



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI  
VPR- DR- 2011-0001

**AYDIN YÖRESİNDE SIĞIR VE KENELERDE  
*Ehrlichia/Anaplasma* TÜRLERİNİN KARAKTERİZASYONU**

**HAZIRLAYAN: Veteriner Hekim Murat HOŞGÖR**

**DANIŞMAN: Prof. Dr. Hasan EREN**

**AYDIN- 2011**

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI  
VPR-DR-2011-0001**

**AYDIN YÖRESİNDE SIĞIR VE KENELERDE  
*Ehrlichia/Anaplasma* TÜRLERİNİN KARAKTERİZASYONU**

**HAZIRLAYAN: Veteriner Hekim Murat HOŞGÖR**

**DANIŞMAN: Prof. Dr. Hasan EREN**

**AYDIN- 2011**



## ÖNSÖZ

Türkiye, coğrafi konumu itibarıyla, riketsiyal, viral, bakteriyel ve paraziter hastalıkların yaygın şekilde görüldüğü bir bölgede yer almaktadır. Bölge iklimi, direk etkileri yanında pek çok hastalığı taşıma potansiyeli olan keneler içinde uygun bir ortam oluşturmaktadır. Kene ile bulaşan hastalıklardan theileriosis, babesiosis, anaplasmosis ve ehrlichiosis hayvan yetiştiriciliğini etkileyen protozoal ve riketsiyal etkenlerin neden olduğu hastalıklardır. *Anaplasmatacea* ailesinde yer alan *Ehrlichia* ve *Anaplasma* soyuna bağlı sığırlarda bulunan türler, *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma phagocytophilum* ve *Ehrlichia ruminantum*'dur. *Ehrlichia ruminantum*'un Türkiye'de vektörü (*Amblyomma türü keneler*) bulunmadığından etkene ülkemizde rastlanmamıştır. *Anaplasma* soyu içerisinde en patojen tür *Anaplasma marginale* olmakla birlikte diğer türlerde verim düşüklüklerine neden olarak ekonomik kayıplara yol açabilmektedir.

Sığırlarda hastalık oluşturan *Anaplasma* türlerinin mikroskopik muayenede teşhisi paraziteminin düşük olduğu durumlarda zordur. Serolojik testler de, türler arasında çapraz reaksiyonların oluşmasından dolayı *Anaplasma* türlerinin ayırt edilmesinde uygun bir yöntem değildir. Moleküler yöntemler ise yüksek sensivite ve spesifitesinden dolayı *Anaplasma* türlerinin tespitinde kullanılan en duyarlı tanı yöntemidir. Bu çalışmada, moleküler yöntemler (PZR ve Nested PZR) kullanılarak Aydın Yöresi'nde bulunan sığır ve kenelerde *Anaplasma* türlerinin varlığını araştırmak ve pozitif örneklerde bulunan etkenlerin karakterizasyonunu belirlemek amaçlanmıştır.

Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Programı (BAP) tarafından desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>KABUL VE ONAY</b>	<b>i</b>
ÖNSÖZ	<b>ii</b>
İÇİNDEKİLER	<b>iii</b>
SİMGELER VE KISALTMALAR	<b>v</b>
ÇİZELGELER	<b>vii</b>
RESİMLER	<b>ix</b>
ŞEKİLLER	<b>x</b>
EKLER	<b>xi</b>
<b>BÖLÜM 1. GİRİŞ</b>	
1.1. Genel Bilgi	<b>1</b>
1.2. Morfolojik Özellikleri	<b>7</b>
1.3. Bulaşma ve Yaşam Çemberi	<b>8</b>
1.4. <i>Ehrlichia</i> ve <i>Anaplasma</i> Türlerinde Bağışıklık	<b>9</b>
1.5. Epidemiyoloji	<b>11</b>
1.6. Klinik Bulgular ve Patogenez	<b>14</b>
1.7. Teşhis	<b>18</b>
1.7.1. Mikroskopik Bakı	<b>18</b>
1.7.2. Serolojik Yöntemler	<b>19</b>
1.7.3. Moleküler Yöntemler	<b>20</b>
1.8. Tedavi ve Koruma	<b>21</b>
<b>BÖLÜM 2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	
2.1. Çalışmada Kullanılan Parazit Materyali ve DNA'nın Ayrılması	<b>25</b>
2.2. <i>Anaplasma</i> Türlerinin PZR ile Tespiti	<b>29</b>
2.3. Çoğaltılan PZR Ürünlerinin Dizilim Analizleri İçin Klonlanması	<b>31</b>
<b>BÖLÜM 3. ARAŞTIRMA BULGULARI</b>	
3.1. Kan Örneklerine Ait Sonuçlar	<b>34</b>
3.1.1. <i>Ehrlichia/Anaplasma</i> Soy PZR Sonuçları	<b>34</b>
3.1.2. <i>Anaplasma marginale</i> PZR Sonuçları	<b>35</b>
3.1.3. <i>Anaplasma centrale</i> PZR Sonuçları	<b>37</b>
3.1.4. <i>Anaplasma bovis</i> Nested PZR Sonuçları	<b>39</b>
3.1.5. <i>Anaplasma phagocytophilum</i> Nested PZR Sonuçları	<b>44</b>

3.2. Toplanan Kenelerin PZR Sonuçları	48
3.3. Sekans Analiz Sonuçları	54
<b>BÖLÜM 4. TARTIŞMA</b>	<b>57</b>
<b>BÖLÜM 5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>63</b>
<b>ÖZET</b>	<b>64</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>65</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>66</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>74</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>75</b>
<b>EKLER</b>	<b>76</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bp	:	Baz çifti
CAT	:	Kart Aglutinasyon Testi
CELISA	:	Complement enzyme-linked immunosorbent assay
CF	:	Komplement Fikzasyon
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
dNTP	:	Deoksinükleosid trifosfat
ELISA	:	Enzim İşaretli İmmunosorbant Testi
HGA	:	Human Granulocytic Anaplasmosis
IFAT	:	İndirekt Floresan Antikor
Kb	:	Kilobaz
KCl	:	Potasayum Klorür
kDa	:	Kilo Dalton
kg	:	Kilogram
M	:	Molar
mg	:	Miligram
µg	:	Mikrogram
MgCl <sub>2</sub>	:	Magnezyum klorür
MgSO <sub>4</sub>	:	Magnezyum Sülfat
ml	:	Mililitre
mM	:	MiliMolar
µl	:	Mikrolitre
Msp2	:	Major surface protein 2
NaA	:	Sodyum Asetat
NaCl	:	Sodyum Klorür
OTC	:	Oksitetrasiklin
PBS	:	Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
PZR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
PCI	:	Fenil Kloroform İsoamil Alkol
RES	:	Retikülo Endotelyal Sistem
RFLP	:	Restriction fragment length polymorphism
RLB	:	Reverse Line Blot
rRNA	:	Ribozomal RNA
SDS	:	Sodyum Dodesil Sülfat

TE	:	Tris EDTA
<i>Taq</i>	:	<i>Thermus aquaticus</i>
TBF	:	Tick Born Fever
UV	:	Ultraviyole
WC1 <sup>+</sup>	:	Gamma-delta T hücrelerine özgül transmembran proteinleri



## ÇİZELGELER

		Sayfa
Çizelge 1.	Ruminantlarda bulunan <i>Anaplasma</i> ve <i>Ehrlichia</i> türleri, yerleştikleri yerler ve vektörleri	3
Çizelge 2.	Odaklardan toplanan kan örneklerinin aylara göre sayıları	26
Çizelge 3.	Odaklardan toplanan kene örneklerinin türleri ve sayısı	26
Çizelge 4.	Odaklardan toplanan kene grupları	27
Çizelge 5.	<i>Ehrlichia/Anaplasma</i> türlerinin ilgili gen bölgelerini PZR ile çoğaltmada kullanılan primer çiftlerinin özellikleri	29
Çizelge 6.	<i>Ehrlichia/Anaplasma</i> soy PZR sonuçları	34
Çizelge 7.	<i>Anaplasma marginale</i> PZR sonuçları	35
Çizelge 8.	Odaklardan toplanan ve PZR ile <i>Anaplasma marginale</i> pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı	37
Çizelge 9.	<i>Anaplasma centrale</i> PZR sonuçları	37
Çizelge 10.	Odaklardan toplanan ve PZR ile <i>Anaplasma centrrale</i> pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı	39
Çizelge 11.	<i>Anaplasma bovis</i> Nested PZR sonuçları	39
Çizelge 12.	Osmanbükü'nden toplanan ve PZR ile <i>Anaplasma bovis</i> pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı	41
Çizelge 13.	Söke'den toplanan ve PZR ile <i>Anaplasma bovis</i> pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı	42
Çizelge 14.	Dalama'dan toplanan ve PZR ile <i>Anaplasma bovis</i> pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı	43
Çizelge 15.	Akçaova'dan toplanan ve PZR ile <i>Anaplasma bovis</i> pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı	44
Çizelge 16.	<i>Anaplasma phagocytophilum</i> nested PZR sonuçları	44
Çizelge 17.	Osmanbükü'de toplanan ve PZR ile <i>Anaplasma phagocytophilum</i> pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı	45
Çizelge 18.	Söke'den toplanan ve PZR ile <i>Anaplasma phagocytophilum</i> pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı	46

<b>Çizelge 19.</b>	Dalama'dan toplanan ve PZR <i>Anaplasma phagocytophilum</i> pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı	<b>47</b>
<b>Çizelge 20.</b>	Akçaova'dan toplanan ve PZR ile <i>Anaplasma phagocytophilum</i> pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı	<b>48</b>
<b>Çizelge 21.</b>	Kene PZR sonuçları	<b>49</b>
<b>Çizelge 22.</b>	PZR ile belirlenen miks enfeksiyonların odaklara ve aylara göre dağılımı	<b>50</b>

## RESİMLER

		Sayfa
<b>Resim 1.</b>	<b>A.</b> Enfekte erisrositin elektron mikroskop görüntüsü (3tane bakteri hücre duvarı tarafından sarılmış) <b>B.</b> <i>A. marginale</i> eritrositlerin içinde	7
<b>Resim 2.</b>	Sığırlarda görülen <i>Anaplasma</i> türleri	8
<b>Resim 3.</b>	<i>A.marginale</i> 'nin yaşam çemberi	9
<b>Resim 4.</b>	Aydın iline bağlı Söke ilçesi ile Dalama, Akçaova ve Osmanbükü beldelerinin coğrafik yerleşimi	25
<b>Resim 5.</b>	<i>Ehrlichia/Anaplasma</i> soyuna ait tüm türlerde ortak korunmuş gen bölgesine spesifik EHR16SD F/R primer çifti kullanılarak Dalama Haziran 2006'ya ait DNA örneklerinin çoğaltılması	35
<b>Resim 6.</b>	<i>A.marginale</i> türüne spesifik MAR1bB2F/R primer çifti kullanılarak Dalama Eylül 2006'ya ait DNA örneklerinin çoğaltılması	36
<b>Resim 7.</b>	<i>A.centrale</i> türüne spesifik mpb58F/R primer çifti kullanılarak Dalama Haziran (DK48), Eylül ve Akçaova Aralık 2006'ya ait DNA örneklerinin çoğaltılması	38
<b>Resim 8.</b>	<i>Ehrlichia/Anaplasma</i> genus spesifik EC9 ileri ve EC12A geri yönlü primer çifti kullanılarak Akçaova Aralık 2006'ya ait DNA örneklerinin çoğaltılması	40
<b>Resim 9.</b>	<i>A.bovis</i> türüne spesifik AB1F/R primer çifti kullanılarak Akçaova Mart 2007'ye ait DNA örneklerinin çoğaltılması	40
<b>Resim 10.</b>	<i>A.phagocytophila</i> türüne spesifik SSAP F/R primer çifti kullanılarak Söke Mart 2007'ya ait DNA örneklerinin çoğaltılması	45
<b>Resim 11.</b>	<i>Ehrlichia/Anaplasma</i> genus spesifik EC9 ileri ve EC12A geri yönlü primer çifti kullanılarak toplanan kenelerden elde edilen DNA örneklerinin çoğaltılması.	49

## ŞEKİLLER

Şekil 1. Sekans analizi sonuçları

55

## **EKLER**

<b>Çizelge 1.</b>	Odaklardan toplanan kan örneklerinin odaklara ve aylara göre dağılımı	<b>77</b>
<b>Çizelge 2.</b>	Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları	<b>86</b>

# 1.GİRİŞ

## 1.1. Genel Bilgi

Türkiye’de hayvan yetiştiriciliği tarım sektörünün % 35’ini oluşturmakta ve ekonomide önemli bir yer tutmaktadır. Türkiye’de bulunan yaklaşık 11 milyon sığırın % 24,85’ini yerli ırk, % 34,40’ını kültür ırkı, % 40,75’ini ise kültür melezi oluşturmaktadır (Türkiye İstatistik Kurumu, Hayvancılık İstatistikleri). Hayvan sayısı çok olmasına rağmen elde edilen hayvansal ürün miktarı istenilen düzeyde değildir. Et ve süt üretimini arttırmak amacıyla son zamanlarda yetiştiricilik potansiyeli olan bölgelerde kültür ırkları üretimi teşvik edilmektedir. Birim hayvanda üretim artışı, enfeksiyon hastalıklarına duyarlılığı da arttırdığından, doğru bakım ve besleme yanında bu hastalıklara karşı etkin bir mücadele gerektirmektedir. Hayvancılık sektöründe yüksek verimliliğin devamı ancak uygun bakım-besleme koşullarının sağlanması yanında, hastalıkların teşhis, tedavi ve kontrolü noktasındaki başarı ile mümkündür.

Türkiye, coğrafi konumu itibarıyla, riketsiyal, viral, bakteriyel ve paraziter hastalıkların yaygın şekilde görüldüğü bir bölgede yer almaktadır. Bu nedenle mevcut hayvan varlığı diğer paraziter enfeksiyonlara karşı olduğu gibi, kene enfestasyonlarına da açıktır. Keneler direk etkileri yanında (kene felci, terleme hastalığı, soyucu-sömürücü etki), protozoon, riketsiya, bakteri ve virüs enfeksiyonlarını taşıma potansiyelleri ile miyazis etkenlerine ortam hazırlamalarından dolayı, oldukça tehlikeli olmaktadır. Keneler aynı zamanda bu enfeksiyonlardan bazılarını kendi nesillerine ve/veya gelişme dönemlerine aktararak, enfeksiyonun nesiller boyu devam etmesine ve ciddi boyutlara ulaşmasına neden olmaktadır (Göksu ve Tüzer 1981, Dumanlı 1987). Kene ile bulaşan hastalıklardan Theileriosis, Babesiosis, Anaplasmosis ve Ehrlichiosis hayvan yetiştiriciliğini etkileyen protozoal ve riketsiyal etkenlerin neden olduğu hastalıklardır. Bu hastalıkların naklinde rol oynayan kenelerin bir çok cinsine (*Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Rhiphicephalus*, *Ornithodoros*) ait türler Türkiye’de evcil hayvanlarda yaygın bir şekilde bulunmuştur (Kurtpınar 1954, Çetindağ 1996, Aydın ve Bakırcı 2007, Bakırcı 2009). Kene enfestasyonlarının ekonomik değeri olan hayvanlardan başka kedi, köpek ve insanlarda da görülmesi, konuyu halk sağlığı boyutuna taşımaktadır.

Ehrlichiosis, *Ixodidae* ailesine bağı keneler tarafından nakledilen *Anaplasmatacea* ailesinde *Ehrlichia* soyunda bulunan türlerin neden olduğu bir hastalıktır. *Ehrlichia* etkenleri konağının lökositlerine intrastoplazmik olarak yerleşir (Dumler ve ark 2005).

Anaplasmosis, *Anaplasmatacea* ailesinde *Anaplasma* soyuna bağı türlerin neden olduğu bir hastalıktır. Etken biyolojik olarak kenelerle aktarılır. Mekanik olarak ise sinekler ve kontamine malzemelerle taşınmaktadır. Sığırlarda patojen olan tür *Anaplasma marginale*'dir. Tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak görülen Anaplasmosis ekonomik kayıplara neden olması yönünden önemli bir hastalıktır. Anaplasmosis klinik olarak ateş, hemolitik anemi, ağırlık kaybı, gebe hayvanlarda yavru atma ve bazı durumlarda ölümlerle seyretmektedir (Vidotto ve ark 2006).

*Anaplasma* soyuna bağı türler hakkında bilgiler son yıllarda artmaktadır. Çiftlik hayvanlarında ve daha az derecede de insanlarda bu etkenlerin patojenik aktiviteleri birbirleri ile bağlantılıdır (Rymaszewska ve Grenda 2008). Anaplasmosis, hayvanlarda vücut ağırlığında azalma, yavru atma, süt veriminde azalma, ölüm ve neden olduğu veteriner masraflarından dolayı özellikle hayvan yetiştiriciliği için önemli bir hastalıktır (Splitter ve ark 1955, Sainz ve ark 1999, Melendez 2000, Stuen ve ark 2002, 2003). Smith ve Kilborne 1893 yılında sığırlarda *Anaplasma* etkenini saptamışlar fakat bunun sığırlarda 'Texas Cattle Fever' hastalığının etkeni olan *Babesia bigemina*'nın gelişim evrelerinden biri olduğunu düşünmüşlerdir (Kocan ve ark 2003). *Anaplasma marginale*, ilk olarak 1910 yılında Sir Arnold Theiler tarafından farklı bir patojen olarak tanımlanmıştır (Kocan ve ark 2003). Theiler, Güney Afrika sığırlarında yaptığı çalışmada, sığırların erisrositleri içerisinde 'marginal point' olarak adlandırdığı etkeni görmüş ve etkeni *Anaplasma marginale* olarak adlandırmıştır. Yine Theiler, bu kez erisrositlerin ortasında etkenleri görmüş ve bu türü de *Anaplasma centrale* olarak adlandırmıştır (Kocan ve ark 2003). *Anaplasma*, Theiler'in çalışmaları sonucunda yeni bir soy olarak tanımlanmış ve geçici olarak protozoon sınıflandırılmasına dahil edilmiştir. Daha sonraki yıllarda *Anaplasma*'nın *A. ovis*, *A. playts* ve *A. bovis* türleri de bulunmuştur (Harvey ve ark 1978, Kuttler 1984). Sığırlarda bulunan türler Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Ruminantlarda bulunan *Anaplasma* ve *Ehrlichia* türleri, yerleştikleri yerler ve vektörleri

Etken	Konak	Konakçıda Yerleştiği Yer	Vektör
<i>Anaplasma marginale</i>	Sığır, Vahşi Ruminant	Eritrosit	<i>Dermacentor</i> , <i>Rhipicephalus</i> , <i>Ixodes</i> , <i>Boophilus</i> , <i>Hyalomma</i> , <i>Ornithodoros</i> , <i>Tabanidae</i>
<i>Anaplasma centrale</i>	Sığır, Vahşi Ruminant	Eritrosit	<i>Dermacentor</i> , <i>Rhipicephalus</i> , <i>Ixodes</i> , <i>Boophilus</i> , <i>Hyalomma</i> , <i>Ornithodoros</i> , <i>Tabanidae</i>
<i>Anaplasma bovis</i> = <i>Ehrlichia bovis</i>	Sığır	Monosit, Lenfosit	<i>Haemaphysalis</i> , <i>Hyalomma</i> , <i>Rhipicephalus</i> , <i>Amblyomma</i>
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> = <i>Ehrlichia phagocytophilum</i> = <i>Ehrlichia equi</i>	Sığır, At, Köpek, İnsan	Nötrofil, Eozinofil	<i>Ixodes sp.</i> <i>Dermacentor sp.</i>
<i>Ehrlichia ruminantum</i> = <i>Cowdria ruminantum</i>	Sığır, Koyun, Keçi ve Diğer Ruminantlar	Nötrofil, Endotel Hücreler	<i>Amblyomma sp.</i>



Son yıllarda *Anaplasma* cinsine bağlı türlerde değişiklikler olmaktadır. Biyolojik karakterlerine, 16S rRNA, groESL ve yüzey proteinlerinin analizlerine göre *Rickettsiales* dizisinde yer alan organizmaların sınıflandırılmasında bazı değişiklikler meydana gelmiştir. Dumler ve ark. tarafından yapılmış ve 2001 yılından beri geçerli olan sınıflandırma aşağıda verilmiştir (Rymaszewska ve Grenda 2008).

---

**Sınıf**  $\alpha$ -protobacteria

**Dizi** Rickettsiales

**Aile** Anaplasmataceae

**Sınıf** *Anaplasma*

*A. marginale*

*A. centrale*

*A. phagocytophilum*

*A. platys*

*A. bovis*

*A. ovis*

**Sınıf** *Ehrlichia*

*E. canis*

*E. chaffeensis*

*E. ruminantium*

*E. ewingii*

*E. ovis*

*E. muris*

---

*Anaplasma marginale*, ruminantların eritrositleri içinde ve eritrositlerin çevresine yakın yerleşim gösteren zorunlu hücre içi etkenlerdir (Rymaszewska ve Grenda 2008). Enfekte hayvanların eritrositlerinde 4–8 adet etken görülebilir. Hastalığın inkübasyon süresi enfeksiyonun derecesine bağlı olmakla birlikte 7 ile 60 gündür. Ortalama inkübasyon süresi 28 gündür. Klinik olarak ateş, kilo kaybı, gebe hayvanlarda abort ve uyuşukluk görülür. İki yaşından büyük hayvanlar da ölüm görülebilir (Kocan ve ark 2004).

*Anaplasma centrale*, ruminantların eritrositleri içine yerleşmektedir. *Anaplasma marginale*'nin aksine eritrositlerin ortasına yerleşmektedir. *A. centrale* dünya üzerinde çok yaygın olarak bulunmaktadır. *A. centrale*, morfolojik ve virülensindeki farklılıklara rağmen

*A. marginale* ile benzerlik göstermektedir (Kocan ve ark 2003, Rajput ve ark 2005). Theiler'e göre *A. centrale*, *A. marginale*'ye göre daha az patojendir. *Anaplasma centrale* tarafından oluşan enfeksiyonlardan sonra iyileşen hayvanlarda direnç gelişir. Bundan dolayı *A. centrale*, canlı aşuların hazırlanmasında kullanılmaktadır. Çoğu aşı Afrika'da, Avustralya'da, Latin Amerika'da ve İsrail'de üretilmektedir (Rymaszewska ve Grenda 2008).

*Anaplasma bovis*, sığırların monositlerine yerleşir. Yaptığı hastalık, 'Monositik anaplasmosis' olarak adlandırılır. Buzağılarda ve erişkin hayvanlarda klinik semptomlar çok belirgindir. Güçsüzlük, belirgin kilo kaybı, yüksek ateş, preskapular lenf yumrularında büyüme, mukoz memranlarda solgunluk ve çoğu durumda mukus salgısının miktarının artması başlıca görülen semptomlardır (Santos ve Carvalho 2006).

*Anaplasma phagocytophilum*, sığırların nötrofil ve eozinofillerine yerleşir. Üç granülosit riketsiya türünün (*Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi*, İnsan Granülositik Ehrlichiosis) 16S rRNA, groESL ve yüzey proteinleri analizlerine göre birbirleri ile benzer oldukları anlaşılmış ve *A. phagocytophilum* olarak adlandırılmıştır (Woldehiwet 2010). *A. phagocytophilum*, sığırlarda görülen Tick-borne fever (TBF) hastalığının etkenidir ve ilk olarak 1940 yılında bulunmuştur (Woldehiwet 2010). Çiftlik hayvanlarında hastalık subklinik ve ağır seyredir. Spesifik bir klinik belirtisi yoktur. Klinik olarak, ateş, uyuşukluk, iştahsızlık, abort, vücut ağırlığında ve süt üretiminde azalma görülür. Hastalık ölüme yol açabilir. *Anaplasma phagocytophilum*, insanlarda Human Granulocytic Anaplasmosis (HGA) hastalığının etkenidir. HGA, multisistemik bir hastalıktır. Grip'e benzer klinik belirtiler gösterdiği için hastalığın teşhisi zordur (Rymaszewska ve Grenda 2008). HGA enfeksiyonunun gerçek insidans ve prevalansı bilinmemekle birlikte, kuzeybatı Wisconsin'de 1990-1995 boyunca pasif olgu toplama yoluyla yapılan çalışmada yıllık 100.000'de 16 olguluk bir insidans oranı tespit edilmiştir (Bakken ve ark 1996).

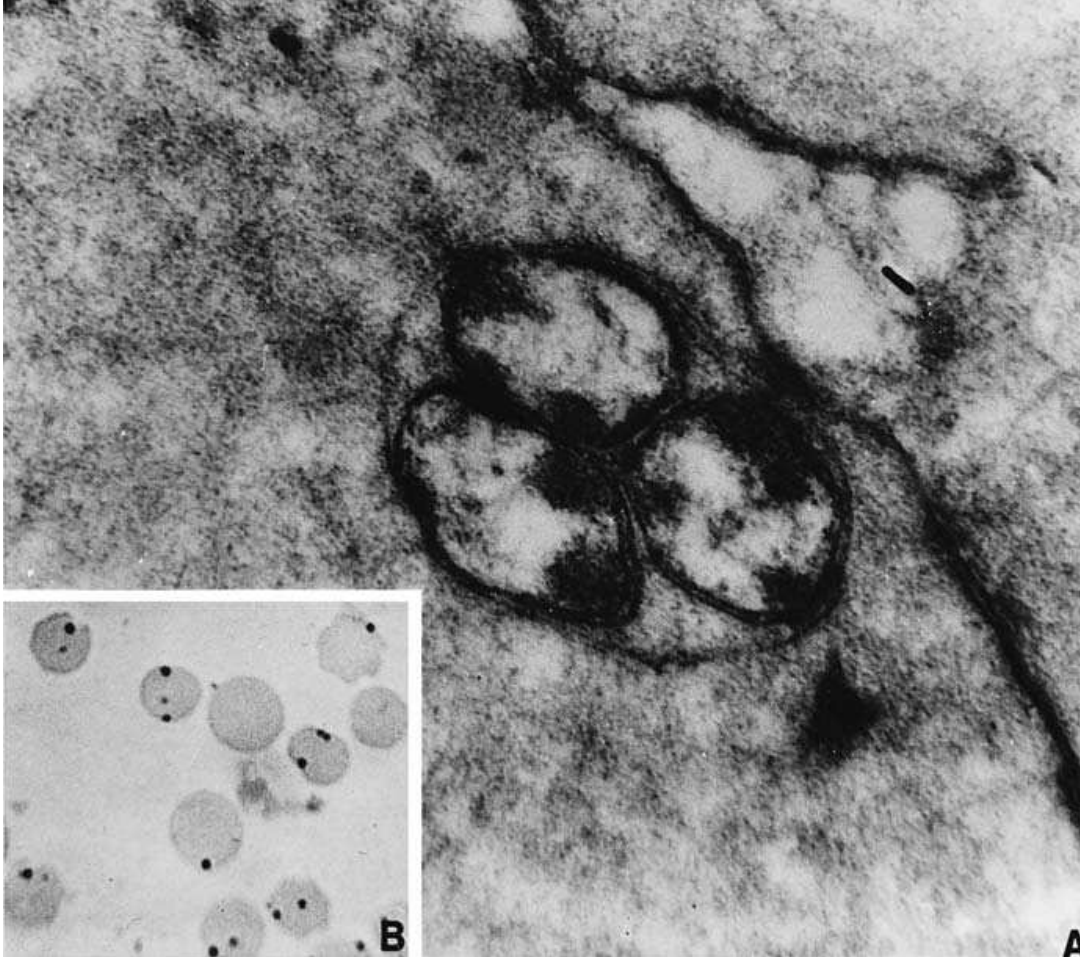
Human Granulositik Anaplasmosis'in ortalama kuluçka süresi kenelerinin ısırmasından sonraki 5 ila 11 gündür ve en çok 43-60 yaşlarındaki hastalarda görülür. Hastalık erkeklerde kadınların iki katı kadar fazladır. HGA ile enfeksiyon sonrası çok az sayıda bireyde semptom gelişir. Tüm hastalarda ateş görülür, kas ağrısı, baş ağrısı ve halsizlik, daha az olarak hastalarda gastrointestinal, solunum, kas-iskelet veya merkezi sinir sistemi tutulumu görülür. Döküntü hastaların % 11'inden daha azında gözlenir. Lenfopeniyle birlikte lökopeni, trombositopeni ve artmış serum transaminaz aktiviteleri hastalığın erken dönemi boyunca çoğu hastada vardır. Hematolojik anormallikler antimikrobiyal tedaviden önce normale dönebilir ve lenfositoz enfeksiyonun ilk haftasından sonra gözlenebilir (Kılıç 2008). Semptomları olan hastaların yarısında hastaneye yatış gerekmektedir. HGA'nın ciddi

komplasyonları, organ yetmezliği ile birlikte toksik Çok benzeri bir hastalık, erişkin respiratuvar distres sendromu ve fırsatçı enfeksiyonlardır. HGA'lı hastalarda menenjit bildirilmemiŐtir. Vertigo, fasiyal paralizi, periferik nöröpati, pankardit, dissemine intravasküler koagölasyon, perikardiyal effüzyon ve tamponat göröllebilen komplasyonlardır. Ölüm oranı % 1 kadardır. Avrupa'da bildirilmemiŐtir. En az altı ölüm HGA ile iliŐkilendirilmiŐtir; bu hastaların en az üçünün kandida ösafajiti, kriptomok pnömonisi, invaziv pulmoner aspergilloz ve herpes ösafajiti gibi fırsatçı enfeksiyonlara sahip olduğu belirlenmiştir. HGA enfeksiyonu kendini sınırlar, tedavi ile 1-2 günde geçebilir, tedavisiz 60 gün kadar sürebilir. Kronik formu görölmez (Kılıç 2008).

*Ehrlichia ruminantium* (*Cowdria ruminantium*), sığırların endotel hücrelerine yerleşir. Sığırlarda görölün heartwater veya cowdriosis olarak adlandırılan hastalığın etkenidir. *Amblyomma* türü keneler vektörlük yapmaktadır. Bu hastalık Afrika'da yaygındır. Klinik olarak ateş, organ bozuklukları ve Şiddetli sinirsel semptomlarla seyreder (Bekker ve ark 2002). Vektörü Türkiye'de bulunmadığından hastalık ölkemizde görölmemektedir.

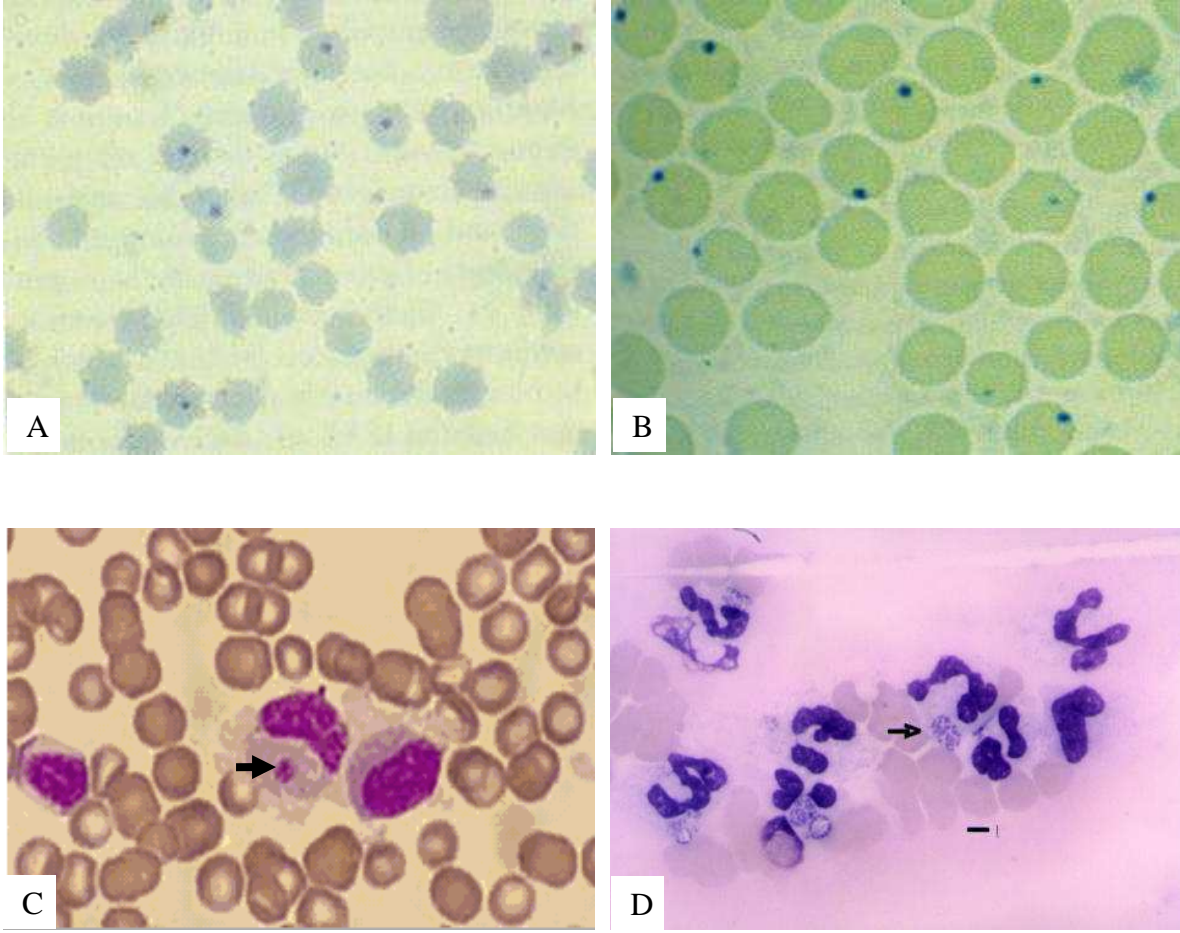
## 1.2. Morfolojik Özellikleri

*Anaplasma* türleri zorunlu hücre içi etkenlerdir. Küçük, pleomorfik yuvarlaktan elips şekline kadar değişen şekillerde ve 0,3–2,5 µm çapında olup konak hücrenin sitoplazmik vakuollerinde bulunur. *Anaplasma* türleri; Gram negatif, Romanowsky methodu ile boyanan preparatlarda maviden mora değişen renkte hücrenin sitoplazmasında membranla sarılmış olarak görülürler (Resim1) (Dumler ve ark 2005).



Resim 1: **A.** Enfekte erisrositin elektron mikroskop görüntüsü (3 tane etken hücre duvarı tarafından sarılmış) **B.** *Anaplasma marginale* eritrositlerin içinde (Dumler ve ark 2005).

*Anaplasma marginale* ve *A. centrale* konağının eristrositleri içerisine, *A. bovis* monositler içerisine, *A. phagocytophilum* ise nötrofiller içerisine yerleşmektedir (Yu Xue ve Walker 2006) (Resim2).

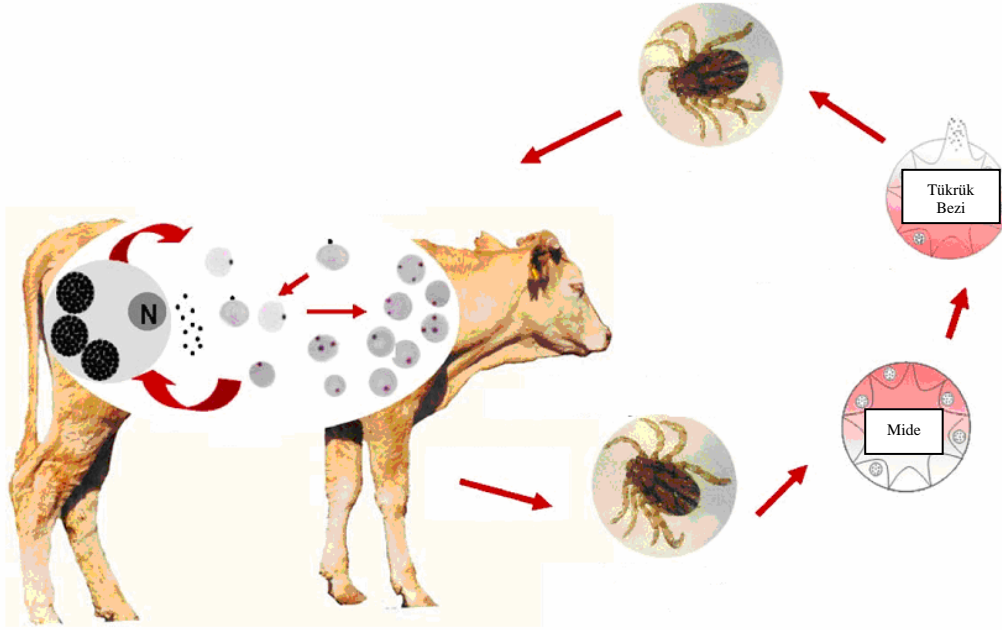


Resim 2. Sığırlarda görülen *Anaplasma* türleri A: *Anaplasma centrale* B: *Anaplasma marginale* C: *Anaplasma bovis* D: *Anaplasma phagocytophilum*

### 1.3. Bulaşma ve Yaşam Çemberi

*Anaplasma* türleri çeşitli artropodlarla mekanik veya biyolojik yolla nakledilir. Mekanik nakilde, *Tabanus* ve *Psorophora* cinsindeki kan emici sinekler, kontamine enjektör ve cerrahi aletler önemli rol oynamaktadır (İnci ve Düzlü 2009). Biyolojik nakilde ise, çeşitli kene türleri görev almaktadır (Çizelge 1). Mekanik ve biyolojik vektörlerin sezona bağlı aktivitelerine paralel olarak, salgın hastalıklar ortaya çıkabilmektedir (Ristic 1968). Bulaşmada transplasental enfeksiyonun da önemi vardır. *Anaplasma marginale* ve *A. centrale* ile akut enfekte ineklerden doğan buzağılarda intrauterin bulaşma neticesinde enfeksiyonların görüldüğü bildirilmektedir (Rey Valeiron ve ark 2003).

*Anaplasma* türlerinin yaşam siklusu keneler ile hayvanlar arasında gerçekleşmektedir. Etkenler kenelerin midesinde ve tükrük bezlerinde çoğalırlar. Enfekte kenenin hayvanlardan kan emmesi esnasında etken konağa nakledilir.



Resim 3. *Anaplasma marginale*'nin yaşam çemberi (Rodriquez ve ark 2009).

Biyolojik nakil iki formda görülebilir. Bunlar, transstadial ve intrastadialdir. Transstadial nakilde kene bir yaşam döneminde aldığı etkeni diğer yaşam döneminde konağına vermektedir. İntrastadial nakilde ise olgun erkek keneler rol oynamaktadır. Bunlar etkeni bir konaktan diğer konağına aktarmaktadırlar. Keneler taşıyıcı hayvandan kan emdikten sonra, kenenin mide epitelyum hücrelerinde etkenin vegetatif formu oluşur. Daha sonra bu formlar ikiye bölünerek çoğalırlar ve geniş koloniler oluştururlar. Bu formlar enfektif formlardır ve hücrenin dışında kısa bir süre canlı kalabilirler. Tükürük bezlerine yerleşen bu etkenler hayvanlardan kan emme esnasında tükürük salgılarıyla duyarlı hayvana nakledilir (Rodriquez 2009). *Anaplasma* türlerinin yerleşim yerlerine göre etkenler eritrositlere, monositlere ve nötrofillere yerleşirler (Resim 2) (Çizelge 1).

#### 1.4. *Ehrlichia* ve *Anaplasma* Türlerinde Bağışıklık

Kene kökenli hücre içi riketsiyal etkenlerin yüzey proteinleri invazyon ve kolonizasyon için gerekli olan fonksiyonlara aracılık etmektedir. Dolayısıyla, bu etkenlerin yüzey proteomları biyolojik açıdan; memeli konakta koruyucu bağışıklığın indüklenmesi ve etkenin memeli konaktan vektör keneye aktarılması gibi iki konuyla özgül olarak ilgilidir. *Anaplasma marginale*'nin dış membran yüzey proteininin bir alt ünitesinin koruyucu bağışıklığı indüklediği ve aşı çalışmalarını direk etkilediği belirtilmiştir (Noh ve ark 2008). *Anaplasma* enfeksiyonlarında görülen ve bağışıklık ile hastalığın devamlılığı açısından

önemli rol oynayan bir diğer noktada persiste enfekte hayvanların varlığıdır. Persiste hayvanlar, arthropod aktivitelerinin en üst seviyede olduğu dönemlerde, etkenlerin vektöre naklinde rezervuar rolü üstlenmelerinden dolayı vektör kökenli patojenlerin epidemiyolojisinde temel noktayı oluşturmaktadır. *Anaplasma marginale* konak hayvanların bağışıklık sistemi tarafından elimine edilmekten antijenik varyasyonlar ile kurtulmakta (Palmer ve ark 2007) ve memeli konakta genelde persiste enfeksiyon gelişmektedir. Gelişen bu persiste enfeksiyon birincil olarak oldukça immunojenik olan major yüzey proteinlerinde (Msp2; major surface protein 2) meydana gelen özel varyasyonlar ve yüzey tabakasındaki hızlı değişimlere dayandırılmıştır (Noh ve ark 2010). İmmun seleksiyonda, *A. marginale* birçok donör dizilimden derive edilmiş kompleks major yüzey protein (Msp2) mozaikleri eksprese eder. Bununla birlikte, bu mozaikler sadece edinsel bağışıklığın varlığında seleksiyon avantajı sağlarlar ve vektörlere nakledildiklerinde hızlı bir şekilde mozaik yapılarından basit varyasyonlu durumlarına dönerler (Palmer ve ark 2007).

Enfeksiyonlara karşı korunmada kazanılmış T hücre bağışıklığı esas rolü oynamaktadır (Han ve ark 2008). Bununla birlikte, T hücrelerinin *A. marginale* enfeksiyonlarındaki bağışık yanıtındaki rolü tam olarak bilinmemektedir. Periferal kandaki WC1<sup>+</sup> T hücre sayıları fazla olan altı aylıktan küçük buzağılarda *Anaplasma* enfeksiyonlarına karşı bir direnç söz konusudur (Roby ve ark 1961, Jones ve ark 1968). Bu durum genç hayvanlarda oldukça yoğun olarak görülen gamma ve delta T hücrelerinin anaplasmosis ve diğer kan parazitlerine karşı yaş bağımlı dirençte önemli rol oynayabileceğini göstermektedir (Brown ve ark 2006). Patojenlerle oluşan akut ve persiste enfeksiyonlarda yoğun antijen yüklemelerinde bellek T hücrelerinin bağışıklığın sonucu olarak nasıl ortaya çıktığı tam olarak anlaşılammıştır. Yapılan bir çalışmada, *A. marginale*'nin akut enfeksiyonlarda ml kanda 10<sup>9</sup> ve uzun süreli persiste enfeksiyonlarda ise ml kanda 10<sup>6</sup> parazitemi oluşturduğu tespit edilmiştir (Han ve ark 2008). Aynı çalışmada, antijen özgül periferal kan CD4<sup>+</sup> T hücre yanıtının enfeksiyonu takiben hızlı ve kalıcı olarak kaybolduğu belirlenmiştir. Sığırlarda *A. marginale* enfeksiyonlarında etkenin bağışık yanıtı module etme stratejisi olarak antijen özgül T hücrelerinin ve bağışıklıkta oluşan belleğin hızlı bir şekilde yok olmasını yönlendirdiği söylenmiştir (Han ve ark 2008).

*Anaplasma phagocytophilum* insan ve hayvanlarda granulositik anaplasmosise (HGA) neden olan obligat intra nötrofililik kene kökenli bir etkidir. *A. phagocytophilum*'un nötrofilleri enfekte etmesi ve çoğalmasında fagozom-lizozom füzyonunun inhibisyonu, hücre solunumunun baskılanması ve nötrofillerin apoptotik yolla ölümlerinin gecikmesi gibi bakteriyel aktivite değişimleri yoluyla gerçekleştirilmektedir (Carlyon ve Fikrig 2003,

Woldehiwet 2008). Koyunlar ve muhtemelen diğer konaklarda gelişen persiste enfeksiyonlar etkenlerin dış membran protein ekspresyonlarında riketsiyemik yükselmelerin olduğu dönemde görülen antijenik varyasyonlar ile karakterizedir (Granquist ve ark 2008). *Anaplasma phagocytophilum* enfeksiyonlarında konak hücrelerde gen ekspresyonunun modifiye etmektedir. İnsanlarda *A. phagocytophilum* ile enfekte hücrelerdeki gen ekspresyon profilleri karakterize edilmiştir (Carlyon ve ark 2002, Borjesson ve ark 2005, de la Fuente ve ark 2005, Pedra ve ark 2005, Sukumaran ve ark 2005). Koyunlardaki *A. phagocytophilum* enfeksiyonlarında konak hücre genlerinde görülen diferensiyal ekspresyon hücre-hücre iletişimi, hücre migrasyonu, yangı, doğal ve kazanılmış bağışıklığı içermektedir (Galindo ve ark 2008).

### 1.5. Epidemiyoloji

Anaplasmosis, özellikle tropik ve subtropik iklim bölgelerinde görülmektedir. Hastalığa Güney Afrika, Amerika ve Avustralya'nın çeşitli bölgelerinde enzootik ve sporadik olarak rastlanmaktadır (Zivkoviç 2010). Subtropikal iklim kuşağında yer alan ülkemizde de *A. marginale*'nin varlığı değişik araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Çakmak 1990, Arslan 2005, Sevinç ve ark 2005, Karagenç ve ark 2005). Kan paraziti enfeksiyonlarından theileriosis ve babesiosis ülkemizde yaygın görülmesine rağmen (Tüzdil 1954, Göksu 1968, 1970, Özkoç ve Onar 1980, Dumanlı ve Özer 1987, Çakmak 1993, Eren ve ark 1995, Aktaş ve ark 2006, Aysul ve ark 2008), anaplasmosisten kaynaklanan enfeksiyonların genellikle subklinik olarak seyrettiği, akut enfeksiyon oranının ise diğer kan paraziti enfeksiyonlarına göre daha düşük olduğu kaydedilmektedir (Sevinç 2004). Hastalığın taşınmasında rol oynayan keneler ve kan emici sineklerin gelişmesine etki eden faktörler hastalığın yayılmasına da etki eder. Hastalık genelde yaşlı, kültür ırkı hayvanlarda ve endemik bölgeye yeni giren hayvanlarda önemlidir (Sevinç 2004).

Ülkemizdeki hayvanlarda kenelerle bulaşan *Ehrlichia* ve *Anaplasma* türlerinin son durumu Arslan (2005) tarafından derlenmiş ve bölgelere göre görülme oranları verilmiştir. Marmara Bölgesinde kene enfestasyonlarının yaygın (% 8,6-54,3) olduğu belirtilmiştir. Bu bölgede sığırlarda *A. marginale* ve *A. centrale*'nin görülme sıklığı sırasıyla % 0,4 ve % 0,8'dir. Karadeniz bölgesinde kene enfestasyonu % 33,8'dir. *Anaplasma marginale* % 7,4, *A. phagocytophilum* % 10,1-15,3 oranında görülmüştür. İç Anadolu Bölgesinde ise kene enfestasyonu oranı % 6-38 arasında olup, ruminantların % 3,2'sinde *A. marginale* tespit edilmiştir (Arslan 2005).



Sevinç ve Derinbay (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, Afyon yöresinde bir sığırcılık işletmesinde özellikle 3 yaşın üzerindeki sığırlarda akut hemolitik anemi nedeniyle ani ölümler görülmüştür. Ölüm sebebini araştırmak amacıyla öncelikle hasta hayvanların mikroskopik kan muayeneleri yapılmış ve akut anaplasmosis teşhisi konulmuştur. İşletmedeki salgını kontrol altına almak için hasta hayvanların, klinik belirti göstermeyen taşıyıcı hayvanların ve enfeksiyona duyarlı hayvanların birbirinden ayrı yerlerde muhafaza edilmeleri hedeflenmiştir. Bu amaçla öncelikle sürü içerisinde farklı yaş gruplarına ait toplam 506 sığırdan kan serum örneği alınmıştır. Serumlar taşıyıcı hayvanların teşhisinde çok güvenilir olduğu bildirilen complement enzyme-linked immunosorbent assay (cELISA) testine tabi tutularak *A. marginale*'ye spesifik antikorlar yönünden incelenmiştir. cELISA testi ile incelenen 506 serum örneğinin 312 (% 61,66)'si *A. marginale*'ye spesifik antikorlar yönünden pozitif bulunmuştur. *A. marginale* enfeksiyonunun <1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 5-6, >6 yaş gruplarındaki oranları sırasıyla % 22,58, % 6,06, % 37,36, % 61,29, % 84,76, % 76,57 ve % 88,89 olarak tespit edilmiştir. Araştırma sonucuna göre bu işletmede hasta hayvanlarla birlikte, hem enfeksiyona duyarlı hem de enfeksiyonun taşıyıcısı olan hayvanların bir arada bulunduğu tespit edilmiştir. Bir yaşın altındaki seropozitif hayvanların çoğunluğunda seropozitifliğin maternal antikorlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Karagenç ve ark. (2005), Aydın yöresi sığırlarında reverse line blot hibridizasyon (RLB) tekniği kullanılarak *Theileria*, *Babesia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* türlerini belirlemeye çalışmışlardır. Bu çalışmada 422 adet sığır kanı, RLB testi ile değerlendirilmiştir. Toplanan 120 kan örneği *Theileria/Babesia* ve *Ehrlichia/Anaplasma* türlerine spesifik 36 adet prop kullanılarak hazırlanmış ticari bir membranla değerlendirilmiştir. RLB testi sonucunda, 120 kan örneğinin 112 tanesi ise *Theileria*, *Babesia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* türleri yönünden pozitif bulunmuştur ve bu pozitif örneklerin 92'sinde tek bir tür ile enfeksiyon tespit edilirken, 20 örnekte iki veya daha fazla tür ile enfeksiyon tespit edilmiştir. Miks enfeksiyon görülen 20 hayvanın 10'unda *T. annulata*, *A. centrale*, 2'sinde *T. annulata*, *A. marginale*, 2'sinde *T. annulata*, *A. centrale*, *A. marginale*, 5 hayvanda *B. bovis*, *A. centrale*, 1 hayvanda *B. bovis*, *A. centrale*, *A. marginale* saptanmıştır. Türler göre enfeksiyon oranları *A. centrale* % 13,3 (16 pozitif) ve *A. marginale* için % 6,6 (8 pozitif)'dir.

Çakmak (1990) tarafından 1984–1986 yılları arasında Ankara Beytepe'de yapılan çalışmayla birlikte, sığırlardaki kan parazitlerinin serolojik yöntemlerle tespiti Türkiye'de ilk kez yapılmıştır. Bu köydeki sığırlardan 2 ay ile 10 yaş arasında 185 sığır seçilerek, 4 gruba ayrılmıştır. Her gruptan 4 ayda bir olmak üzere, 2 yıl süre ile kan alınmış ve 494 serum toplanmıştır. Bu serumlarda *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* ve *T. annulata*'ya karşı

antikor varlığı İmmun Floresan Antikor Testi (IFAT) ile araştırılmıştır. Bunun yanında, 1 yaşın altındaki sığırlardan toplanan serumlar hariç diğer serumlarda *A. marginale*'ye karşı antikor varlığı Komplement Fikzasyon (CF) testi ile saptanmıştır. 2 yaşın üstündeki 69 sığırın 3'ünde, 1–2 yaş arasındaki 54 sığırın 1'inde *A. marginale*'ye karşı antikorun varlığı tespit edilmiştir.

Gökçe ve ark. (2008) tarafından Karadeniz Bölgesinde yapılan çalışmada, mikroskopik, moleküler ve serolojik yöntemlerle *A. phagocytophilum*'u tespit etmeye çalışmışlardır. Bu amaçla, 2002 yılında Artvin, Rize, Trabzon, Giresun, Ordu ve Samsun'dan toplam 720 sığırdan kan alınmıştır. Bu örneklerin mikroskopik bakışı sonucunda 720 kan preparatınının 73 tanesinde *A. phagocytophilum*'a benzer organizmalar tespit edilmiştir. Serum örnekleri IFAT ile incelenmiş ve 720 serumdan 110 tanesi *A. phagocytophilum* yönünden pozitif bulunmuştur. Moleküler olarak PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yapılmış ve 183 örnekten 27'sinde *A. phagocytophilum* pozitif bulunmuştur.

Aktaş ve ark. (2010) Karadeniz Bölgesinde insanlardan toplanan kenelerde *A. phagocytophilum* türünün varlığını ortaya koymaya çalışmışlardır. Bu amaçla, Giresun, Rize ve Trabzon illerinde Mart 2007'den Aralık 2007'ye kadar Sağlık Bakanlığı izniyle insanlardan toplanan keneler incelenmiştir. Bu çalışmada toplam 4783 kene toplanmıştır. Toplanan kenelerin tür ayrımı yapıldığında, illerin hepsinde en yoğun olarak *Ixodes ricinus* tespit edilmiştir. Toplanan kenelerden 1097 adedinden 95 adet kene havuzu oluşturulmuş ve kenelerin ticari bir kit yardımı ile DNA'ları çıkarılmıştır. Daha sonra DNA'ları çıkarılan kenelerde *A. phagocytophilum* türünü tespit etmek amacıyla nested PZR uygulanmıştır. Nested PZR sonuçlarına göre incelenen 95 kene havuzundan 11'inde *A. phagocytophilum* pozitif bulunmuştur. Bu çalışmayla ilk kez Türkiye'de kenelerde *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir.

Yurtdışında *Anaplasma* ile ilgili özellikle moleküler tanı yöntemlerine dayalı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Noaman ve ark. (2008) tarafından İran'ın merkezinde bulunan İsfahan bölgesinde yapılan çalışmada, 2008 yılında Mart ve Temmuz ayları arasında toplanan 150 sığır kanı PZR-RFLP yöntemi ile bakılmış ve 150 sığır kanından 50 tanesinde *Anaplasma marginale* pozitif bulunmuştur. Jilintai ve ark. (2009), *A. phagocytophilum* ve *A. bovis*'i moleküler yöntemlerle tespit etmek amacıyla Japonya'da 2007 yılının Kasım ayında, 78 adet sığırdan kan toplamışlardır. Toplanan kanlarda nested PZR sonuçlarına göre, 12 sığırdan *A. bovis*, 1 sığırdan ise *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir.

Ooshiro ve arkadaşları (2008) yine nested-PZR yöntemi ile 15 sığırın 8'inde *A. bovis*, 12'sinde *A. phagocytophilum* tespit etmişlerdir.

Derdakova ve arkadaşları (2003), Slovakya’da ilkbaharda topladıkları 63 kenede PZR yöntemiyle *A. phagocytophilum* ve *Borrelia burgdorferi*’yi tespit etmeye çalışmışlardır. Toplanan kenelerden ticari bir kitle DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra, *A. phagocytophilum*’un 16S gen bölgesine özgü primerler kullanılarak PZR’ları yapılmıştır. PZR sonuçlarına göre, 8 adet kenede *A. phagocytophilum* pozitif bulunmuştur. Pozitif çıkan örneklerden 5’inde sadece *A. phagocytophilum*’a tek başına rastlanırken, 3 örnekte ise *A. phagocytophilum* ve *B. burgdorferi* tespit edilmiştir.

Noaman ve Shayan (2010), sığırlarda *A. bovis* türünü tespit etmek amacıyla Mart-Temmuz 2007 arasında İran’ın merkezinde bulunan İsfahan bölgesinde bulunan 60 çiftlikte 150 sığırdan kan toplanmışlardır. Sığırlardan toplanan kanlardan ticari kit yardımıyla DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra soy PZR ve nested PZR yöntemiyle *A. bovis*’in varlığı araştırılmıştır. Nested PZR sonuçlarına göre, 150 örnekten 4 (% 2,66)’ü pozitif bulunmuştur.

## 1.6. Klinik Bulgular ve Patogenez

Anaplasmosis sığır, koyun, keçi ve yabani ruminantların eritrositlerinde yıkıma neden olan, kene ve kan emici artopodlarla bulaşan enfeksiyöz bir hastalıktır. Sığırlarda *Anaplasma marginale*, *A. centrale*, *A. phagocytophilum* ve *A. bovis* olmak üzere dört tür bulunmaktadır. Bunlardan *A. marginale* patojen olup akut enfeksiyonlara neden olurken, *A. centrale* ise daha az patojen bir türdür ve nadiren klinik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Anaplasmosis sığırlarda genellikle her iki türden kaynaklanan miks enfeksiyon şeklinde görülmektedir (Sevinç 2004).

*Anaplasma bovis*, sığırların monositlerine yerleşir ve sığırlarda yaptığı hastalık monositik anaplasmosis olarak adlandırılır. Klinik olarak hasta hayvanlarda belirgin kilo kaybı, yüksek ateş, preskapular lenf yumrularında büyüme, mukoz membranlarda solgunluk görülür (Rymaszewska ve Grenda 2008). Ayrıca lökopeni ve trombositopeni yanında iştahsızlık, ishal, sinir sistemi ile bağlantılı olarak uyuşukluk ve kasılmalar görülebilmektedir (Dumler ve ark 2005).

*Anaplasma phagocytophilum*, sığırların tick-borne fever (TBF) hastalığının etkenidir. Hastalık yüksek ateş ile karakterizedir ve süt veriminde azalma, abort ve fertilizasyonda azalmaya neden olur. Sığırlarda deneysel olarak yapılan bir çalışmada inkübasyon süresi 4–9 gün olarak tespit edilmiştir ve 1–13 gün boyunca ateş tespit edilmiştir. Hastalıkta klinik belirtiler hafiftir fakat ağır komplikasyonlarda ölümler gözlemlenmiştir. Hasta hayvanlarda iştahsızlık, uyuşukluk, öksürme, burun akıntısı, arka bacaklarda şişkinlik görülmektedir (Woldehiwet 2010).

Anaplasmosis sığırlarda her yaşta görülebilir. Ancak, yaşla birlikte hastalığın şiddeti ve ölüm oranı da yükselmektedir. Hastalık genellikle bir yaşına kadar hafif, 2-3 yaş arasında akut ve öldürücü, ileriki yaşlarda ise perakut ve öldürücü seyretmektedir. Altı aylıktan küçük hayvanlarda da enfeksiyon şekillenebilmekte, ancak enfeksiyonun klinik belirtileri nadiren görülmektedir. Bu dönemdeki enfekte hayvanlar, etken taşıyıcısı olarak kalmaktadır. Altı aylıktan sonra hayvanların hastalanma riski giderek yükselmekte ve ölümlere daha sık rastlanmaktadır. Üç yaşın üzerindeki akut enfekte sığırlarda % 30-50 oranlarında ölüm görülebilmektedir (Richey ve Palmer 1986). Hastalığın oluşmasında inkübasyon, gelişme, nekahat ve taşıyıcılık dönemi olmak üzere biri birini takip eden 4 safha vardır:

**1. İnkübasyon dönemi:** Bu dönem, etkenin duyarlı bir hayvana girişinden, % 1 parazitemi oluşuncaya kadar geçen süreyi içine almaktadır. Bu dönemin süresi, alınan etken sayısına bağlı olarak değişirken, doğal şartlarda ortalama 3–8 haftadır (Richey ve Palmer 1986). İnkübasyon periyodu boyunca hayvan sağlıklı görünüp, hastalığa ait klinik belirtiler göstermez. Bu safhanın sonunda, parazitin sürekli çoğalmasına paralel olarak parazitemi oranı yükselir ve vücut ısısında artış gözlenir. Bu arada hayvanın savunma sisteminin devreye girmesi ile enfekte eritrositler fagosite edilerek parçalanır ve bunun sonucunda da klinik olarak anemi şekillenir. Enfekte eritrositlerin fagosite edilmesinin nedeni, yüzey antijenlerinin değişmesidir. Bu durumda retikülo endotelial sistem (RES) enfekte eritrositleri yabancı hücre olarak algılamakta ve fagosite etmektedir (Richey ve Palmer 1986, Richey 1999).

**2. Gelişme dönemi:** Bu dönem, aneminin şekillendiği zamanı içine almakta ve % 1'lik parazitemi aşamasından, dolaşımda retikülositlerin görülmesine kadar geçen süreyi kapsar (Richey ve Palmer 1986). Bu süre, 4–9 gün arasında değişir. Hastalıkla ilgili klinik belirtilerin çoğu gelişme döneminde ortaya çıkar. Enfekte hayvanlar ilk klinik belirtilerini genellikle bu safhanın ortalarında veya 3–4. günlerinde gösterirler. Bu safhada, kanda paraziteminin ilerlemesine paralel olarak vücut ısısı yükselir (41 °C) (Tassi ve ark 2002). Akut enfeksiyonlarda klinik olarak mukozalarda solgunluk ve bazen de sarılık dikkati çeker. Şiddetli anemi ile birlikte hayvanlar hızla kondüsyon kaybeder, iştahsızlık, zayıflama, dermansızlık, depresyon, dehidrasyon, konstipasyon, kalp vurumunda artış, solunum güçlüğü ve idrarın koyu sarı renkte olması gibi klinik belirtiler gösterirler (Sevinç 2004). Dokulara yetersiz oksijen girişinden dolayı beyin de etkilenerek, hayvanlarda saldırganlık ve gebelerde abortus da görülebilir. Kan, anemiden dolayı suludur. Anaplasmosis vakalarında genellikle hemoglobinuri görülmez. Bunun nedeni, RES'in, parazitli eritrositleri serbest hemoglobin

salınmadan önce fagosite etmesidir (Richey ve Palmer 1986). Akut enfeksiyonlarda parazitemi düzeyi % 10'dan % 75'e kadar yükselebilir ve boyanmış preparatların mikroskopik muayenesinde eritrositlerin kenarına lokalize olmuş basofilik organizmalar kolaylıkla tespit edilebilir. Bu safhadaki laboratuvar değerleri (hematokrit % 5–15; toplam eritrosit sayısı, litrede  $1.5-4 \times 10^6$ ; toplam bilirubin, 100 ml de 2.0-7.0 mg; direkt bilirubin, 10 ml de 0.25-7.0 mg) ciddi hemolitik anemiyi yansıtır (Tassi ve ark 2002). Perakut vakalarda, eritrositlerin yarıdan fazlası kısa sürede etkenler tarafından istila edildiği için, genellikle 24 saat içinde ölüm görülür. Vücut ısısı ölümden önceki saatlerde normalin altına düşer. Hastalıktan ölmeyip iyileşen hayvanlarda, kan değerlerinin normale dönmesi için, ortalama 3 aylık bir nekahat dönemi gerekir (Richey ve Palmer 1986).

**3. Nekahat dönemi:** Bu dönem, retikülositlerin ortaya çıkması ile başlayıp, kan değerlerinin normale dönüşüne kadar devam eder (Richey ve Palmer 1986). Gelişme ve nekahat dönemini birbirinden ayıran en iyi gösterge eritropoiesisteki artıştır. Nekahat döneme geçişin işareti olan eritropoiesis, perifer kanda retikülositleri, polikromatofilleri, basofilik noktalar bulunan hücreleri, normoblastları, artmış hemoglobin ve lökositleri gözetilerek belirlenir (Sevinç 2004). Anaplasmosisten kaynaklanan ölümler, genellikle gelişme döneminin sonları ile nekahat döneminin başlarında görülür (Richey ve Palmer 1986). Hastalıkla ilgili otopsi bulguları, hemolitik anemiyi işaret eder. Bütün dokular solgun ve kan suludur. Ölüm akut safhanın sonlarında meydana gelmişse sarılık da görülebilir. Dalak genellikle büyük, yumuşak ve çok koyu kahverengindedir. Karaciğer büyümüş, sarı-turuncu renkte ve benekli bir görünüm almıştır. Safra kesesi genişlemiştir ve içi koyu kahverengi-yeşil renkli safra ile doludur. Mediastinal lenf düğümleri ile karaciğerin bölgesel lenf düğümlerinde orta derecede büyüme ve kahverengi görünüm dikkati çekebilir. Klinik olarak iyileşen hayvanlar genellikle hayat boyu etkenin taşıyıcısı olarak kalırlar ve hastalık için rezervuar görevi görürler (Richey ve Palmer 1986, Sevinç 2004).

**4. Taşıyıcılık dönemi:** Bu dönem, mikroskopik muayenede etkenin görülmediği andan itibaren başlar ve hayat boyu devam eder. Taşıyıcı hayvanlarda premünisyon tipinde bağışıklık şekillenmektedir. Böyle hayvanlara splenektomi yapıldığı zaman, enfeksiyon tekrar akut forma dönüşebilmektedir (Richey ve Palmer 1986).

*Anaplasma* türlerinin yaptıkları hastalıkların patojenitesi hakkında çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Anaplasmosis, çok şiddetli anemi ile seyreden bir hastalıktır. Aneminin başlıca sebepleri, kemik iliği üzerinde depresyon yapıcı etkiye bağlı olarak eritropoiesis'in

aksaması, enfekte eritrositin ömrünün kısılması ve bunların fagositik hücreler tarafından ortadan kaldırılmasıdır (Aytuğ ve ark 1991).

Eritrositleri enfekte eden initial cisimler, antikorların ortaya çıkmasına neden olur. Ömürleri kısılan eritrositler fagosit hücreler tarafından kısa sürede ortadan kaldırılırlar. Bu olay daha hastalığın inkübasyon devresi içinde başlamış olduğu için, marginal cisimlerin görülmeye başladığı erken devrede dahi ileri derecede anemi şekillenmiş olur. Kemik iliğindeki eritropoetik aktivite önceleri duraksadığı halde, sonradan aktivite giderek artar, genç eritrositler ve granulosit hücreler artış gösterir (Aytuğ ve ark 1991).

Laboratuvar bulgularında ise; kan çok sulu kıvamdadır. Kulağın ucu kanatıldığında kan adeta su gibi akar. 1 mm<sup>3</sup> kandaki eritrosit sayısı 1 milyona, hematokrit tüpünde çöken eritrosit hacmi % 7-8'e, hemoglobin miktarları 3gr/100 cc değerlerine kadar düşer. Genç eritrositler büyük çapta artış gösterir. Toplam eritrosit sayısı artar. Kanın sedimentasyon hızı artar. Kandaki üre değeri ve karaciğer enzim aktiviteleri artış göstermektedir (Aytuğ ve ark 1991).

Otopsi bulgularında ise mukoza ve konjunktivalar hafif ikterik, kan sulu, dalak iki üç misli büyümüş, dalağın kesit yüzü foliküler görünüşte, safra koyu yeşil siyahımsı renkte ve koyu kıvamdadır. Kemik iliği akut devrede kızarıklık, kronik devrede açık renktedir. Bazı lenf yumrularında büyümeler dikkati çeker. Histopatolojik muayenelerde, karaciğerde sentrolobüler nekrozlara rastlanmaktadır (Aytuğ ve ark 1991).

## 1.7. Teşhis

### 1.7.1 Mikroskopik Bakı

Akut enfeksiyonun teşhisi, genellikle klinik belirtiler, hematolojik bulgular ve Giemsa ile boyanmış preparatların mikroskopik muayenesi ile yapılır. Mikroskopik muayenede eritrositlerdeki etkenler gelişme ve nekahat döneminde tespit edilebilirken, inkübasyon ve taşıyıcılık döneminde görülemeyebilir. Kronik enfeksiyonlarda mikroskopik muayene ile etkene rastlamak çok zordur (Waal 2000). Mikroskopik muayene için kan, perifer damarlardan ve vena jugularisden alınabilir. *Babesia* türlerinin aksine, *Anaplasma* etkenlerinin kapillar damarlarda birikme özelliği yoktur. Bu sebeple vena jugularis ve diğer büyük damarlardan da kan alınabilir. Ayrıca *Anaplasma* türlerinin çok karakteristik bir morfolojik yapısı olmadığı için, babesiosisin teşhisinde kullanılan kalın damla frotiler de anaplasmosisin teşhisinde kullanılmaz. Post mortem teşhis için frotiler karaciğer, dalak, böbrek, kalp ve akciğerlerden, ayrıca perifer damarlardaki kandan hazırlanmaktadır. Post mortem muayene, bakteriyel kontaminasyon riski nedeniyle gecikmeden yapılmalıdır. Bazı *Babesia* türlerinin teşhisinde önemli olan beyin sürme preparatı, anaplasmosisin teşhisinde direkt bir öneme sahip değildir (Jonston ve ark 1980, Richey 1999). Anaplasmosisin mikroskopik teşhisi için, Giemsa ile boyama metodundan başka, diff-quick gibi hızlı boyama metotları da geliştirilmiştir. Ancak, hala Giemsa ile boyama metodu en çok tercih edilenidir (Donovan ve ark 1984, Hart ve ark 1992). Giemsa ile boyama metodunda; Hem kan hem de organ frotileri saf metanolde tespit edildikten sonra % 10'luk Giemsa solüsyonunda, genellikle 30 dakika süreyle boyanırlar. Boyamadan sonra preparatlar çeşme suyu ile 3-4 kez yıkanır ve kurutularak immersion objektifte incelenir. Giemsa ile boyama metodunda, preparatların boyama süresi, kan parazitlerinin teşhisinde çok önemlidir. Akut babesiosis, theileriosis ve anaplasmosis vakalarında, *Theileria* türleri ile küçük *Babesia* türlerinin Giemsa solüsyonunda 30 dakika boyanmasının ardından mikroskopik teşhis gerçekleştirilirken, büyük *Babesia* türleri (örn.; *Babesia bigemina*) ile *A. marginale*'nin ancak 45-60 dakika boyandıktan sonra teşhis edilebildiği gözlenmiştir. Bu sebeple kan paraziti enfeksiyonundan şüpheli hayvanların sürme kan frotilerinin, Giemsa solüsyonunda ortalama bir saat boyandıktan sonra incelenmesi tavsiye edilmektedir (Sevinç 2004). Anaplasmosis belirtisi gösteren hayvanlarda kan frotilerinin uzman kişiler tarafından muayene edilmesi gerekmektedir. Çünkü enfekte eritrositlerin RES tarafından dolaşımdan uzaklaştırılması durumunda, parazitemi seviyesi çok kısa sürede düşebilmektedir. Ayrıca retikülositlerdeki bazofilik noktalar, eritrositlerdeki Howell Jolly cisimcikleri ve boya kalıntıları *Anaplasma* ile karıştırılabilmektedir (Kocan ve ark 2000, Waal 2000).

### **1.7.2. Serolojik Yöntemler**

*Anaplasma* yönünden latent enfekte hayvanları mikroskopik muayene ile tespit etmek güçtür. Böyle hayvanların teşhisi, *Anaplasma* türüne karşı şekillenen spesifik antikorların veya etkenin genetik materyalinin tespit edilmesi ile mümkündür. Bu amaçla çeşitli serolojik ve biyoteknolojik teknikler geliştirilmiştir. Antikor tayini için, çeşitli laboratuarlarda Komplemant Fiksasyon, Kard aglutinasyon, İndirek Floresan Antikor Testi ve Enzyme-Linked Immunosorbent assay testleri rutin olarak kullanılmaktadır (Amerault ve Roby 1968, Amerault ve ark 1972, Montenegro ve ark 1985, Duzgun ve ark 1988, Goff ve ark 1990).

#### **Competitive enzyme-linked immunosorbent assay (C-ELISA)**

Competitive-ELISA (c-ELISA) testi son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu testte kullanılan *A. marginale*'nin 19 kDa rekombinant antijeni bilinen tüm *Anaplasma* türleri arasında ortak olup, koyun ve keçilerde de hastalığın teşhisinde kullanılabilir (Sevinç 2004). C-ELISA testinin, *A. marginale*'ye karşı şekillenen antikorların tespitinde, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu ve bu antikorları enfeksiyondan 6 yıl sonrasına kadar tespit edebildiği bildirilmektedir (Amerault ve ark 1968).

#### **Kard Aglutinasyon Test(CAT)**

Bu test duyarlı olması, laboratuvar şartlarında ve saha şartlarında yapılabilmesi, birkaç dakika içinde sonuç vermesi gibi avantajlara sahiptir. Spesifik olmayan reaksiyonlardan dolayı testin subjektif değerlendirilmesi, testin yorumlanmasında tutarsızlıklar oluşmaktadır. Buna ek olarak CAT antijenleri *A. marginale* moleküllerinin süspansiyonudur ve bunların hazırlanması zordur. Dalağı alınmış buzağular intravenöz olarak *Anaplasma* ile enfekte edilir. Parazitemi % 50'yi geçtiğinde enfekte eritrositler yıkanır, parçalanır ve *Anaplasma* etkenleri pelet olarak toplanır. Bu pelet karıştırılır, yıkanır ve sonra üretilen antijenler boya solüsyonunda kullanılır (Richey 1999).

#### **Komplemant Fiksasyon Testi(CF)**

CF testi, anaplasmosisin teşhisinde uzun yıllar kullanılmıştır. Bununla birlikte antijen üretim teknikleri arasındaki farklılıklardan dolayı bu testin sensitivitesi % 20-60 arasındadır. CF testi taşıyıcı hayvanların teşhisinde başarılı bir yöntem değildir. Bu yüzden CF testi artık anaplasmosisin teşhisinde tavsiye edilmemektedir (Coetzee ve ark 2007).



## **ELISA**

Pozitif antijen ve negatif antijen kullanımına dayanan İndirek ELİSA testi *A. marginale* pozitif serumların teşhisi için güvenilir bir yöntemdir. Bu test yalnızca tek antijen kullanılan testlerden daha külfetli bir test olmasına rağmen, serum içerisindeki spesifik olmayan etkenleri elimine etmektedir (Duzgun ve ark 1988). Bunun dışında Dot-ELISA yöntemi de teşhiste kullanılmaktadır. Dot-ELISA yöntemi İndirek ELISA yöntemine göre hızlı, ucuz ve basit bir yöntemdir. Dot-ELISA'nın sensitivitesi % 93, spesifitesi ise % 96'dır (Montenegro ve ark 1990).

## **İndirek Floresan Antikor Testi (IFAT)**

IFAT testi diğer serolojik testelere göre daha az tercih edilir. Bu testte en büyük problem nonspesifik ışımalarıdır. Paraziteminin % 5-10 olduğu dönemde toplanan kanlardan hazırlanan antijenler test için uygundur. Enfekte eritrositlere yapışan antikorlardan dolayı oluşan nonspesifik ışımaları azaltmak için antijen preparatları hazırlanmadan önce eritrositler asidik gilisine buffer ile yıkanmalıdır (Montenegro ve ark 1985).

### **1.7.3 Moleküler Yöntemler**

Şimdiye kadar yaygın olarak kullanılan IFAT ve ELISA gibi serolojik testlerin yanısıra parazitin varlığının direkt olarak ortaya konması amacıyla moleküler tanı yöntemlerinden olan PCR da sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Serolojik test sonuçları bazen birbirinden farklı olabilmektedir. Bu nedenle de daha spesifik olan moleküler teknikler geliştirilmiştir. *A. marginale* ve *A. centrale* arasında kros reaksiyon olması dolayısıyla, serolojik metotlarla tür tayini yapılamamaktadır. Ancak, son yıllarda geliştirilmiş olan PZR-DNA problemleri ile tür tayini ve kronik enfeksiyonların teşhisi yapılabilmektedir. Bu problemler ile % 0,000025'lik parazitemi seviyesi gösteren sığırların bile teşhis edilebildiği bildirilmiştir (Waal 2000, Stiller 1992). *Anaplasma* türlerinin tespitinde çoğunlukla kullanılan moleküler teknikler PZR, nested PZR, PZR-RFLP ve RLB yöntemleridir. Noaman ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada, 150 sığır kanı PZR-RFLP yöntemi ile bakılmış ve 150 sığır kanından 50 tanesinde *A. marginale* pozitif bulunmuştur. Derdakova ve arkadaşları (2003), Slovakya'da ilkbaharda topladıkları 63 kenede PZR yöntemiyle *A. phagocytophilum* ve *Borrelia burgdorferi*'yi tespit etmeye çalışmışlardır. *A. phagocytophilum*'un 16S gen bölgesine özgü primerler kullanılarak PZR'ları yapılmıştır. PZR sonuçlarına göre, 8 adet kenede *A. phagocytophilum* pozitif bulunmuştur. Jilintai ve ark. (2009), *A. phagocytophilum* ve *A. bovis*'i moleküler yöntemlerle tespit etmek amacıyla Japonya'da 2007 yılının Kasım

ayında, 78 adet sığırdan kan toplamışlardır. Türlerine spesifik primerler kullanılarak nested-PZR uygulanmıştır. Nested PZR sonuçlarına göre, 12 sığırdan 1 sığırdan *A. bovis*, 1 sığırdan ise *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir.

### **1.8. Tedavi ve Korunma**

Hastalığın akut safhasına kadar klinik belirtilerin ortaya çıkmaması nedeniyle anaplasmosis, tedavisi güç bir hastalıktır. Spesifik bir tedavi ancak enfeksiyonun başlangıç döneminde ilaç uygulanırsa başarılı olmaktadır. Anaplasmosisin tedavisinde en yaygın kullanılan ilaçlar, tetrasiklinler (tetracycline, hydrochloride, chlortetracycline, oxytetracycline ve doxycycline), gloxazone ve imidocarb'dır (Roby ve Mazzola 1972, Özlem ve ark 1988, Kocan ve ark 2000, Blouin ve ark 2002). Hastalığın gelişme döneminin ortalarında, parazitemi seviyesi % 15'in altında iken uygulanan oksitetrasiklinin (OTC) bir tek parenteral uygulaması, hastalığın şiddetini azaltmada çok etkili olabilmektedir. Bu safhada OTC ile tedavi edilen hayvanların iyileşme şansı % 50'nin üzerindedir. Parazitemi seviyesi % 15'in üzerindeyse OTC'in etkinliği azalmaktadır. Bu durumda iyileşme, kemik iliğinin, harap olmuş eritrositleri karşılayacak düzeyde eritrosit üretmesine bağlıdır (Lincoln ve ark 1982). Enfeksiyonun gelişme döneminin sonları ile nekroz döneminin başlarında genellikle OTC uygulanmamaktadır (Todorovic ve ark 1979). Çünkü bu dönemde uygulanan OTC, hastalığın seyrini düzeltmede çok az etkili veya tamamen etkisizdir. Bu safhada hayvanların hareket etmek için güç sarf etmeleri de, hayvanın anoksiden dolayı ani ölümüne yol açabilmektedir. Bu safhada eritropoyezisi stimüle etmek için hematinik ilaç uygulaması, yeterli miktarda kan transfüzyonu ve sıvı elektrolit tedavisi, yapılabilecek en iyi uygulama olarak görülmektedir. OTC'in 10-20 mg/kg dozda, kas veya damar içi yolla 2-3 defa; Imidocarb'ın ise 3 mg/kg dozda, kas içi yolla bir defa uygulanması tavsiye edilmektedir (Todorovic ve ark 1979, Richey ve ark 1986, Richey 1999, Kocan ve ark 2000).

Anaplasmosisten korunmak ve hastalığı kontrol etmek için, planlı ve uzun süreli programların uygulanması gerekmektedir. Bu amaçla her çiftliğin durumuna uygun, birbirinden farklı birçok koruma ve kontrol programları geliştirilmiştir (Kocan ve ark 2000). Anaplasmosisin koruma ve kontrolünde kısaca aşağıdaki prosedürlere dikkat edilmelidir.

#### **A. Vektör kontrolü**

Anaplasmosis enfekte hayvanlardan duyarlı hayvanlara kan yoluyla yayılmaktadır. Bulaşma mekanik olarak kan emici sinekler ve kontamine malzemelerle olmaktadır. Biyolojik nakilde ise keneler önemli rol oynamaktadır (Richey ve ark 1986). Kene enfestasyonlarının

kontrolü, sığırların ve bunların bulunduğu barınakların akarazit ile muamelesi yoluyla yapılabildiği gibi, biyolojik yolla ya da kenelere karşı aşı uygulaması ile yapılabilmektedir (De Castro ve ark 1997, Frisch 1999, Willadsen 2004, Samish ve ark 2004, Ghosh 2008). Kene mücadelesinde akarazit kullanımı, günümüzde de üreticiler tarafından en sık başvurulan yöntem olma özelliğini korumaktadır. Akarisitler; banyo, sprey, dökme, damlatma, serpmeye ya da enjeksiyon tarzında kullanılmaktadır. Kenelerle bulaşan hastalıkların kontrolü için akarisit kullanılmasında dikkat edilmesi gereken hususlar vardır; (i) Banyo yönteminde tüm hayvanların uygun şekilde akarasite maruz kaldığından emin olunmalıdır, (ii) Aynı akarasitin uzun süreli kullanımı kenelerde direnç gelişmesine yol açabilmektedir, (iii) Devamlı akarisit kullanımı bölgede endemik instabilite gelişmesine ve akarazit kullanımında meydana gelebilecek herhangi bir aksaklığa bağlı olarak hayvanların tekrar kene enfestasyonuna maruz kalması ile salgınlar meydana gelebilmektedir. Akarazit kullanımının bir başka dezavantajı da artan maliyetleri, hayvansal ürünlerde ve çevrede kalıntı bırakmalarıdır (Richey ve ark 1986, De Castro ve ark 1997, Frisch 1999).

Anaplasmosis'in yayılmasını engellemek için yapılan vektör kontrolü genellikle pratik bir uygulama değildir. Vektörlerle mücadele anaplasmosisin bulaşmasını bütün olarak engellemek için uygun bir metottur. Aynı zamanda akarisit uygulamaları vektör popülasyonunu azaltmakta ve anaplasmosisin görülme sıklığını düşürmektedir. Periyodik olarak sprey ve banyo tarzı uygulanan ilaçlar sığırlarda vektörlerle mücadelede yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem vektör popülasyonunun düşük olduğu otlaklarda sığırları korumak için en çok kullanılan yöntemdir.

## **B. Taşıyıcı Hayvanların Kontrolü**

Anaplasmosis'in kontrolünde önemli noktalardan biriside taşıyıcı hayvanlarla sağlıklı hayvanların birbirlerinden ayrılmasıdır. Bunun için kan testleri yapılmalıdır. Yapılan kan testleri sonucu pozitif hayvanlar sağlıklı hayvanlardan ayrılarak farklı bir sürü oluşturulur. Taşıyıcı hayvanları tedavi etmek için tetrasiklin türevi antibiyotikler kullanılmaktadır (Richey ve ark 1986). Tedaviden sonra serolojik testlerle taşıyıcı hayvanların hastalığı atlatıp atlatmadığına bakılmalıdır. Tedaviden birkaç ay sonra bazı hayvanlar serolojik testlerde pozitif sonuç verebilir fakat bu hayvanların kanları duyarlı hayvanları enfekte etmeyebilir. Tedaviden 6 ay sonra yapılan testlerde pozitif hayvan çıkarsa tedavi başarısız olmuştur ve bu hayvanlar tekrar tedavi edilir ve diğer sağlıklı hayvanlardan ayrılırlar. Taşıyıcı hayvanlarda tedavi amacıyla Oksitetrasiklin ve klortetrasiklin kullanılabilir. Oksitetrasiklin, kas içi veya damar içi uygulanabilir. Damar içi uygulamalarda serum ile sulandırılıp verilmelidir. Kas içi

uygulamalarda kaslarda yangıya neden olmamak için her enjeksiyon yerine 10 ml'den fazla ilaç yapılmamalıdır (Richey ve ark 1986). Taşıyıcı hayvanların tedavilerine vektör sezonunun sonunda başlanmalıdır.

### C. Aşı Uygulanması

*Anaplasma* ile enfekte hayvan sayısı yüksek olan sürülerde bütün hayvanlara test yapıldıktan sonra enfekte olmayan hayvanların aşılması ekonomik olarak daha uygundur (Waal 2000). *Anaplasma* ile enfekte hayvanlara aşı uygulamasına gerek yoktur. Aşılanan hayvanların *Anaplasma* ile enfekte olabileceği ve sonradan taşıyıcı olabilecekleri unutulmamalıdır (Richey ve ark 1986). Aşı enfeksiyondan korumak için yeterli olmayabilir ama hastalığın şiddetinde azalmaya yardımcı olur. Anaplasmosis'e karşı aşılanmış ineklerde yavru ölümleri görülmüştür. Aşılamaya karşı oluşan antikolar sığırların kolostrumuna geçer ve yavrunun annesini emmesi sırasında yavruya geçer. Buzağıda kalıtımla (babadan gelen) gelen yabancı kan hücreleri varsa, buzağının kırmızı kan hücreleri kolostral antikolar tarafında hızlı bir şekilde tahrip edilir ve buzağı 1 ile 5 gün içinde ölür. Buzağılardaki bu olay, isoeritrolysis veya sarı buzağı sendromu olarak adlandırılır. Bu yüzden aşılama programı buzağılama olmadığı dönemlerde yapılmalıdır (Richey ve ark 1986).

Bulaşmanın az olduğu bölgelerde aşılamada, *Anaplasma* türlerinin daha az patojen izolatlarını içeren canlı aşılar kullanılmaktadır. Canlı *A.centrale* aşısı dünyada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Canlı *A. centrale* aşısı, *A. marginale* enfeksiyonlarına karşı tam olarak koruma sağlayamamasına rağmen *A. marginale* tarafından oluşturulan hastalıkların şiddetini azaltır ve ölümleri engelleyebilir (Shkap ve ark 2002). *A. centrale* tarafından oluşturulan korumada her iki türün aynı antijenik determinantları paylaşması önemli rol oynamaktadır. Canlı aşılar *A. marginale*'nin zayıflatılmış suşlarında kullanılmaktadır. Canlı aşılar tek bir dozda ömür boyu koruma sağlamak ve tekrar aşılamaya gerek duyulmamaktadır (Kocan ve ark 2010). Canlı aşıların en önemli sakıncası, aşılama sırasında diğer hastalıkların bulaşma riskidir. Diğer bir aşılama yöntemi de ölü aşıların kullanılmasıdır. Tek bir dozla yaşam boyu koruma sağlayan canlı aşıların aksine ölü aşılar her yıl tekrarlanmalıdır. Ayrıca ölü aşılar canlı aşılarla göre daha düşük bağışıklık oluşturmaktadır (Shkap ve ark 2002).

#### **D. Vektör sezonu boyunca duyarlı hayvanlara yemleri ile klortetrasiklin verilmesi**

Anaplasmosis'den korumak için hayvanların yemlerine 1 tona 1,5 kg olacak şekilde klortetrasiklin katılabilir. Bu uygulama yıl boyunca devam edebilir. Ayrıca vektör sezonu boyunca hayvanları Anaplasmosis'den korumak için oral olarak 1kg vücut ağırlığına 0,25 mg klortetrasiklin oral olarak verilebilir (Richey ve ark 1986).

Bu çalışma Aydın yöresinde sığır ve kenelerde *Ehrlichia/Anaplasma* türlerini ve karakterizasyonlarını belirlemek amacı ile yapılmıştır.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Çalışmada Kullanılan Parazit Materyali ve DNA'nın Ayrılması

Bu çalışmada Aydın iline bağlı Söke ilçesi ile Dalama, Akçaova ve Osmanbükü beldelerindeki (Resim 4) sığırlardan Haziran, Eylül, Aralık 2006 ile Mart 2007 tarihlerinde toplanan kan örnekleri kullanılmıştır. Belirtilen dönemlerde ilgili bölgelere her gidişte mümkün olduğunca aynı hayvandan kan örnekleri alınmaya çalışılmıştır. Odaklara üç ayda bir gidilmiş ve gerek hayvan sahiplerinin tutumları nedeniyle gerekse hayvanın bulunmadığı durumlarda farklı hayvanlar da çalışmaya dahil edilmiştir. Haziran ayında dört odağa ilk ziyarette 189 sığırdan kan örneği alınmıştır. Toplamda 679 adet kan örneği (Çizelge 2), belirtilen tarihlerde hayvanlardan toplanmıştır.



Resim 4. Aydın iline bağlı Söke ilçesi ile Dalama, Akçaova ve Osmanbükü beldelerinin coğrafik yerleşimi.

Çizelge 2. Odaklardan toplanan kan örneklerinin aylara göre sayıları

	Haziran	Eylül	Aralık	Mart	Toplam
<b>Osmanbükü</b>	45	48	66	20	179
<b>Söke</b>	50	61	32	39	182
<b>Dalama</b>	48	48	26	29	151
<b>Akçaova</b>	46	54	34	33	167
<b>TOPLAM</b>	189	211	158	121	679

Soğuk zincirde taşınan kan örnekleri 200'er µl alınarak eppendorf tüplere ayrıldıktan sonra kullanım aşamasına kadar -80 °C'de saklanmıştır. Ayrıca Dalama, Osmanbükü ve Akçaova'da sığırların üzerinden toplanan 186 kene örneğinin türleri ve odaklara göre sayıları Çizelge 3'te verilmiştir. Odaklardan toplanan kenelerin gruplandırılması Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 3. Odaklardan toplanan kene örneklerinin türleri ve sayısı

	<i>Hyalomma marginatum</i>	<i>Hyalomma excavatum</i>	<i>Hyalomma anatolicum</i>	<i>Rhipicephalus turanicus</i>	Toplam
<b>Osmanbükü</b>	2	59	3	0	64
<b>Dalama</b>	79	2	0	13	94
<b>Akçaova</b>	5	23	0	0	28
				<b>Toplam</b>	186

Çizelge 4. Odaklardan toplanan kene grupları

Kene Grup No	Toplandığı Yer	Toplandığı Tarih	Tür	Cins ve Sayısı
K1	Dalama	20.03.2007	<i>H. mar.</i>	10♂
K2	Dalama	20.03.2007	<i>H. mar.</i>	10♀
K3	Dalama	20.03.2007	<i>H. mar.</i>	10♂
K4	Akçaova	01.03.2007	<i>H. mar.</i>	5♂
K5	Akçaova	01.03.2007	<i>H. ex.</i>	23♂
K6	Osmanbükü	22.03.2007	<i>H. ex.</i>	11♂
K7	Osmanbükü	22.03.2007	<i>H. ex.</i>	10♀
K8	Osmanbükü	22.03.2007	<i>H. ex.</i>	10♂
K9	Dalama	20.03.2007	<i>H. mar.</i>	10♀
K10	Dalama	20.03.2007	<i>H. mar.</i>	11♂
K11	Dalama	20.03.2007	<i>H. mar.</i>	10♂
K12	Osmanbükü	22.03.2007	<i>H. ex.</i>	10♂
K13	Osmanbükü	22.03.2007	<i>H. ex.</i>	10♂
K14	Osmanbükü	22.03.2007	<i>H. ex.</i>	8♀
K15	Osmanbükü	22.03.2007	<i>H. mar.</i>	2♀
K16	Osmanbükü	22.03.2007	<i>H. an.</i>	3♂
K17	Dalama	22.03.2007	<i>R.turanicus</i>	13♀
K18	Dalama	20.03.2007	<i>H. ex.</i>	2♂
K19	Dalama	20.03.2007	<i>H. mar.</i>	8♀
K20	Dalama	20.03.2007	<i>H. mar.</i>	10♂

Toplanan kanlardan Promega Wizard Genomic DNA ayırma kiti (Promega Corporation, Madison, WI, USA) kullanılarak DNA'lar çıkartılmıştır. DNA, her bir EDTA'lı kan örneğinin 200 µl'sinden, protokole uygun olarak hazırlanmıştır. Bu kite dayanarak tüm kandan genomik DNA izolasyonu şu şekilde yapılmıştır: Eppendorf tüplere 200'er µl miktarında bölünmüş kan örnekleri oda sıcaklığında çözdürüldükten sonra üzerlerine 600 µl Cell lysis solüsyonu eklenip 10 dk. oda sıcaklığında inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon süresince tüpler 2–3 kez alt-üst elde edilmiş ve süre sonunda örnekler 13000–16000 x g'de 20 sn. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda dipteki pelete dokunulmadan süpernatant atılmıştır. Bu işlemler bir kez daha tekrar edildikten sonra dipte kalan beyaz kan hücreleri süspansiyon haline gelene kadar 10–15 sn. hafifçe vortekslenmiştir. Üzerine 200 µl Nuclei Lysis Solüsyonu eklenerek beyaz kan hücrelerinin lize olması için 5-6 kez pipete edilmiştir. Daha sonra 37 °C'de 1 saat inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonunda üzerlerine 1 µl. RNAse



Solüsyonu eklenerek tüpler 2–5 kez alt-üst edilmiş ve 37 °C’de 15 dk. inkubasyona bırakılmıştır. 15 dk. sonunda 70 µl Protein Presipitasyon Solüsyonu eklenerek 10–20 sn. vortekslenmiştir. Daha sonra 13000–16000 x g’de 3 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda dipte kalan koyu kahverengi protein peletine dokunulmadan süpernatant alınmış ve içerisinde 200’er µl’lik isopropanol bulunan 1.5 ml’lik vida kapaklı tüplere aktarılmıştır.

Tüplerde isopropanol içerisinde yüzen beyaz küçük DNA bulutu görülünceye kadar hafifçe sallanmış ve sonra 13000–16000 x g ’de 1 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda isopropanol, dipteki DNA rahatsız edilmeden dökülmüştür. DNA üzerine 200 µl % 70’lik ethanol konularak tüp hafifçe alt-üst edilmiş ve 13000–16000 x g’de 1 dk. santrifüj edilmiştir. Daha sonra üstteki ethanol dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmış ve pelletin kuruması için 10–15 dk oda ısısında inkübe edilmiştir. Tüplere 40 µl DNA Rehidrasyon Solüsyonu eklenerek 65 °C’de 1 saat inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonunda rehidrasyon solüsyonu içerisindeki DNA kullanım aşamasına kadar -20 °C’de saklanmıştır.

Toplanan keneler tür ve cins ayrımları yapıldıktan sonra sıvı azotta ezilmiştir. Kenelerden DNA izolasyonu için Fenol Kloroform yöntemi kullanılmıştır. Ezilen keneler ependorf tüplerde toplandıktan sonra üzerine 200 µl PBS (Fosfat Tampon Çözeltisi) solüsyonu eklenmiştir. 10 dakika kaynatılmış ve soğuması için 5 dakika oda ısısında bekletilmiştir. Kapakta toplanan sıvıyı almak için kısa bir süre santrifüj edilmiş, daha sonra üzeri 20 µl % 10’luk SDS’den koyulup vortekslenmiştir. 5 dakika maksimum hızda santrifüj edilmiştir. Üsteki sıvı toplanıp temiz bir ependorfa alındıktan sonra üzerine 2XPCI (fenol-kloroform-izoamil alkol) solüsyonundan 200 µl konulup 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra üsteki sıvı temiz bir ependorfa alınmıştır. Üzerine toplanan sıvının (yaklaşık 175 µl) 1/10’u kadar 3M NaAc ve 2,5 katı kadar % 100 ethanol konulup, -80 °C’de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkubasyon işlemi bittikten sonra 15 dakika boyunca maksimum hızda santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi bittikten sonra ependorf tüplerinin üstünde biriken sıvı çıkarılmış ve pelet 500 µl % 70’lik soğuk ethanolde yıkanmıştır. 5 dakika santrifüj edilmiştir. Pelet dağıtılmadan üsteki sıvı dikkatli bir şekilde alınmış ve üzerine 50 µl TE buffer konulup, kullanılıncaya kadar -20 °C’de saklanmıştır.

## 2.2. Anaplasma Türlerinin PZR ile Tespiti

İlk olarak *Ehrlichia/Anaplasma* türlerinin örnek toplanan bölgelerdeki genel dağılımını belirlemek amacıyla 16S rRNA geninin tüm türlerde korunmuş ortak 345 bp'lık bölgesi çoğaltılmıştır. Bu amaçla yapılan soy PZR'nda ileri (EHR16SD) ve geri (EHR16SR) primerleri (Çizelge 5) kullanılmıştır. PZR için her bir ependorf tüpünde 2µl hedef DNA içeren 25 µl reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Bu karışımda 100 µM dNTP (Deoksinükleosid trifosfat: (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 12,5 pmol ileri ve geri yönlü primerler (100 pmol/µl) (BM Laboratuvar Sistemleri, Ankara/Türkiye), 0,75 U TaqDNA polimeraz, 1.6 mM MgCl<sub>2</sub> (Promega, Madison, WI, USA), 4 µl 10 x PCR buffer (100 mM Tris-HCL, pH 9,0 (25 °C); 15 mM MgCl; 500 mM KCl; 0,1% gelatin; 1% Triton X-100) (Promega, Madison, WI/USA), 18.25 µl milli Q (double distile su) kullanılmıştır. Reaksiyon Techne TC-512 marka otomatik ısı döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. PZR'da her bir siklus; başlangıç denaturasyon aşamasında 95 °C'de 5 dk. 1 siklus; 95° C'de 30 sn. denaturasyon, 55 °C'de 30 sn. primer annealing (bağlanma) ve 72 °C'de 90 sn. ekstensiyon (uzama) aşamalarını içeren 34 siklus; final ekstensiyon aşamasında 72 °C'de 5 dk. 1 siklus uygulanmıştır. Elde edilen PCR ürünleri ethidium bromide içeren % 2'lik agaroz jelde elektroforez yöntemiyle koşturulduktan sonra jel ultraviyole ışık altında incelenmiştir.

Çizelge 5. *Ehrlichia/Anaplasma* türlerinin ilgili gen bölgelerini PZR ile çoğaltmada kullanılan primer çiftlerinin özellikleri

Türler	Primer Adı	Sekans	PZR Ürün Boyutu (bp)
<i>Ehrlichia/Anaplasma</i>	EHR16SD	5'-GGTACCYACAGAAGAAGTCC	345
Tüm türler	EHR16SR	5'-TAGCACTCATCGTTTACAGC	
<i>Ehrlichia/Anaplasma</i>	EC9	5'-TACCTTGTTACGACTT	1,462
Tüm türler	EC12A	5'-TGATCCTGGCTCAGAACGAACG	
<i>A. marginale</i>	MAR1bB2_for	5'-GCTCTAGCAGGTTATGCGTC	265
	MAR1bB2_rev	5'-CTGCTTGGGAGAATGCACCT	
<i>A. centrale</i>	mpb58for	5'-CATAACTTTGTTGTTGTAAAGCCT	904
	mpb58rev	5'-TTCCAGACCTTCCCTAACTA	
<i>A. bovis</i>	AB1f	5'-CTCGTAGCTTGCTATGAGAAC	551
	AB1r	5'-TCTCCCGGACTCCAGTCTG	
<i>A. phagocytophilum</i>	SSAP2f	5'-GCTGAATGTGGGGATAATTTAT	641
	SSAP2r	5'-ATGGCTGCTTCCTTTCGGTTA	

Bu çalışmada ayrıca *Anaplasma* türlerinin belirlenmesi için 16S rRNA ve major yüzey proteinini (*msp*) kodlayan gen bölgelerini çoğaltan türlere özgü primerler kullanılmıştır. Kullanılan primerler ve çoğaltılan gen bölgeleri Çizelge 5'te gösterilmiştir. *A. marginale* ve *A. centrale* türlerine ait *msp* genine özgü primerler kullanılarak türe özgü bölgeler standart PZR ile çoğaltılmıştır.

*A. marginale* türlerinin belirlenmesinde uygulanan PZR'da 25 µl'lik son hacimde, 45 mM Tris-HCl, pH 8.8, 11 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 4.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.113 mg / ml BSA, 4.4 µM EDTA, herbir dATP, dCTP, dGTP ve dTTP'tan 1 mM, 1 U *Taq* DNA polimeraz (Thermo Electron Corp.), 10 µM ileri (MAR1bB2\_for) ve geri (MAR1bB2\_rev) yönlü primer çifti (Çizelge 5) ile 2 µl DNA örneği kullanılmıştır. Reaksiyon Techne TC-512 marka otomatik ısı döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon 94°C'de 3 dakikalık ön denaturasyonu takiben, her siklus denaturasyon (95 °C'de 50 saniye), bağlanma (55 °C'de 50 saniye) ve uzama (65 °C'de 50 saniye) aşamalarından oluşmak üzere 30 siklus ve 65 °C'de 10 dakikalık son uzama olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri 4 °C'de tutulmuştur. Daha sonra her PZR ürününden 10 µl olmak koşuluyla mililitresinde 10 µl ethidiyum bromid bulunan % 1,5'lik agaroz jelde 100 voltluk akımda bir saat elektroforeze tabi tutulmuş ve son olarak ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir.

*Anaplasma centrale* türünün belirlenmesinde uygulanan PZR'da 50 µl'lik son hacimde, 45 mM Tris-HCl, pH 8.8, 11 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 4.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.113 mg / ml BSA, 4.4 µM EDTA, herbir dATP, dCTP, dGTP ve dTTP'tan 1 mM, 1 U *Taq* DNA polimeraz (Thermo Electron Corp.), 10 µM ileri (mpb58for) ve geri (mpb58rev) yönlü primer çifti (Çizelge 5) ile 2 µl DNA örneği kullanılmıştır. Reaksiyon Techne TC-512 marka otomatik ısı döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon 95 °C'de 3 dakikalık ön denaturasyonu takiben, her siklus denaturasyon (94 °C'de 45 saniye), bağlanma (56 °C'de 45 saniye) ve uzama (56 °C'de 45 saniye) aşamalarından oluşmak üzere 35 siklus ve 72 °C'de 10 dakikalık son uzama olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri 4 °C'de tutulmuştur. Daha sonra her PZR ürününden 10 µl olmak koşuluyla mililitresinde 10 µl ethidiyum bromid bulunan % 1,5'lik agaroz jelde 100 voltluk akımda bir saat elektroforeze tabi tutulmuş ve son olarak ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir.

*Anaplasma bovis* ve *A. phagocytophilum* türlerinin tespitinde ise nested PZR yöntemi kullanılmıştır. Burada ilk aşamada tüm *Ehrlichia/Anaplasma* türlerinde ortak korunmuş bölgeleri çoğaltılan ileri (EC9) ve geri (EC12A) yönlü primerleri kullanılarak elde edilen PZR ürünlerinden ikinci basamak olan nested PZR için 1 µl alınıp her türe ait özgül primer çiftleri (Çizelge 5) kullanılarak *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* türlerine özgü 16S gen bölgesi

çoğaltılmıştır. İlk aşama olan genus PZR’da 50 µl’lik son hacimde, 45 mM Tris–HCl, pH 8.8, 11 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, herbir dATP, dCTP, dGTP ve dTTP’tan 0.8 mM, 1 U *Taq* DNA polimeraz (Thermo Electron Corp.), 10 µM ileri (EC9) ve geri yönlü primer çifti (EC12A) ile 2 µl DNA örneği kullanılmıştır. Reaksiyon Techne TC–512 marka otomatik ısı döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon 95 °C’de 4 dakikalık ön denaturasyonu takiben, her siklus denaturasyon (94 °C’de 30 saniye), bağlanma (52 °C’de 30 saniye) ve uzama (72 °C’de 60 saniye) aşamalarından oluşmak üzere 40 siklus olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri bir sonraki aşama olan nested PZR’de kullanılmak üzere 4 °C’de tutulmuştur.

Daha sonra *A.bovis* ve *A.phagocytophilum*’a özgü primerler kullanılarak nested PZR uygulanmıştır. PZR’da 25 µl’lik son hacimde, 45 mM Tris–HCl, pH 8.8, 11 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, herbir dATP, dCTP, dGTP ve dTTP’tan 0.8 mM, 1 U *Taq* DNA polimeraz (Thermo Electron Corp.), 10 µM ileri ve geri yönlü primer çifti (Çizelge 5) ile 1µl genus PZR ürünü kullanılmıştır. Reaksiyon Techne TC–512 marka otomatik ısı döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon 95 °C’de 4 dakikalık ön denaturasyonu takiben, her siklus denaturasyon (94 °C’de 60 saniye), bağlanma (57 °C’de 60 saniye) ve uzama (72 °C’de 60 saniye) aşamalarından oluşmak üzere 40 siklus olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri 4 °C’de tutulmuştur. Daha sonra her PZR ürününden 10 µl olmak koşuluyla mililitresinde 10 µl ethidiyum bromid bulunan % 1,5’lik agaroz jelde 100 voltluk akımda bir saat elektroforeze tabi tutulmuş ve son olarak ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir.

### 2.3. Çoğaltılan PZR Ürünlerinin Dizilim Analizleri İçin Klonlanması

*Anaplasma* türlerine özgü primer çiftleri kullanılarak çoğaltılan PZR ürünleri %2’lik agaroz jelde yukarıda belirtildiği şekilde elektroforeze tabi tutularak, ultraviyole ışık altında görüntülenmiş ve 345 bp’lik ürünler jelden kesilerek ayrılarak Qiagen Gel purifikasyon kiti (QIAGEN, Almanya) kullanılarak purifiye edilmişlerdir. Bu amaçla jelden kesilerek alınan bantlar tartılarak gramajları belirlenmiş ve belirlenen ağırlığın üç katı kadar QG solüsyonu eklenerek (Örneğin; 10 miligram gel ağırlığına 30 mikrolitre QG solüsyonu eklenerek 50 °C’de 10 dakika boyunca inkübe edilerek jelin erimesi sağlanmıştır. Daha sonra erimiş jeli içeren sıvı pipetle alınarak içinde jelden ayrılan DNA’nın bağlanmasını sağlayan kolonlar (QIAquick spin column) bulunan 2 mL’lik mikrosantrifüj tüplerine konularak bir dakika boyunca santrifüj edilmiş ve jelden ayrılan DNA’nın koluma bağlanması sağlanmıştır. Bunu takiben koluma bağlı olan DNA 500 µl QG solüsyonu eklenerek yukarıda belirtilen santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra 750 µl PE solüsyonu eklenerek bir dakika santrifüj

edilmiş, bunu takiben bir dakikalık ikinci santrifüj işlemi uygulanarak kolona bağlı kalabilme ihtimali olan solüsyon artıklarından arındırmıştır. Son aşamada kolona bağlı DNA'nın elüye edilebilmesi için 50 µl Elüsyon solüsyonu (TE; Tris-EDTA, pH 7) eklenerek bir dakika boyunca oda ısısında bekletilmiş ve bunu takiben kolum temiz 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne konulmuş ve bir dakika boyunca santrifüj edilerek purifiye edilen DNA'nın tüpe elüsyonu sağlanmıştır. Jelden kesilerek ayrılan ve purifiye edilen PZR ürünleri sekans analizi için TOPO TA Klonlama Kiti (Invitrogen™, ABD) kullanılarak pCR4-TOPO plasmid vektörü (Invitrogen™) içine klonlanmıştır. Bu amaçla, temiz bir mikrosantrifüj tüpü içine dört µl purifiye edilmiş PZR ürünü, bir µl tuz solüsyonu ve bir µl pCR4-TOPO plasmid vektör eklenerek oda ısısında (22-23°C'de) beş dakika inkübe edilerek PZR ürününün vektör içine topoisomeras I enziminin tirozil kısmı (Tyr-274) yardımı ile klonlanması sağlanmıştır ve vektöre klonlanan ürün Transforming One Shot® TOP10 kimyasal olarak yeterli hale getirilmiş *E. coli* hücreleri (Invitrogen™) içine transforme edilmiştir. Bu amaçla, *E. coli* hücreleri -80 °C'den buz üstüne alınarak eritilmiş ve üzerine iki µl klonlama reaksiyonundan elde edilen ürün eklenerek parmakla hafifçe vurularak karışması sağlanmıştır. Daha sonra 30 dakika boyunca buz üzerinde bekletilen ürünlere 42 °C'lik su banyosu içinde 30 saniye boyunca sıcak şoku uygulanarak *E. coli* hücrelerinin yüzey geçirgenliği arttırılarak vektörün hücre içine girişi sağlanmıştır. Sıcak şokunu takiben hücrelerin üzerine 250 µl S.O.C medyum (% 2 Tripton, % 0,5 Maya Ekstarktı, 10 mM NaCl, 2.5 mM KCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM MgSO<sub>4</sub>, 20 mM glukoz) eklenerek 37 °C'lik çalkalamalı inkübatör içinde 200 rpm de, bir saat boyunca tüpler yatay konumda olacak şekilde inkübe edildikten sonra daha önceden hazırlanan ve içerisinde 100 µg/ml ampisilin bulunan LB agar (LB agar; 1 litresinde 100 mg NaCl, % 10 Triptone, % 5 Maya ekstraktı, % 10 agar bulunan solüsyon) üzerine 20 ve 50 µl olacak şekilde ekilerek gece boyu kolonilerin üremesi için 37 °C'de bekletilmiştir. Ertesi gün üreyen kolonilerden seçilerek içerisinde 100 µg/ml ampisilin bulunan LB medyum (LB medyum; 1 litresinde 100 mg NaCl, % 10 Triptone, % 5 Maya ekstraktı bulunan solüsyon) içinde 37 °C'de çalkalamalı inkübatörde bir gece çoğalmaya bırakılmıştır. Ertesi günü medyum içinde üreyen kolonilerden QIAGEN Plazmid DNA Ekstraksiyon Kiti (QIAGEN, Almanya) kullanılarak içinde PZR ile çoğaltılan gen bölgesi bulunan plazmidlerin purifikasyonu yapılmıştır. Kısaca, 10 ml medyum 4 °C'de, 8000 rpm'de 3 dakika boyunca santrifüj edilerek *E. coli* hücreleri dipte toplanmıştır. Bu hücreler 250 µl P1 solüsyonu kullanarak tekrar sulandırılarak yeni bir mikrosantrifüj tüpüne konulmuş, daha sonra bu sulandırmanın üstüne 250 µl P2 solüsyonu eklenerek iyice karışması sağlanmıştır. Bu karışımın üstüne 350 µl N3 solüsyonu eklenerek iyice karışmaları sağlandıktan sonra 13000

rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmişlerdir. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan kısım dikkatlice alınarak içerisinde DNA'nın bağlanmasını sağlayan kolonlara (QIAprep spin column) konularak 30–60 saniye boyunca santrifüj edilmiş ve dipte toplanan sıvı döküldükten sonra koluma 0.5 ml PB solüsyonu eklendikten sonra 30–60 saniye santrifüj edilerek yıkanması sağlanmıştır. Daha sonra 0.75 ml PE solüsyonu eklenip 30–60 saniye santrifüj edilerek bir kez daha yıkanmıştır. Dipte toplanan sıvı döküldükten sonra kolumda kalmış olan tüm yıkama solüsyonunun giderilmesi için bir dakika daha santrifüj edilmiştir. Son aşamada koluma bağlı DNA'nın elüye edilebilmesi için 50 µl Elüsyon solüsyonu eklenerek bir dakika boyunca oda ısısında bekletilmiş ve bunu takiben kolon temiz 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne konulmuş ve bir dakika boyunca santrifüj edilerek purifiye edilen DNA'nın tüpe elüsyonu sağlanmıştır. Elüye olan plazmid DNA'nın 1 µg'ı EcoR1 restriksiyon enzimi ile kesilerek agaroz jelde (yukarıda anlatıldığı şekilde) elektroforeze tabi tutulmuş ve kesilen ürünlerin boylarına bakılarak PZR ürününün vektör içerisinde klonlanıp klonlanmadığı doğrulandıktan sonra plazmid DNA örnekleri (1–2 µg) 37 °C'de bir gece boyunca kapakları açık olarak bekletilerek DNA'nın kuruması sağlanmış ve bu örnekler sekans analizlerinin yapılması için ticari bir şirkete gönderilmiştir (İontek, İstanbul / Türkiye).

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. Kan Örneklerine Ait Sonuçlar

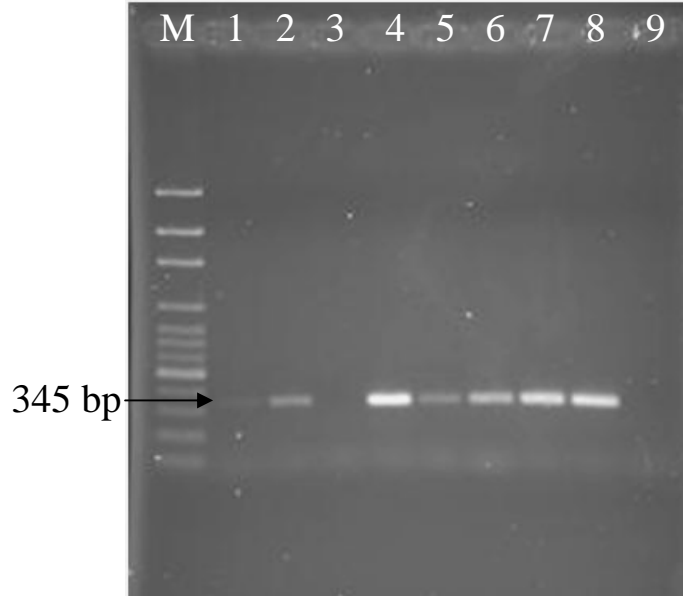
Aydın ve yöresinde yaptığımız bu çalışmada *Ehrlichia* ve *Anaplasma* türlerinin yoğunluğunu ortaya koymak için Dalama, Osmanbükü, Akçaova ve Söke ilçesinden sığırlardan toplam 679 kan örneği toplanmıştır. 3 ayda bir gidilen odaklarda çalışmaya dahil edilen hayvanlara, sahiplerinden kaynaklı olarak ulaşılamaması veya hayvanın bulunmadığı durumlarda farklı hayvanlarda çalışmaya dahil edilmiştir.

##### 3.1.1. *Ehrlichia*/*Anaplasma* Soy PZR Sonuçları

EHR16SD (ileri) ve EHR16SR (geri) primerleri kullanılarak yapılan PZR sonuçları Çizelge 6’te verilmiştir. Soy PZR’ına ait agaroz jel görüntüsü Resim 5’de verilmiştir. PZR sonuçlarına göre Osmanbükü’nden toplanan 179 sığır kanından 13’ü pozitif, Söke’den toplanan 182 sığır kanından 92’si pozitif, Dalama’dan toplanan 151 sığır kanından 97’si pozitif, Akçaova’dan toplanan 167 sığır kanından ise 126’sı pozitif çıkmıştır.

Çizelge 6. *Ehrlichia*/*Anaplasma* soy PZR sonuçları

	Haziran	Eylül	Aralık	Mart	Toplam
<b>Osmanbükü</b>	3/45	2/48	6/66	2/20	13/179
<b>Söke</b>	4/50	33/61	24/32	31/39	92/182
<b>Dalama</b>	24/48	33/48	19/26	21/29	97/151
<b>Akçaova</b>	37/46	40/54	20/34	29/33	126/167
				<b>Toplam</b>	328/679



**Resim 5.** *Ehrlichia/Anaplasma* soyuna ait tüm türlerde ortak korunmuş gen bölgesine spesifik EHR16SD F/R primer çifti kullanılarak Dalama Haziran 2006'ya ait DNA örneklerinin çoğaltılması. M: 100 bp'lik moleküler büyüklük belirleyici (Thermo Scientific Corp.); 1 ile 7 arasındaki kuyucuklarda (1 ve 7 dahil) DK1, DK3, DK5, DK7, DK9, DK11, DK12 ait DNA örnekleri; 8. kuyuda pozitif kontrol; 9. dH<sub>2</sub>O konulmuştur. EHR16SD F/R primer çiftini kullanılarak spesifik olarak çoğaltılan 345 bp'lık bölge **ok işareti** ile gösterilmiştir.

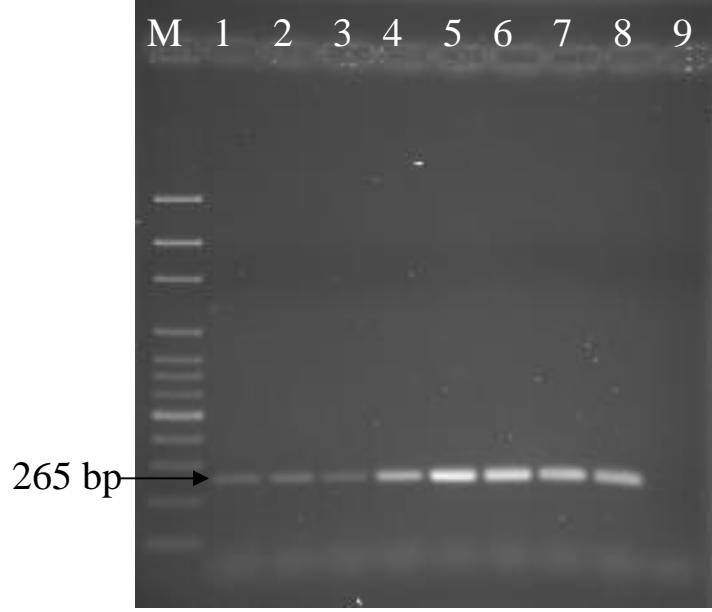
### 3.1.2. *Anaplasma marginale* PZR Sonuçları

*Anaplasma marginale* türlerine özgü msp1 $\alpha$  proteinini kodlayan genin 265 bp'lık korunmuş bölgesini çoğaltan MAR1bB2 (ileri) ve MAR1bB2 (geri) yönlü primerleri kullanılarak yapılan PZR sonuçlarının aylara göre dağılımı Çizelge 7'de verilmiştir. Ayrıca *A. marginale*'ye özgü yapılan PZR'na ait jel görüntüsü Resim 6'da verilmiştir.

Çizelge 7. *Anaplasma marginale* PZR sonuçları

	Haziran	Eylül	Aralık	Mart	Toplam
<b>Osmanbükü</b>	2/45	0/48	0/66	0/20	2/179
<b>Söke</b>	0/50	0/61	1/32	1/39	2/182
<b>Dalama</b>	4/48	17/48	8/26	13/29	42/151
<b>Akçaova</b>	1/46	1/54	0/34	1/33	3/167
				<b>Toplam</b>	49





**Resim 6.** *A. marginale* türüne spesifik MAR1bB2F/R primer çifti kullanılarak Dalama Eylül 2006'ya ait DNA örneklerinin çoğaltılması. M: 100 bp'lik moleküler büyüklük belirleyici (Thermo Scientific Corp.); 1 ile 7 arasındaki kuyucuklarda (1 ve 7 dahil) DK18, DK35, DK37, DK39, DK41, DK42, DK43 ait DNA örnekleri; 8. kuyuda pozitif kontrol; 9. dH<sub>2</sub>O konulmuştur. MAR1bB2F/R primer çiftini kullanılarak spesifik olarak çoğaltılan 265 bp'lık bölge **ok işareti** ile gösterilmiştir.

Odaklardan toplanan kanlarda PZR yapılarak bulunan *A. marginale* pozitif örneklerin dağılımı Çizelge 8'de verilmiştir. PZR sonuçlarına göre Osmanbükü ve Söke'den toplanan sırasıyla 58 ve 82 sığırdan hazırlanan DNA örneklerinden Osmanbükü'de Haziran ayında 2 örnekte *A. marginale* tespit edilirken Eylül, Aralık ve Mart aylarında toplanan örneklerde *A. marginale*'ye rastlanmamıştır. Bunun yanına Söke'den toplanan örneklerde ise Aralık ve Mart aylarında birer örnekte pozitiflik belirlenmiştir. Dalama'dan toplam 59 hayvandan toplanan 151 örnekte toplam 42 hayvanda *A. marginale* tespit edilmiştir. 42 pozitif örneğin aylara göre dağılımına bakılacak olursa Haziran ayında 4, Eylül'de 17, Aralık ve Mart aylarında ise sırasıyla 8 ve 13 örnekte *A. marginale* türü tespit edilmiştir (Çizelge 7). Akçaova'dan toplam 58 hayvandan toplanan 167 örnekte ise Haziran, Eylül ve Mart aylarında birer adet olmak üzere toplamda 3 kan örneğinde pozitiflik belirlenmiştir (Çizelge 7). Bu sonuçlar doğrultusunda en fazla pozitiflik Dalama'da tespit edilirken kan örneği toplanan diğer bölgelerde *A. marginale* enfeksiyonunun oldukça az olduğu görülmüştür. Söke'den toplanan örneklerden çıkan 2 pozitif örnek aynı hayvanın farklı aylarda alınan kanlarına aittir. Akçaova'dan toplanan örneklerden de pozitif çıkan 3 örnek yine aynı şekilde aynı hayvanın farklı aylarda toplanan kanlarıdır. Dalama'da ise 7 pozitif örnek farklı hayvanlardan alınan

örnekler, geri kalan 35 pozitif örnek ise 14 hayvanın farklı aylarda alınan kanlarından çıkan pozitif örneklerdir (Çizelge 8).

Çizelge 8. Odaklardan toplanan ve PZR ile *Anaplasma marginale* pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı

ODAK	<i>Anaplasma marginale</i>				ODAK	<i>Anaplasma marginale</i>			
	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007		HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007
<b>OSMANBÜKÜ</b>					<b>DALAMA</b>				
EH4	+	-	-	*	DK18	-	+	+	+
EH24	+	-	-	-	DK32	-	+	-	+
<b>SÖKE</b>					DK34	-	-	-	+
A435	-	-	+	+	DK35	-	+	+	+
<b>AKÇAOVA</b>					DK36	-	-	+	-
A207	+	+	*	+	DK37	-	+	+	+
<b>DALAMA</b>					DK38	-	+	-	+
DK3	-	+	*	*	DK39	-	+	+	+
DK7	+	+	*	*	DK41	-	+	+	*
DK8	-	+	*	+	DK42	+	-	+	+
DK9	+	+	-	*	DK43	-	+	+	+
DK12	+	-	*	+	DK44	-	+	-	-
DK13	-	+	*	*	DK46	-	+	*	*
DK14	-	+	*	*	DK57	*	*	*	+
DK17	-	+	*	+					

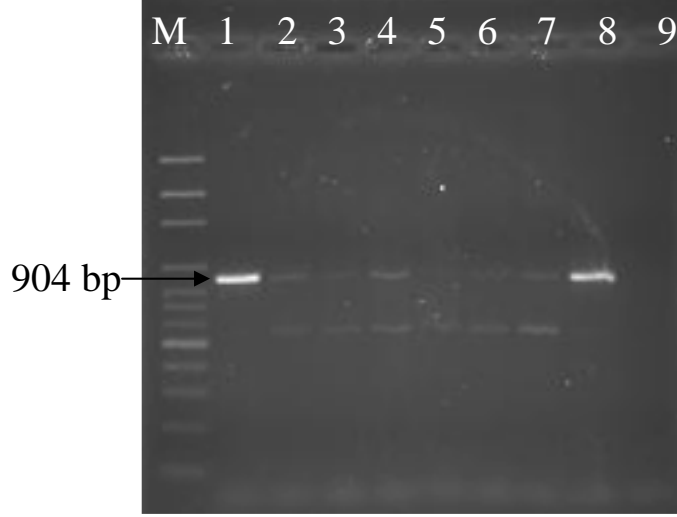
(\*): İşaretli dönemlerde hayvanlardan kan alınmamıştır.

### 3.1.3. *Anaplasma centrale* PZR Sonuçları

mpb58for (ileri) ve mpb58rev (geri) primerleri kullanılarak yapılan PZR sonuçları Çizelge 9'da, yapılan PZR'a ait jel görüntüsü Resim 7'de verilmiştir.

Çizelge 9. *Anaplasma centrale* PZR sonuçları

	Haziran	Eylül	Aralık	Mart	Toplam
<b>Osmanbükü</b>	0/45	0/48	0/66	0/20	0/179
<b>Söke</b>	0/50	2/61	0/32	0/39	2/182
<b>Dalama</b>	3/48	6/48	1/26	2/29	12/151
<b>Akçaova</b>	4/46	4/54	4/34	2/33	14/167
				<b>Toplam</b>	<b>28/679</b>



**Resim 7.** *A.centrale* türüne spesifik mpb58F/R primer çifti kullanılarak Dalama Haziran (DK48), Eylül ve Akçaova Aralık 2006'ya ait DNA örneklerinin çoğaltılması. M: 100 bp'lik moleküler büyüklük belirleyici (Thermo Scientific Corp.); 1 ile 7 arasındaki kuyucuklarda (1 ve 7 dahil) DK48, DK14, DK44, DK46, A202, A222, A228 ait DNA örnekleri; 8. kuyuda pozitif kontrol; 9. dH<sub>2</sub>O konulmuştur. mpb58F/R primer çiftini kullanılarak spesifik olarak çoğaltılan 904 bp'lık bölge **ok işareti** ile gösterilmiştir.

Odaklardan toplanan kanlarda PZR ile *A. centrale* pozitif örneklerin dağılımı Çizelge 10'da verilmiştir. PZR sonuçlarına göre Osmanbükü'nden toplanan 58 sığır kanından hiç pozitif çıkmamıştır. Söke'den 82 hayvandan toplanan toplam 182 sığır kanından iki tanesi pozitif, Dalama'dan 59 hayvandan toplanan toplam 151 sığır kanından 12'si pozitif, Akçaova'dan 45 hayvandan toplanan toplam 167 sığır kanından ise 14'ü pozitif çıkmıştır (Çizelge 9). Söke'den toplanan örneklerde Eylül ayında 2 pozitiflik saptanmıştır. Diğer aylarda ise pozitifliğe saptanmamıştır. Dalama'da toplanan örneklerden pozitif çıkanların aylara göre sayıları ise Haziran, Eylül, Aralık ve Mart ayları için sırasıyla 3, 6, 1, 2'dir. Bu pozitif örneklerden 6'sı farklı hayvanlara ait iken, geri kalan 6 pozitif örnek ise 3 hayvanın farklı aylarda alınan kanlarından çıkan pozitif örneklerdir (Çizelge 10). Akçaova'dan toplanan örneklerde pozitif çıkanların aylara göre sayıları Haziran, Eylül, Aralık ve Mart ayları için sırasıyla 4, 4, 4, 2'dir. Bu pozitif örneklerden de 7'si farklı hayvanlara geri kalan 7 pozitif örnek ise 3 hayvanın farklı aylarda alınan kanlarından çıkan pozitif örneklerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda en fazla pozitiflik Akçaova'da belirlenmiştir. Dalama'da da *A. centale* enfeksiyonu Akçaova'ya benzerlik göstermekle birlikte Osmanbükü ve Söke'de enfeksiyon oldukça az görülmüştür.

Çizelge 10. Odaklardan toplanan ve PZR ile *Anaplasma centrale* pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı

<i>Anaplasma centrale</i>					<i>Anaplasma centrale</i>				
ODAK	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007	ODAK	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007
<b>SÖKE</b>					<b>DALAMA</b>				
A407	-	+	*	*	DK14	-	+	*	*
A415	-	+	-	-	DK33	+	+	-	-
<b>AKÇAOVA</b>					DK34	-	+	-	-
A201	-	-	+	-	DK43	-	-	-	+
A202	-	-	+	+	DK44	-	+	-	-
A206	-	+	-	-	DK46	+	+	*	*
A207	-	+	*	-	DK48	+	*	+	*
A213	-	+	*	-	DK52	*	+	-	*
A222	+	-	+	+	DK57	*	*	*	+
A226	+	-	*	-					
A228	+	-	+	-					
A236	+	-	*	*					
A247	-	+	*	*					

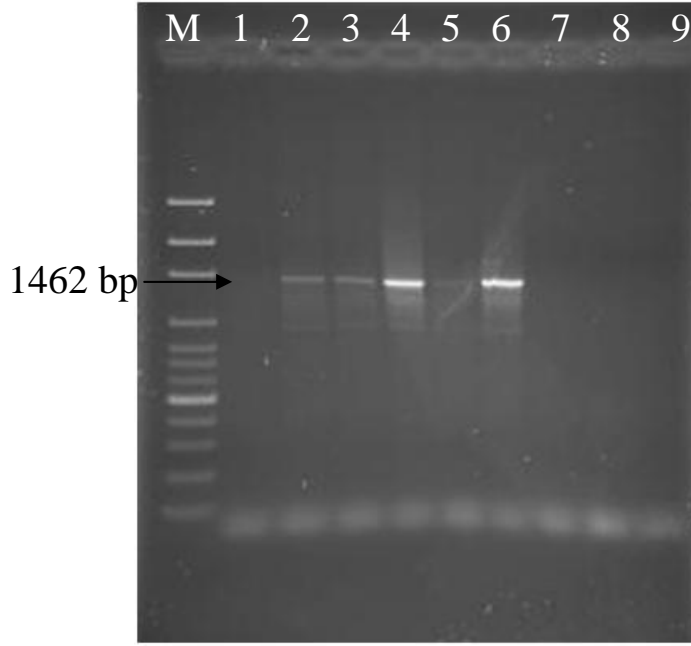
(\*): İşaretli dönemlerde hayvanlardan kan alınmamıştır.

### 3.1.4. *Anaplasma bovis* Nested PZR Sonuçları

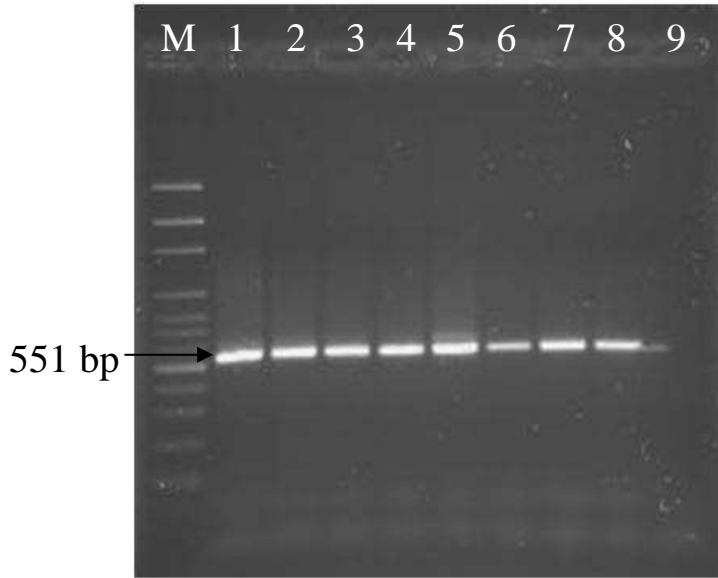
16S rRNA gen bölgesini çoğaltan EC9 ve EC12A ileri ve geri yönlü primerlerle yapılan soy PZR'ından (Resim 8) sonra AB1f (ileri) ve AB1r (geri) özgül primerleri kullanılarak yapılan nested PZR sonuçları Çizelge 11'de, nested PZR'a ait jel görüntüsü Resim 9'da verilmiştir. Osmanbükü'nden toplam 13 pozitif örnekten 7'si, Söke'den toplam 92 pozitif örnekten 80'i, Dalama'dan toplam 97 pozitif örnekten 46'sı, Akçaoava'dan toplam 126 pozitif örnekten 87'si *A. bovis* yönünden pozitif bulunmuştur (Çizelge 11).

Çizelge 11. *Anaplasma bovis* nested PZR sonuçları

	Haziran	Eylül	Aralık	Mart	Toplam
<b>Osmanbükü</b>	1/3	1/2	4/6	1/2	7/13
<b>Söke</b>	4/4	27/33	21/24	28/31	80/92
<b>Dalama</b>	11/24	20/33	8/19	7/21	46/97
<b>Akçaoava</b>	16/37	34/40	15/20	22/29	87/126
<b>Toplam</b>					220/328



**Resim 8.** *Ehrlichia/Anaplasma* genus spesifik EC9 ileri ve EC12A geri yönlü primer çifti kullanılarak Akçaova Aralık 2006'ya ait DNA örneklerinin çoğaltılması. M: 100 bp'lik moleküler büyüklük belirleyici (Thermo Scientific Corp.); 1 ile 8 arasındaki kuyucuklarda (1 ve 8 dahil) A203, A206, A218, A221, A227, A228, A234, A244 ait DNA örnekleri; 9. dH<sub>2</sub>O konulmuştur. EC9 ileri ve EC12A primer çiftini kullanılarak spesifik olarak çoğaltılan 1462 bp'lık bölge **ok işareti** ile gösterilmiştir.



**Resim 9.** *A. bovis* türüne spesifik AB1F/R primer çifti kullanılarak Akçaova Mart 2007'ye ait DNA örneklerinin çoğaltılması. M: 100 bp'lik moleküler büyüklük belirleyici (Thermo Scientific Corp.); 1 ile 7 arasındaki kuyucuklarda (1 ve 7 dahil) A201, A206, A207, A220, A249, A250, A251 ait DNA örnekleri; 8. kuyuda pozitif kontrol; 9. dH<sub>2</sub>O konulmuştur. AB1F/R primer çiftini kullanılarak spesifik olarak çoğaltılan 551 bp'lık bölge **ok işareti** ile gösterilmiştir.

Osmanbükü'nden toplam 58 hayvandan toplanan örneklerden elde edilen DNA örnekleri ile yapılan PZR sonucunda dört hayvanda *A. bovis* tespit edilmiştir. PZR ile *A. bovis* tespit edilen dört hayvanın aylara göre dağılımı Çizelge 12'de verilmiştir. Buna göre Osmanbükü'nden toplanan örneklerden pozitif çıkanların aylara göre sayıları Haziran, Eylül, Aralık ve Mart ayları için sırasıyla 1, 1, 4, 1'dir (Çizelge 11). Bu pozitif örneklerden 2'si Aralık ayında toplanan farklı hayvanlara ait örneklerde belirlenmiştir (Çizelge 12). Geri kalan 5 pozitif örnek ise 2 hayvanın farklı aylarda alınan kanlarından çıkan pozitif örneklerdir.

Çizelge 12. Osmanbükü'nden toplanan ve PZR ile *Anaplasma bovis* pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı

ODAK	<i>Anaplasma bovis</i>			
	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007
<b>Osmanbükü</b>				
<b>EH5</b>	-	+	+	*
<b>EH27</b>	*	*	+	-
<b>EH45</b>	+	-	+	+
<b>EH49</b>	-	-	+	-

**(\*): İşaretli dönemlerde hayvanlardan kan alınmamıştır.**

Söke'den toplam 82 hayvandan toplanan örneklerden elde edilen DNA örnekleri ile yapılan PZR sonucunda 46 hayvanda *A. bovis* tespit edilmiştir. PZR ile *A. bovis* tespit edilen 46 hayvanın aylara göre dağılımı Çizelge 13'te verilmiştir. Buna göre Söke'den toplanan örneklerden pozitif çıkanların aylara göre sayıları Haziran, Eylül, Aralık ve Mart ayları için sırasıyla 4, 27, 21, 28'dir (Çizelge 11). Bu pozitif örneklerden 25'i farklı hayvanlara ait olup (Çizelge 13), geri kalan 55 pozitif örnek ise 21 hayvanın farklı aylarda alınan kanlarından elde edilen DNA'larında pozitif çıkan örneklerdir.

Çizelge 13. Söke'den toplanan ve PZR ile *Anaplasma bovis* pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı

ODAK	<i>Anaplasma bovis</i>				ODAK	<i>Anaplasma bovis</i>			
	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007		HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007
<b>SÖKE</b>					<b>SÖKE</b>				
A402	-	+	*	*	A435	-	+	+	+
A403	-	+	*	*	A437	-	+	+	+
A405	-	+	*	*	A438	-	+	+	+
A406	-	+	*	*	A439	+	-	+	+
A407	-	-	*	*	A440	+	+	+	*
A408	-	+	*	*	A441	+	+	+	*
A410	-	+	*	*	A442	+	+	+	*
A415	-	+	-	+	A443	-	+	+	*
A417	-	+	+	+	A454	*	+	*	*
A418	-	+	-	+	A455	*	+	*	*
A419	-	+	+	+	A458	*	+	*	*
A420	-	+	+	+	A464	*	-	+	+
A421	-	+	-	+	A465	*	-	+	+
A422	-	+	*	-	A466	*	*	+	+
A423	-	-	-	+	A468	*	*	*	+
A426	-	-	+	-	A469	*	*	*	+
A427	-	+	+	*	A471	*	*	*	+
A428	-	-	-	+	A472	*	*	*	+
A430	-	-	+	*	A473	*	*	*	+
A431	-	+	+	+	A477	*	*	*	+
A432	-	+	+	+	A478	*	*	*	+
A433	-	+	+	+	A479	*	*	*	+
A434	-	-	+	*	A480	*	*	*	+

(\*): İşaretli dönemlerde hayvanlardan kan alınmamıştır.

Dalama'dan toplam 59 hayvandan toplanan örneklerden elde edilen DNA'lar ile yapılan PZR sonucunda 25 hayvanda *A. bovis* tespit edilmiştir. PZR ile *A. bovis* tespit edilen 25 hayvanın aylara göre dağılımı Çizelge 14'de verilmiştir. Dalama'dan toplanan örneklerden pozitif çıkanların aylara göre sayıları Haziran, Eylül, Aralık ve Mart ayları için sırasıyla 11, 20, 8, 7'dir (Çizelge 11). Bu pozitif örneklerden 12'si farklı hayvanlara aittir, geri kalan 34 pozitif örnek ise 13 hayvanın farklı aylara ait DNA'larında pozitif çıkan örneklerdir (Çizelge 14).

Çizelge 14. Dalama'dan toplanan ve PZR ile *Anaplasma bovis* pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı

ODAK	<i>Anaplasma bovis</i>				ODAK	<i>Anaplasma bovis</i>			
	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007		HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007
<b>Dalama</b>					<b>Dalama</b>				
<b>DK3</b>	-	+	*	*	<b>DK34</b>	+	+	+	+
<b>DK7</b>	+	+	*	*	<b>DK35</b>	+	+	+	-
<b>DK9</b>	+	+	-	*	<b>DK36</b>	-	+	-	-
<b>DK12</b>	+	+	*	-	<b>DK37</b>	-	-	-	+
<b>DK13</b>	-	+	*	*	<b>DK38</b>	-	+	+	+
<b>DK19</b>	-	+	-	*	<b>DK39</b>	-	+	+	+
<b>DK21</b>	-	+	*	*	<b>DK41</b>	-	+	+	*
<b>DK22</b>	+	-	*	*	<b>DK42</b>	+	+	+	+
<b>DK25</b>	-	-	+	+	<b>DK43</b>	+	-	-	-
<b>DK27</b>	-	+	*	*	<b>DK45</b>	+	*	*	*
<b>DK29</b>	+	+	-	-	<b>DK46</b>	+	+	*	*
<b>DK30</b>	-	+	*	*	<b>DK55</b>	*	+	-	-
<b>DK33</b>	-	+	+	+					

(\*): İşaretli dönemlerde hayvanlardan kan alınmamıştır.

Akçaova'dan toplam 58 hayvandan toplanan örneklerden elde edilen DNA'lar ile yapılan PZR sonucunda 40 hayvanda *A. bovis* tespit edilmiştir. PZR ile *A. bovis* tespit edilen 40 hayvanın PZR sonuçlarının aylara göre dağılımı Çizelge 15'te verilmiştir. Buna göre Haziran, Eylül, Aralık ve Mart ayları için sırasıyla 16, 34, 15, 22 örnekte *A. bovis* tespit edilmiştir (Çizelge 11). Bu pozitif örneklerden 12'si farklı hayvanlara ait olup, geri kalan 75 pozitif örnek ise 28 hayvanın farklı aylarda alınan kanlarından pozitif çıkan örneklerdir (Çizelge 15).



Çizelge 15. Akçaova'dan toplanan ve PZR ile *Anaplasma bovis* pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı

ODAK	<i>Anaplasma bovis</i>				ODAK	<i>Anaplasma bovis</i>			
	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007		HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007
<b>AKÇAHOVA</b>					<b>AKÇAHOVA</b>				
A201	+	+	+	+	A237	+	+	+	*
A202	+	+	+	+	A238	+	+	*	*
A204	-	+	*	-	A239	+	+	+	*
A205	-	+	*	*	A240	+	+	+	*
A206	+	+	+	+	A241	+	+	+	*
A207	+	+	*	+	A242	+	+	*	+
A210	-	+	*	*	A243	+	+	*	+
A213	+	+	*	+	A244	+	+	-	+
A218		+	-	-	A245	-	+	*	*
A220	+	+	*	+	A247	+	+	*	*
A221	-	+	+	-	A249	*	+	*	+
A224	-	-	+	*	A250	*	+	+	+
A226	-	+	*	+	A251	*	+	*	+
A228	-	+	+	+	A252	*	+	-	+
A229	-	+	*	+	A253	*	-	*	+
A230	-	+	-	-	A254	*	+	-	+
A231	+	+	*	+	A256	*	+	-	+
A232	-	+	-	*	A257	*	*	+	-
A233	-	+	+	*	A258	*	*	-	+
A235	-	-	+	+	A259	*	*	+	-

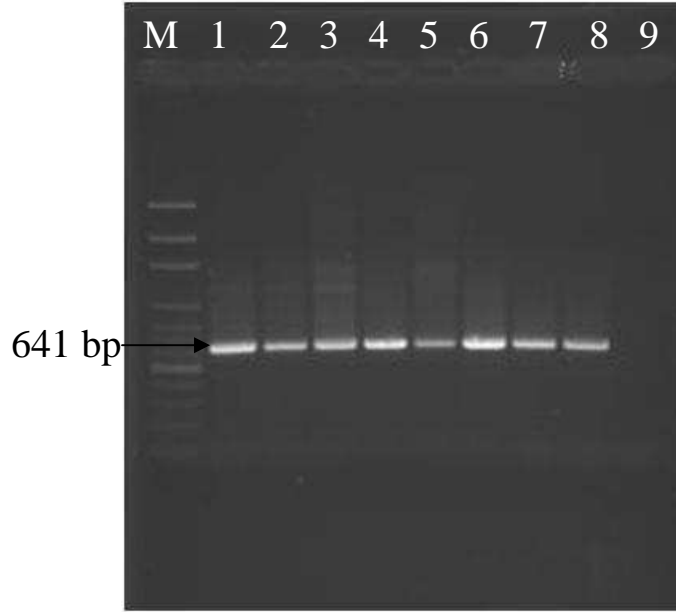
(\*): İşaretli dönemlerde hayvanlardan kan alınmamıştır.

### 3.1.5. *Anaplasma phagocytophilum* Nested PZR Sonuçları

16S rRNA gen bölgesini çoğaltan EC9 ve EC12A ileri ve geri yönlü primerlerle yapılan soy PZR'dan (Resim 8) sonra SSAP2f (ileri) ve SSAP2r (geri) özgül primerleri kullanılarak yapılan nested PZR sonuçları Çizelge 16'da, nested PZR'a ait jel görüntüsü Resim 10'da verilmiştir. Osmanbükü'nden toplam 13 pozitif örnekten 7'si, Söke'den toplam 92 pozitif örnekten 75'i, Dalama'dan toplam 97 pozitif örnekten 64'ü, Akçaova'dan toplam 126 pozitif örnekten 91'i *A. phagocytophilum* yönünden pozitif bulunmuştur.

Çizelge 16. *Anaplasma phagocytophilum* nested PZR sonuçları

	Haziran	Eylül	Aralık	Mart	Toplam
<b>Osmanbükü</b>	1/3	1/2	4/6	1/2	7/13
<b>Söke</b>	4/4	23/33	20/24	28/31	75/92
<b>Dalama</b>	6/24	27/33	15/19	16/20	64/97
<b>Akçaova</b>	15/37	33/40	17/20	26/29	91/126
<b>Toplam</b>					237/328



**Resim 10.** *A. phagocytophilum* türüne spesifik SSAP F/R primer çifti kullanılarak Söke Mart 2007'ya ait DNA örneklerinin çoğaltılması. M: 100 bp'lik moleküler büyüklük belirleyici (Thermo Scientific Corp.); 1 ile 7 arasındaki kuyucuklarda (1 ve 7 dahil) A417, A418, A419, A420, A421, A423, A428 ait DNA örnekleri; 8. kuyuda pozitif kontrol; 9. dH<sub>2</sub>O konulmuştur. SSAP F/R primer çiftini kullanılarak spesifik olarak çoğaltılan 641 bp'lik bölge **ok işareti** ile gösterilmiştir.

Osmanbükü'nden toplam 58 hayvandan toplanan örneklerden elde edilen DNA örnekleri ile yapılan PZR sonucunda dört hayvanda *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. PZR ile *A. phagocytophilum* tespit edilen dört hayvanın aylara göre dağılımı Çizelge 17'de verilmiştir. Buna göre Osmanbükü'nden toplanan örneklerden pozitif çıkanların aylara göre sayıları Haziran, Eylül, Aralık ve Mart ayları için sırasıyla 1, 1, 4, 2'dir (Çizelge 16). Pozitif örneklerden ikisi farklı hayvanlara ait olup, geri kalan beş pozitif örnek ise iki hayvanın farklı aylarda alınan kanlarından tespit edilen pozitifliklerdir (Çizelge 17).

Çizelge 17. Osmanbükü'de toplanan ve PZR ile *Anaplasma phagocytophilum* pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı

<i>Anaplasma phagocytophilum</i>				
ODAK	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007
<b>OSMABBÜKÜ</b>				
<b>EH5</b>	-	+	+	*
<b>EH27</b>	*	*	+	-
<b>EH45</b>	+	-	+	+
<b>EH49</b>	-	-	+	-

(\*): İşaretsiz dönemlerde hayvanlardan kan alınmamıştır.

Söke'den toplam 82 hayvandan toplanan örneklerden elde edilen DNA örnekleri ile yapılan PZR sonucunda 43 hayvanda *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. PZR ile *A. phagocytophilum* tespit edilen 43 hayvanın aylara göre dağılımı Çizelge 18'de verilmiştir. Söke'den toplanan örneklerden pozitif çıkanların aylara göre sayıları Haziran, Eylül, Aralık ve Mart ayları için sırasıyla 4, 23, 20, 28'dir (Çizelge 16). Bu pozitif örneklerden 23'ü farklı hayvanlara ait iken, geri kalan 52 pozitif örnek 20 hayvanın farklı aylarda alınan kanlarından pozitif çıkan örneklerdir (Çizelge 18).

Çizelge 18. Söke'den toplanan ve PZR ile *Anaplasma phagocytophilum* pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı

<i>Anaplasma phagocytophilum</i>					<i>Anaplasma phogocytophilum</i>				
ODAK	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007	ODAK	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007
<b>SÖKE</b>					<b>SÖKE</b>				
A402	-	+	*	*	A438	-	+	+	+
A403	-	+	*	*	A439	+	-	+	+
A405	-	+	*	*	A440	+	-	+	*
A406	-	+	*	*	A441	+	+	+	*
A408	-	+	*	*	A442	+	+	+	*
A410	-	+	*	*	A443	-	+	+	*
A417	-	+	+	*	A454	*	+	*	*
A418	-	+	-	+	A458	*	+	*	*
A419	-	+	+	+	A464	*	-	+	+
A420	-	+	+	+	A465	*	-	+	+
A421	-	+	+	+	A466	*	*	+	+
A422	-	+	*	-	A468	*	*	*	+
A423	-	-	-	+	A469	*	*	*	+
A426	-	-	-	+	A471	*	*	*	+
A427	-	+	+	+	A472	*	*	*	+
A428	-	-	-	+	A473	*	*	*	+
A431	-	+	+	+	A477	*	*	*	+
A432	-	+	+	+	A478	*	*	*	+
A433	-	+	+	+	A479	*	*	*	+
A434	-	-	+	*	A480	*	*	*	+
A435	-	-	+	+	A482	*	*	*	+
A437	-	+	+	+					

(\*): İşaretli dönemlerde hayvanlardan kan alınmamıştır.

Dalama'dan toplam 59 hayvandan toplanan örneklerden elde edilen DNA'lar ile yapılan PZR sonucunda 35 hayvanda *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. PZR ile *A. phagocytophilum* tespit edilen 35 hayvanın aylara göre dağılımı Çizelge 19'da verilmiştir. Dalama'dan toplanan örneklerden pozitif çıkanların aylara göre sayıları Haziran, Eylül, Aralık ve Mart ayları için sırasıyla 6, 27, 15, 16'dır (Çizelge 16). Bu pozitif örneklerden 17'si farklı hayvanlara ait olup, geri kalan 47 pozitif örnek 18 hayvanın farklı aylarda alınan kanlarından pozitif çıkan örneklerdir (Çizelge 19).

Çizelge 19. Dalama'dan toplanan ve PZR ile *Anaplasma phagocytophilum* pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı

<i>Anaplasma phagocytophilum</i>					<i>Anaplasma phogocytophilum</i>				
ODAK	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007	ODAK	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007
<b>DALAMA</b>					<b>DALAMA</b>				
DK1	-	+	*	*	DK33	-	+	+	+
DK3	-	+	*	*	DK34	-	+	+	+
DK7	+	+	*	*	DK35	-	+	+	+
DK8	-	+	*	+	DK36	-	+	-	-
DK9	+	+	-	*	DK37	-	+	+	+
DK12	+	+	*	+	DK38	-	+	+	+
DK13	-	+	*	*	DK39	-	+	+	+
DK15	-	-	*	+	DK41	-	-	+	
DK18	-	+	+	+	DK42	-	+	+	+
DK19	-	+	+	*	DK43	+	+	+	+
DK21	-	+	*	*	DK45	+	*	*	*
DK22	+	-	*	*	DK46	-	+	*	*
DK25	-	-	+	+	DK48	-	*	+	*
DK26	-	+	-	-	DK52	*	+	+	*
DK27	-	+	*	*	DK53	*	*	+	*
DK29	-	+	-	-	DK55	*	+	-	+
DK30	-	+	*	*	DK57	*	*	*	+
DK31	-	+	-	+					

(\*): İşaretli dönemlerde hayvanlardan kan alınmamıştır.

Akçaova'dan toplam 58 hayvandan toplanan örneklerden elde edilen DNA'lar ile yapılan PZR sonucunda 43 hayvanda *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. PZR ile *A. phagocytophilum* tespit edilen 43 hayvanın PZR sonuçlarının aylara göre dağılımı Çizelge 20'de verilmiştir. Akçaova'dan toplanan örneklerden pozitif çıkanların aylara göre sayıları Haziran, Eylül, Aralık ve Mart ayları için sırasıyla 15, 33, 17, 26'dir (Çizelge 16). Bu pozitif örneklerden 11'i farklı hayvanlara aittir. Geri kalan 80 pozitif örnek ise 32 hayvanın farklı aylarda alınan kanlarından pozitif çıkan örneklerdir (Çizelge 20).

Çizelge 20. Akçaova'dan toplanan ve PZR ile *Anaplasma phagocytophilum* pozitif bulunan örneklerin aylara göre dağılımı

<i>Anaplasma phagocytophila</i>					<i>Anaplasma phogocytophila</i>				
ODAK	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007	ODAK	HAZİRAN 2006	EYLÜL 2006	ARALIK 2006	MART 2007
<b>AKÇAOVA</b>					<b>AKÇAOVA</b>				
A201	+	+	+	+	A235	-	-	+	+
A202	+	+	+	+	A237	+	+	+	*
A204	-	+	*	+	A238	+	+	*	*
A205	-	+	*	*	A239	-	+	+	*
A206	-	+	+	+	A240	+	+	+	*
A207	+	+	*	+	A241	-	+	+	*
A210	-	+	*	*	A242	+	+	*	+
A212	+	-	-	*	A243	-	+	*	+
A213	+	+	*	+	A244	+	+	-	+
A217	+	-	-	-	A245	+	+	*	*
A218	*	+	+	+	A247	-	+	*	*
A220	+	+	*	+	A249	*	+	*	+
A221	-	+	+	-	A250	*	+	+	+
A224	-	-	+	*	A251	*	+	*	+
A226	-	-	*	+	A252	*	+	-	+
A228	-	+	+	+	A253	*	-	*	+
A229	-	+	*	+	A254	*	+	-	+
A230	-	+	-	-	A256	*	+	-	+
A231	+	+	*	+	A257	*	*	+	+
A232	-	+	+	*	A258	*	*	-	+
A233	-	+	+	*	A259	*	*	+	+
A234	+	-	-	-					

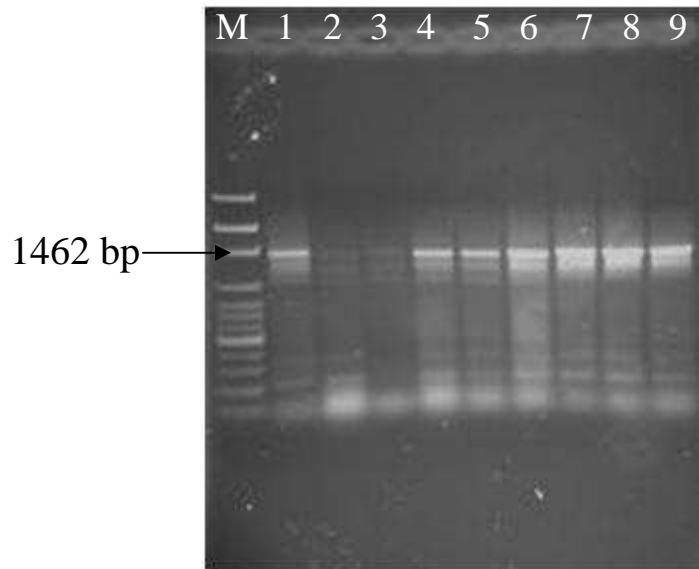
(\*): İşaretli dönemlerde hayvanlardan kan alınmamıştır.

### 3.2. Toplanan Kenelerin PZR Sonuçları

16S rRNA gen bölgesini çoğaltan EC9 ve EC12A ileri ve geri yönlü primerlerle yapılan soy PZR'dan sonra (Resim 11) *A. marginale*, *A. centrale*, *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* türlerine özgü primerler kullanılarak yapılan PZR sonuçları Çizelge 21'de verilmiştir. Toplanan 186 kene örneğinden 20 havuz oluşturulmuştur. Havuzlarda oluşan kene türleri ve sayısı Çizelge 4'te verilmiştir. Soy PZR'ı sonucuna göre 20 kene havuzundan 14'ü pozitif bulunmuştur. Soy PZR'ına ait agaroz gel görüntüsü Resim 11'de verilmiştir. Türlerle özgü spesifik primerler kullanılarak yapılan nested PZR' da ise 4 havuzda *A. phagocytophilum*, 2 havuzda *A. marginale*, 1 havuzda *A. marginale* ve *A. phagocytophilum*, 1 havuzda *A. marginale* ve *A. bovis* tespit edilmiştir. Türe özgü yapılan nested PZR'da *A. centrale*'ye rastlanmamıştır. Ayrıca soy PZR'da pozitif çıkan 6 kene havuzunda, türlerle özgü primerler kullanılarak yapılan nested PZR'da negatif sonuç alınmıştır.

Çizelge 21. Kene PZR sonuçları

Kene Grup No	<i>Ehrlichia/Anaplasma</i> Genus	<i>A.marginale</i>	<i>A.centrale</i>	<i>A.bovis</i>	<i>A.phagocytopilum</i>
K1	+	-	-	-	+
K2	+	+	-	-	-
K3	-	-	-	-	-
K4	-	-	-	-	-
K5	+	-	-	-	+
K6	+	-	-	-	-
K7	+	-	-	-	-
K8	+	-	-	-	-
K9	+	-	-	-	+
K10	+	-	-	-	+
K11	+	+	-	-	+
K12	-	-	-	-	-
K13	+	-	-	-	-
K14	-	-	-	-	-
K15	+	-	-	-	-
K16	-	-	-	-	-
K17	-	-	-	-	-
K18	+	+	-	+	-
K19	+	+	-	-	-
K20	+	-	-	-	-



**Resim 11.** *Ehrlichia/Anaplasma* genus spesifik EC9 ileri ve EC12A geri yönlü primer çifti kullanılarak toplanan kenelerden elde edilen DNA örneklerinin çoğaltılması. M: 100 bp'lik moleküler büyüklük belirleyici (Thermo Scientific Corp.); 1 ile 9 arasındaki kuyucuklarda (1 ve 9 dahil) K1, K2, K5, K6, K7, K8, K9, K10, K11 kene havuzlarına ait DNA örnekleri. EC9 ileri ve EC12A primer çiftini kullanılarak spesifik olarak çoğaltılan 1462 bp'lik bölge **ok işareti** ile gösterilmiştir.

Çizelge 22. PZR ile belirlenen miks enfeksiyonların odaklara ve aylara göre dağılımı

	MİKS ENFEKSİYONLAR*										TOPLAM
	AM/AC	AM/AB	AM/AP	AC/AB	AC/AP	AB/AP	AM/AC/AP	AM/AB/AP	AC/AB/AP	AM/AC/AB/AP	
<b>OSMANBÜKÜ</b>											
Haziran						1					1
Eylül						1					1
Aralık						4					4
Mart						1					1
<b>SÖKE</b>											
Haziran						4					4
Eylül				1		23					24
Aralık						18					18
Mart						26		1	1		28
<b>DALAMA</b>											
Haziran		1		1				3			5
Eylül	1	1	4		1	9		7	2	1	26
Aralık			3			5		4			12
Mart			4			2	2	5			13
<b>AKÇAOVA</b>											
Haziran						10		1			11
Eylül						28		1	4		33
Aralık						13			3		16
Mart						20		1	1		22
<b>TOPLAM</b>	1	2	11	2	1	165	2	23	11	1	219

(\*): AM/AC; *A. marginale* ve *A. centrale*, AM/AB; *A. marginale* ve *A. bovis*, AM/AP; *A. marginale* ve *A. phagocytophilum*, AC/AB; *A. centrale* ve *A. bovis*, AB/AP; *A. bovis* ve *A. phagocytophilum*, AM/AC/AP; *A. marginale*, *A. centrale* ve *A. phagocytophilum*, AM/AB/AP; *A. marginale*, *A. bovis* ve *A. phagocytophilum*, AC/AB/AP; *A. centrale*, *A. bovis* ve *A. phagocytophilum*, AM/AC/AB/AP; *A. marginale*, *A. centrale*, *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* ile oluşan miks enfeksiyonları göstermektedir.

Osmanbükü'nden Haziran 2006'da toplanan örneklerden soy PZR sonucunda 3 örnek pozitif bulunmuştur. Bu örneklerden türe özgü primerler kullanılarak yapılan PZR ve nested PZR sonucu, EH4 ve EH24'te *A. marginale*, EH45'te ise *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. Eylül 2006'da toplanan örneklerden soy PZR sonucunda 2 örnek pozitif bulunmuştur. Pozitif örneklerden türe özgü primerler kullanılarak yapılan PZR ve nested PZR sonucunda EH5'te *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. Soy PZR'da pozitif çıkan EH3'te ise türlere özgü primerler kullanılarak yapılan PZR'larda negatif sonuç vermiştir. Aralık 2006'da toplanan örneklerden Soy PZR'da 6 örnek pozitif bulunmuştur. Bu örneklerin spesifik primerlerle yapılan PZR'ları sonucunda 4 örnekte (EH5, EH27, EH45, EH49) *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir (Çizelge 22). Soy PZR'larında pozitif çıkan EH3 ve EH22 kodlu örnekler ise negatif sonuç vermiştir. Mart 2007'de toplanan örneklerden 2'si soy PZR'da pozitif bulunmuş, bu örneklerden EH45'te *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. EH22 kodlu örnekte ise PZR ve nested PZR sonuçları negatif bulunmuştur.

Dalama'dan Haziran 2006'da toplanan 48 örnekten soy PZR sonucuna göre 24 örnek pozitif bulunmuştur (Çizelge 6). Türle özgü primerler kullanılarak yapılan nested PZR'larda 4 örnekte (DK7, DK9, DK12, DK42) *A. marginale*, 3 örnekte (DK33, DK46, DK48) *A. centrale*, 11 örnekte (DK7, DK9, DK12, DK22, DK29, DK34, DK35, DK42, DK43, DK45, DK46) *A. bovis* ve 6 örnekte (DK7, DK9, DK12, DK22, DK43, DK45) *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. Dalama'da Haziran 2006'da toplanan örneklerden pozitif çıkanlarda mikس enfeksiyonlarda görülmüştür. PZR sonuçlarına göre, 3 örnekte (DK7, DK9, DK12) *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytophilum*, 3 örnekte (DK22, DK43, DK45) *A. bovis*, *A. phagocytophilum*, 1 örnekte (DK42) *A. marginale*, *A. bovis*, 1 örnekte ise (DK46) *A. centrale* ve *A. bovis* tespit edilmiştir (Çizelge 22). Soy PZR sonucu pozitif bulunan 11 örnek ise spesifik primerler kullanılarak yapılan PZR'larda tespit edilememiştir. Eylül 2006'da toplanan 48 örnekten 33'ü soy PZR sonucuna göre pozitif bulunmuştur. *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytophilum* pozitif çıkan örneklerin sayısı sırasıyla 6, 17, 20, 27'dir. Pozitif çıkan örneklerden 1'inde *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytophilum*, 7'sinde *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytophilum*, 2'sinde *A. centrale*, *A. bovis*, *A. phagocytophilum*, 9'unda *A. bovis*, *A. phagocytophilum*, 4'ünde *A. marginale*, *A. phagocytophilum*, 1'inde *A. centrale*, *A. marginale*, 1'inde *A. marginale*, *A. bovis*, 1'inde de *A. centrale*, *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir (Çizelge 22). Ayrıca pozitif çıkan 1 örnekte ise (DK22) hiçbir etken tespit edilememiştir. Aralık 2006'da alınan 26 örnekten ise 19'u soy PZR'da pozitif bulunmuştur. *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytophilum* pozitif



çıkan örneklerin sayısı sırasıyla 1, 8, 8, 15'dir. Pozitif örneklerden 4'ünde *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 5'inde *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 3 tanesinde ise *A. marginale*, *A. phagocytopilum* tespit edilmiştir (Çizelge 22). Ayrıca soy PZR'ında pozitif çıkan 4 örneğin türlere özgü primerlerle yapılan PZR'larında negatif sonuç alınmıştır. Mart 2007'de toplanan 29 adet örnekten soy PZR'ı sonucuna göre 21 adet pozitif örnek tespit edilmiştir. *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum* pozitif çıkan örneklerin sayısı sırasıyla 2, 13, 7, 16'dır. Pozitif örneklerde miks enfeksiyon çıkan örneklerin sayısı, 5 örnek *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 2 örnek *A. centrale*, *A. marginale*, *A. phagocytopilum*, 4 örnek *A. marginale*, *A. phagocytopilum*, 2 örnekte ise *A. bovis*, *A. phagocytopilum* pozitif bulunmuştur (Çizelge 22). Ayrıca soy PZR'ında pozitif çıkan 3 örneğin türlere özgü primerlerle yapılan PZR'larında negatif sonuç alınmıştır.

Akçaova'dan Haziran 2006'da toplanan 46 adet örnekten soy PZR sonucuna göre 37 örnek pozitif bulunmuştur (Çizelge 6). Bu örneklerden türe özgü primerler kullanılarak yapılan nested PZR sonucu, 4 örnekte *A. centrale*, 1 örnekte *A. marginale*, 16 örnekte *A. bovis*, 15 örnekte *A. phagocytopilum* pozitif bulunmuştur. Akçaova'da Haziran 2006'da toplanan örneklerden pozitif çıkanlarda miks enfeksiyonlarda görülmüştür. PZR sonuçlarına göre örneklerden 1'inde *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 10'unda *A. bovis*, *A. phagocytopilum* tespit edilmiştir (Çizelge 22). Soy PZR'ında pozitif çıkan 13 örneğin türlere özgü primerlerle yapılan PZR'larında negatif sonuç alınmıştır. Eylül 2006'da toplanan 54 örnekten 40'ı soy PZR'ında pozitif olarak tespit edilmiştir. *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum* pozitif çıkan örneklerin sayısı sırasıyla 4, 1, 34, 33'dür. PZR sonuçlarına göre pozitif örneklerden 33'ünde miks enfeksiyon tespit edilmiştir. Pozitif örneklerin 28'inde *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 4'ünde *A. centrale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 1'inde ise *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum* tespit edilmiştir (Çizelge 22). Soy PZR'ında pozitif çıkan 6 örneğin türlere özgü primerlerle yapılan PZR'larında negatif sonuç alınmıştır. Aralık 2006'da toplanan 34 örnekten soy PZR sonucuna göre 20 örnek pozitif bulunmuştur (Çizelge 6). *A. centrale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum* pozitif çıkan örneklerin sayısı sırasıyla 4, 15, 17'dir. Aralık 2006'da toplanan örneklerde *A. marginale* tespit edilmemiştir. PZR sonuçlarına göre pozitif örneklerden 16 tanesinde miks enfeksiyon tespit edilmiştir. Pozitif örneklerin 3'ünde *A. phagocytopilum*, *A. centrale*, *A. bovis*, 13'ünde ise *A. bovis*, *A. phagocytopilum* tespit edilmiştir (Çizelge 22). Soy PZR'ında pozitif çıkan 2 örneğin türlere özgü primerlerle yapılan PZR'larında negatif sonuç alınmıştır. Mart 2007'de toplanan 33 örnekten soy PZR sonucuna göre 29 örnek pozitif bulunmuştur (Çizelge 6). *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum* pozitif çıkan örneklerin

sayısı sırasıyla 2, 1, 22, 26'dır. Pozitif örneklerin 1'inde *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 1'inde *A. centrale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 20'sinde ise *A. bovis*, *A. phagocytopilum* pozitif olarak tespit edilmiştir (Çizelge 22). Soy PZR'ında pozitif çıkan 2 örneğin türlere özgü primerlerle yapılan PZR'larında negatif sonuç alınmıştır.

Söke'den Haziran 2006'da toplanan 50 örnekten soy PZR sonucuna göre 4 örnek pozitif bulunmuştur (Çizelge 6). Bu örneklerden türe özgü primerler kullanılarak yapılan nested PZR sonucu, 4 örnekte (A439, A440, A441, A442) *A. bovis* ve *A. phagocytopilum* pozitif bulunmuştur (Çizelge 22). Bu örneklerde *A. bovis* ve *A. phagocytopilum* etkenlerinin ikisi de tespit edilmiştir. Eylül 2006'da toplanan 61 adet örnekten 33'ü soy PZR'ında pozitif olarak tespit edilmiştir. *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum* pozitif çıkan örneklerin sayısı sırasıyla 2, 0, 27, 23'dür. PZR sonuçlarına göre pozitif örneklerden 24'ünde miks enfeksiyon tespit edilmiştir. Pozitif örneklerin 23'ünde *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 1'inde ise *A. centrale*, *A. bovis* tespit edilmiştir. Soy PZR'ında pozitif çıkan 5 örneğin türlere özgü primerlerle yapılan PZR'larında negatif sonuç alınmıştır. Aralık 2006'da alınan 32 örnekten ise 24'ü soy PZR'da pozitif bulunmuştur. *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum* pozitif çıkan örneklerin sayısı sırasıyla 0, 1, 21, 20'dir. Pozitif örneklerden 18'inde *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 1'inde *A. centrale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum* tespit edilmiştir (Çizelge 22). Ayrıca soy PZR'ında pozitif çıkan 2 örneğin türlere özgü primerlerle yapılan PZR'larında negatif sonuç alınmıştır. Mart 2007'de toplanan 39 örnekten soy PZR sonucuna göre 31 örnek pozitif bulunmuştur. *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum* pozitif çıