte kediler aylarca veya yıllarca asemptomatik taşıyıcı olabilirler. Bununla birlikte, klinik hastalığın reaktivasyonu nadiren görülmektedir (Foley ve ark, 1998).

Tedavi, hemoplazmozis ile tutarlı laboratuvar ve klinik belirtileri olan kedi ve köpeklerde uygulanmaktadır. Ancak diğer taraftan *M. haemofelis* testinde pozitif olan sağlıklı kedilerde bu hemoplazma türlerinden dolayı hastalığın şiddetlenmesi potansiyeli göz önünde bulundurularak tedavi düşünülebilir. Bazı hemoplazma cinsleri veya türleri ile olan (özellikle *Candidatus M. haemominutum*) infeksiyonların tamamen ortadan kaldırılması zor veya imkansızdır (Santos ve ark, 2011). Aslında hiçbir antibiyotik tedavisi kedilerdeki hemoplazma infeksiyonlarını kalıcı olarak yok edememektedir (Sykes ve Tasker, 2013).

Hemoplazmozis için tedavi seçeneği minimum 2 hafta doksisisiklin kullanımınıdır ancak daha uzun süreli antibiyotik kullanımı bu infeksiyonun eliminasyonundan emin olmak için önerilmiştir. Eğer kantitatif verilere ulaşılacak isteniyorsa Real-time PCR antibiyotik tedavisine olan yanıtın gösterilmesinde kullanılabilir. Florokinolonlar da tedavi için seçektir;

morbofloksasin ve prodofloksasinin de etkili olduğu bildirilmiştir (Dowers ve ark, 2009). Enrofloksasin de genellikle etkilidir (Tasker ve ark, 2004) ancak diffuz renal dejenerasyon ve akut körlük florokinolonların kullanımını takiben rapor edilmiştir, nadiren meydana gelmesine rağmen kullanımında uyarıda bulunulmalıdır. Farklı hemoplazma cinsleri ve aynı cinsin farklı türlerinin antibiyotiklere yanıtı değişkendir. Tedavi etkinliğini araştıran birçok başarılı çalışma tedavi *M. haemofelis*'in tedaviye yanıtını ölçmüştür. Etkilenen kedi ve köpeklerde destekleyici tedavi için intravenöz kristaloid veya kan ürünleri de gerekebilmektedir. Klinik iyileşme genellikle 2-3 gün içerisinde oluşur. İmmun kaynaklı hemolitik süreci baskılamak için immunsupresif dozlarda glikokortikoid kullanımı verilen glikokortikoidlerin latent infeksiyonların tekrar aktif hale geçmesine neden olabileceği için tartışmalıdır ancak antimikrobiyel tedavinin kendi başına yeterli olmadığı veya diagnozu kesin olmayan özellikle eritrosit çevresinde antikor tespit edilen kedilerde gerekli olabilmektedir (Sykes ve Tasker, 2013).

Doksisisiklin *M. haemocanis* infeksiyonlarının tedavisi için bir seçenektir. Oksitetrasiklinle tedavi edilen splenektomili bir köpekte yaklaşık 1 ayda klinik iyileşme görülmüştür ancak infeksiyon kantitatif PCR ile persiste olarak tespit edilmiştir ve tedavi bırakıldığında nüks ettiği görülmüştür (Hulme-Moir ve ark, 2010). Anemiden tamamen iyileşmesine rağmen enrofloksasinle tedaviden sonra da infeksiyon persiste kalmaktadır. *M. haemocanis* ile infekte, dalağı alınmamış köpeklerde doksisisiklinle 4 haftalık tedaviden sonra PCR testi ile infeksiyonun gerilediği tespit edilmesine rağmen *Candidatus M. haematoparvum* ile infekte köpekler PCR pozitif kalmaktadır. Splenektomi yapılmış köpeklerde 12 haftalık doksisisiklin tedavisinden sonra *M. haemocanis* infeksiyonu tedavi edilmiştir (Sykes ve Tasker, 2013).

Tetrasiklin ve florokinolonlar kandaki hemoplazma organizmalarını azaltmada etkilidir ancak hemoplazma infeksiyonunun öngörülen tutarlı bir eliminasyonu herhangi bir çalışmada gösterilmemiştir (Berent ve ark, 1998; Foley ve ark, 1998; Dowers ve ark, 2002; Tasker ve ark, 2004; Tasker ve ark, 2006). Antibiyotikler genellikle hemoplazma infeksiyonuyla ilişkili hematolojik anormallikleri ve belirtileri iyileştirse bile her zaman hemoplazma infeksiyonunun yok edilmesi ile sonuçlanmamaktadır (Tasker, 2010).

Klinik hemoplazmozis olan kediler oldukça dehidre haldedir bu da intravenöz sıvı tedavisinin çok önemli olduğuyla bağlantılıdır. Hemoplazmozis vakalarındaki anemi derecesi hemokonsantrasyon kaynaklı dehidrasyon tarafından maskelenebilir bu nedenle hematolojik parametreler dehidrasyonun düzeltilmesinden sonra gözlemlenmelidir. Takviye gıda (cezbedici gıda, elle besleme gibi) iştahsız kedilerde önemlidir. Eğer anoreksia uzun sürerse daha şiddetli

besleyici destek gerekebilir ancak uygun hemoplazmozis tedavisi uygulandıktan sonra genellikle kısa sürmektedir (Tasker, 2010).

Eğer kan transfüzyonu yapılacaksa hem donör hem alıcı kan tiplendirilmesinden sonra yapılmalıdır. Oksiglobin uzun yarılanma ömrüne sahiptir ve oda ısısında sabit kalmaktadır bu nedenle kedi anemi olguları için uygulamada kolaylıkla saklanabilmektedir ancak kedilerde kullanımında lisans alınmamıştır. Bu güçlü kolloid olması nedeniyle kalp, böbrek veya solunum sistemi hastalığı bulunanlarda dolaşıma aşırı yüklenmelere dikkat edilmelidir. Tasker ve arkadaşları (2010) kedilerde kullanım dozunu 5-10 ml/kg intravenöz olarak 0,5-2 ml/kg/saat oranıyla uyguladıklarını bildirmişlerdir. Anemi derecesi hemogloblin değerleri kullanılarak gözlemlenebilmektedir.

Aneminin hemoplazma infeksiyonunun immun kaynaklı kısmından başlatıldığı rapor edilmiştir ve bu nedenle kortikosteroidler ilave olarak tavsiye edilmektedir (Tasker, 2010). Ancak hemoplazmozisin tedavisinde kortikosteroidlerin önemi henüz kanıtlanmamıştır ve *M. haemofelis* ile infekte, anemik, Coombs pozitif kedilerin yalnız antibiyotik tedavisine yanıt vermesi immunopresif tedaviye ihtiyacı sorgulatmaktadır. Bazı olgularda aynı anda kullanılan kortikosteroid tedavisi kandaki hemoplazma klirensinin gecikmesiyle ilişkilendirilmiştir. Bu da infeksiyondan önce alınan metilprednisolon asetatın *Candidatus M. turicensis* infekte kedilerde bağışıklık sistemi normal kedilere göre daha şiddetli anemi geliştiğini göstermiştir (Willi ve ark, 2005), bu nedenle kortikosteroidler hastalığın şiddetlenmesinde risk teşkil etmektedir.

Tasker (2010) kortikosteroid tedavisini yalnızca uygun antibiyotik uygulanmasına ve immun kaynaklı hemolitik aneminin hastalığın anan etkeni olduğu düşünüldüğünde veya hastalığın altında yatan sebebin hemoplazma infeksiyonu olmadığı düşünüldüğünde kullanılması gerektiğini tavsiye etmektedir.

Bugüne kadar hemoplazmalar *in vitro* olarak üremediği için, qPCR antibiyotiklere karşı yanıtın ölçülmesinde güvenilir bir alternatif sunmaktadır. Kediler antibiyotik tedavisi boyunca PCR negatif olabilmekte ve antibiyotik tedavisi kesildiğinde tekrar PCR pozitif olabilmektedir (Tasker, 2002). PCR için ideal kan örnekleme antibiyotik tedavisinden önce olmalıdır, ancak yüksek organizma sayısı olan pozitif sonuçlar tedavinin uygun olmadığını göstermektedir (Tasker, 2010).

qPCR için kan örnekleme tedavinin hemoplazma sayısını düşürmede etkili olduğuna emin olmak için antibiyotik tedavisine başladıktan sonra haftada bir veya iki kez tekrarlanmaktadır. Eğer etki görülürse, tedavi 8 haftadan uzun süre devam ettirilmeli ve PCR sonuçlarının negatif olduğu görüldüğünde tedavi tamamlanmalıdır. Hassas PCR analizleri ile test edilen kan örneklerinde tekrarlayan negatif sonuçlar eliminasyonun gösterilmesinde

muhtemelen en güvenilir yöntemdir. Ancak bu olgularda hemoplazma pozitif kaldığı sürece hastalığın tekrarlaması mümkündür (Tasker, 2010).

Hemotropik mikoplazmalar, prokaryotlarda protein sentezini spesifik olarak inhibe eden tetrasiklinlere duyarlıdır. Tercih edilen tetrasiklin türevidir, daha az yan etki ve daha az sıklıkta dozlama nedeniyle doksisisiklin'dir. Önerilen doksisisiklin dozu günde bir kez 5–10 mg/kg P.O'dur (bal veya yağ ile karıştırılır). Tedavi cevaba bağlı olarak tedavi 14 ile 21 gün boyunca sürdürülmelidir, tetrasiklinler anemi tedavisi için etkili olmasına rağmen tedavi hastalığa neden olan organizmayı ortadan kaldırmamaktadır (Ameldev ve Tremasol, 2018).

Hemabartonelloz tedavisinde enrofloksasin de en az 14 gün süreyle günlük 10 mg/kg P.O dozunda önerilmiştir. İnsanlarda *Mycoplasma* ile ilişkili hastalıkların tedavisinde etkili olan makrolid grubu azitromisin, hemobartonelloz tedavisinde etkisiz bulunduğu bildirilmiştir (Ameldev ve Tremasol, 2018).

*M. haemofelis*'in neden olduğu aneminin immun kaynaklı olduğu düşünülmektedir, bu nedenle glukokortikoid kullanımı gerekebilmektedir. Glukokortikoidlerin kullanımıyla daha da şiddetlenebilecek toksoplazmoz gibi birlikte seyreden hastalıkların ilk önce elimine edilmesi önemlidir. Tavsiye edilen prednizolon dozu, antibiyotik tedavisinin yanı sıra, günde 3 mg/kg P.O'dur ve 3 hafta boyunca dozaj azaltılmaktadır (Ameldev ve Tremasol, 2018).

Şiddetli anemik kedilerde tam kan transfüzyonu da dahil olmak üzere destekleyici bakım gerekebilmektedir. Anemi şiddetli seyrediyorsa (hematokrit % 12'den az) veya PCV hızla düşerse, kan transfüzyonu gerekli olabilmektedir. Kedigillerde kan transfüzyonları ölümcül kan transfüzyonu reaksiyonlarını önlemek için sadece tiplenmiş veya çapraz eşleştirilmiş alıcı ve verici kan ile yapılmalıdır (Ameldev ve Tremasol, 2018).

Hemoplazmoziste hızlı ve uygun tedavi başlatıldığında prognoz genellikle iyidir. Hemoplazmaların hücre duvarı olmadığı için  $\beta$ -laktamlar (penisilin, sefalosporinler, gibi) hemoplazmozis tedavisinde etkili değildir. Ancak tetrasiklinler (özellikle doksisisiklin) ve florokinolonlar (marbofloksasin, pradofloksasin, gibi) etkilidir (Tasker ve ark, 2018).

*M. haemofelis* tedavisine yanıt araştırılmıştır. Doksisisiklin (10 mg/kg 24 saate 1 PO veya 5 mg/kg 12 saate 1 PO) tedavinin ilk aşamasında 2-4 hafta kullanılmaktadır. Bazı doksisisiklin formülasyonları özellikle doksisisiklin hidrat çözümlerinde yüksek asiditelerinden dolayı kedilerdeki özafagitisle ilişkilendirilmektedir. Bu doksisisiklin tabletleri yeterli gıda veya su alımından sonra verilmelidir. Doksisisiklin monohidrat gibi diğer formülasyonlar daha az asidiktir ve çözümleri daha uzun süre alır bu nedenle daha az yan etkisi vardır (Tasker ve ark, 2018).

İnfeksiyonu ortadan kaldırmak için uzun antibiyotik tedavileri önerilmektedir ancak bu uzun tedavi süreçleri hakkında yeterli araştırma bulunmamaktadır. Dowers ve arkadaşlarının 2009 yılında yapmış olduğu bir çalışmada pradofloksasinin (2 dozda, 5 mg/kg 24 saatte 1 PO ve 10 mg/kg 24 saatte 1 PO) *M. haemofelis* tedavisinde doksisisiklinden daha etkili olabileceği ileri sürülmüştür. İkili veya önce doksisisiklin sonrasında florokinolon uygulanan ardışık tedaviler de etkili olabilmektedir (Tasker ve ark, 2018).

*Candidatus M. haemominutum* enfeksiyonunun antibiyotiğe yanıtı *M. haemofelis* ile benzerlik göstermemektedir. Tasker ve arkadaşlarının 2006 yılındaki çalışmasında kandaki *Candidatus M. haemominutum* sayısını marbofloksasin (2 mg/kg 24 saatte 1 PO) tedavisi boyunca geçici olarak düşürmüştür ancak organizma sayısı 4 haftalık tedavi tamamlanmasından sonra tedavi öncesi seviyeye geri dönmüştür.

*Candidatus M. turicensis*'in antibiyotik tedavisine yanıtı detaylı olarak değerlendirilmemiştir ancak doksisisiklinin etkili olabileceği bildirilmiştir (Museux ve ark, 2009).

Şüpheli olgularda PCR sonuçlarına hızlı şekilde ulaşılması mümkün olmadığı için hemoplazma ilişkili hemolitik anemi antibiyotiklerle deneysel olarak tedavi edilmelidir. Hemoplazmozis olgularında genellikle antibiyotik tedavisi ve diğer destekleyici bakıma hızlı yanıt görülmektedir (Tasker, 2010).

Hemoplazmozis tedavisinde genellikle kortikosteroidler gerekmemektedir. Ancak eğer hasta antibiyotik tedavisi başlanmasına rağmen kötüleşiyorsa veya hemoplazmozisi destekleyen başka kanıt yoksa eritrosit bağımlı antikorların varlığı pozitif lam aglütinasyon testi veya Coombs testi ile doğrulandığında ve hemoliz varlığına neden olacak başka belirgin neden yoksa primer immün bağımlı hemolitik anemi tedavisinde prednisolon kullanılabilir (Tasker, 2010).

Hemoplazma enfeksiyonuna karşı olan immün yanıtla ilgili az bilgiye ulaşılabilir ve bilinen bir aşı yoktur. Çoklu hemoplazma türleriyle koinfeksiyon oluştuğu için tek türle oluşan enfeksiyonun diğer türlerle oluşan enfeksiyonlara karşı koruma sağlamadığı görülmüştür (Sykes ve Tasker, 2013).

Taşıyıcı kedilerden alınan kanın transfüzyonu yoluyla hemoplazmanın aktarıldığı bildirilmiştir ve bu nedenle tüm kan donörü köpek ve kediler PCR testleriyle hemoplazma yönünden test edilmelidir. Gelecekte potansiyel donör hayvanların belirlenmesinde serolojik testler de kullanılabilir. Kediler arasındaki subklinik *Candidatus M. haemominutum* enfeksiyonların yüksek prevalansı göz önüne alındığında *Candidatus M. haemominutum* negatif donör bulmak imkansız olabilmektedir. Dış çevreyle ilişki bir risk faktörü olarak belirlendiği

için kedileri evde tutmak da infeksiyonun önlenmesi için ihtimaldir. Pire ve kene kontrolü de tavsiye edilmektedir (Sykes ve Tasker, 2013).

Kan donörleri, asemptomatik taşıyıcı kedilerden kan transfüzyonuyla bulaşmayı önlemek için hemoplazma yönünden PCR ile taranmalıdır. Kedi hemoplazmozise karşı aşı yoktur. Ev içinde tutulan kedilerin infeksiyondan korunması kadar dışarıda yaşayan kedilerde belirlenen risk faktörlerinin engellenmesi de infeksiyonu engellemektedir. Vektör tarafından bulaşma kanıtlanmasa da kene ve pire önleyici tedavi önerilmektedir (Tasker ve ark, 2018).

Ektoparazitlerin kontrolü ve uygun bakım birincil amaç olmalı ve ektoparaziter kullanımı da önerilmektedir. Kedilerde kavgı ile yaralanmalara yol açtığı için dışarıya erişimin azaltılması gerekmektedir. Transfüzyon alıcılarına bulaşmayı önlemek için kan donörleri, PCR bazlı DNA testleri kullanılarak taranmalıdır. İatrojenik bulaşma uygun şekilde sterilize edilmiş iğneler ve ekipman kullanılarak önlenir. Yaşam alanlarındaki stresin en aza indirilmesi ve artropod vektörlerin kontrolü önerilmektedir (Ameldev ve Tremasol, 2018).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

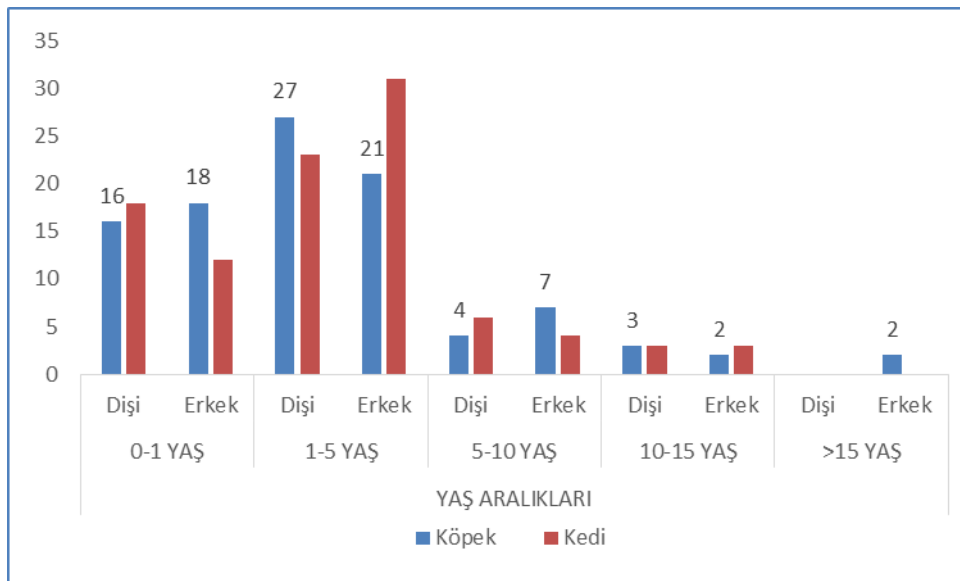
#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Örneklem

Araştırmamız için kedi ve köpeklerde hemotropik mikoplazma varlığının araştırılması amacıyla Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Aydın illinde bulunan özel veteriner kliniklerine getirilen sağlıklı veya anemi şikayeti bulunan rastgele seçilen 100 (50 dişi ve 50 erkek) adet kedi ve 100 (50 dişi ve 50 erkek) adet köpekten EDTA'lı tüplere kan alınmıştır. Araştırmamız için ADÜ-HADYEK'den 24.07.2017 tarih ve VII. Oturum 64583101/2017/074 sayılı yazı ile etik kurul izni alınmıştır. EDTA'lı tüplerde toplanan kanlar DNA ekstraksiyonu yapılana kadar 4°C' de muhafaza edilmiştir. Araştırmamızda kullanılan köpek ve kedilerin yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 13 ve Şekil 1'te gösterilmektedir.

**Tablo 13.** Köpek ve kedi örneklerine ait yaş ve cinsiyet verileri

Tam Kan Örnekleri	YAŞ ARALIKLARI										Toplam
	0-1 YAŞ		1-5 YAŞ		5-10 YAŞ		10-15 YAŞ		>15 YAŞ		
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	
<b>Köpek (n=100)</b>	16	18	27	21	4	7	3	2	0	2	100
<b>Kedi (n=100)</b>	18	12	23	31	6	4	3	3	0	0	100



**Şekil 1.** Köpek ve kedi örneklerine ait yaş ve cinsiyet verileri

### **3.1.2. Kullanılan Solüsyonlar ve Ayıraçlar**

#### **3.1.2.1. Giemsa boya**

Giemsa Azur Eosin Metilen Mavisi stok solüsyonu kullanılmıştır.

#### **3.1.2.2. Hemogram solüsyonları**

Kedi ve köpek kan örneklerinin hemogram analizlerinde Diatro-cleaner, Diatro-Diff 5P, Diatro-Lyse-DIFF solüsyonları kullanılmıştır.

#### **3.1.2.3. 50X TAE (Tris, Asetik Asit, EDTA) elektroforez solüsyonu (Thermo Fisher Scientific®)**

1X TAE Kullanma Solüsyonu

Tris Base	40 mM
Asetik Asit	20 mM
EDTA	1 mM

1X TAE Kullanma Solüsyonu Hazırlanışı

50X TAE	10 ml
Distile su	490 ml

Karıştırılarak solüsyon hazırlanmıştır.

#### **3.1.2.4. 6X DNA loading dye (Thermo Fisher Scientific®)**

Tris-HCl 10 mM, bromfenol mavisi %0,003, xilen cyanol FF % 0,03, gliserol %60, EDTA 60 mM

#### **3.1.2.5. Tris/EDTA (TE) buffer (Thermo Fisher Scientific®)**

Tris	10mM
EDTA	1 mM
Distile Su	1000 ml

Karışım kullanıma hazır solüsyon halindedir.



### 3.1.3. PCR

#### 3.1.3.1. DNA ekstraksiyon kiti (KURABO®)

Tam kandan genomik DNA ekstraksiyonu amacıyla QuickGene DNA tam kan S kiti kullanılmıştır.

#### 3.1.3.2. ExPrime taq premix (2X) (GeNet Bio®)

ExPrime Taq DNA Polymerase 1 ünite/10 µl, 2X reaksiyon buffer, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, her bir dATP, dCTP, dGTP, dTTP'den 0,5 mM, enzim stabilizatörü, sediment, loading dye, pH 9,0

#### 3.1.3.3. Primerler

Araştırmada kullanılacak olan köpek hemotropik mikoplazma primer dizimleri Compton ve arkadaşlarının (2012) çalışmasında belirtildiği gibi üretici firmaya dizayn ettirilmiştir. PCR yöntemiyle köpek hemotropik mikoplazmalarının belirlenmesinde kullanılan primerler Tablo 14'te verilmiştir.

**Tablo 14.** Köpek hemotropik mikoplazma cinsi için 16S rRNA gen primerleri

Primerler	Primer Dizilimi	Hedef Bölge	Kaynak
16S Myco 322s	5'- GCC CAT ATT CCT ACG GGA AGC AGC AGT -3'	600 bp	Compton ve ark, 2012
16S Myco938as	5'- CTC CAC CAC TTG TTC AGG TCC CCG TC -3'		

Köpek hemotropik mikoplazmaları için *RNase P* geni belirlenmesinde kullanılan primer dizimleri Tablo 15'te verilmiştir.

**Tablo 15.** Köpek hemotropik mikoplazma cinsi için *RNase P* gen primerleri

Primerler	Primer Dizilimi	Hedef Bölge	Kaynak
HemoMyco <i>RNase P</i> 30s	5'- GAT KGT GYG AGY ATA TAA AAA ATA AAR CTC RAC -3'	170 bp	Compton ve ark, 2012
HemoMyco <i>RNase P</i> 200as	5'- GMG GRG TTT ACC GCG TTT CAC -3'		

Araştırmada kullanılacak olan kedi hemotropik mikoplazma primer dizimleri Jensen ve arkadaşlarının (2001) çalışmasında belirtildiği gibi üretici firmaya dizayn ettirilmiştir. Kedi hemotropik mikoplazma türlerinin belirlenmesinde kullanılan primer dizimleri Tablo 16'da verilmiştir.

**Tablo 16.** Kedi hemotropik mikoplazma cinsi için 16S rRNA gen primerleri

Primerler	Primer Dizilimi	Hedef Bölge	Kaynak
16S rRNA F	5'-ACG AAA GTC TGA TGG AGC AAT A-3'	<i>M. haemofelis</i> 170 bp <i>Candidatus M. haemominutum</i> 193 bp	Jensen ve ark, 2001
16S rRNA R	5'-ACG CCC AAT AAA TCC GAT AAT-3'		

Kedi örneklerinde *Candidatus Mycoplasma turicensis* varlığının tespiti için kullanılacak primerler Santos ve arkadaşlarının (2014) çalışmasında belirtildiği gibi üretici firmaya dizayn ettirilmiştir. *Candidatus Mycoplasma turicensis* belirlenmesinde kullanılan primer dizilimleri Tablo 17’de verilmiştir.

**Tablo 17.** *Candidatus Mycoplasma turicensis* için 16S rRNA gen primerleri

Primerler	Primer Dizilimi	Hedef Bölge	Kaynak
<i>16S rRNA DEAMTC F1</i>	5'-CTG TCC AAA AGG CAG TTA GC-3'	488 bp	Santos ve ark, 2014
<i>16S rRNA DEAMTC R1</i>	5'-TGC CCC TTC CTC TCA TAG TTT-3'		

### 3.1.3.4. Agaroz Jel

Agaroz jel hazırlanmasında (Biomax<sup>®</sup>) marka agaroz kullanılmıştır.

### 3.1.3.5. Marker

Marker olarak GeneRuler 100 bp’lik DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific<sup>®</sup>) kullanılmıştır.

### 3.1 3.6. Etidium bromür (AppliChem<sup>®</sup>)

Görüntüleme için jelin boyanmasında elektroforez işleminden önce % 1’ lik Ethidium Bromür 100 ml 1X TAE ile hazırlanan %2’ lik agaroz jelin içerisine 5 µl miktarında eklenerek kullanılmıştır.

### 3.1.3.7. PCR ürünü saflaştırılması

Termal döngüleme elde edilen ürünlerin saflaştırılması işleminde ExoSAP (GML<sup>®</sup>) kullanılmıştır.

### **3.1.3.8. Sekans PCR ürünü saflaştırılması**

Sekans PCR işleminden elde edilen ürünlerin saflaştırılmasında Sephadex (GML®) kullanılmıştır. Karışım, 1 gr Sephadex'e steril distile su eklenerek toplam hacim 15 ml olacak şekilde hazırlanmıştır

### **3.1.4. Kullanılan Cihazlar**

#### **3.1.4.1. QuickGene-Mini80 cihazı**

DNA ekstraksiyonu aşamasında kit prosedüründe gereken hava basıncını sağlamak için QuickGene-Mini80 (KURABO®) kullanılmıştır.

#### **3.1.4.2. Santrifüj cihazı**

Santrifüj işlemleri için 24 örnek kapasiteli Mikro 200R (Hettich®) santrifüj cihazı kullanılmıştır.

#### **3.1.4.3. Termal döngüleme cihazı**

PCR işlemi 96 örnek kapasiteli GeneAmp PCR System 9700 (ABI®) termal döngüleme cihazında gerçekleştirilmiştir.

#### **3.1.4.4. Elektroforez cihazı**

Elektroforez işlemi Biorad® marka elektroforez tankında, güç kaynağı olarak Thermo Fisher Scientific® EC250-90 kullanılmıştır.

#### **3.1.4.5. Görüntüleme Cihazı**

Görüntüleme işlemi Vilber Lourmat® marka Infinity VX2 1100 marka görüntüleme cihazında gerçekleştirilmiştir.

#### **3.1.4.6. Saflaştırılmış PCR ürünü ölçüm cihazı**

PCR ürünlerinin saflaştırma işleminden sonra DNA miktarlarının ölçülmesi amacıyla Nanodrop (MAESTROGEN®) marka spektrofotometrik cihaz kullanılmıştır.

#### **3.1.4.7. DNA sekans cihazı**

Saflaştırılan sekans PCR ürünlerinin DNA sekans analizleri için Genetic Analyzer 310 (ABI PRISM®) cihazı kullanılmıştır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Örnekleme**

Çalışma için kullanılan kan örnekleri alınırken öncelikle kedi ve köpeklerin ön kol kısımları tıraş edilip alkol ile temizlenmiştir. Kedilerden *vena cephalica antebrachii*'den vakumlu iğne ucu kullanılarak 2 ml, köpeklerden aynı yöntemle 5 ml alınan kan örnekleri EDTA'lı tüplere aktarılmıştır. Alınan örnekler soğuk zincir altında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına getirilmiştir.

### **3.2.2. Giemsa Boyama**

Laboratuvara getirilen kan örnekleri oda sıcaklığına getirildikten sonra sürme frotiler hazırlanmıştır. Hazırlanan frotiler öncelikle 5 dakika metil alkolde tespit edilmiştir. Daha sonra, %5'lik Giemsa boya solüsyonunda oda ısısında 40 dk süreyle boyanmıştır. Sonra, distile su ile hafifçe yıkanıp kuruması sağlanmıştır. Preparatlar üzerine immersiyon yağı damlatılıp, 100'lük objektifle ışık mikroskobunda incelenmiştir.

### **3.2.3. Hemogram**

EDTA'lı tüplere alınan 100 adet kedi ve 100 adet köpek kanının hemogram analizleri Abacus marka hemogram cihazında yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Raskin ve Wardrop (2010)'a göre değerlendirilmiştir.

### **3.2.4. DNA Ekstraksiyonu**

100 adet kedi ve 100 adet köpek kan örneklerinin boyama ve hemogram analizleri tamamlandıktan sonra DNA ekstraksiyonu aşamasına geçilmiştir. Kan örneklerinin genomik DNA ekstraksiyonu QuickGene DNA tam kan kiti S ile prosedüre uygun olarak yapılmıştır. Ayrılan DNA'lar PCR çalışmaları yapılana kadar cryo tüplerde -20 °C'lik derin dondurucuda saklanmıştır.

### 3.2.5. DNA Ekstraksiyon Kiti Prosedürü

#### 3.2.5.1. Solüsyonların hazırlanması

1) EDB (Proteaz) Hazırlanması: Liyofilize Proteaz içeren kabın içine 3,3 ml nuclease-free su eklendi. Kapağı kapatılarak yavaş hareketlerle oda ısısında karıştırılarak içindeki liyofilize tozun tamamen çözündüğüne emin olunarak 30 dakika beklendi.

2) LDB (Lizis Solüsyonu) Hazırlanması: Hazır solüsyon halinde olan çözeltide çökeltilerin giderilmesi amacıyla önce 37°C’de bekletildi. Kullanmadan önce oda ısısına getirildi.

3) WDB (Yıkama Solüsyonu) Hazırlanması: Konsantre halde bulunan solüsyon üzerine 160 ml >%99 etanol eklendi ve kullanmadan önce yavaşça karıştırıldı. Etanol eklendikten sonra kapakta bulunan “etanol eklendi” kısmı işaretlendi. Buharlaşmayı engellemek amacıyla kapak sıkıca kapatıldı.

4) CDB (Elüsyon Solüsyonu) Hazırlanması: Hazır

#### 3.2.5.2. Lizat hazırlama protokolü

Kullanmadan önce tüm solüsyonlar oda ısısına getirildi.

Termal blok 56°C’ye ayarlandı.

<1>

<1a>: 1,5 ml mikrotüpe ilk önce nuclease-free su ilaveli EDB solüsyonundan 30 µl eklendi.

<1b>: 200 µl tam kan ilave edildi. Kan eklendikten sonra DNA miktarının düşmemesi için hemen 1c adımına geçildi.

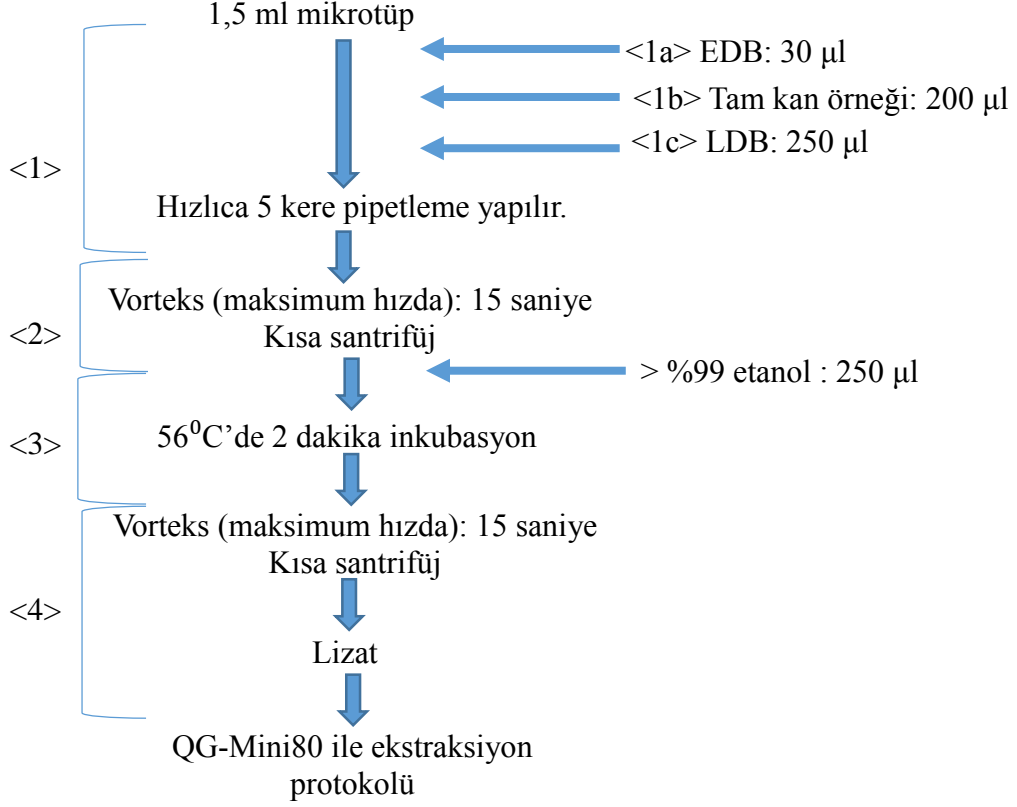
<1c>: 250 µl LDB eklendi ve 5 kez pipetaj yapıldı. Pipetlerken EDB, tam kan ve LDB’nin iyice karıştığına emin olundu.

<2> Karışım maksimum hızda 15 saniye vortekslendi. DNA miktarını etkilememesi ve kartuşları tıkamaması için iyice karıştığından emin olundu. Short spin yapıldı.

<3> 56°C’de 2 dakika inkubasyona bırakıldı.

<4> 250 µl %99’luk etanol eklendi ve maksimum hızda 15 saniye vortekslendi ve short spin yapıldı.

Lizis işlemi tamamlandıktan hemen sonra ekstraksiyon işlemine geçildi (Şekil 2).



**Şekil 2.** Lizat hazırlama şeması

### 3.2.5.3. QG-Mini80 ekstraksiyon protokolü

Sistemi kullanmaya başlamadan önce QG-Mini80 kullanım kılavuzu dikkatlice incelendi. Çalışmaya başlamadan WDB'ye 160 ml %99'luk ethanol eklendiği kontrol edildi.

Tüp tutucuya atık tüpleri (WT) yerleştirildi. Tüp tutucuya tüp adaptörleri ve DNA toplama tüpleri yerleştirildi. Tüp tutucu yıkama pozisyonuna (W) getirildi. Kartuş tutucuya kartuşlar (CA) yerleştirildi. Kartuş tutucunun sol tarafında bulunan Serbest Bırakma Kolu kontrol edildi. Kartuş Tutucu ve Tüp Tutucu QG\_Mini80'e yerleştirildikten sonra yerleştirme işlemi sonlandırıldı. Lizatlar ve WDB'ye basınç uygulanırken tray üzerindeki "WASH" etiketinin görüldüğüne emin olundu. CDB'ye basınç uygulanırken Tray üzerindeki "WASH" etiketinin görülmediğine emin olundu.

#### 3.2.5.4. Ekstraksiyon işlemi

<1> Hazırlanan her lizat her bir kartuşa (CA) dikkatlice aktarıldı. QG\_Mini80'e Kartuş Tutucu ve Tüp Tutucu yerleştirildi. Yerleştirildikten sonra "WASH" etiketinin görülebildiği kontrol edildi. Sol taraftaki Döner Düğme kartuşlara hava basıncı sağlaması için ön kısma doğru yönlendirildi. Cihaz otomatik olarak 1 dakikada basıncı durdurmaktadır. Kartuşlarda lizat kalmadığına emin olunduktan sonra döner düğme normal pozisyonuna getirildi.

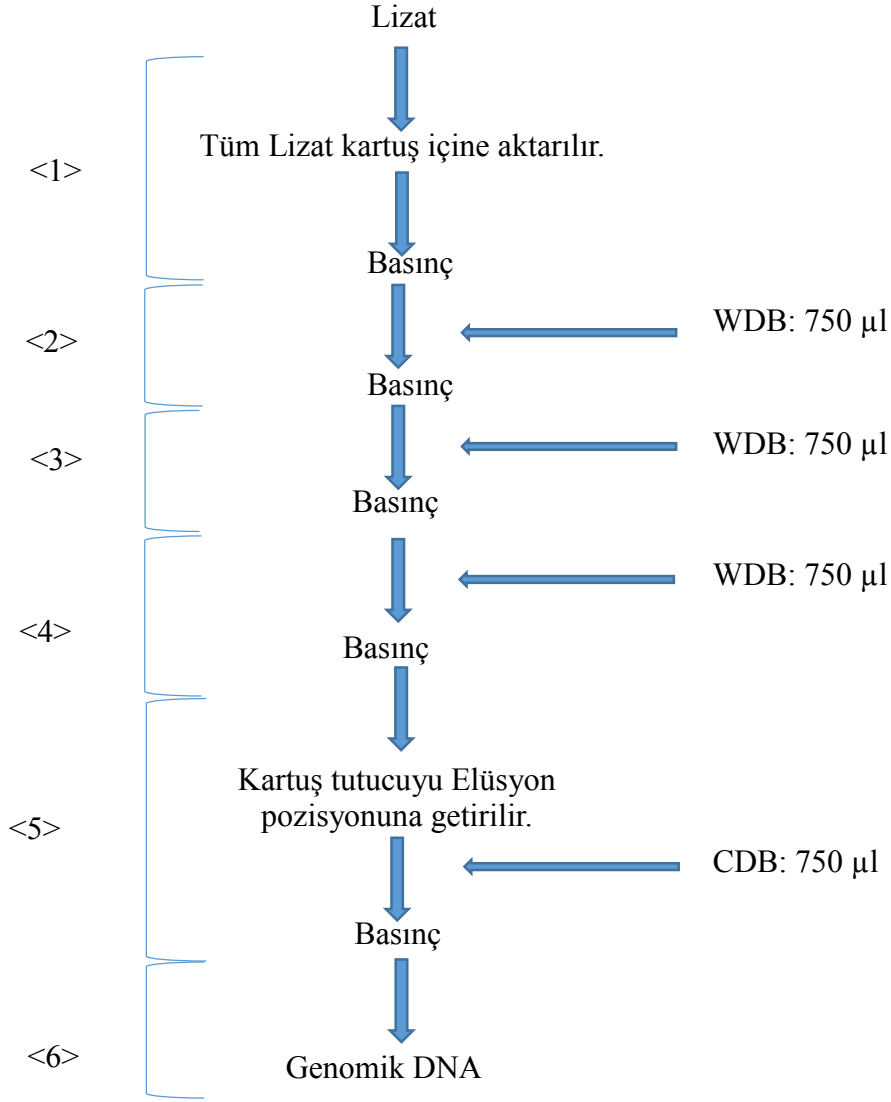
<2> İlk yıkama: Kartuş Tutucu ve Tüp Tutucu çıkartıldı ve kartuşlara (CA) 750 µl WDB eklendi. Kartuş Tutucu ve Tüp Tutucu cihaza tekrar yerleştirildi. Yerleştirildikten sonra "WASH" etiketinin görüldüğüne emin olundu. Döner Düğme kartuşlara hava basıncı sağlaması için ön kısma doğru yönlendirildi.

<3> İkinci yıkama: İlk yıkama işlemi tekrarlandı.

<4> Üçüncü yıkama: İlk yıkama işlemi tekrarlandı.

<5>Elüsyon: Kartuş tutucu ve tüp tutucu yerleştirildi ve sonrasında kartuş tutucu tüp tutucunun Elüsyon (E) pozisyonuna yerleştirildi. Kartuşlara 200 µl CDB eklendi ve kartuş tutucu ve tüp tutucu cihaza yerleştirildi. Yerleştirildikten sonra "WASH" etiketinin tüp tutucunun altında kaldığı kontrol edildi. Döner düğme kartuşlara hava basıncı sağlamak için ön kısma yönlendirildi. Kartuşlarda CDB kalmadığına emin olduğunda döner düğme normal pozisyonuna getirildi.

<6> kartuş tutucu ve tüp tutucu cihazdan çıkartıldı. Kartuş tutucu tüp tutucudan ayrıldıktan sonra serbest bırakma kolu sağ tarafa doğru çekilerek tüm kartuşların düşmesi sağlandı. Toplama tüpleri alınarak kapak kapatıldı ve PCR analizleri yapılınca kadar -20°C'de derin dondurucuda saklandı (Şekil 3).



**Şekil 3.** Genomik DNA ekstraksiyon şeması

### 3.2.6. PCR

Köpek hemotropik mikoplazma türlerinin belirlenmesi için yapılan PCR karışımı final konsantrasyonda her bir primerden 1 µl (50 pmol), 3 µl deiyonize su, 10 µl ExPrime Taq Premix (2X) ve 5 µl örnek DNA'sı olacak şekilde hazırlanmıştır (Varanat ve ark, 2011). Karışım oranları Tablo 18'de verilmiştir.



**Tablo 18.** Köpek hemotropik mikoplazma cinsi için *16S rRNA* PCR karışım oranları

Malzeme (Ticari)	İstenen Son Miktar (µl)
ExPrime Taq Premix	10 µl
<i>16S Myco 322s</i> (50 pmol)	1 µl
<i>16S Myco938as</i> (50 pmol)	1 µl
Hedef DNA	5 µl
ddH <sub>2</sub> O	3 µl
<b>TOPLAM</b>	20 µl

Köpek hemotropik mikoplazma cinsinin belirlenmesi için yapılan PCR kondüsyonları 94°C’ de 5 dakika ön denatürasyonu takiben 40 siklus olmak üzere 94°C’de 30 saniye ön denatürasyon, 68°C’de 30 saniye bağlanma, 72°C’de 30 saniye uzama ve 72°C’de 5 dakika son uzama aşamaları şeklinde gerçekleştirilmiştir. PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı Tablo 19’da verilmiştir.

**Tablo 19.** Köpek hemotropik mikoplazma cinsi için *16S rRNA* geni ısıl döngü ve süre diagramı

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
<b>Başlangıç</b>	40	94°C	5 dk
<b>Denatürasyon</b>		94°C	30 sn
<b>Bağlanma</b>		68°C	30 sn
<b>Uzama</b>		72°C	30 sn
<b>Son Uzama</b>	1	72°C	5 dk
<b>Bekletme</b>	1	4°C	∞ dk

Köpek hemotropik mikoplazma için *RNase P* gen tespiti için hazırlanan PCR karışımı final konsantrasyonda her bir primerden 1 µl (10 pmol), 10 µl ExPrime Taq Premix (2X), 2 µl örnek DNA ve toplam hacim 20 µl olacak şekilde deiyonize su ile tamamlanmıştır (Maggi ve ark, 2013). Hazırlanan PCR karışım oranları Tablo 20’de verilmiştir.

**Tablo 20.** Köpek hemotropik mikoplazma cinsi için *RNase P* geni PCR karışım oranları

Malzeme (Ticari)	İstenen Son Miktar (µl)
ExPrime Taq Premix	10 µl
<i>HemoMyco RNase P30s</i> (10 pmol)	1 µl
<i>HemoMyco RNase P200as</i> (10 pmol)	1 µl
Hedef DNA	2 µl
ddH <sub>2</sub> O	6 µl
<b>TOPLAM</b>	20 µl

PCR kondüsyonları 94°C’ de 5 dakika ön denaturasyonu takiben 40 siklus olmak üzere 94°C’de 30 saniye ön denatürasyon, 68°C’de 30 saniye bağlanma, 72°C’de 30 saniye uzama ve 72°C’de 5 dakika son uzama aşamaları şeklinde gerçekleştirilmiştir. Köpek hemotropik mikoplazma cinsi *RNase P* geni için ısıl döngü ve süre diagramı Tablo 21’de gösterilmektedir.

**Tablo 21.** Köpek hemotropik mikoplazma cinsi *RNase P* geni için ısıl döngü ve süre diagramı

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
<b>Başlangıç Denatürasyon</b>	1	94°C	5 dk
<b>Denatürasyon</b>	40	94°C	30 sn
<b>Bağlanma</b>		68°C	30 sn
<b>Uzama</b>		72°C	30 sn
<b>Son Uzama</b>	1	72°C	5 dk
<b>Bekletme</b>	1	4°C	∞ dk

Kedi hemotropik mikoplazma 16S rRNA tespitinde PCR karışımı final konsantrasyonda her bir primerden 1 µl (10 pmol), 10 µl ExPrime Taq Premix (2X), 3 µl örnek DNA ve toplam hacim 20 µl olacak şekilde deiyonize su ile tamamlanmıştır (Kewish ve ark, 2004). Karışım oranları Tablo 22’de gösterilmektedir.

**Tablo 22.** Kedi hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR karışım oranları

Malzeme (Ticari)	İstenen Son Miktar (µl)
ExPrime Taq Premix	10 µl
16S rRNA F (10 pmol)	1 µl
16S rRNA R (10 pmol)	1 µl
Hedef DNA	2 µl
ddH <sub>2</sub> O	6 µl
<b>TOPLAM</b>	<b>20 µl</b>

PCR kondüsyonları 94°C’ de 5 dakika ön denaturasyonu takiben 45 siklus olmak üzere 94°C’de 1 dakika ön denatürasyon, 60°C’de 1 dakika bağlanma, 72°C’de 30 sn uzama ve 72°C’de 2 dakika son uzama aşamaları şeklinde gerçekleştirilmiştir (Kewish ve ark, 2004). Kedi hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diagramı Tablo 23’de gösterilmektedir

**Tablo 23.** Kedi hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diagramı

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
<b>Başlangıç Denatürasyon</b>	1	94°C	5 dk
<b>Denatürasyon</b>	45	94°C	1 dk
<b>Bağlanma</b>		60°C	1 dk
<b>Uzama</b>		72°C	30 sn
<b>Son Uzama</b>	1	72°C	2 dk
<b>Bekletme</b>	1	4°C	∞ dk

*Candidatus Mycoplasma turicensis* 16S rRNA tespitinde PCR karışımı final konsantrasyonda her bir primerden 1 µl (10 pmol), 10 µl ExPrime Taq Premix (2X), 3 µl örnek DNA ve toplam hacim 20 µl olacak şekilde deiyonize su ile tamamlanmıştır (Santos ve ark, 2014). Karışım oranları Tablo 24’te gösterilmektedir.

**Tablo 24.** *Candidatus Mycoplasma turicensis* 16S rRNA PCR karışım oranları

Malzeme (Ticari)	İstenen Son Miktar (µl)
ExPrime Taq Premix	10 µl
16S rRNA DEAMTC F1 (10 pmol)	1 µl
16S rRNA DEAMTC R1 (10 pmol)	1 µl
Hedef DNA	2 µl
ddH <sub>2</sub> O	6 µl
<b>TOPLAM</b>	<b>20 µl</b>

*Candidatus Mycoplasma turicensis* için 16S rRNA PCR kondüsyonları 94°C’ de 2 dakika ön denaturasyonu takiben 35 siklus olmak üzere 94°C’de 1 dakika ön denatürasyon, 53°C’de 45 saniye bağlanma, 72°C’de 1,5 dakika uzama ve 72°C’de 5 dakika son uzama aşamaları şeklinde gerçekleştirilmiştir (Santos ve ark, 2014). *Candidatus Mycoplasma turicensis* için 16S rRNA PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı Tablo 25’te gösterilmektedir.

**Tablo 25.** *Candidatus Mycoplasma turicensis* için 16S rRNA PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
<b>Başlangıç Denatürasyon</b>	1	94°C	2 dk
<b>Denatürasyon</b>	35	94°C	1 dk
<b>Bağlanma</b>		53°C	45 sn
<b>Uzama</b>		72°C	30 sn
<b>Son Uzama</b>	1	72°C	1,5 dk
<b>Bekletme</b>	1	4°C	∞ dk

### 3.2.7. PCR Ürünlerinin Elektroforez Tankına Yüklenmesi

PCR işleminden sonra elde edilen ürünlerden 10' ar µl pipet yardımıyla alınıp, 3 µl 6x loading dye solüsyonu ile karıştırılmıştır. Oluşturulan karışımın tamamı alınarak, % 2'lik agaroz jeldeki uygun pozisyonadaki kuyucuğa yüklenmiştir.

### 3.2.8. Jelde Yürütme

Hazırlanmış olan jele, istenilen örnekler ve markerların yüklemesi yapıldıktan sonra, elektroforez tankının kapağı kapatılıp, elektrotlar uygun pozisyonda bağlandıktan sonra 80V 500A akımda 30 dakika ve sonrasında 40V 500A akımda 60 dakika yürütülmüştür.

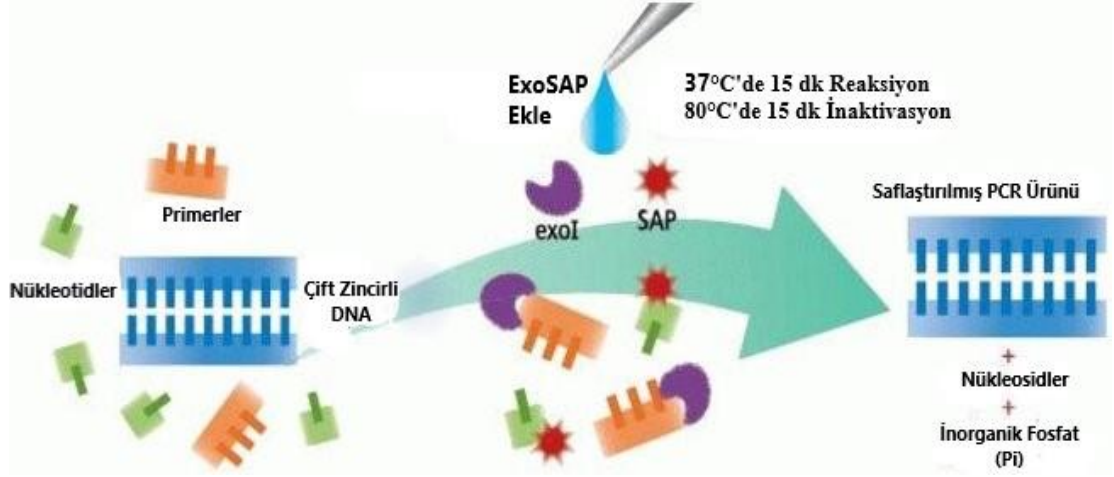
### 3.2.9. Görüntüleme ve Değerlendirme

Elektroforez işleminin ardından elde edilen jel, dikkatli bir şekilde elektroforez tankından çıkarılmıştır. Süre sonunda yürütülen jel, bilgisayara bağlı durumdaki transilluminatör cihazındaki odacığa yerleştirmiştir. UV ışığı altında fotoğraflandıktan sonra, bant büyüklükleri her PCR için ayrı değerlendirilmiştir.

Elde edilen PCR ürünlerinin görüntüleme değerlendirilmesinde köpek hemotropik mikoplazma varlığı için 600 bp uzunluğundaki bant oluşumları aranırken, hemotropik mikoplazma olduğu tespit edilen örneklerde *RNAse P* geni için 170 bp bant aralığında pozitiflik aranmıştır. Kedi hemotropik mikoplazma türleri için 16S rRNA PCR ürünlerinde *Mycoplasma haemofelis* için 170 bp *Candidatus Mycoplasma haemominutum* için 193 bp ve *Candidatus Mycoplasma turicensis* için 488 bp uzunluğundaki bant oluşumları aranmıştır.

### 3.2.10. PCR Ürün Saflaştırılması

PCR işleminden sonra elde edilen ürün saflaştırılması için steril PCR tüplerine 2 µl ExoSAP dağıtılmış üzerine 5 µl PCR ürünü ilave edilerek 7 µl toplam hacim elde edilmiştir. Daha sonra elde edilen karışım, termal döngüleme cihazına yüklenmiştir.



Şekil 4. PCR ürünü saflaştırma aşamaları

ExoSAP termal döngüleme süreleri Tablo 26'da verilmiştir.

Tablo 26. ExoSAP işlemine ait ısıl döngü ve süre diagramı

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
Primer ve Nükleotid İndirgenmesi	1	37° C	15 dk
ExoSAP İnaktivasyonu	1	80° C	15 dk
Bekletme	1	15° C	∞ dk

Saflaştırma işlemi tamamlandıktan sonra ürünler Sekans PCR işlemine tabi tutulmuştur.

### 3.2.11. Sekans PCR

Sekans PCR'ına ait karışım miktarları Tablo 27'de belirtildiği şekilde hazırlanmıştır (Sanger ve ark, 1977).

**Tablo 27.** Sekans PCR karışım oranları

<b>Karışım</b>	<b>Miktar</b>
<b>BigDye</b>	2 µl
<b>5 x Seq Buffer</b>	2 µl
<b>Primer 3.2 pmol</b>	2 µl
<b>Pürifiye PCR Ürünü</b>	2 µl
<b>Su</b>	2 µl
<b>Toplam</b>	10 µl

Karışım hazırlanırken önce primerler çözdürüldü ve 3,2 pmol olacak şekilde sulandırıldı. Primer steril PCR tüpüne aktarıldıktan sonra üzerine steril deiyonize su ilave edildi. 5X Sekans buffer oda ısısına getirildi, vortekslendi ve karışıma eklendi. BigDye derin dondurucudan çıkartıldı çözdürüldü. Vortekslendikten sonra reaksiyon karışımına eklendi. Karışım vortekslendi ve spin down yapıldıktan sonra PCR tüplerine 8'er µl olacak şekilde dağıtıldı. Saflaştırılmış PCR ürünlerinden 2 µl PCR tüplerine eklenerek 10 µl toplam hacim elde edildi. İçinde karışım olan PCR tüpleri termal döngüleme cihazına yerleştirildi. Sekans PCR'ı kondüsyonları Tablo 28'de verildiği şekilde gerçekleştirilmiştir (Sanger ve ark, 1977).

**Tablo 28.** Sekans PCR'ına ait ısıl döngü ve süre diagramı

<b>Basamak</b>	<b>Döngü Sayısı</b>	<b>Sıcaklık</b>	<b>Süresi</b>
<b>Denatürasyon</b>	25	96°C	10 sn
<b>Bağlanma</b>		50°C	10 sn
<b>Uzama</b>		60°C	10 sn
<b>Bekletme</b>	1	15° C	∞

Sekans PCR'ı tamamlandıktan sonra ürünlerin saflaştırılması için Sephadex metoduna geçildi.

### 3.2.11.1. Sekans PCR ürünlerinin saflaştırma protokolü

Sephadex ile jel filtreleme metodu kullanılarak sekans PCR ürünlerinin saflaştırılması gerçekleştirildi.

1. Karışım elde etmek için 1 gr Sephadex 14 ml steril deiyonize su ile karıştırıldı ve vortekslendi.

2. Toplama tüpleri içine filtreli kolonlar yerleştirildi. Hazırlanan Sephadex solüsyonu her kolona 750 µl olacak şekilde dağıtıldı.
3. 5200 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpünde biriken sıvı boşaltıldı. Kolon hazırlandı.
4. Elde edilen 10 µl sekans PCR ürününün hepsi kolona yüklendi.
5. 5200 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
6. Alt tüpte kalan saflaştırılmış sekans PCR ürünleri, sekans PCR tüplerine aktarıldıktan sonra tüpler sekans cihazına ait plate kuyucuğuna yerleştirildi.

### **3.2.12. DNA Sekanslama**

Saflaştırılan sekans PCR ürünleri ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer cihazı ile sekanslanmıştır. Elde edilen sonuçlar, NCBI Blast® nükleotid dizileri ile elektronik ortamda karşılaştırılarak benzerlik oranları yüzde olarak saptanmıştır.



## **4. BULGULAR**

### **4.1. Giemsa Boyama Bulguları**

Laboratuvara getirilen 100 adet kedi ve 100 adet köpek tam kanından yapılan frotiler Giemsa boyama ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında hemotropik mikoplazma varlığı yönünden incelenmiştir. Köpek örneklerinden yapılan Giemsa boyama sonucunda mikroskop incelemelerinde 7 (%7) örnekte adet örnekte hemotropik mikoplazma varlığı gözlemlendi. Kedi örneklerinden yapılan Giemsa boyamalar sonucunda preparatların 4 (%4)'ünde hemotropik mikoplazma varlığına rastlandı.

### **4.2. Hemogram Bulguları**

Araştırma materyalini oluşturan köpek ve kedi tam kan örneklerinin hemogram analizleri otomatize sistemler ile yapıldı. Köpek tam kan örneklerinin hemogram sonuçları Tablo 29'da gösterilmektedir.

**Tablo 29.** Köpek tam kan örneklerinin hemogram sonuçları

Numune No	Yaş Cinsiyet	HEMOGRAM							
		WBC 10 <sup>9</sup> /l	RBC 10 <sup>12</sup> /l	HGB g/dl	HCT (%)	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl	PLT 10 <sup>9</sup> /l
		6,0-17,0*	5,5-8,5*	12,0-18,0*	37,0-55,0*	60,0-77,0*	19,5-24,5*	31,0-34,0*	200-500*
B1	3 AY DIŞI	12,9	3,14	9,7	19,5	62,2	30,8	49,7	241
B2	3 YAŞ ERKEK	8	5,86	17,6	35,7	61	30	49,2	187
B3	3 YAŞ ERKEK	10,1	5,99	16	31,2	52,2	26,7	51,2	156
B4	3 YAŞ DIŞI	8,1	4,81	14,4	30,5	63,6	29,9	47,2	144
B5	1 YAŞ DIŞI	8,2	4,86	14,2	31,3	64,5	29,2	45,3	127
B6	1 YAŞ DIŞI	4,6	4,67	13,6	29,2	62,7	29,1	46,5	184
B7	5 YAŞ DIŞI	9,9	4,73	13,7	29,3	62	28,9	46,7	141
B8	5 YAŞ DIŞI	19,5	4,47	14,2	27,9	62,6	31,7	50,8	249
B9	3 YAŞ DIŞI	5,7	5,24	16,6	34,8	66,5	31,6	47,7	88
B10	5 YAŞ DIŞI	20,6	5,57	16	33,9	60,9	28,7	47,1	116
B11	5 YAŞ DIŞI	11,9	5,74	18,3	35,3	61,6	31,8	51,8	170
B12	1,5 YAŞ DIŞI	14,4	5,39	16,5	32,3	60,1	30,6	51	156
B13	2 AY ERKEK	10,7	1,43	4,6	7,6	53,4	32,1	60,5	66
B14	2 YAŞ DIŞI	15,4	4,57	12,6	26,8	58,8	27,5	47	127
B15	2 YAŞ DIŞI	10,7	6,47	20,2	40,1	62	31,2	50,3	108
B16	1 YAŞ ERKEK	25,2	5,05	13,8	28,8	57,2	27,3	47,9	589
B17	4 YAŞ ERKEK	22,4	6,42	19,7	40,5	63,1	30,6	48,6	149
B18	2 AY ERKEK	24,2	3,77	10,2	21,7	57,8	27	47	202
B19	2 AY DIŞI	16,7	3,58	10,1	20,2	56,7	28,2	50	195
B20	6 AY DIŞI	18,8	5,14	16,9	32,1	62,5	32,8	52,6	173
B21	2 AY ERKEK	33	4,03	11	21,8	54,2	27,2	50,4	340
B22	2 AY ERKEK	4,4	2,68	8	14,7	54,9	29,8	54,4	76
B23	2 AY ERKEK	21,5	3,42	9,9	21,1	61,7	28,9	46,9	187
B24	2 AY ERKEK	8,9	3,47	9,6	19,2	55,5	27,6	50	363

B25	3 AY DIŞI	16,2	5,15	15,8	34,1	66,4	30,6	46,3	184
B26	2 YAŞ DIŞI	28,8	3,76	12,1	23,5	62,5	32,5	51,4	208
B27	1 YAŞ DIŞI	13,5	5,85	16,6	35,8	61,3	28,3	46,3	108
B28	9 AY DIŞI	15,6	4,49	14,1	28,5	63,5	31,4	49,4	380
B29	2 YAŞ DIŞI	35,7	3,76	11,3	25,1	66,8	30	45	118
B30	2 AY DIŞI	22,3	4,13	12	22,2	53,9	29	54	515
B31	3 YAŞ DIŞI	11,6	6,41	20	41,3	64,5	31,2	48,4	233
B32	2 YAŞ DIŞI	31,3	5,54	17,9	36,3	65,6	32,3	49,3	385
B33	6 AY DIŞI	21,7	4,3	12	24,3	56,7	27,9	49,3	695
B34	2 YAŞ ERKEK	27,3	5,86	17,1	33,9	57,9	29,1	50,4	668
B35	6 AY ERKEK	10,3	3,15	9	19,7	62,8	28,5	45,6	276
B36	1,5 YAŞ DIŞI	17,5	6,09	18,3	40,1	65,9	30	45,6	266
B37	10 YAŞ ERKEK	18,8	5,92	16,1	35,9	60,8	27,1	44,8	167
B38	7 YAŞ ERKEK	12,4	4,98	14,5	31,5	63,4	29,1	46	134
B39	5 YAŞ DIŞI	12,8	5,46	18	35,9	65,9	32,9	50,1	108
B40	1 YAŞ DIŞI	10,4	4,19	12,5	28,8	68,9	29,8	43,4	113
B41	1,5 YAŞ DIŞI	10,6	4,05	12,2	28	69,3	30,1	43,5	106
B42	1 YAŞ ERKEK	21,8	4,04	11,7	25,7	63,8	28,9	45,5	123
B43	1 YAŞ ERKEK	25,8	3,85	10,7	22,2	57,9	27,7	48,1	108
B44	3 YAŞ DIŞI	27,9	5,15	15,7	33,7	65,5	30,4	46,5	260
B45	3 YAŞ ERKEK	14,5	5,32	16	31,9	60,1	30	50,1	121
B46	2 YAŞ DIŞI	17	4,2	13,9	28,4	67,7	33	48,9	164
B47	6 YAŞ ERKEK	14,8	6,88	21,7	47,3	68,8	31,5	45,8	153
B48	2 YAŞ ERKEK	14,5	4,93	14,4	30,5	61,9	29,2	47,2	167
B49	5 YAŞ ERKEK	11,8	4,1	13,2	26,3	64,3	32,1	50,1	86
B50	5 YAŞ ERKEK	17,3	4,11	13,5	25,5	62,1	32,8	52,9	176
B51	14 YAŞ DIŞI	12,6	7,28	16,2	49,6	68,2	22,2	32,6	813
B52	15 YAŞ ERKEK	12,4	5,09	12	34,9	68,6	23,5	34,4	229
B53	4 YAŞ ERKEK	14	5,64	13,2	39,5	70,2	23,4	33,4	126

B54	3 YAŞ DIŞI	11,5	7,96	18,4	58,1	73	23,1	31,6	313
B55	4 YAŞ ERKEK	27,8	6,05	13,2	40,4	66,9	21,8	32,8	369
B56	3 YAŞ ERKEK	22,7	8,43	14,3	57,3	68	16,9	24,9	430
B57	7 YAŞ DIŞI	20	7,15	15,2	49,1	68,7	21,2	30,9	440
B58	10 AY ERKEK	21,5	8,17	17,5	58,6	71,8	21,4	29,8	480
B59	9 AY ERKEK	12,6	7,28	15,3	49,6	68,2	22,2	32,6	813
B60	11 YAŞ ERKEK	10,5	8,5	16,8	35,1	65,3	33,2	38,5	450
B61	9 YAŞ ERKEK	11,5	3,5	6,5	23,7	67,9	18,5	27,4	404
B62	12 YAŞ DIŞI	21,5	8,17	17,5	58,6	71,8	21,4	29,8	480
B63	10 YAŞ DIŞI	27,7	4,81	10,8	34,8	72,5	22,4	31	597
B64	13 YAŞ DIŞI	8,5	3,4	6,6	21	60,8	19	31,4	69
B65	8 YAŞ ERKEK	31,5	3,92	8,3	24,9	63,7	21,1	33,3	153
B66	4 AY ERKEK	30,4	5,38	11	31,51	59	23,9	35	420
B67	2 YAŞ ERKEK	10,07	4,47	9,9	29,43	29,43	22	33,5	240
B68	8 AY ERKEK	8,79	6,07	13,6	38,7	64	22,3	35	379
B69	18 YAŞ ERKEK	23,93	3,66	8,7	25,02	68	23,8	34,8	103
B70	17 YAŞ ERKEK	10,04	3,22	8,8	23,13	72	27,4	38,2	1937
B71	7,5 AY DIŞI	25,54	5,29	11,5	33,16	63	21,7	34,6	287
B72	4 YAŞ ERKEK	17,64	5,54	12,7	36,85	67	23	34,5	59
B73	6 AY ERKEK	11,89	8,53	19,9	56,17	66	23,3	35,4	328
B74	10 AY ERKEK	27,08	3,15	7,4	21,93	70	23,5	33,7	192
B75	7 AY DIŞI	27,05	4,68	10,6	30,06	64	22,6	35,1	342
B76	4 YAŞ DIŞI	11,12	6,82	14,8	43,55	64	21,7	33,9	185
B77	5 YAŞ ERKEK	25,1	4,61	8,6	26,19	57	18,6	32,7	444
B78	2 YAŞ ERKEK	10,6	6,48	14,6	43,9	67,8	22,5	33,2	424
B79	3 YAŞ ERKEK	16,8	5,36	11,2	36,8	66,8	20,8	31,2	269
B80	1 YAŞ ERKEK	13,3	8,19	18,4	55,4	67,7	22,4	33,2	247
D1	2 YAŞ DIŞI	6,4	2,18	5,5	17,5	80	25,2	33,5	122
D2	2 YAŞ DIŞI	8,9	5,8	15	42,9	74	25,8	31,4	213

D3	1 YAŞ DIŞI	8,6	5,23	13,3	37,1	71	25,4	33,6	271
D4	5 YAŞ DIŞI	12,7	7	18,2	50,1	72	25,9	35	62
D5	2 YAŞ ERKEK	11,7	5,38	13,8	39,1	73	25,7	34,5	124
D6	2 YAŞ ERKEK	8,3	3,2	8,4	24,7	77	26,2	32,7	58
D7	4 YAŞ ERKEK	3,4	2,55	6,3	19,6	77	24,9	33	180
D8	3 YAŞ DIŞI	9,4	6,08	15,8	46,3	76	26	31	159
D9	7 YAŞ DIŞI	0,4	2,18	5,4	16,4	75	24,8	32,5	154
D10	4 YAŞ ERKEK	5,1	5,69	15,2	41,6	73	26,6	34,9	217
D11	1 YAŞ ERKEK	10,9	5,1	11,5	33,5	66	22,5	33,8	68
D12	2 YAŞ ERKEK	11,2	5,88	14,9	41,6	71	25,3	32,5	190
D13	10 YAŞ ERKEK	10,4	5,98	13,8	40,9	68	23,2	31,6	188
D14	3 YAŞ DIŞI	6,8	4,27	10,6	31,1	73	24,8	33,4	157
D15	1 YAŞ DIŞI	11,1	7,15	13,6	40,7	57	19,1	37,5	151
D16	3 YAŞ DIŞI	3,9	3,79	9	29,3	77	23,8	36,7	125
D17	7 YAŞ ERKEK	15,5	5,12	12	36	70	23,4	38,5	46
D18	4 YAŞ DIŞI	9	6,28	15,4	46,6	74	24,5	31,2	136
D19	4 YAŞ DIŞI	7,5	6,34	15,4	47,1	74	24,3	33,1	129
D20	5 YAŞ DIŞI	14,6	4,93	12,9	38	77	26,2	32,5	147

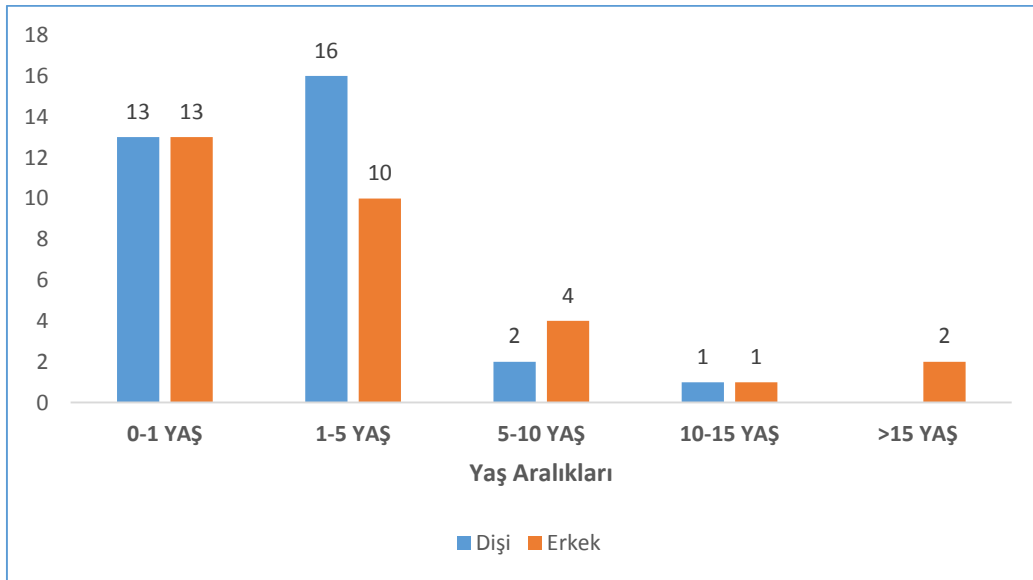
**NOT:** Sarı renk ile işaretlenmiş kayıtlar anemi tablosu gösteren örneklerdir. \* Köpek tam kan referans değerleri

Raskin ve Wardrop (2010)'dan modifiye edilmiştir.

Köpek tam kan örneklerine yapılan hemogram analizi sonucunda, 100 örneğin 62 (%62)'sinde RBC miktarının standartlar altında olduğu görülmekte ve anemi tablosu gözlemlenmektedir. Anemi tablosu görülen 62 örneğin 32'si dişi ve 30'u erkek köpeğe aittir. Anemi tablosu görülen köpeklerin 26 (13D/13E) tanesi 0-1 yaş aralığında, 26 (16D/10E) tanesi 1-5 yaş aralığında, 6 (2D/4E) tanesi 5-10 yaş aralığında, 2 (1D/1E) tanesi 10-15 yaş aralığında, 2 erkek hayvanın >15 yaşta olduğu tespit edilmiştir (Tablo 30) (Şekil 5).

**Tablo 30.** Köpek hemogram sonuçlarına göre anemi bulgularının yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Anemi Bulgusu Gösteren Köpekler	YAŞ ARALIKLARI										Toplam
	0-1 YAŞ		1-5 YAŞ		5-10 YAŞ		10-15 YAŞ		>15 YAŞ		
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	
<b>Köpek (n=62)</b>	13	13	16	10	2	4	1	1	0	2	62



**Şekil 5.** Köpek hemogram sonuçlarına göre anemi bulgularının yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Kedi tam kan örneklerinin hemogram sonuçları Tablo 31'de gösterilmektedir.

**Tablo 31.** Kedi tam kan örneklerinin hemogram sonuçları

Numune No	Yaş Cinsiyet	Hemogram							
		WBC 10 <sup>9</sup> /l	RBC 10 <sup>12</sup> /l	HGB g/dl	HCT (%)	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl	PLT 10 <sup>9</sup> /l
		5,5-19,5*	5,0-10,0*	8,0-15,0*	24,0-45,0*	39,0-55,0*	12,5-17,5*	33,0-36,0*	300-800*
K1	6 AY ERKEK	12,8	3,8	10,3	33,5	40	14,7	30,7	136
K2	13 YAŞ ERKEK	67,9	3,5	13,9	45,3	45	15,6	30,7	377
K3	4 YAŞ ERKEK	13,1	4,7	9,5	29,5	50	14,3	32,2	253
K4	12 YAŞ ERKEK	8,7	3,9	13,2	41,1	58	16	32,1	589
K5	5 YAŞ ERKEK	11,7	8,31	13,1	36,9	44,5	15,7	35,5	547
K6	14 YAŞ DIŞI	19,7	10,33	13,6	41,1	39,8	13,1	33	65
K7	1 YAŞ DIŞI	35,2	9,32	10	31,1	33,4	10,7	32,1	47
K8	2 YAŞ DIŞI	1,6	10,19	17,4	52	51,1	17	33,4	13,8
K9	3 YAŞ ERKEK	19,13	5,88	8,6	27,38	47	14,7	31,6	86
K10	2,5 YAŞ ERKEK	8	7,45	9,8	29,6	39,8	13,1	33,1	148
K11	4 YAŞ DIŞI	10,3	8,92	12,7	40,8	45,8	14,2	31,1	275
K12	1 YAŞ DIŞI	20,5	7,78	11,3	35	45	14,5	32,2	46
K13	7 YAŞ DIŞI	16,6	6,22	14,7	47,7	76,8	23,6	30,8	297
K14	6 AY ERKEK	9,9	7,77	11,6	36,2	46,6	14,9	32	95
K15	1 YAŞ DIŞI	18,4	7,52	11,5	36,6	48,8	15,2	31,4	13,1
K16	15 YAŞ DIŞI	10,9	7,86	13,9	42,6	54,2	17,6	32,6	148
K17	3 YAŞ DIŞI	26,5	6,38	9,7	33	51,8	15,2	29,3	161
K18	3 YAŞ ERKEK	32,87	4,22	7,8	22,93	54	18,5	34	264
K19	5 YAŞ ERKEK	14,32	4,59	8,9	26,92	59	19,4	33,1	25
K20	1 YAŞ DIŞI	24,57	10,21	13,5	37,37	37	13,3	36,2	262
K21	3 YAŞ ERKEK	45,65	5,78	8,4	24,55	42	14,5	34,2	467
K22	6 AY DIŞI	9,24	6,91	12	29,38	43	17,4	40,9	54
K23	7YAŞ DIŞI	12,11	5,08	7,2	20,74	41	14,2	34,8	262
K24	9 AY ERKEK	1747	5,64	9,4	26,84	48	16,7	35,1	152

K25	9 YAŞ DIŞI	8,87	2,66	4,2	12,4	47	15,7	33,8	159
K26	5 YAŞ DIŞI	10,34	4,37	7,5	19,48	45	17,2	38,5	325
K27	6 AY ERKEK	22,44	7,92	11,4	28,82	36	14,3	39,4	302
K28	1 YAŞ ERKEK	9,42	4,74	7,3	20,23	43	15,5	36,2	45
K29	10 AY DIŞI	14,22	8,2	12,4	35,31	43	15,2	35,2	248
K30	5 YAŞ ERKEK	8,77	2,75	47	14,26	52	17,2	33,1	18
K31	4 YAŞ ERKEK	11,27	4,87	9,7	22,94	47	19,9	42,1	608
K32	2 YAŞ DIŞI	12,87	7,73	9,8	26,74	35	12,7	36,6	82
K33	5 YAŞ ERKEK	17,41	3,82	5,4	15,98	42	14,2	33,9	67
K34	2 YAŞ DIŞI	11,11	6,77	11,8	26,44	39	17,4	44,5	213
K35	1 YAŞ ERKEK	18,25	7,78	11	27,67	36	14,2	39,9	506
K36	6 AY DIŞI	48,94	7,6	10,9	31,24	41	14,4	34,9	116
K37	2 YAŞ ERKEK	64,75	7,19	10,9	33,45	47	15,1	32,5	326
K38	3 YAŞ DIŞI	7,85	7,2	8,3	29,2	41	11,5	28,4	282
K39	9 AY ERKEK	8,56	5,13	6,2	20,71	40	12,2	30,1	31
K40	5 YAŞ DIŞI	29,13	6,06	8,8	24,92	41	14,5	35,2	457
K41	5 YAŞ ERKEK	44,22	4	6	16,5	41	15	36,4	283
K42	1 YAŞ, ERKEK	15,3	7,57	11,7	35,5	47	15,5	33	128
K43	1,5 YAŞ ERKEK	7,9	7,6	12,8	37,7	50	16,8	33,9	36
K44	6 AY DIŞI	19,5	7,25	11,3	36	50	15,6	31,4	99
K45	3 YAŞ ERKEK	10,8	8,91	13,8	41,3	46	15,5	33,5	83
K46	2 YAŞ ERKEK	13,8	8,11	15,1	41,6	51	18,6	36,3	156
K47	2 YAŞ DIŞI	17	6,29	9,4	28,7	46	15	32,7	196
K48	3 YAŞ ERKEK	22,8	5,93	11,1	34,4	58	18,8	32,4	164
K49	3 YAŞ DIŞI	12,8	9,33	13,7	42	45	14,7	32,7	118
K50	2 YAŞ DIŞI	14,2	7,7	13,6	43,8	57	17,7	31,1	325
K51	5 YAŞ DIŞI	15,3	6,76	10,5	34,2	51	15,5	30,6	58
K52	2 YAŞ DIŞI	14,9	8,77	12,6	39,7	45	14,4	31,7	180
K53	1,5 YAŞ ERKEK	26,5	7,95	13,1	40,2	51	16,4	32,5	209



K54	1,5 YAŞ ERKEK	15,9	8,7	12,3	38,5	44	14,2	32	142
K55	3 YAŞ ERKEK	32,2	7,73	12,3	40,6	53	16	30,4	103
K56	2 YAŞ ERKEK	21,4	7,86	11,3	35,2	45	14,4	32,1	77
K57	1,5 YAŞ DIŞI	13,7	7,25	11,5	34,9	48	15,9	33,1	243
K58	3 YAŞ ERKEK	21,5	8,81	13,6	39,8	45	15,4	34,1	223
K59	1 YAŞ DIŞI	17,4	5,76	11,4	30,9	54	19,7	36,8	191
K60	8 YAŞ DIŞI	6,4	10,39	14,2	40,12	39	19,4	35,5	107
K61	3 YAŞ ERKEK	5,36	12,22	16,5	41,56	62	13,5	39,6	217
K62	12 YAŞ DIŞI	4,71	10,16	15,3	41,59	45	15	36,7	466
K63	1 YAŞ ERKEK	5,44	1,6	4,6	13,18	82	28,9	35,1	77
K64	1 YAŞ DIŞI	12,66	3,53	4,8	14,15	50	13,5	33,7	200
K65	5 YAŞ DIŞI	8,06	8,39	13,1	34,71	41	15,16	37,7	44
K66	1 YAŞ DIŞI	5,87	6,77	10,1	28,22	42	15	35,9	50
K67	8 YAŞ ERKEK	11,98	7,2	11,2	30,83	43	15,6	36,4	250
K68	4 YAŞ ERKEK	4,47	8,08	11,9	33,36	41	14,7	35,7	53
K69	2 YAŞ DIŞI	19,8	10,63	15,2	41,27	39	14,3	36,9	198
K70	1 YAŞ DIŞI	27,2	6,82	8,9	29	42,6	13	30,6	35
K71	3 YAŞ DIŞI	40,9	4,48	5,5	18,1	40,6	12,2	30,3	249
K72	3 YAŞ DIŞI	11,7	9,77	14,7	45,1	46,2	15	32,5	144
K73	3 YAŞ ERKEK	8,2	11,7	13,9	41,6	46,6	13,1	33,4	173
K74	3.5 YAŞ ERKEK	8,72	9,41	13,8	39,41	42	14,7	35	402
K75	2 YAŞ DIŞI	10,6	9,25	13,5	39,09	42	14,6	34,5	375
K76	10 AY ERKEK	30,03	10,14	15,2	43,25	43	14,9	35	326
K77	7 YAŞ ERKEK	50,31	5,32	7,5	21,07	40	14,1	35,6	320
K78	4 YAŞ ERKEK	9,9	7,74	12,2	31,99	41	15,7	38	608
K79	10 AY DIŞI	12,97	8,56	12,7	36,13	42	14,9	35,3	487
K80	2 YAŞ ERKEK	11,92	8,9	13,1	37,25	42	14,7	35,1	268
K81	2 YAŞ ERKEK	5,36	9,92	13,6	38,36	39	13,7	35,4	577
K82	3 YAŞ ERKEK	9,31	8,16	11,8	34,09	42	14,4	34,5	93

K83	8 AY ERKEK	8,62	6,75	10,8	29,89	44	16	36,1	33
K84	4AY DIŞI	51,52	5,9	7,7	22,59	38	13,1	34,3	169
K85	5 AY DIŞI	0,78	6,88	9,2	27,9	41	13,4	33,1	67
K86	1 YAŞ ERKEK	12,9	8,63	12,1	33,35	39	14	36,2	74
K87	4 YAŞ ERKEK	17,84	9,3	13,2	43,99	47	14,2	29,9	607
K88	8 AY DIŞI	15,58	9,49	14,7	42,22	44	15,5	34,7	356
K89	5 YAŞ DIŞI	25,21	9,51	13,2	37,3	39	13,8	35,3	734
K90	6 YAŞ ERKEK	22,8	9,42	12,1	37,84	40	12,8	31,9	224
K91	1 YAŞ DIŞI	6,05	8,04	12,2	37,63	47	15,2	32,4	81
K92	7 YAŞ DIŞI	23,71	4,74	7,5	22,77	48	15,8	32,9	56
K93	2 YAŞ DIŞI	18,89	9,25	14,4	43,31	47	15,6	33,3	434
K94	6 YAŞ DIŞI	5,82	6,5	10,1	30,91	48	15,5	32,7	160
K95	3.5 YAŞ ERKEK	8,29	5,02	8,9	27,85	55	17,7	32	44
K96	3 YAŞ DIŞI	7,12	7,6	12,2	36,66	48	16	33,1	485
K97	7 AYLIK DIŞI	6,06	8,22	13,4	33,92	41	16,3	39,5	678
K98	1.5 YAŞ DIŞI	9,82	9,58	15	45,92	48	15,6	32,6	193
K99	12 YAŞ ERKEK	26,94	5,58	10	33,25	60	17,9	30	663
K100	6 YAŞ ERKEK	7,06	8,92	11,7	37,2	42	13,2	31,6	122

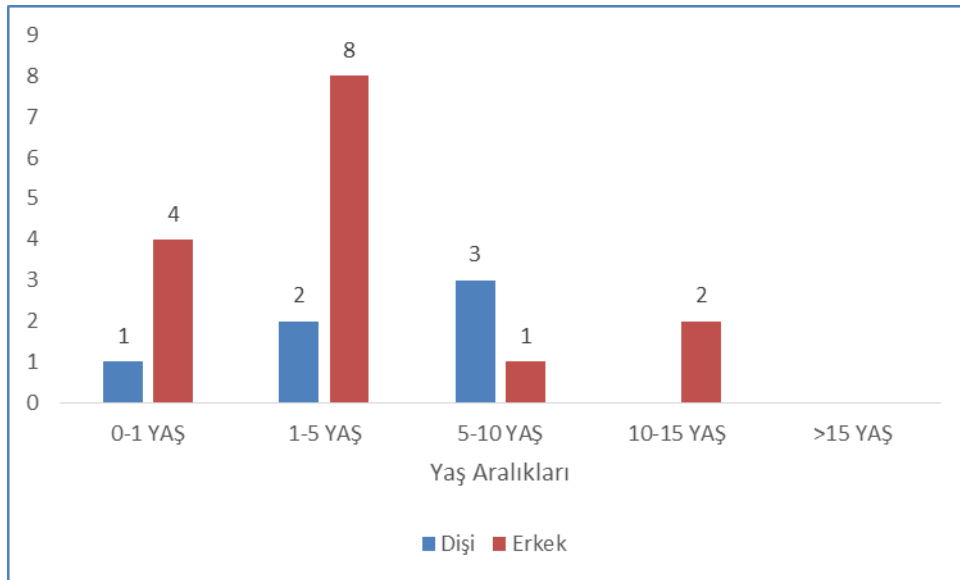
**NOT:** Sarı renk ile işaretlenmiş kayıtlar anemi tablosu gösteren örneklerdir. \* Kedi tam kan referans değerleri

Raskin ve Wardrop (2010)'dan modifiye edilmiştir.

Kedi tam kan örneklerine yapılan hemogram analizi sonucunda, 100 örneğin 21 (%21)'inde RBC miktarının standartlar altında olduğu görülmekte ve anemi tablosu gözlemlenmektedir. Anemi tablosu görülen 21 örneğin 6'sı dişi ve 15'i erkek kediye aittir. Anemi tablosu görülen kedilerin 5 (1D/4E) tanesi 0-1 yaş aralığında, 10 (2D/8E) tanesi 1-5 yaş aralığında, 4 (3D/1E) tanesi 5-10 yaş aralığında ve 2 erkek kedinin 10-15 yaş aralığında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 32) (Şekil 6).

**Tablo 32.** Kedi hemogram sonuçlarına göre anemi bulgularının yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Anemi Bulgusu Gösteren Kediler	YAŞ ARALIKLARI										Toplam
	0-1 YAŞ		1-5 YAŞ		5-10 YAŞ		10-15 YAŞ		>15 YAŞ		
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	
<b>Kedi (n=21)</b>	1	4	2	8	3	1	0	2	0	0	21



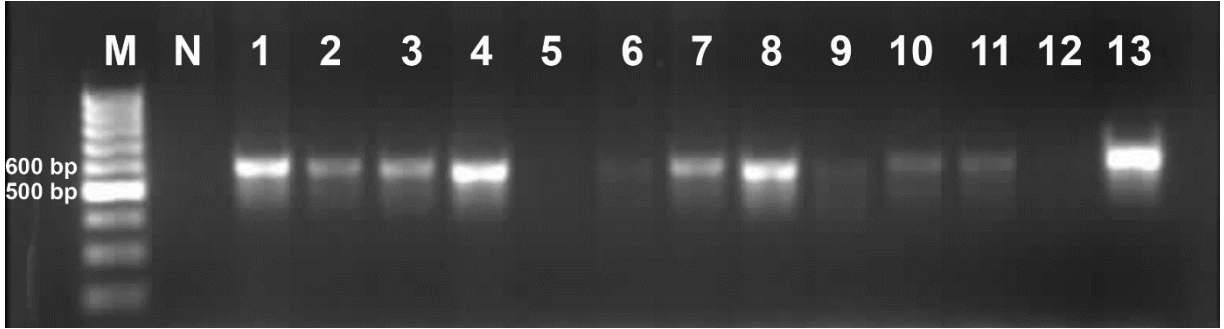
**Şekil 6.** Kedi hemogram sonuçlarına göre anemi bulgularının yaş ve cinsiyete göre dağılımı

### 4.3. PCR BULGULARI

#### 4.3.1. Köpek Hemotropik Mikoplazma 16S rRNA PCR Bulguları

Araştırmamızda köpeklere ait 100 adet tam kan örneğine ait DNA'lara yapılan PCR analizleri sonucunda, 66 (% 66) örnekte 600 bp aralığında bantlar görülmüş ve hemotropik

mikoplazma yönünden pozitif olarak değerlendirilmiştir. Köpek örneklerinin 34 (% 34)'ü 16S rRNA PCR sonucunda hemotropik mikoplazma yönünden negatif bulunmuştur (Resim 1).

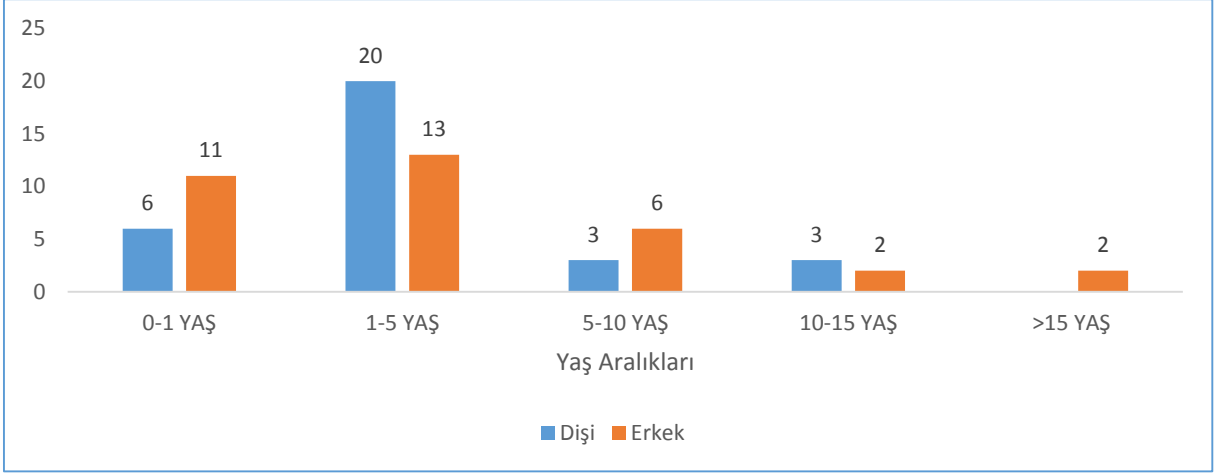


**Resim 1.** Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR elektroforez görüntüsü  
M:1000 bp'lik DNA ladder, N: Negatif kontrol, 1-4,6-11,13: Hemotropik mikoplazma PCR pozitif örnekler (600 bp), 5,12: Hemotropik mikoplazma PCR negatif örnekler.

Köpeklerle ait hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif 66 örneğin 32 (%48,5) dişi ve 34 (%51,5) erkek köpeğe aittir. 66 adet hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif örneğin 17 (6D/11E)'si 0-1 yaş aralığında, 33 (20D/13E)'ü 1-5 yaş aralığında, 9 (3D/6E)'ü 5-10 yaş aralığında, 5 (3D/2E)'i 10-15 yaş aralığında ve 2 (2E)'si >15 yaş aralığında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 33) (Şekil 7).

**Tablo 33.** Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif örneklerin cinsiyet ve yaş aralıklarına göre dağılımı

Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif örnekler	YAŞ ARALIKLARI										Toplam
	0-1 YAŞ		1-5 YAŞ		5-10 YAŞ		10-15 YAŞ		>15 YAŞ		
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	
<b>Köpek (n=66)</b>	6	11	20	13	3	6	3	2	0	2	66



**Şekil 7.** Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif örneklerin cinsiyet ve yaş aralıklarına göre dağılımı

Köpeklerden elde edilen hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif sonuçların (n=66) hemogram tablolarında 39 (% 59) örnekte anemi tablosu görüldüğü belirlenmiştir. Hemogram analizlerinde sağlıklı olduğu belirlenen 27 (% 41) köpek örneğinde de hemotropik mikoplazma 16S rRNA pozitif bulunmuştur. Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA pozitif olan örneklerden 32 (% 48,5)'si dişi, 34 (% 51,5)'ü ise erkek köpek olduğu belirlendi.

#### 4.3.2. Köpek Hemotropik Mikoplazma *RNase P* Geni PCR Bulguları

Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR sonucunda pozitif bulunan 66 örnekte *RNase P* geni varlığı araştırılmıştır. Bu örneklerin 60 (%91)'inde *RNase P* geni varlığı 170 bp aralığında pozitif olarak tespit edildi (Resim 2).



**Resim 2.** Köpek hemotropik mikoplazma *RNase P* geni PCR elektroforez görüntüsü  
M:1000 bp'lik DNA ladder, 1-11: Hemotropik mikoplazma *RNase P* geni pozitif örnekler (170 bp)

### 4.3.3. Kedi Hemotropik Mikoplazma 16S rRNA PCR Bulguları

Araştırmamızda kedilere ait 100 adet tam kan örneğinden elde edilen DNA'lar kedi hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR işlemine tabi tutulduktan sonra görüntülemesi yapılmıştır. *Mycoplasma haemofelis* için 170 bp, *Candidatus Mycoplasma haemominutum* için 193 bp bant aralığında pozitiflik aranmıştır. Kedilere ait hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR işlemi sonucunda örneklerde pozitiflik saptanmamıştır.

### 4.3.4. *Candidatus Mycoplasma turicensis* 16S rRNA PCR Bulguları

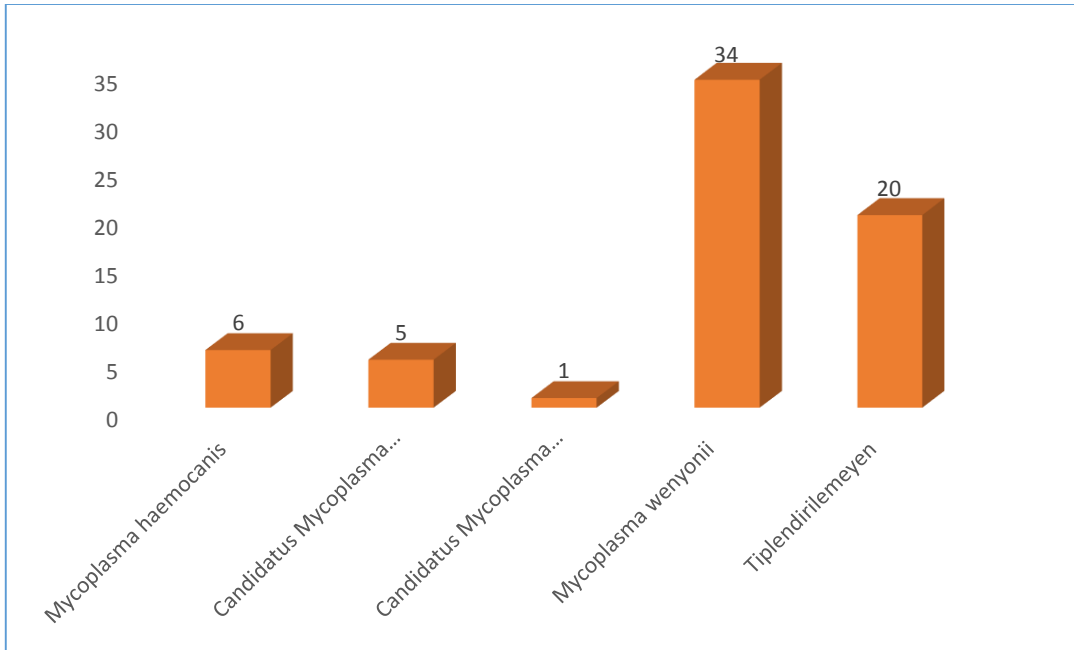
Araştırmamızda kedilere ait 100 adet tam kan örneğinden elde edilen DNA'lar kedi *Candidatus Mycoplasma turicensis* 16S rRNA PCR işlemine tabi tutulduktan sonra görüntülemesi yapılmıştır. *Candidatus Mycoplasma turicensis* varlığını tespit etmek için 488 bp bant aralığında pozitiflik aranmıştır. Kedilere ait *Candidatus Mycoplasma turicensis* 16S rRNA PCR işlemi sonucunda örneklerde pozitiflik saptanmamıştır.

## 4.4. Sekans Bulguları

Araştırmamızda, köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif 66 örneğin Sanger sekans yöntemi ile tiplendirilmeleri yapılmıştır. 66 örneğin 6 (%9,0)'sı *Mycoplasma haemocanis* [Erişim Numarası (Accession Number) MG594502]; 5 (%7,6)'i *Candidatus Mycoplasma hematoparvum* (Erişim Numarası MG594500); 1 (% 1,5)'i *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (Erişim Numarası KU852583); 34 (%51,5)'ü *Mycoplasma wenyonii* (Erişim Numarası MG948624, FN392885, AY769937, MK608707) olarak tiplendirilmiştir. Geriye kalan 20 (%30,4) örnek ise Sanger sekans yöntemi ile tiplendirilememiştir (Tablo 34) (Şekil 8).

**Tablo34.** Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif örneklerin Sekans sonuçları

16S rRNA PCR pozitif örnekler	Tiplendirilen Bakteri türü	İzolat sayısı	NCBI Erişim Numaraları
Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif örnekler (n=66)	<i>Mycoplasma haemocanis</i>	6	MG594502
	<i>Candidatus Mycoplasma haematoparvum</i>	5	MG594500
	<i>Candidatus Mycoplasma haemominutum</i>	1	KU852583
	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	34	MG948624, FN392885, AY769937, MK608707
	Tiplendirilemeyen	20	-

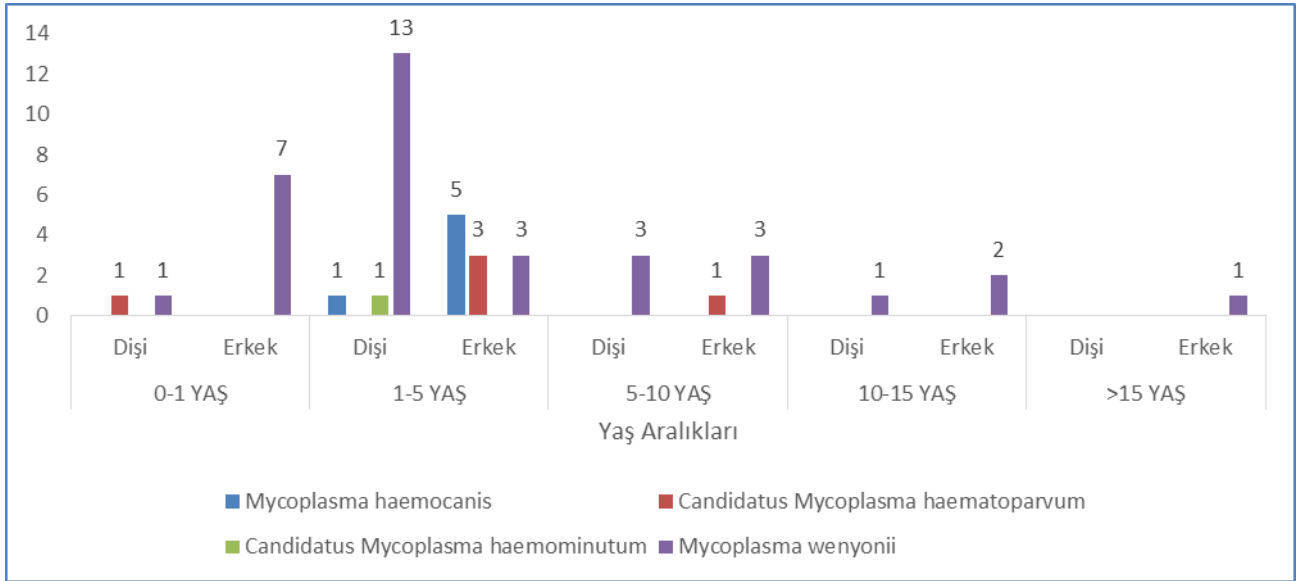


**Şekil 8.** Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif örneklerin sekans sonuçları

Sanger sekans yöntemi ile tiplendirilmeleri yapılmış Köpek hemotropik mikoplazma türlerinin cinsiyet ve yaş aralıklarına göre dağılımları Tablo 35 ve Şekil 9'da gösterilmektedir.

**Tablo 35.** Köpek hemotropik mikoplazma Sekans ile tiplendirilmiş örneklerin cinsiyet ve yaş aralıklarına göre dağılımı

Köpek hemotropik mikoplazma Sekans ile Tiplendirilmiş örnekler	YAŞ ARALIKLARI										Toplam
	0-1 YAŞ		1-5 YAŞ		5-10 YAŞ		10-15 YAŞ		>15 YAŞ		
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	
<i>Mycoplasma haemocanis</i>	0	0	1	5	0	0	0	0	0	0	6
<i>Candidatus Mycoplasma haematoparvum</i>	1	0	0	3	0	1	0	0	0	0	5
<i>Candidatus Mycoplasma haemominutum</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Mycoplasma wenyonii</i>	1	7	13	3	3	3	1	2	0	1	34



**Şekil 9.** Sanger sekans ile tiplendirilmiş köpek hemotropik mikoplazma örneklerinin cinsiyet ve yaş aralıklarına göre dağılımı

Sanger sekans yöntemi ile tiplendirilmiş köpek hemotropik mikoplazma türlerinin %56,5 (26 örnek)'inin 1-5 yaş aralığında olduğu görülmektedir. 1-5 yaş aralığında bulunan örneklerin %57,7'sini dişi örnekleri ve %42,3'ünü de erkek köpekler oluşturmaktadır.

Araştırmamızda elde edilen bulgular doğrultusunda, anemi varlığı, 16S rRNA PCR sonuçları, Sanger sekans tiplendirme sonuçları ile % benzerlik oranları Tablo 36'da gösterilmektedir.



**Tablo 36.** Köpek hemotropik mikoplazma genel sonuçları

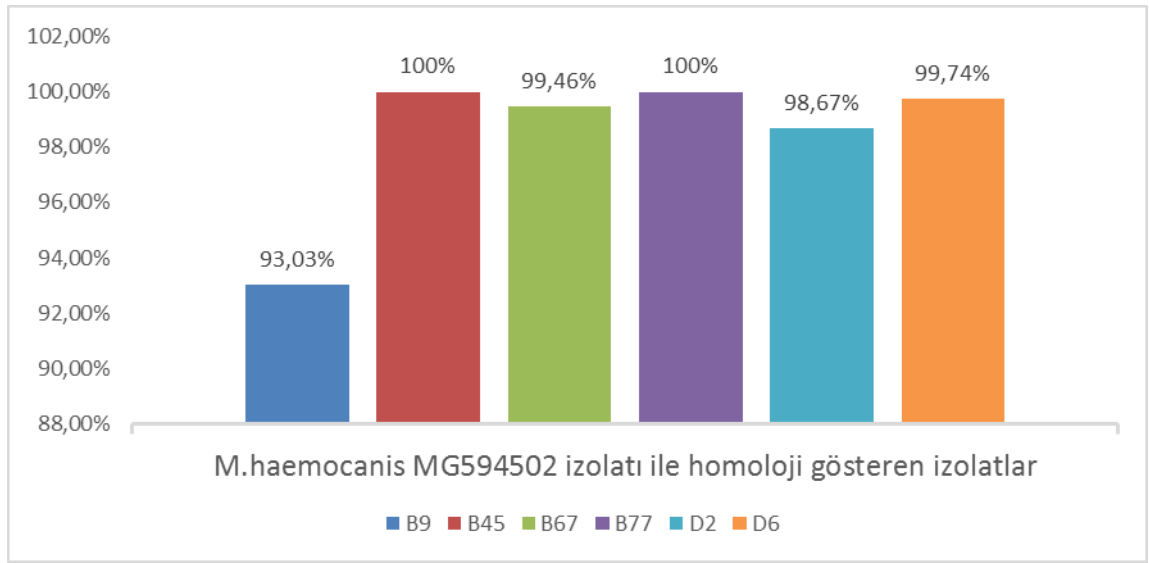
Numune No	Yaş/Cinsiyet	Giemsa Boyama	Anemi Tablosu	Köpek Hemotropik Mycoplasma 16S rRNA PCR	Sanger Sekans Tiplendirme Sonuçları	Erişim Numarası	Benzerlik Oranı (%)
B1	3 AY, DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B2	3 YAŞ, ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Candidatus Mycoplasma haematoparvum</i>	MG594500	94,56
B4	3 YAŞ, DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	94,16
B7	5 YAŞ, DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	91,37
B9	3 YAŞ, DIŞI	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma haemocanis</i>	MG594502	93,03
B11	5 YAŞ, DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B12	1,5 YAŞ, DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	94,67
B13	2 AY, ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B14	2 YAŞ, DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	FN392885	87,82
B17	4 YAŞ, ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B20	6 AY, DIŞI	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Candidatus Mycoplasma haematoparvum</i>	MG594500	92,41
B21	2 AY, ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	90,06
B23	2 AY, ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	93,37
B26	2 YAŞ, DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B28	9 AY, DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	84,56
B31	3 YAŞ, DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	90,99
B35	6 AY, ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B36	1,5 YAŞ, DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	AY769937	90,02
B37	10 YAŞ, ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B38	7 YAŞ, ERKEK	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Candidatus Mycoplasma haematoparvum</i>	MG594500	98,74
B40	1 YAŞ, DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B41	1,5 YAŞ, DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	97,28
B43	1 YAŞ, ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-

B45	3 YAŞ ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma haemocanis</i>	MG594502	100,00
B50	5 YAŞ ERKEK	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Candidatus Mycoplasma haematoparvum</i>	MG594500	87,17
B51	14 YAŞ DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B52	15 YAŞ ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	99,44
B53	4 YAŞ ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	98,35
B54	3 YAŞ DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	99,14
B56	3 YAŞ ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	93,93
B57	7 YAŞ DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	99,43
B58	10 AY ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	97,69
B59	9 AY ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	97,71
B60	11 YAŞ ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MK608707	95,87
B61	9 YAŞ ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	88,17
B62	12 YAŞ DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B63	10 YAŞ DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	98,83
B64	13 YAŞ DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	93,26
B65	8 YAŞ ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MK608707	99,42
B66	4 AY ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	97,45
B67	2 YAŞ ERKEK	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma haemocanis</i>	MG594502	99,46
B68	8 AY ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	91,08
B69	18 YAŞ ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MK608707	89,29
B70	17 YAŞ ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B71	7,5 AY DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B72	4 YAŞ ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B73	6 AY ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B75	7 AY DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B76	4 YAŞ DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B77	5 YAŞ ERKEK	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma haemocanis</i>	MG594502	100,00
B79	3 YAŞ ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
B80	1 YAŞ ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	98,45

D1	2 YAŞ DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	98,67
D2	2 YAŞ DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma haemocanis</i>	MG594502	99,23
D4	5 YAŞ DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
D5	2 YAŞ ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	98,83
D6	2 YAŞ ERKEK	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma haemocanis</i>	MG594502	99,74
D7	4 YAŞ ERKEK	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	Tiplendirme yapılamadı	-	-
D8	3 YAŞ DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	95,89
D9	7 YAŞ DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MK608707	93,77
D12	2 YAŞ ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Candidatus Mycoplasma haematoparvum</i>	MG594500	97,72
D13	10 YAŞ ERKEK	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MK608707	89,61
D14	3 YAŞ DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MG948624	99,45
D18	4 YAŞ DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Candidatus Mycoplasma haemominutum</i>	KU852583	87,72
D19	4 YAŞ DIŞI	NEGATİF	NEGATİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MK608707	99,2
D20	5 YAŞ DIŞI	NEGATİF	POZİTİF	POZİTİF	<i>Mycoplasma wenyonii</i>	MK608707	98,16

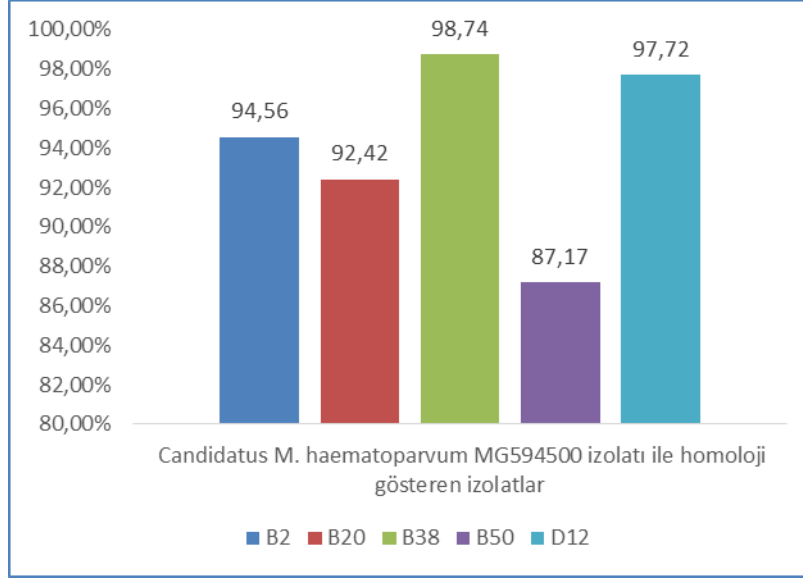
Tablo 36’da görüldüğü üzere 100 adet örneğin 66 (%66)’sı hematropik mikoplazma 16S rRNA PCR analizinde pozitif bulunmuştur. Bu 66 örneğin 6 (%9)’sı *Mycoplasma haemocanis*, 5 (%7)’i *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* ve 1 (%1,5)’i *Candidatus Mycoplasma haemominutum* ve 34 (%51,5)’ü *Mycoplasma wenyonii* olarak tiplendirilmiştir.

Araştırmamızda sekans analizleri sonucunda tiplendirilmesi yapılan *Mycoplasma haemocanis* (n=6) izolatları, Türkiye’de daha önceden tiplendirilmiş MG594502 erişim numaralı (Aktaş ve Özübek, 2017) izolat ile %93,3-%100 değerleri arasında benzerlik göstermektedir (Şekil 10).



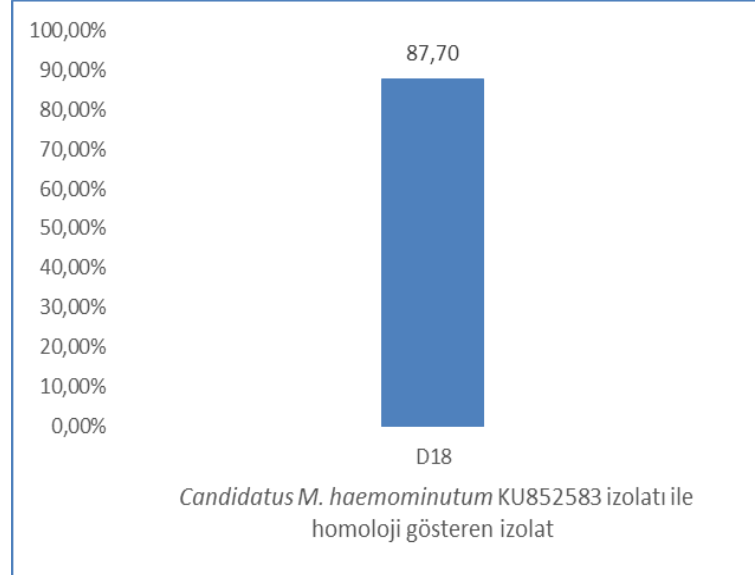
Şekil 10. *M. haemocanis* sekans homoloji yüzdeleri

Araştırmamızda sekans analizleri sonucunda tiplendirilmesi yapılan *Candidatus Mycoplasma hematoparvum* izolatları (n=5) ise Türkiye’de daha önceden tiplendirilmiş MG594500 erişim numaralı (Aktaş ve Özübek, 2017) izolat ile %87,7-%98,74 değerleri arasında benzerlik göstermektedir (Şekil 11).



**Şekil 11.** *Candidatus M. haematoparvum* sekans homoloji yüzdeleri

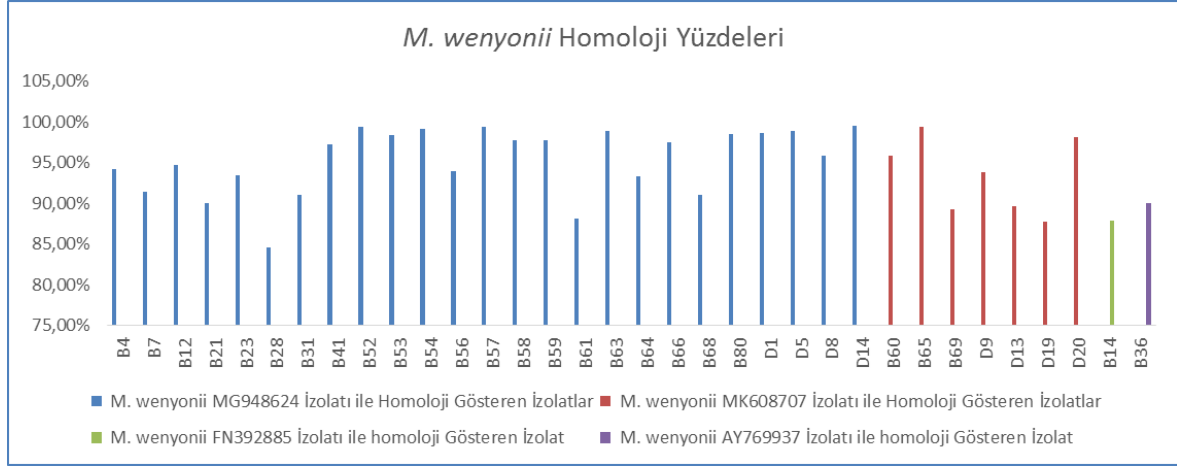
Araştırmamızda sekans analizleri sonucunda tiplendirilmesi yapılan *Candidatus Mycoplasma haemominutum* izolatı (n=1) ise İran’da tiplendirilmiş KU852583 erişim numaralı (Ghazisaeedi ve ark, 2016) izolat ile %87,7 oranında benzerlik göstermektedir (Şekil 12).



**Şekil 12.** *Candidatus M. haemominutum* sekans homoloji yüzdesi

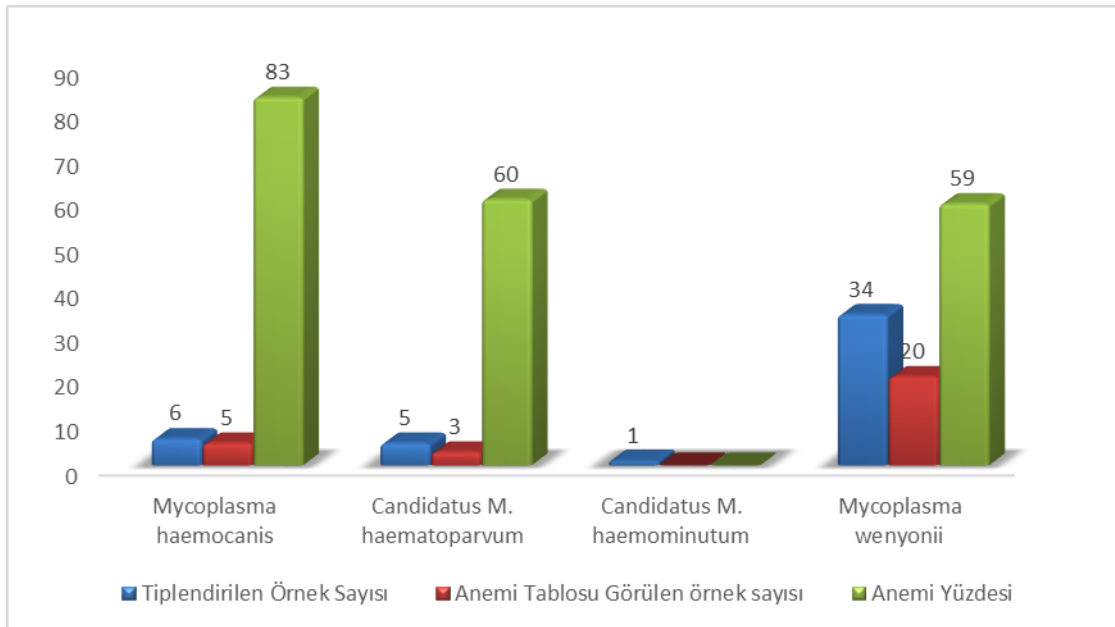
Araştırmamızda sekans analizleri sonucunda tiplendirilmesi yapılan *Mycoplasma wenyonii* izolatları (n=34), 4 farklı *M. wenyonii* izolatı ile benzerlik göstermiştir. Tiplendirilen 34 *M. wenyonii* izolatından 25’i MG948624 erişim numaralı izolat ile %84,56-%99,45 değerleri arasında, 7’si MK608707 erişim numaralı izolat ile %87,72-%99,42 değerleri arasında, 1’i

FN392885 erişim numaralı izolat ile %87,82 ve 1'i de AY769937 erişim numaralı izolat ile %90,02 oranlarında homoloji göstermektedir (Şekil 13).



Şekil 13. *M. wenyonii* sekans homoloji yüzdeleri

Tiplendirilmesi yapılan 6 adet *Mycoplasma haemocanis* izolatından 5 (%83)'inde, 5 adet *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* izolatından 3 (%60)'ünde, 34 adet *Mycoplasma wenyonii* izolatının 20 (%59)'sinde anemi tablosu bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 14).



Şekil 14. Sekans ile tiplendirilen örneklerin anemi verileri

## 5. TARTIŞMA

Hemotropik mikoplazmalar, infekte hayvanların kırmızı kan hücrelerine (RBC) tutunmuş küçük, (<1 µm) hücre duvarı içermeyen, pleomorfik şekilli bakterilerdir. Önceleri *Haemobartonella* ve *Eperythrozoon* türleri olarak adlandırılmakta ve çeşitli memeli türlerinde bulaşıcı anemiye neden olan etkenler olarak bilinmekteydi. Bakteriyel genomik sekanslar ve filogenetik ilişki hakkında artan bilgi, bu organizmaların *Mycoplasma* cinsinde hemotropik mikoplazmalar olarak yeniden sınıflandırılmasına yol açmıştır (Neimark ve ark, 2001). Hemoplazma infeksiyonları, anoreksi, uyuşukluk, dehidrasyon, kilo kaybı ve infeksiyonlu hayvanların ani ölümüne neden olan akut hemolizi tetikleyebilmektedir. Bu etkenlerin *in vitro* olarak üretilmemesi, hemotropik mikoplazmaların araştırılmasını sınırlamıştır. Bununla birlikte, kedi ve köpek hemoplazmalarının hassas tespiti için türlere özgü konvansiyonel ve gerçek zamanlı TaqMan PCR analizleri geliştirilmiştir. Bu analizlerin uygulanması, kedi ve köpeklerde hemoplazma infeksiyonlarının patogenezini ve epidemiyolojisini daha ayrıntılı olarak araştırmaya izin vermektedir (Willi ve ark, 2010).

Inokuma ve arkadaşları (2006) Sudan'da moleküler yöntemler kullanarak *Ehrlichia canis* ve bağlantılı infeksiyonların oranlarını belirlemek amacıyla 78 köpek örneği kullanmıştır. DNA ekstraksiyonu yapılan kanlardan tür spesifik nested PCR analizi ile 16S rRNA geni varlığı aranmıştır. Yapılan PCR sonuçlarına göre 78 köpekten 7 (% 9,0)'sinde *Mycoplasma haemocanis*, 26 (% 33,3)'sında *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* varlığı tespit edilmiştir.

Wengi ve arkadaşları (2008) köpek hemotropik mikoplazmalarının moleküler karakterizasyonu ve Real Time PCR bazlı prevalans çalışması için 899 köpekten kan numunesi toplamıştır. PCR analizleri yapılan kan örneklerindeki hemotropik mikoplazma prevalansı % 1,2 (11) olduğu bildirilmiştir. Hemotropik mikoplazma olduğu belirlenen örneklerden 8 (% 0,9)'i *Mycoplasma haemocanis*, 3 (% 0,3)'ü *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* olarak tespit edilmiştir. Çalışmada anemi ile infeksiyon durumu arasında önemli bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir. PCR pozitif örnekler ile PCR negatif örneklerin yaş ortalamalarının 8 olduğu tespit edilmiş ve yaşın da infeksiyon ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir. PCR pozitif bulunan köpeklerden 5'i erkek 6'sı dişi olarak belirlenmiş ve cinsiyet ile infeksiyon durumu arasında da önemli bir ilişkinin bulunmadığı belirtilmiştir.

Roura ve arkadaşları (2010) İspanya'daki sağlıklı ve hasta köpeklerdeki hemotropik mikoplazma prevalansını araştırmıştır. Çalışma için 182 köpekten kan alınmıştır. Kan örnekleri

EDTA'lı tüplere alınmış ve elde edilen DNA'lara qPCR analizi yapılmıştır. PCR analizleri sonucunda köpeklerdeki *Mycoplasma haemocanis* prevalansı % 14,3, *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* prevalansı % 0,6 olarak belirlenmiştir. Köpeklerde cinsiyet, yaş, sağlık durumu, anemi varlığı ve ırk ile hemoplazma infeksiyonu arasında bağlantı bulunmamıştır.

Warman ve arkadaşları (2010) İngiltere'de *Mycoplasma haemocanis* ve *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*'un immun kaynaklı hemolitik anemiye neden olup olmadığını araştırmak amacıyla 114 immun kaynaklı hemolitik anemisi olan köpek ve 113 sağlıklı kontrol köpeğinden oluşan bir çalışma grubu oluşturmuştur. Hemoplazma türlerinin tespiti için Real Time qPCR analizine tabi tutulan örneklerin hiç birinde *Mycoplasma haemocanis* ve *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*'a rastlanmamıştır.

Novacco ve arkadaşları (2010) Akdeniz ülkelerindeki köpek hemotropik mikoplazma infeksiyonlarının coğrafik dağılımı ve prevalansının araştırılması amacıyla İtalya, İspanya ve Portekiz'den 850 adet köpek kan örneği toplamıştır. Real Time PCR ile analizleri yapılan örneklerden 82 (% 9,6)'sinin hemotropik mikoplazma pozitif olduğu tespit edilmiştir. *Mycoplasma haemocanis* prevalansı % 5,1 (43), *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* prevalansı % 4 (34) olarak belirlenmiştir. PCR pozitif köpeklerin PCR negatif köpeklere göre daha genç olduğu, cinsiyet ile hemoplazma infeksiyonları arasında önemli bir ilişki olmadığı bildirilmiştir. Melez ırkların safkan ırklara göre PCR pozitiflik oranları daha yüksek bulunmuştur. Barınakta yaşayan köpeklerde evde yaşayanlara oranla daha yüksek hemoplazma infeksiyonu tespit edilmiştir.

Barker ve arkadaşları (2010) köpek hemotropik mikoplazmalarının qPCR ile tespiti için Tanzanya bölgesinden 100, Trinidad bölgesinden 185 adet köpek kan örneği ile çalışmıştır. Yapılan PCR sonucunda Tanzanya bölgesindeki 100 köpek örneğinden 19 (% 19)'unda *Mycoplasma haemocanis* tespit edilirken 1 örnekte Hem *Mycoplasma haemocanis* hem de *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* tespit edilmiştir. Pozitif örneklerden 14 (% 31,1)'ü erkek 6 (%10,9)'sının dişi olduğu tespit edilmiş ve erkek cinsiyetinin infeksiyona dişilerden daha yatkın olduğu belirtilmiştir. Hemoplazma infeksiyonu ve yaş arasında ilişki bulunmamıştır. Trinidad bölgesindeki 185 örnekten 9 (% 4,9)'u *Mycoplasma haemocanis* 5 (% 2,7)'i *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* pozitif bulunmuştur. Bu örneklerde cinsiyet, yaş veya hematolojik parametrelerle hemoplazma infeksiyonu arasında önemli bir ilişki tespit edilmemiştir.

Hamel ve arkadaşları (2011) Romanya ve Macaristan'daki sokak ve ev köpeklerindeki vektör kaynaklı infeksiyonların epidemiyolojisini ortaya koymak amacıyla Macaristan'dan 78, Romanya'dan 109 sokak ve 29 kliniklerden kan numuneleri toplanmıştır. Yapılan PCR



analizleri sonucunda 1 (% 3,4) kliniğe gelenlerde, 17 (% 15,6) sokak köpeğinde *Mycoplasma haemocanis* varlığı saptanmıştır.

Tennant ve arkadaşları (2011) Yunanistan'da hasta ve sağlıklı köpeklerdeki hemoplazmaların Real Time qPCR yöntemi ile araştırılması amacıyla 142 adet köpek tam kan örneğinden DNA ekstraksiyonları ve hematolojik muayeneler yapmıştır. Köpeklerden 85'i erkek, 57'si dişi, 9'u sağlıklı, 133'ü hasta olarak bildirilmiştir. Ortalama yaşları 7 yaş ve 113 köpek melez, 29 köpek safkan olarak kaydedilmiştir. Köpeklerin 51 tanesinde anemi tespit edilmiştir. qPCR ile analizleri yapılan 142 örneğin 15 (% 10,5)'i hemoplazma pozitif bulunmuştur. Pozitif örneklerden 6 (% 4,2)'sı *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*, 8 (% 5,6)'i *Mycoplasma haemocanis* ve 1 (% 0,7)'i hem *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* hem *Mycoplasma haemocanis* pozitif olarak belirlenmiştir. Pozitif bulunan 15 köpeğin 6'sında anemi tablosu tespit edilmiş ancak anemi ile hemoplazma infeksiyonları arasında önemli bir ilişki olmadığı belirtilmiştir. Yaş, cinsiyet, safkan veya melezlik, sağlık durumu, klinik muayenede ektoparazit varlığı, rutin ektoparazit tedavisi ile hemotropik mikoplazma infeksiyonları arasında önemli bir bağlantı olmadığı tespit edilmiştir.

Abd Rani ve arkadaşları (2011) Hindistan'ın farklı bölgelerindeki köpeklerin kene kaynaklı hastalıklarının tespiti amacıyla 525 köpekten kan toplamıştır. Etkenlerin sitolojik tespiti amacıyla örneklerden kan frotileri hazırlanmış, Giemsa ile boyanmış ve ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Sitolojik muayenede hemotropik mikoplazma varlığı saptanmamıştır. Yapılan PCR analizleri sonucunda bölgelere göre *Mycoplasma haemocanis* prevalansları; Delhi'de % 17,3, Mumbai'de % 14,2, Sikkim eyaletinde % 1 ve Ladakh bölgesinde % 12 olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda kene kaynaklı hastalıklarda en sık rastlanan ikinci etkenin *Mycoplasma haemocanis* olduğuna dikkat çekilmiştir.

Hetzel ve arkadaşları (2012) Avustralya'da köpek hemotropik mikoplazma prevalansını araştırmak amacıyla 281 köpekten EDTA'lı tüplere kan almış ve tür spesifik qPCR analizi yapmıştır. Yapılan analizler sonucunda köpek hemotropik mikoplazma prevalansı % 1,6 olarak tespit edilmiştir. Örneklerden 2 (% 0,8)'sinin *Mycoplasma haemocanis*, 2 (% 0,8)'sinin *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* olarak tanımlandığı bildirilmiştir.

Compton ve arkadaşları (2012) Amerika Birleşik Devletlerinde *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* ve *Mycoplasma haemocanis* infeksiyonlarının prevalansını araştırmak amacıyla 506 köpek kan örneğine konvansiyonel PCR analizi yapmıştır. Yapılan PCR sonucu köpeklerdeki hemotropik mikoplazma prevalansının % 1,3 (7/506) olduğu tespit edilmiştir. Pozitif hemoplazma örneklerinin % 0,6'sının *Mycoplasma haemocanis*, % 0,7'sinin *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* olduğu belirtilmiştir.

Barker ve arkadaşları (2012) Avustralya’da serbest gezen köpeklerdeki kan parazitlerini araştırmak amacıyla 39 köpekten kan numunesi toplamıştır. qPCR analizleri sonucunda 39 örnekten 17 (% 44)’si *Mycoplasma haemocanis*, 8 (% 21)’inin *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* olduğu bildirilmiştir.

Valle ve arkadaşları (2014) Brezilya’da köpek hemoplazma varlığı, klinik bulguları ve prevalansını araştırmak amacıyla 331 köpek kan örneği DNA’sı ile çalışmıştır. Konvansiyonel PCR analizi yapılan 331 örnekten 23 (% 6,9)’ünde en az bir hemoplazma türü tespit edilmiştir. Tüm örneklerden 17 (% 5,1)’si *Mycoplasma haemocanis*, 6 (% 1,8)’si *Candidatus Mycoplasma haemominutum* benzeri pozitif bulunmuştur. Yaş, ısırık yaraları, noplastik hastalıklar, vektör kaynaklı enfeksiyona maruz kalma ile hemoplazma enfeksiyonu arasında korelasyon bulunmuş ancak cinsiyet ve saf ırk ile enfeksiyon arasında ilişki bulunmamıştır.

Torkan ve arkadaşları (2014) İran’daki köpeklerde multiplex PCR kullanarak hemotropik mikoplazma tespiti için yaş, cinsiyet, ırk, yaşam alanı gibi verilere bakılarak toplamda 100 adet anemik köpekten kan örnekleri toplamıştır. Örneklerle multiplex PCR analizi uygulanmış 100 örnekten 13 (% 13)’ünün *Mycoplasma haemocanis*, 10 (%10)’unun *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* olduğu belirlenmiştir. Her yaş aralığında patojen tespiti yapılmıştır, ancak en yüksek hemotropik mikoplazma pozitifliği % 43,3 ile 1-5 yaş arası köpeklerde tespit edilmiştir. Hemotropik mikoplazma tespit edilen köpeklerin % 39,1’i 1 yaş köpeklerde, % 17,3’ü >5 yaş köpeklerde tespit edilmiştir. Çalışmada ektoparazitler durumu ve yaş ile hemotropik mikoplazma arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak önemli olduğu bildirilmiştir.

Aquino ve arkadaşları (2016) Nijerya’da köpek hemoplazma enfeksiyonlarının prevalansını araştırmak için 245 köpek kan örneğiyle çalışmıştır. Kanlardan elde edilen DNA’lar qPCR işlemine tabi tutulmuş ve hemotropik mikoplazma prevalansı % 7,7 (19) olarak bulunmuştur. Hemotropik mikoplazma pozitif örneklerin 18 (% 7,3)’ünün *Mycoplasma haemocanis*, 1 (% 0,4)’ünün *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* olduğu belirtilmiştir.

Hosseini ve arkadaşları (2017) İran’da hemotropik mikoplazma türlerinin prevalansının PCR analizleriyle tespiti amacıyla 294 (140 dişi, 154 erkek) köpekten kan örneği toplamıştır. Örneklerden kan frotileri hazırlanmış ve Giemsa boyama yapıldıktan sonra ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Sitolojik muayenede 26 (% 8,82) örnekte hemotropik mikoplazma varlığı saptanmıştır. Pozitif bulunan köpeklerin üzerinde ektoparazit görülmemiştir. Sitolojik muayeneye göre yaş ile enfeksiyon arasında ilişki bulunmadığı bildirilmiştir. PCR sonuçlarına göre 33 (% 11,22) örnek *Mycoplasma haemocanis*, 29 (% 9,86) örnek *Candidatus Mycoplasma*

*haematoparvum* yönünden pozitif bulunmuştur. Sitolojik muayenede pozitif olduğu saptanan 25 örneğin PCR analizinde de pozitif olduğu belirtilmiştir.

Soto ve arkadaşlarının (2017) yapmış olduğu çalışmada 278 köpekten kan örnekleri toplanmıştır. EDTA'lı tüplere toplanan kanların RBC, WBC, PLT, HGB, MCV, MCHC parametrelerinin tespiti için analizleri yapılmıştır. Daha sonra *Mycoplasma spp.* için 16S rRNA konvansiyonel PCR işlemine tabi tutulmuştur. 278 kan örneğinden 69 (%24,8)'i *Mycoplasma spp.* yönünden pozitif bulunmuştur. *Mycoplasma spp.* pozitif tespit edilen örneklerden 33 (% 11,9)'ünün *Mycoplasma haemocanis*, 34 (% 12,2)'ünün *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* olduğu belirlenmiştir. Yaşadığı yer, cinsiyet ve yaşın hemoplazma pozitif köpeklerde önemli olduğu belirtilirken, hemoplazma pozitif ve negatif köpeklerin kan parametreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Ravagnan ve arkadaşları (2017) İtalya'da köpek hemotropik mikoplazmalarının prevalansı ve moleküler karakterizasyonlarını araştırmıştır. Bu amaçla 395 (117 donör ve 278 serbest dolaşan) köpekten örnek toplanarak SYBR green real time PCR analizine tabi tutulmuştur. Köpeklerde hemotropik mikoplazma prevalansı % 4,5 (18/395) olarak tespit edilmiştir. Köpeklerden yalnızca 1 (% 0,8)'i *Mycoplasma haemocanis* pozitif bulunmuştur. Serbest dolaşan köpeklerdeki hemotropik mikoplazma prevalansının % 6,1 (17/278) olduğu belirtilmiştir. Bunlardan 13 (% 4,7)'ü *Mycoplasma haemocanis*, 4 (% 1,4)'ü *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* olarak tanımlanmıştır. Donör köpekler ve serbest dolaşan köpeklerdeki hemotropik mikoplazma prevalansı arasındaki fark önemli bulunurken hemotropik mikoplazmalarla yaş, cinsiyet arasında önem bulunmamıştır.

Guo ve arkadaşları (2017) Türkiye'de farklı köpek popülasyonlarındaki vektör kaynaklı patojenlerin PCR ile tespiti amacıyla Konya bölgesindeki 192 köpekten kan toplamıştır. Çalışma sonucunda prevalansı en yüksek olan patojen *Mycoplasma spp.* (% 22,9) olduğu tespit edilmiştir. *Mycoplasma haemocanis* için yapılan dört sekanslama işlemiinde % 99,67- %99,83 oranında tanımlanmıştır (KX641903, KX641905, KX641906 ve KX641908). Sekansı yapılan iki *Candidatus M. haematoparvum* (KX64194 ve KX641907) izolatları % 99,67 oranında tanımlanmıştır. *Mycoplasma haemocanis* sekansları daha önce Portekiz'de tanımlanan (GQ129118) izolatına % 99,67-% 100 oranında benzer bulunurken *Candidatus M haematoparvum* izolatları Amerika'daki (KF366443) izolatıyla % 99,51-% 99,68 oranında benzer bulunmuştur.

Aktaş ve Özübek (2018) Türkiye'deki evcil köpeklerdeki hemoplazma varlığını moleküler olarak araştırmıştır. Çalışmada 621 köpekten genomik DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Köpeklerden 201 tanesi sokak köpeği, 262 tanesi barınak köpeği, 158 tanesi ise ev

köpeği olarak kaydedilmiştir. Hiçbir köpekte splenektomi operasyonu geçmişi bulunmadığı bildirilmiştir. Tüm örnekler kene kaynaklı infeksiyöz hastalıkların araştırılması amacıyla PCR analizine tabi tutulduktan sonra gen sekansları yapılmıştır. PCR analizleri sonucunda hemotropik mikoplazma prevalansının % 15,3 olduğu bildirilmiştir. Pozitif örneklerin 28 (% 4,5)'inin *Mycoplasma haemocanis*, 27 (% 4,3)'sinin *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*, 40 (% 6,4)'ının her iki etken yönünden pozitif olduğu tespit edilmiştir. Erkek (% 15,8) ve dişiler (% 14,5) arasındaki infeksiyon oranı önemli bulunmamıştır ancak erişkin köpeklerde (% 18,9) gençlere (% 9,5) oranla infeksiyon daha fazla tespit edilmiştir. Evde yaşayan köpekler (% 7,6) barınakta yaşayan (% 14,5) ve sokakta yaşayan (% 22,4) köpeklere göre daha az infekte bulunmuştur. Çalışmada tanımlanan *M. haemocanis* sekansı (MG594501) Türkiye'deki bir köpekte tanımlanan *M. haemocanis d99* (KY368749) izolatı ile % 99,6 oranında benzerlik gösterirken *Candidatus M. haematoparvum* sekansı Türkiye'deki bir köpekten izole edilen *Candidatus M. haematoparvum* (KY368750) ile % 99,7 benzerlik göstermiştir.

Araştırmamızda, köpek örneklerinden yapılan giemsa boyama sonucunda mikroskop incelemelerinde 7 (% 7) örnekte adet örnekte hemotropik mikoplazma varlığı gözlemlendi. Kedi örneklerinden yapılan giemsa boyamalar sonucunda preparatların 4 (%4)'ünde hemotropik mikoplazma varlığına rastlandı.

Araştırmamızda, köpek tam kan örneklerine yapılan hemogram analizi sonucunda, 100 örneğin 62 (% 62)'sinde RBC miktarının standartlar altında olduğu görülmekte ve anemi tablosu gözlemlenmektedir. Anemi tablosu görülen 62 örneğin 32'si dişi ve 30'u erkek köpeğe aittir. Anemi tablosu görülen köpeklerin 26 (13D/13E) tanesi 0-1 yaş aralığında, 26 (16D/10E) tanesi 1-5 yaş aralığında, 6 (2D/4E) tanesi 5-10 yaş aralığında, 2 (1D/1E) tanesi 10-15 yaş aralığında, 2 erkek hayvanın >15 yaşta olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmamızda köpeklere ait 100 adet tam kan örneğine ait DNA'lara yapılan PCR analizleri sonucunda, 66 (% 66) örnek hemotropik mikoplazma yönünden pozitif olarak değerlendirilmiştir. Köpek örneklerinin 34 (% 34)'ü 16S rRNA PCR sonucunda hemotropik mikoplazma yönünden negatif bulunmuştur. Köpeklere ait hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif 66 örneğin 32 (% 48,5)'si dişi ve 34 (% 51,5)'ü erkek köpeğe aittir. 66 adet hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif örneğin 17 (6D/11E)'si 0-1 yaş aralığında, 33 (20D/13E)'ü 1-5 yaş aralığında, 9 (3D/6E)'u 5-10 yaş aralığında, 5 (3D/2E)'i 10-15 yaş aralığında ve 2 (2E)'si >15 yaş aralığında olduğu tespit edilmiştir. Köpeklerden elde edilen hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR pozitif sonuçların (n=66) hemogram tablolarında 39 (% 59) örnekte anemi tablosu görüldüğü belirlenmiştir. Hemogram analizlerinde sağlıklı olduğu belirlenen 27 (% 41) köpek örneğinde de hemotropik mikoplazma 16S rRNA pozitif

bulunmuştur. Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA pozitif olan örneklerden 32 (%48,5)'si dişi, 34 (% 51,5)'ü ise erkek köpek olduğu belirlendi.

Araştırmamızda 100 adet köpek örneğinin 66 (% 66)'sı hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR analizinde pozitif bulunmuştur. Bu 66 örneğin 6 (% 9)'sı *Mycoplasma haemocanis*, 5 (% 7)'i *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* ve 1 (% 1,5)'i *Candidatus Mycoplasma haemominutum* ve 34 (% 51,5)'ü *Mycoplasma wenyonii* olarak tiplendirilmiştir. Köpek hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR sonucunda pozitif bulunan 66 örneğin 60 (%91)'inde *RNase P* geni varlığı tespit edildi.

Araştırmamızda sekans analizleri sonucunda tiplendirilmesi yapılan *Mycoplasma haemocanis* (n=6) izolatları, Türkiye'de daha önceden tiplendirilmiş MG594502 erişim numaralı (Aktaş ve Özübek, 2017) izolat ile % 93,3-% 100 değerleri arasında benzerlik göstermektedir.

Araştırmamızda sekans analizleri sonucunda tiplendirilmesi yapılan *Candidatus Mycoplasma hematoparvum* izolatları (n=5) ise Türkiye'de daha önceden tiplendirilmiş MG594500 erişim numaralı (Aktaş ve Özübek, 2017) izolat ile % 87,7-% 98,74 değerleri arasında benzerlik göstermektedir.

Araştırmamızda sekans analizleri sonucunda tiplendirilmesi yapılan *Candidatus Mycoplasma haemominutum* izolatı (n=1) ise İran'da tiplendirilmiş KU852583 erişim numaralı (Ghazisaeedi ve ark, 2016) izolat ile % 87,7 oranında benzerlik göstermektedir.

Tiplendirilmesi yapılan 6 adet *Mycoplasma haemocanis* izolatından 5 (% 83)'inde, 5 adet *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* izolatından 3 (% 60)'ünde, 34 adet *Mycoplasma wenyonii* izolatının 20 (% 59)'sinde anemi tablosu bulunduğu tespit edilmiştir.

Hemotropik mikoplazma prevalansları İsviçre'de % 1,2 (Wengi ve ark, 2008), Fransa'da % 15,4 (Kenny ve ark, 2004), İtalya'da % 9,5 (Novacco ve ark, 2010), İspanya'da % 14,9 (Roura ve ark, 2010), Yunanistan'da % 10,6 (Tennant ve ark, 2011), Macaristan'da % 1,2, Romanya'da % 12,3 (Hamel ve ark, 2012), Nijerya'da % 7,7 (Aquino ve ark, 2016), Brezilya'da % 6,9 (Valle ve ark, 2014), Hindistan'da % 12,2 (AbdRani ve ark, 2011), Amerika'da % 1,3 (Compton ve ark, 2012), Türkiye'de, % 22,9 (Guo ve ark, 2017) ve % 15,3 (Aktaş ve Özübek, 2018) oranlarında mikoplazma prevalansı olduğu bildirilmiştir. Gou ve arkadaşları 2017 çalışması Konya ilinde yapılırken, Aktaş ve Özübek (2018) araştırması Elazığ, Erzurum, Ankara, Nevşehir, Adapazarı, İzmit, Mersin, Giresun ve İzmir illerinde gerçekleştirilmiştir. Aktaş ve Özübek (2018) araştırmalarında *M. haemocanis* varlığını Elazığ'da % 2,5; Erzurum'da % 5,9; Ankara'da % 4,1; Nevşehir'de % 2,0; Adapazarı % 3,4; İzmit'te % 1,8; Mersin'de % 6,7; Giresun'da % 8,0 ve İzmir'de % 6,7 oranlarında; *Candidatus*

*Mycoplasma haematoparvum* varlığını ise yukarıda belirtilen il sırası doğrultusunda % 3,3; % 2,0; % 2,0; % 0; % 1; % 0; % 9,4; % 6,0 ve % 15,0 oranlarında bulmuşlardır. Araştırmamız sonuçlarına genel olarak bakıldığında, elde edilen sonuçlar doğrultusunda % 12 oranında hemotropik mikoplazma prevalansı görülürken % 34 oranında ise *Mycoplasma wenyonii* olduğu görülmektedir. Bu hemotropik mikoplazma izolatlarının 6 (% 9)'sı *Mycoplasma haemocanis*, 5 (% 7)'i *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* ve 1 (% 1,5)'i *Candidatus Mycoplasma haemominutum* olarak tiplendirilmiştir.

Nijerya'da (Aquino ve ark, 2016), Avustralya'da (Barker ve ark, 2012), İspanya'da (Roura ve ark, 2010), Yunanistan'da (Tennant ve ark, 2011), İran'da (Torkan ve ark, 2014) *Mycoplasma haemocanis*, *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*'a göre daha yaygın bulunmuştur. Fransa (Kenny ve ark, 2004), Sudan (Inokuma ve ark, 2006) ve Amerika'da (Compton ve ark, 2012) yapılan köpek hemotropik mikoplazma çalışmaları ise *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*'un daha yaygın olduğunu tespit etmiştir. Araştırmamızda, *Mycoplasma haemocanis* ve *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* köpek hemotropik mikoplazma türlerinin yüzdeleri arasında büyük farkların olmadığı ve birbirine yakın değerlere sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca 6 *Mycoplasma haemocanis* izolatından 5 (% 83)'ünde, 5 *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* izolatının 3 (% 60)'ünde anemi tablosu görülmekte olup geriye kalan 4 köpek hemotropik mikoplazma izolatında anemi tablosunun görülmemesi dikkat çekmektedir.

Roura ve arkadaşları (2010) İspanya'daki sağlıklı ve hasta kedilerdeki hemotropik mikoplazma prevalansını araştırmıştır. Çalışma için 191 kedi kan alınmıştır. Kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınmış ve elde edilen DNA'lara qPCR analizi yapılmıştır. PCR analizleri sonucunda kedilerdeki hemotropik mikoplazma prevalansı; *Mycoplasma haemofelis*'te % 3,7, *Candidatus Mycoplasma haemominutum*'da % 9,9, *Candidatus Mycoplasma turicensis*'te % 0,5 olduğu tespit edilmiştir. Kedilerde hemotropik mikoplazmalar ile sağlık durumu, yaş, ırk, anemi varlığı arasında ilişki bulunmamıştır.

Tanahara ve arkadaşları (2010) Japonya'daki kedi hemoplazma infeksiyonlarının epidemiyolojik araştırmasını yapmak için 1770 kediden kan örneği toplamıştır. PCR analizleri yapılan örneklerden 468 (% 26,4)'ünde hemotropik mikoplazma varlığı ortaya konmuştur. Pozitif örneklerden 90 (% 5,1)'i *Mycoplasma haemofelis*, 372 (% 21,0)'sinin *Candidatus Mycoplasma haemominutum*, 118 (% 6,7)'inin *Candidatus Mycoplasma turicensis* olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada >2 yaş kedilerdeki prevalans % 30,8 iken <2 yaş kedilerdeki prevalans % 11,4 olarak tespit edilmiş ve yaş ile infeksiyon arasında ilişki olduğu belirtilmiştir.

Hemotropik mikoplazma pozitif örneklerin yaklaşık % 77'sini erkek kedilerin oluşturduğu bildirilmiş cinsiyetin de infeksiyonla ilişkisi olduğu vurgulanmıştır.

Santis ve arkadaşlarının (2014) Brezilya'da yaptıkları çalışmada 151 kediden (54 erkek, 95 dişi, 2 kayıtsız) tam kan örnekleri alınarak evcil ve sokak kedilerindeki hemotropik mikoplazma varlığını moleküler yöntemle araştırılmıştır. Örneklerin 55 (% 36,4)'inde hemotropik mikoplazma varlığı saptanmıştır. *Candidatus mycoplasma haemominutum* 23 (% 15,2), *Mycoplasma haemofelis* 17 (% 11,2) ve *Candidatus Mycoplasma turicensis* 15 (% 9,9) örnekte tespit edilmiştir. Çalışmada cinsiyet veya yaşam tarzının hemotropik mikoplazmalar üzerinde önemli bir etkisi olmadığı belirtilmiştir.

Bergmann ve arkadaşları (2017) kedilerdeki farklı hemoplazma türlerinin prevalanslarını araştırmak amacıyla 478 (298 erkek, 181 dişi) kediden kan örneği toplamıştır. Örneklerden elde edilen DNA'lar konvansiyonel PCR işlemine tabi tutulmuştur. Hemoplazma prevalansı % 9,4 bulunmuştur. *Candidatus M. haemominutum* DNA'sı 42 örnekte, *M. haemofelis* 2 örnekte, *M. haemocanis* 1 örnekte tespit edilmiştir. Hemoplazma pozitif örneklerden % 84,9' unu erkek olduğu ve yaş ortalamalarının 9 olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucuna göre yaş ve erkek cinsiyetin hemoplazma infeksiyonlarıyla arasında ilişki olduğu bildirilmiştir.

Aklilu ve arkadaşlarının (2016) Malezya'da yapmış olduğu çalışmada 60 adet sokak kedisinde *Mycoplasma haemofelis*'in moleküler tespiti yapılmıştır. Kan örnekleri EDTA'lı tüplere toplanmış frotileri yapılmış ve sitolojik muayenede Giemsa boyama ve DiffQuick boyama kullanılmıştır. Sitolojik muayenede 6 (% 10) örnekte *Mycoplasma haemofelis* görülmüştür. PCR analizlerinde ise 7 (% 11,7) örnekte *Mycoplasma haemofelis* tespit edilmiştir. *Mycoplasma haemofelis* prevalansı Brezilya'da % 2,5 (Braga ve ark, 2012), Amerika'da % 1,4 (Tasker ve ark, 2003), Yeni Zellanda'da % 7,5 (Jenkins ve ark, 2013) olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Ghazisaeedi ve arkadaşları (2017) İran'daki vahşi kedigillerdeki kedi hemoplazmaların moleküler karakterizasyonlarını araştırmak amacıyla 19 vahşi kedigilden kan örneği toplamıştır. Örneklerle yapılan PCR sonucunda 2 (% 10,5) örnekte *Mycoplasma haemominutum* tespit edilmiş *Mycoplasma haemofelis* ve *Candidatus Mycoplasma turicensis* tespit edilmemiştir. Sekansı yapılan 2 örneğin İran ve diğer ülkelerdeki izolatlarla % 97,7-% 99,45 oranında benzerlik gösterdiği bildirilmiştir.

Kamyngkird ve arkadaşları (2017) tarafından Tayland'da kedi hemoplazmalarının moleküler araştırması yapılmıştır. Örneklem için 1488 sokak kedisinden kan örnekleri toplanmıştır. Alınan kan örneklerinden frotileri yapılmış ve sitolojik muayene için Giemsa boyama

kullanılmıştır. Yapılan sitolojik muayenede 115 (% 11,68) örnekte hemoplazma varlığı tespit edilmiştir. Örneklerden 685 (% 46)'inde hemotropik mikoplazma varlığı tespit edilmiştir. Türlerin prevalansları; *Mycoplasma haemofelis* % 16,06 (239), *Candidatus Mycoplasma haemominutum* % 24,53 (365) ve *Candidatus Mycoplasma turicensis* % 1,55 (23) olarak belirlenmiştir.

Ravagnan ve arkadaşları (2017) İtalya'da kedi hemotropik mikoplazmalarının prevalansı ve moleküler karakterizasyonlarını araştırmıştır. Bu amaçla 227 kediden örnek toplanarak SYBR green real time PCR analizine tabi tutulmuştur. Kedilerdeki hemotropik mikoplazma prevalansı % 13,2 (30/227) olarak tespit edilmiştir. *Candidatus Mycoplasma haemominutum* 28 (% 12,3), *Candidatus Mycoplasma turicensis* 11 (% 4,8) ve *Mycoplasma haemofelis* 9 (% 4) örnekte pozitif bulunmuştur. Kedi hemotropik mikoplazmaları ile yaş, erkek cinsiyet ve FIV pozitiflik arasında ilişki olduğunu belirtmişlerdir.

Munhaz ve arkadaşları (2018) Brezilya'da doğal infekte kedilerdeki hemotropik mikoplazma prevalansını araştırmak için 200 kediden kan örneği toplamıştır. Örneklerde *Candidatus M. haemominutum* prevalansı % 19 (38/200), *M. haemofelis* prevalansı % 15,5 (31/200) ve *Candidatus M. turicensis* prevalansı % 9 (18/200) olduğu tespit edilmiştir. Sekans ve Blast analizi, 3 örnekte, *M. haemofelis* için, 8 örnekte *Candidatus M. haemominutum* için ve 1 örnekte *Candidatus M. turicensis* için 16S rRNA ampikonlarını doğrulamıştır. Elde edilen *M. haemofelis* sekansları GenBank'a daha önce kaydedilen (KM275246, KM275247) sekanslarıyla % 100, *Candidatus M. turicensis* sekansı (JQ689950) izolatu ile % 100 ve *Candidatus M. haemominutum* sekansları (KR905451, KR905457, KM275256, JQ689948) izolatları ile % 99-100 benzerlik göstermiştir.

Diaz ve arkadaşları (2018) İspanya'da kedilerdeki hemotropik mikoplazmaların prevalansını tespit etmek için 594 kedi kan örneği ile çalışmıştır. Yapılan PCR analizleri sonucunda Madrid'teki hemoplazma türlerinin prevalansı % 10,6 olarak belirlenmiştir. *Candidatus M. haemominutum* prevalansı % 8,1, *M. haemofelis* prevalansı % 3,7 ve *Candidatus M. turicensis* prevalansının % 0,5 olduğu bildirilmiştir.

Akkan ve arkadaşları (2005) Van kedilerinde Haemobartonellozis prevalansını belirlemek amacıyla 1-9 yaş aralığında 121 (72 dişi, 39 erkek) van kedisinden kan numunesi almıştır. Papenheim boyama yöntemiyle hazırlanan frotiler incelendiğinde 18 (% 14,88)'inde *Haemobartonella felis* (*M. haemofelis*) tespit edilmiştir.

Aslan ve arkadaşları (2010) Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerine halsizlik, apati ve sarılık şikâyetiyle gelen 3 yaşlı erkek kedide Giemsa boyama yöntemiyle *M. haemofelis* tespit ettiklerini belirtmişlerdir.



Aslan ve arkadaşları (2014) 3 yaşlı erkek bir kedide kan frotisinin mikroskopik bulgusu ve PCR ile 16S rRNA geni amplifikasyonu ile *M. haemofelis* tanımlaması yapıldıktan sonra taramalı elektron mikroskopisi ile de etkeni görüntülemiştir.

Çetinkaya ve arkadaşları (2016) İstanbul'daki kedi hemotropik mikoplazma prevalansını moleküler olarak tespit etmek amacıyla 384 sahipli kediden kan örnekleri toplamıştır. Örneklerle PCR ve RFLP analizleri uygulanmıştır. Kedilerde *M. haemofelis* prevalansı % 9,9, *Candidatus M. haemominutum* prevalansı % 17,7, *Candidatus M. turicensis* prevalansı % 0,8 olarak tespit edilmiştir.

Araştırmamızda, kedi örneklerinden yapılan Giemsa boyamalar sonucunda preparatların 4 (% 4)'ünde hemotropik mikoplazma varlığına rastlandı.

Araştırmamızda, kedi tam kan örneklerine yapılan hemogram analizi sonucunda, 100 örneğin 21 (% 21)'inde RBC miktarının standartlar altında olduğu görülmekte ve anemi tablosu gözlemlenmektedir. Anemi tablosu görülen 21 örneğin 6'sı dişi ve 15'i erkek kediye aittir. Anemi tablosu görülen kedilerin 5 (1D/4E) tanesi 0-1 yaş aralığında, 10 (2D/8E) tanesi 1-5 yaş aralığında, 4 (3D/1E) tanesi 5-10 yaş aralığında ve 2 erkek kedinin 10-15 yaş aralığında olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmamızda kedilere ait 100 adet tam kan örneğinden elde edilen DNA'lar kedi hemotropik mikoplazma 16S rRNA ve işlemine tabi tutulmuştur. Kedilere ait hemotropik mikoplazma 16S rRNA PCR ile *Candidatus Mycoplasma turicensis* 16S rRNA PCR işlemi sonucunda örneklerde pozitiflik saptanmamıştır.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Hemotropik mikoplazmalar, hücre duvarı olmayan, kırmızı kan hücre tropizmine sahip bakterilerdir ve kırmızı kan hücresi yüzeyinde tek tek veya zincir halinde bulunurlar. Hemotropik mikoplazma türleri dünya çapında dağılım göstermekte, insanları da içine alan birçok memeli türünde enfeksiyona neden olmaktadır. Hemotropik mikoplazma türleri kedi ve köpeklerde asemptomatik formdan, anemi, letarji ve ani ölüme kadar değişebilen klinik bulgulara neden olmaktadır. Hemotropik mikoplazma etkenlerinin identifikasyonlarının klasik yöntemlerle yapılamamasından dolayı moleküler teknikler ile tiplendirmelerinin yapılması günümüzde önemli bir yer almaktadır. Bu bağlamda, araştırmamızda kedi ve köpeklerde hemotropik mikoplazma varlığının ve karakterizasyonlarının moleküler teknikler kullanılarak ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.

Araştırmamızda kedi ve köpeklerden alınan tam kan örneklerinde hemotropik mikoplazma etkenlerinin varlığı PCR ile incelenmiştir. Köpek örnekleri (n=100)'nin 66 (%66)'sında hemotropik *Mycoplasma* sp. varlığı ortaya çıkarılırken, kedi örnekleri (n=100)'inde ise hemotropik *Mycoplasma* sp. varlığına rastlanmamıştır.

Köpek hemotropik *Mycoplasma* sp. izolatlarının sanger sekans ile yapılan tiplendirmeleri sonucunda, 66 örneğin 6 (%9,0)'sı *Mycoplasma haemocanis*; 5 (%7,6)'i *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*; 1 (% 1,5)'i *Candidatus Mycoplasma haemominutum*; 34 (%51,5)'ü *Mycoplasma wenyonii* olarak tiplendirilmiş ve 20 (%30,4) örnekte ise tiplendirme yapılamamıştır. Tiplendirilmesi yapılan 6 adet *Mycoplasma haemocanis* izolatından 5 (%83,0)'inde, 5 adet *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* izolatından 3 (%60,0)'ünde, 34 adet *Mycoplasma wenyonii* izolatının 20 (%59,0)'sinde anemi tablosu bulunduğu tespit edilirken, 18 (%27,2) örnekte ise anemi tablosu olmadığı belirlenmiştir.

Araştırmamızın sonucunda, köpek örneklerinde hemotropik mikoplazma türlerinin varlığı ortaya konulmuştur. Köpek örneklerinde elde edilen tiplendirmelerin bazılarında anemi tablosunun görülmemesi dikkat çekmektedir. Elde edilen tüm bu bilgiler doğrultusunda, Dünya'da ve ülkemizde hemotropik mikoplazma türlerinin varlıklarının araştırılması için moleküler yöntemlerin kullanılması ve filogenetik analizlerin planlı bir şekilde yapılarak hemotropik mikoplazmaların patojen türlerinin tamamının ortaya çıkarılması önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abd Rani PAM, Irwin PJ, Coleman GT, Gatne M, Traub RJ.** A survey of canine tick-borne diseases in India. *Parasites and Vectors* 2011, 4, 141.
- Akkan HA, Karaca M, Tütüncü M, Özdal N, Yüksek N, Ağaoğlu N, Değer S.** Haemobartonellosis in Van Cats. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2005, 29, 709-712.
- Aklilu E, Shaharunizim N, Francis JJ, Anurrdin SH.** Molecular investigation of Mycoplasma haemofelis in straycats in Kota Bharu, Kelantan. *Tropical Biomedicine* 2016, 33(4), 608–612.
- Aktaş M, Özübek S.** A molecular survey of hemoplasmas in domestic dogs from Turkey. *Veterinary Microbiology* 2018, 221, 81-91.
- Ameldev P, Tresamol PV.** Hemotropic Mycoplasmosis – Emerging cause of infectious anaemia in dogs and cats. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 2018, 7, 1.
- Andre MR, Adania CH, Allegretti SM, Machado RZ.** Hemoplasmas in wild canids and felids in Brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 2011, 42, 342-347.
- Aquinoa LC, Kamani J, Haruna AM, Paludo GR, Hicks CA, Helps CR, Tasker S.** Analysis of risk factors and prevalence of haemoplasma infection in dogs. *Veterinary Parasitology* 2016, 221, 111–117.
- Aslan Ö, İça A, Çam Y, Kibar M.** Kayseri'de Bir Kedide Haemobartonellozis Olgusu. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2010, 7(2), 131-135.
- Aslan Ö, Bekdik İK, İlgar EG.** Bir Kedide Mycoplasma haemofelis Enfeksiyonu ve Etkenin Taramalı Elektron Mikroskopi ile Görüntülenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2015, 21 (1), 131-134.
- Barker EN, Tasker S, Day MJ, Warmana SM, Woolley K, Birtles R, Georges KC, Ezeokoli CD, Newaj-Fyzul A, Campbell MD, Sparagano OAE, Cleaveland S, Helps CR.** Development and use of real-time PCR to detect and quantify Mycoplasma haemocanis and

“Candidatus *Mycoplasma haematoparvum*” in dogs. *Veterinary Microbiology* 2010, 140, 167–170.

**Barker EN, Langton DA, Helps CR, Brown G, Malik R, Shaw SE, Tasker S.** Haemoparasites of free-roaming dogs associated with several remote Aboriginal communities in Australia. *BMC Veterinary Research* 2012, 8, 55.

**Bauer N, Balzer HJ, Thure S, Moritz A.** Prevalence of feline haemotropic mycoplasmas in convenience samples of cats in Germany. *Journal of Veterinary Research* 2008, 10, 252 – 258.

**Baumann J, Novacco M, Willi B, Riond B, Meli ML, Boretti FS, Hofmann-Lehmann R.** Lack of cross-protection against *Mycoplasma haemofelis* infection and signs of enhancement in ‘Candidatus *Mycoplasma turicensis*’-recovered cats. *Journal of Veterinary Research* 2015, 46, 104.

**Berent LM, Messick JB, Cooper SK.** Detection of *Haemobartonella felis* in cats with experimentally induced acute and chronic infections, using a polymerase chain reaction assay. *American Journal of Veterinary Research* 1998, 59(10), 1215–1220.

**Bergmann M, Englert T, Stuetzer B, Hawley JR, Lappin MR, Hartmann K.** Risk factors of different hemoplasma species infections in cats. *BioMed Center Veterinary Research* 2017, 13(1), 52.

**Clark R.** *Eperythrozoon felis* (sp. nov.) in a domestic cat. *Journal of the South African Veterinary Association* 1942, 13, 15-16.

**Compton SM, Maggi RG, Breitschwerdt EB.** Candidatus *Mycoplasma haematoparvum* and *Mycoplasma haemocanis* infections in dogs from the United States. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 2012, 35, 557– 562.

**Criado-Fornelio A, Martinez-Marcos A, Buling-Sarana A, Barba-Carretero JC.** Presence of *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* and piroplasmids in cats from southern Europe: a molecular study. *Veterinary Microbiology* 2003, 93, 307-317.

**Çetinkaya H, Haktanir D, Arun S, Vurusaner C.** Molecular detection and prevalence of feline hemotropic mycoplasmas in Istanbul, Turkey. *Acta Parasitologica* 2016, 61(1), 165–171.

**de Lorimier LP, Messick JB.** Anemia associated with ‘Candidatus Mycoplasma haemominutum’ in a feline leukemia virus-negative cat with lymphoma. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2004, 40(5), 423–427.

**Dean RS, Helps CR, Gruffydd Jones TJ, Tasker S.** Use of real-time PCR to detect Mycoplasma haemofelis and ‘Candidatus M. haemominutum’ in the saliva and salivary glands of haemoplasma-infected cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2008, 10(4), 413–417.

**Diaz-Regañón D, Villaescusa A, Ayllón T, Rodríguez-Franco F, García-Sancho M, Agulla B, Sainz Á.** Epidemiological study of hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) in cats from central Spain. *Parasites & Vectors* 2018, 11, 140.

**Dowers KL, Olver C, Radecki SV, Lappin MR.** Use of enrofloxacin for treatment of large-form Haemobartonella felis in experimentally infected cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2002, 221, 250-253.

**Dowers KL, Tasker S, Radecki SV, Lappin MR.** Use of pradofloxacin to treat experimentally induced Mycoplasma haemofelis infection in cats. *American Journal of Veterinary Research* 2009, 70(1), 105–111.

**Foley JE, Harrus S, Poland A, Chomel B, Pedersen NC.** Molecular, clinical, and pathologic comparison of two distinct strains of Haemobartonella felis in domestic cats. *American Journal of Veterinary Research* 1998, 59(12), 1581–1588.

**Foley JE, Pedersen NC.** ‘Candidatus Mycoplasma haemominutum’, a low-virulence erpierythrocytic parasite of cats. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2001, 51, 815-817.

**Gary AT, Richmond HL, Tasker S, Hackett TB, Lappin MR.** Survival of Mycoplasma haemofelis and ‘Candidatus Mycoplasma haemominutum’ in blood of cats used for transfusions. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2006, 8(5), 321–326.

**Gentilini F, Novacco M, Turba ME, Willi B, Bacci ML, Hofmann-Lehmann R.** Use of combined conventional and realtime PCR to determine the epidemiology of feline haemoplasma infections in northern Italy. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2009, 11(4), 277–285.

**George JW, Rideout BA, Griffey SM, Pedersen NC.** Effect of preexisting FeLV infection or FeLV and feline immunodeficiency virus coinfection on pathogenicity of the small variant of *Haemobartonella felis* in cats. *American Journal of Veterinary Research* 2002, 63(8), 1172–1178.

**Ghazisaeedi F, Atyabi N, Salehi TZ, Tabatabaei S, Tamai IA, Memarian I, Tasker S.** Detection and molecular characterization of feline hemoplasmas in wild felid species in Iran in the Middle East. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 2017, 54, 1–6.

**Guo H, Sevinc Fe, Ceylan O, Sevinc M, Ince E, Gao Y, Moumouni PFA, Liu M, Efstratiou A, Wang G, Cao S, Zhou M, Jirapattharasate C, Ringo AE, Zheng W, Xuan X.** A PCR survey of vector-borne pathogens in different dog populations from Turkey. *Acta Parasitologica* 2017, 62(3), 533–540.

**Hamel D, Silaghi C, Lescai D.** Epidemiological aspects on vector-borne infections in stray and pet dogs from Romania and Hungary with focus on *Babesia* spp. *Parasitology Research* 2012, 110, 1537–1545.

**Hetzel NJL, Barker EN, Helps CR, Tasker S, Arteaga A, Barrs VR, Beatty J.** Prevalence of canine haemotropic mycoplasma infections in Sydney, Australia. *Veterinary Record* 2012, 171(5), 126.

**Hicks CA, Barker EN, Brady C, Stokes CR, Helps CR, Tasker S.** Non-ribosomal phylogenetic exploration of Mollicute species: new insights into haemoplasma taxonomy. *Infection, Genetics and Evolution* 2014, 23, 99–105.

**Hornok S, Meli ML, Gönczi E, Ignits E, Willi B, Lutz H, Hofmann-Lehmann R.** First molecular identification of ‘*Candidatus Mycoplasma haemominutum*’ from a cat with fatal haemolytic anaemia in Hungary. *Acta Veterinaria Hungaria* 2008, 56(4), 441–450.

**Hornok S, Meli ML, Perreten A, Farkas R, Willi B, Beugnet F, Lutz H, Hofmann-Lehmann R.** Molecular investigation of hard ticks (Acari: Ixodidae) and fleas (Siphonaptera: Pulicidae) as potential vectors of rickettsial and mycoplasmal agents. *Veterinary Microbiology* 2010, 140(1-2), 98-104.

**Hosseini SaR, Sekhavatmandi A, Khamesipour F.** PCR based analysis of Haemobartonellosis (Candidatus mycoplasma haematoparvum and Mycoplasma haemocanis) and its prevalence in dogs in Isfahan, Iran. *Bioscience Biotechnology Research Communications* 2017, 10(2), 187-191.

**Hulme-Moir KL, Barker EN, Stonelake A, Helps CR, Tasker S.** Use of real-time quantitative polymerase chain reaction to monitor antibiotic therapy in a dog with naturally acquired Mycoplasma haemocanis infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2010, 22, 582-587.

**Inokuma H, Oyamada Maremichi, Davoust Bernard, El Boni M, Dereure J, Bucheton B, Hammad A, Watanabe M, Itamoto K, Okuda M, Brouquih P.** Epidemiological Survey of Ehrlichia canis and Related Species Infection in Dogs in Eastern Sudan. *Annals New York Academy Of Sciences* 2006, 1078, 461–463.

**Jensen WA, Lappin MR, Kamkar S, Reagan WJ.** Use of a polymerase chain reaction assay to detect and differentiate two strains of Haemobartonella felis in naturally infected cats. *American Journal of Veterinary Research* 2001, 62(4), 604–608.

**Kamrani A, Parreira VR, Greenwood J, Prescott JF.** The prevalence of Bartonella, hemoplasma, and Rickettsia felis infections in domestic cats and cat fleas in Ontario. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2008, 72(5), 411–419.

**Kamyngkird K, Jiyipong T, Wongnarkpet S, Amavisit P, Tasker S, Stich RW, Jittapalpong S.** Association of Ehrlichia canis, Hemotropic Mycoplasma spp. and Anaplasma platys and severe anemia in dogs in Thailand. *Veterinary Microbiology* 2017, 1135(17), 30088-3.

**Kemming GI, Messick JB, Enders G, Boros M, Lorenz B, Muenzing S, Kisch-Wedel H, Mueller W, Hahmann-Mueller A, Messmer K, Thein E.** Mycoplasma haemocanis infection a kennel disease? *Comparative Medicine* 2004, 54, 404-409.

**Kenny MJ, Shaw SE, Beugnet F, Tasker S.** Demonstration of two distinct hemotropic mycoplasmas in French dogs. *Journal of Clinical Microbiology* 2004, 42, 5397- 5399.

**Kewish KE, Appleyard GD, Myers SL, , Kidney BA, Jackson ML.** Mycoplasma haemofelis and Mycoplasma haemominutum detection by polymerase chain reaction in cats from Saskatchewan and Alberta. *Canadian Veterinary Journal* 2004, 45, 749–752.

**Kikuth W.** Über einen neuen Anämeerreger: Bartonella canis nov. spec. *Wiener klinische Wochenschrift* 1928, 7, 1729-1730.

**Laberke S, Just F, Pfister K, Hartmann K.** Prevalence of hemoplasma infection in cats in southern Bavaria, Germany, and risk factor analysis. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* 2010, 123(1–2), 42–48.

**Lappin MR, Dingman P, Levy J, Hawley JR, Riley A.** Detection of hemoplasma DNA on the gingival and claw beds of naturally exposed cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008, 22(3), 779.

**Lappin MR, Griffin B, Brunt J, Riley A, Burney D, Hawley J, Brewer MM, Jensen WA.** Prevalence of Bartonella species, haemoplasma species, Ehrlichia species, Anaplasma phagocytophilum and Neorickettsia risticii DNA in the blood of cats and their fleas in the United States. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2006, 8(2), 85–90.

**Lappin MR.** Feline haemoplasmas are not transmitted by Ctenocephalides felis. 9th Symposium of the CVBD World Forum, 44-46, 2014, Lisbon, Portugal.

**Macieira DB, de Menezes RC, Damico CB, Almosny NR, McLane HL, Daggy JK, Messick JB.** Prevalence and risk factors for hemoplasmas in domestic cats naturally infected with feline immunodeficiency virus and/or feline leukemia virus in Rio de Janeiro—Brazil. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2008, 10, 120–129.

**Macieira DB, de Menezes Rde C, Damico CB, Almosny NR, McLane HL, Daggy JK, Maggi RG, Chitwood MC, Kennedy-Stoskopf S, DePerno CS.** Novel hemotropic Mycoplasma species in white-tailed deer (Odocoileus virginianus). *Comparative Immunology, Microbiology And Infectious Diseases* 2013, 36, 607–611.

**Messick JB, Berent LM, Cooper SK.** Development and evaluation of a PCR-based assay for detection of Haemobartonella felis in cats and differentiation of H. Felis from related bacteria by restriction fragment length polymorphism analysis. *Journal of Clinical Microbiology* 1998, 36(2), 462–6.



**Messick JB, Walker PG, Raphael W, Berent L, Shi X.** 'Candidatus mycoplasma haemodidelphidis' sp. nov., 'Candidatus mycoplasma haemolamae' sp. nov. and *Mycoplasma haemocanis* comb. nov., haemotrophic parasites from a naturally infected opossum (*Didelphis virginiana*), alpaca (*Lama pacos*) and dog (*Canis familiaris*): phylogenetic and secondary structural relatedness of their 16S rRNA genes to other mycoplasmas. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2002, 52, 693 – 698.

**Messick JB.** Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. *Veterinary Clinical Pathology* 2004, 33(1), 2-13.

**Messick JB.** Prevalence and risk factors for hemoplasmas in domestic cats naturally infected with feline immunodeficiency virus and/or feline leukemia virus in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2008, 10(2), 120–129.

**Munhoz AD, Simões IGPC, Calazans APF, Macedo LS, Cruz RDS, Lacerda LC, Abou Said R, André MR.** Hemotropic mycoplasmas in naturally infected cats in Northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 2018, 27(4) 446-454.

**Museux K, Boretti FS, Willi B, Riond B, Hoelzle K, Hoelzle LE, Wittenbrink MM, Tasker S, Wengi N, Reusch CE, Lutz H, Hofmann-Lehmann R, Willi B.** In vivo transmission studies of 'Candidatus *Mycoplasma turicensis*' in the domestic cat. *Journal of Veterinary Research* 2009, 40(5), 45.

**Nascimento NC, Santos AP, Guimaraes AMS, SanMiguel PJ, Messick JB.** *Mycoplasma haemocanis* – the canine hemoplasma and its feline counterpart in the genomic era. *Veterinary Research* 2012, 43, 66.

**Neimark H, Johansson KE, Rikihisa Y, Tully JG.** Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of 'Candidatus *Mycoplasma haemofelis*', 'Candidatus *Mycoplasma haemomuris*', 'Candidatus *Mycoplasma haemosuis*' and 'Candidatus *Mycoplasma wenyonii*'. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2001, 51(3), 891–899.

**Novacco M, Meli ML, Gentilini F, Marsilio F, Ceci C, Pennisi MG, Lombardo G, Lloret A, Santos L, Carrapiço T, Willi B, Wolf G, Lutz H, Hofmann-Lehmann R.** Prevalence and geographical distribution of canine hemotropic mycoplasma infections in Mediterranean

countries and analysis of risk factors for infection. *Veterinary Microbiology* 2010, 142(3-4), 276-284.

**Novacco M, Boretti FS, Wolf-Jäckel GA, Riond B, Meli ML, Willi B, Lutz H, Hofmann-Lehmann R.** Chronic "Candidatus *Mycoplasma turicensis*" infection. *Veterinary Research* 2011, 42(1), 59.

**Novacco M, Wolf-Jäckel G, Riond B, Hofmann-Lehmann R.** Humoral immune response to a recombinant hemoplasma antigen in experimental 'Candidatus *Mycoplasma turicensis*' infection. *Veterinary Microbiology* 2012, 157, 464-470.

**Peters IR, Helps CR, Willi B, Hofmann-Lehmann R, Tasker S.** The prevalences of three species of feline hemoplasmas in samples submitted to a diagnostics service as determined by three novel real-time duplex PCR assays. *Veterinary Microbiology* 2008, 126(1-3), 142-50.

**Raskin RE, Wardrop KJ.** Species Specific Hematology. In: Weiss DJ, Wardrop KJ. (Eds). *Schalm's Veterinary Hematology*, 6. Baski. Iowa, Blackwell Publishing, ABD; 2010. p. 799-820.

**Ravagnan S, Carli E, Piseddu E, Da Rold G, Porcellato E, Zanardello C, Carminato A, Vascellari M, Capelli G.** Prevalence and molecular characterization of canine and feline hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas) in northern Italy. *Parasites and Vectors* 2017, 10, 132.

**Reynolds CA, Lappin MR.** 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' infections in 21 client-owned cats. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2007, 43(5), 249-257.

**Roura X, Peters IR, Altet L, Tabar MD, Barker EN, Planellas M, Helps CR, Francino O, Shaw SE, Tasker S.** Prevalence of hemotropic mycoplasmas in healthy and unhealthy cats and dogs in Spain. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2010, 22, 270-272.

**Santis ACGA, Herrera HM, Sousa KCM, Gonçalves LR, Denardi NCB, Demingos IH, Campos JBV, Machado RZ, Andre MR.** Molecular detection of hemotropic mycoplasmas among domiciled and free-roaming cats in Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 2014, 23(2), 231-236.

**Sanger F, Nicklen S, Coulson R.** DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *National Academy of Sciences of USA* 1977, 74(12), 5463-5467.

**Santos AP, Messick JB, Biondo AW, Oliveira ST, Pedralli V, Lasta CS, Lacerda LA, Esteves VS, Hofmann-Lehmann R, Willi B, González FH.** Design, optimization, and application of a conventional PCR assay with an internal control for detection of 'Candidatus *Mycoplasma turicensis*' 16S rDNA in domestic cats from Brazil. *Veterinary Clinical Pathology* 2009, 38(4), 443–452.

**Santos AP, Guimaraes AM, do Nascimento NC, Sanmiguel PJ, Martin SW, Messick JB.** Genome of *Mycoplasma haemofelis*, unraveling its strategies for survival and persistence. *Journal of Veterinary Research* 2011, 42, 102.

**Santos AP, Conrado FO, Messick JB, Biondo AW, Oliveira ST, Guimaraes AM, Nascimento NC, Pedralli V, Lasta CS, González FH.** Hemoplasma prevalence and hematological abnormalities associated with infection in three different cat populations from Southern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 2014, 23(4), 428-434.

**Sasaki M, Ohta K, Matsuu A, Hirata H, Ikadai H, Oyamada T.** A molecular survey of *Mycoplasma haemocanis* in dogs and foxes in Aomori Prefecture, Japan. *Journal of Protozoology Research* 2008, 18, 57 – 60.

**Schabereiter-Gurtner C, Lubitz W, Rölleke S.** Application of broad-range 16S rRNA PCR amplification and DGGE fingerprinting for detection of tick-infecting bacteria. *Journal of Microbiological Methods* 2003, 52(2), 251–260.

**Shaw SE, Kenny MJ, Tasker S, Birtles RJ.** Pathogen carriage by the cat flea *Ctenocephalides felis* (Bouche´) in the United Kingdom. *Veterinary Microbiology* 2004, 102(3–4), 183–8.

**Soto F, Walker R, Sepulveda M, Bittencourt P, Jamett GA, Müller A.** Occurrence of canine hemotropic mycoplasmas in domestic dogs from urban and rural areas of the Valdivia Province, southern Chile. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 2017, 50, 70-77.

**Steer JA, Tasker S, Barker EN, Jensen J, Mitchell J, Stocki T, Chalker VJ, Hamon M.** A novel hemotropic mycoplasma (hemoplasma) in a patient with hemolytic anemia and pyrexia. *Clinical Infectious Diseases* 2011; 53, 147–151.

**Sykes JE, Bailiff NL, Ball LM, Foreman O, George JW, Fry MM.** Identification of a novel hemotropic mycoplasma in a splenectomized dog with hemic neoplasia. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2004, 224, 12, 1946-1951.

**Sykes JE, Ball LM, Bailiff NL, Fry MM.** 'Candidatus Mycoplasma haematoparvum', a novel small haemotropic mycoplasma from a dog. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2005, 55(P1), 27-30.

**Sykes JE, Drazenovich NL, Ball LM, Leutenegger CM.** Use of conventional and real-time polymerase chain reaction to determine the epidemiology of hemoplasma infections in anemic and nonanemic cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2007, 21(4), 685–693.

**Sykes JE, Terry JC, Lindsay LL, Owens SD.** Prevalences of various hemoplasma species among cats in the United States with possible hemoplasmosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2008, 232(3), 372–379.

**Sykes JE.** Feline Hemotropic Mycoplasmas. *Veterinary Clinics Small Animal Practice* 2010, 40, 1157–1170.

**Sykes JE, Tasker S.** Hemoplasma Infections. In: *Canine and Feline Infectious Disease*. Elsevier Saunders, Missouri, 2013, 390-399.

**Tanahara Miki, Miyamoto S, Nishio T, Yoshu Y, Sakuma Masato, Sakata Y, Nishigaki K, Tsujimoto H, Setoguchi A, Endo Y.** An Epidemiological Survey of Feline Hemoplasma Infection in Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science* 2010, 72(12), 1575–1581.

**Taroura S, Shimada Y, Sakata Y, Miyama T, Hiraoka H, Watanabe M, Itamoto K, Okuda M, Inokuma H.** Detection of DNA of 'Candidatus Mycoplasma haemominutum' and Spiroplasma spp. in unfed ticks collected from vegetation in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 2005, 67(12), 1277–1279.

**Tasker S, Lappin MR.** Haemobartonella felis: recent developments in diagnosis and treatment. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2002, 4(1), 3-11.

**Tasker S, Binns SH, Day MJ, Gruffydd-Jones TJ, Harbour DA, Helps CR, Jensen WA, Olver CS, Lappin MR.** Use of a PCR assay to assess the prevalence and risk factors for

*Mycoplasma haemofelis* and 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' in cats in the United Kingdom. *Veterinary Record* 2003a, 152, 193 – 198.

**Tasker S, Helps CR, Day MJ, Harbour DA, Gruffydd-Jones TJ, Lappin MR.** Use of a Taqman PCR to determine the response of *Mycoplasma haemofelis* infection to antibiotic treatment. *Journal of Microbiological Methods* 2004, 56, 63 – 71.

**Tasker S, Caney SM, Day MJ, Dean RS, Helps CR, Knowles TG, Lait PJ, Pinches MD, Gruffydd-Jones TJ.** Effect of chronic feline immunodeficiency infection, and efficacy of marbofloxacin treatment, on 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' infection. *Microbes and Infection* 2006, 8(3), 653–661.

**Tasker S, Peters IR, Papasouliotis K, Cue SM, Willi B, Hofmann-Lehmann R, Gruffydd-Jones TJ, Knowles TG, Day MJ, Helps CR.** Description of outcomes of experimental infection with feline haemoplasmas: copy numbers, haematology, Coombs' testing and blood glucose concentrations. *Veterinary Microbiology* 2009, 139(3–4), 323–332.

**Tasker S.** Haemotropic mycoplasmas: what's the real significance in cats? *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2010, 12, 369–381.

**Tasker S, Hofmann-Lehmann R, Belák S, Frymus T, Addie DD, Pennisi MG, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Hartmann K, Hosie MJ, Lloret A, Marsilio F, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Möst K.** Haemoplasmosis in cats: European guidelines from the ABCD on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2018, 20(3), 256-261.

**Tennant KV, Barker EN, Polizopoulou Z, Helps CR, Tasker S.** Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of haemoplasmas in healthy and unhealthy dogs from Central Macedonia, Greece. *Journal of Small Animal Practice* 2011. 52, 645–649.

**Torkan S, Aldavood SJ, Rafie SM, Hejazi H, Shirani D, Momtaz H.** Prevalence and risk factor analysis of *Haemobartonella felis* in cats using direct blood smear and PCR assay. *Comparative Clinical Pathology* 2013, 22, 1103–1109.

**Valle SF, Messick JB, Santos AP, Kreutz LC, Duda NC, Machado G, Corbellini LG, Biondo AW, Gonzalez FHD.** Identification, occurrence and clinical findings of canine hemoplasmas in southern Brazil. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* 2012, 37, 259–265.

**Varanat M, Maggi RG, Linder KE, Breitschwerdt EB.** Molecular prevalence of Bartonella, Babesia, and hemotropic Mycoplasma sp. in dogs with splenic disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2011, 25, 1284-1291.

**Warman SM, Helps CR, Barker EN, Day S, Sturgess K, Day MJ, Tasker S.** Haemoplasma infection is not a common cause of canine immune-mediated haemolytic anaemia in the UK. *Journal of Small Animal Practice* 2010, 51, 534–539.

**WEB\_1.** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=136241&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> (28.05.2019).

**WEB\_2.** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> (28.05.2019).

**WEB\_3.** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=29501&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> (28.05.2019).

**WEB\_4.** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=209446&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> (28.05.2019).

**WEB\_5.** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> (28.05.2019).

**Weingart C, Tasker S, Kohn B.** Infection with haemoplasma species in 22 cats with anaemia. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2016, 18, 129–136.

**Wengi N, Willi B, Boretti FS, Cattori V, Riond B, Meli ML, Reusch CE, Lutz H, Hofmann-Lehmann R.** Real-time PCR based prevalence study, infection follow-up and molecular characterization of canine haemotropic mycoplasmas. *Veterinary Microbiology* 2008, 126, 132–141.

**Westfall DS, Jensen WA, Reagan WJ, Radecki SV, Lappin MR.** Inoculation of two genotypes of Haemobartonella felis (California and Ohio variants) to induce infection in cats and the response to treatment with azithromycin. *American Journal of Veterinary Research* 2001, 62(5), 687–691.

**Willi B, Boretti FS, Cattori V, Tasker S, Meli ML, Reusch C, Lutz H, Hofmann-Lehmann R.** Identification, molecular characterization, and experimental transmission of a new hemoplasma isolate from a cat with hemolytic anemia in Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology* 2005, 43(6), 2581–2585.

**Willi B, Boretti FS, Baumgartner C, Tasker S, Wenger B, Cattori V, Meli ML, Reusch CE, Lutz H, Hofmann-Lehmann R.** Prevalence, risk factor analysis, and follow-up of infections caused by three feline hemoplasma species in cats in Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology* 2006, 44, 961–969.

**Willi B, Boretti FS, Meli ML, Bernasconi MV, Casati S, Hegglin D, Puorger M, Neimark H, Cattori V, Wengi N, Reusch CE, Lutz H, Hofmann-Lehmann R.** Real-time PCR investigation of potential vectors, reservoirs, and shedding patterns of feline hemotropic mycoplasmas. *Applied and Environmental Microbiology* 2007b, 73(12), 3798–3802.

**Willi B, Meli ML, Lüthy R, Honegger H, Wengi N, Hoelzle LE, Reusch CE, Lutz H, Hofmann-Lehmann R.** Development and application of a universal hemoplasma screening assay based on the SYBR green PCR principle. *Journal of Clinical Microbiology* 2009, 47(12), 4049–4054.

**Willi B, Novacco M, Meli M, Wolf-Jäckel G, Boretti F, Wengi N, Lutz H, Hofmann-Lehmann R.** Haemotropic mycoplasmas of cats and dogs: transmission, diagnosis, prevalence and importance in Europe. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2010, 152(5), 237-244.

**Woods JE, Brewer MM, Hawley JR, Wisnewski N, Lappin MR.** Evaluation of experimental transmission of ‘Candidatus Mycoplasma haemominutum’ and *Mycoplasma haemofelis* by *Ctenocephalides felis* to cats. *American Journal of Veterinary Research* 2005, 66(6), 1008–1012.

**Woods JE, Wisnewski N, Lappin MR.** Attempted transmission of *Candidatus Mycoplasma haemominutum* and *Mycoplasma haemofelis* by feeding cats infected *Ctenocephalides felis*. *American Journal of Veterinary* 2006, 67, 494 – 497.

**Yuan CL, Liang AB, Yao CB, Yang ZB, Zhu JG, Cui L, Yu F, Zhu NY, Yang XW, Hua XG.** Prevalence of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) infection in swine and swine-farm workers in Shanghai, China. *American Journal of Veterinary* 2009, 70, 890 – 894.

## ÖZGEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : YÜKSEL Hafize Tuğba  
**Uyruk** : T.C.  
**Doğum yeri ve tarihi** : Eskişehir-01.09.1987  
**Telefon** : 0256 2470707-6061  
**E-mail** : tugba.yuksel@adu.edu.tr  
**Yabancı Dil** : İngilizce (YÖKDİL: 80; YDS: 77,5)

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	Devam Ediyor
Y. Lisans	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi	2013
Lisans	Akdeniz Üniversitesi	2010

### İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2015-	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	Araş. Gör.

### AKADEMİK YAYINLAR

#### Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. Kırcan Şükrü, Parın Uğur, **Yüksel Hafize Tuğba**, Oklay Mehmet Ali (2018). Molecular Identification of Aerococcus viridans Associated with Bovine Mastitis and Determination of Antibiotic Susceptibilities. Archives of Animal Husbandry Dairy Science, 1(1), 1-5.
2. Kırcan Şükrü, Parın Uğur, Aşçı İhsan Barış, **Yüksel Hafize Tuğba** (2018). Investigation of Enterotoxigenic Escherichia coli Species Which Take Role in Calf Diarrhea and Detection of their Antimicrobial Susceptibility. Approaches in Poultry, Dairy Veterinary Sciences, 4(5), 1-6., Doi: 10.31031/APDV.2018.05.000601
3. Kırcan Şükrü, Parın Uğur, Tanır Tansu, **Yüksel Hafize Tuğba** (2018). Identification of the Staphylococcus Species Which Cause Cattle Mastitis Using MALDI-TOF MS.



- Approaches in Poultry, Dairy Veterinary Sciences, 4(2), 1-7., Doi: 10.31031/APDV.2018.04.000583
4. Kırcan Şükrü, Parın Uğur, Kutu Ayşegül, **Yüksel Hafize Tuğba** (2018). Serotyping of Salmonella Species in Poultry and Investigation of Antibiotic Susceptibilities. Approaches in Poultry, Dairy Veterinary Sciences, 4(2), 1-6., Doi: 10.31031/APDV.2018.04.000585
  5. Parın Uğur, Kırcan Şükrü, Özdemir Fatma Özge, **Yüksel Hafize Tuğba** (2018). Isolation of Major Pathogens from Cattle with Subclinical Mastitis and Determination of Antibiotic Susceptibilities. Approaches in Poultry, Dairy Veterinary Sciences, 3(4), 1-6., Doi: APDV.000566.2018
  6. Parın Uğur, Kırcan Şükrü, Arslan Süleyman Sefa, **Yüksel Hafize Tuğba** (2018). Molecular identification and antimicrobial resistance of Escherichia fergusonii and Escherichia coli from dairy cattle with diarrhoea. Veterinární Medicína, 63(No. 3), 110-116., Doi: 10.17221/156/2017-VETMED
  7. Erbaş Göksel, Parın Uğur, Kırcan Şükrü, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba**, Balat Gamze (2018). Molecular identification of Tick-Borne zoonotic bacteria in one humped camel (Camelus dromedarius). Journal of Camel Practice and Research, 25(1), 89-92., Doi: 10.5958/2277-8934.2018.00013.9
  8. Parın Uğur, Kırcan Şükrü, Ural Kerem, Savaşan Serap, Erbaş Göksel, Gültekin Mehmet, **Yüksel Hafize Tuğba**, Balıkcı Canberk (2018). Molecular identification of Corynebacterium pseudotuberculosis in sheep. Acta Veterinaria Brno, 87(1), 3-8., Doi: 10.2754/avb201887010003
  9. Parın Uğur, Erbaş Göksel, Ural Kerem, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba**, Balat Gamze, Kırcan Şükrü (2017). Investigation Of Bacterial And Fungal Agents From Cutaneous Lesions In Canine Leishmaniasis. Indian Journal Of Animal Research, Doi: 10.18805/İjar.B-696
  10. Parın Uğur, Kırcan Şükrü, Çiçek Erdem, **Yüksel Hafize Tuğba** (2017). Detection of Virulence Genes in Streptococcus uberis Isolated from Bovine Mastitis in Aydın Province by Multiplex Polymerase Chain Reaction. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 31(3), 213-219.
  11. Parın Uğur, Kırcan Şükrü, Sayın Melih, **Yüksel Hafize Tuğba** (2017). Mastitisli Sığır Sütlerinde Listeria monocytogenes Varlığının Araştırılması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 31(3), 221-226.

12. Erbaş Göksel, Parın Uğur, Kırcan Şükrü, Savaşan Serap, Özavcı Volkan, **Yüksel Hafize Tuğba** (2017). Identification of Candida strains with nested PCR in bovinemastitis and determination of antifungal susceptibilities. *TURKISH JOURNAL OF VETERINARY AND ANIMAL SCIENCES*, 41, 757-763., Doi: 10.3906/vet-1704-39
13. Erbaş Göksel, Parın Uğur, Kırcan Şükrü, Türkyılmaz Süheyla, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba**, Öztürk Sinem (2017). Antifungal susceptibilities and identification of Candida species by using maldi-tof microbial identification system from cervicovaginal samples. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 5(12), 5117, Doi: 10.18203/2320-6012.ijrms20175429
14. Parın Uğur, Erbaş Göksel, Kırcan Şükrü, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba**, Balat Gamze (2017). Detection of Candida species by nested PCR method in one-humped camels (*Camelus dromedarius*). *Tropical Animal Health and Production*, Doi: 10.1007/s11250-017-1452-z
15. Parın Uğur, Erbaş Göksel, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba**, Gürpınar Saadet, Kırcan Şükrü (2017). Antimicrobial resistance of *Vibrio* (*Listonella*) *anguillarum* isolated from rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*). *Indian Journal of Animal Research*, 1-4., Doi: 10.18805/ijar.v0iOF.7251
16. Erbaş Göksel, Parın Uğur, Kırcan Şükrü, Ural Kerem, **Yüksel Hafize Tuğba**, Balat Gamze (2016). Identification of bacterial pathogens that cause urinary tract infections and detection of their antibiotic susceptibility. *Indian Journal of Animal Research*, Doi: 10.18805/ijar.11174
17. Parın Uğur, Erbaş Göksel, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba**, Gürpınar Saadet, Kırcan Şükrü (2016). Investigation of antimicrobial resistance of *Photobacterium damsela* subsp *piscicida* strains in sea bass *dicentrarchus labrax* and gilthead sea bream *sparus aurata*. *International Journal of Recent Scientific Research*, 7(5), 10882-10886.

**Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:**

1. Erbaş Göksel, Kırcan Şükrü, Savaşan Serap, Parın Uğur, Özavcı Volkan, **Yüksel Hafize Tuğba** (2018). Identification of Candida Strains with Nested PCR in Bovine Mastitis and Determination of Antifungal Susceptibilities. 2nd International Congress of Veterinary Microbiology, 71-75. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)

2. Kırkan Şükrü, Parın Uğur, **Yüksel Hafize Tuğba**, Erinç Saliha Melda (2018). Investigation of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* Prevalance in Cats. 2nd International Congress of Veterinary Microbiology, 85-89. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
3. Parın Uğur, Kırkan Şükrü, Arslan Süleyman Sefa, **Yüksel Hafize Tuğba** (2018). Moleculer Identification and Antimicrobial Resistance of *Escherichia fergusonii* and *Escherichia coli* from Dairy Cattle with Diarrhoea. 2nd International Congress of Veterinary Microbiology, 76-80. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
4. Kırkan Şükrü, Parın Uğur, **Yüksel Hafize Tuğba**, Aycen Uğur (2018). Investigation of the Presence of *Aspergillus Flavus* in Mastitis Milk with PCR. 2nd International Congress of Veterinary Microbiology, 94-96. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
5. Kırkan Şükrü, Parın Uğur, **Yüksel Hafize Tuğba**, Gültekin Gamze (2018). Antimicrobial Resistance of *Enterococcus faecium* Isolated from Urinary System of Dogs. 2nd International Congress of Veterinary Microbiology, 90-93. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
6. Parın Uğur, Kırkan Şükrü, Savaşan Serap, Erbaş Göksel, **Yüksel Hafize Tuğba** (2018). Molecular Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Sheep. 2nd International Congress of Veterinary Microbiology, 81-84. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
7. Kaya Osman, **Yüksel Hafize Tuğba**, Kırkan Şükrü, Türkyılmaz Süheyla, Savaşan Serap, Erbaş Göksel, Parın Uğur, Akan Mehmet, Diker Kadir Serdar (2018). Differences in the Magnitude of Cytotoxic Activities of *Mannheimia* and *Biberstenia* Serotypes Associated with Ovine Pneumonia. 2nd International Congress of Veterinary Microbiology, 125-127. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
8. Erbaş Göksel, Parın Uğur, Kırkan Şükrü, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba** (2018). Tek Hörgüçlü Develerde (*Camelus dromedarius*) Kene Kökenli Zoonotik Bakterilerin Moleküler İdentifikasyonunun Araştırılması. II. Uluslararası Selçuk-Efes Devecilik Kültürü ve Deve Güreşleri Sempozyumu (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
9. Parın Uğur, Erbaş Göksel, Kırkan Şükrü, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba** (2018). Tek Hörgüçlü Develerde (*Camelus dromedarius*) *Candida* Türlerinin Nested PCR ile Araştırılması. II. Uluslararası Selçuk-Efes Devecilik Kültürü ve Deve Güreşleri Sempozyumu (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)

10. Erdoğan Hasan, Parın Uğur, **Yüksel Hafize Tuğba**, Ural Kerem, Kırcan Şükrü (2018). Develerin Deri Lezyonlarında Dermatofit Etkenlerinin Araştırılması. II. Uluslararası Selçuk-Efes Devecilik Kültürü ve Deve Güreşleri Sempozyumu (Özet Bildiri/Poster)
11. Kırcan Şükrü, Parın Uğur, Erbaş Göksel, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba**, Gürpınar Saadet (2016). Antibacterial efficacies of Vibrio anguillarum strains isolated from rainbow trouts Oncorhynchus mykiss. The 3RD International Congress VETISTANBUL Group

#### **Yazılan ulusal/uluslararası kitaplardaki bölümler:**

1. VETERİNER FARMAKOVİJİLANS, Bölüm adı:(Aşıların Güvenliği ve Aşılarla Bağlı İstenmeyen Etkiler) (2018)., Kırcan Şükrü, Parın Uğur, Erbaş Göksel, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba**, Türkiye Klinikleri, Editör:SEKKİN SELİM, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 132, ISBN:978-605-7505-39-2, Türkçe(Bilimsel Kitap)

#### **Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:**

1. Özavcı Volkan, Parın Uğur, **Yüksel Hafize Tuğba**, Kırcan Şükrü (2017). Identification of Pathogen Bacteria from Bovine Mastitis In Yozgat Province And Determination of Antimicrobial Susceptibility. Animal Health, Production and Hygiene, 6(1), 454-458.

#### **Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:**

1. Parın Uğur, Erbaş Göksel, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba**, Balat Gamze, Kırcan Şükrü (2016). Tek Hörgüçlü Develerde Camelus dromedarius Kene Kökenli Zoonotik Bakterilerin Varlığının Araştırılması. XII. Ulusal Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı)
2. Erbaş Göksel, Parın Uğur, Savaşan Serap, **Yüksel Hafize Tuğba**, Balat Gamze, Kırcan Şükrü (2016). Tek Hörgüçlü Develerde Camelus dromedarius Candida Türlerinin Nested PCR ile Araştırılması. XII. Ulusal Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı)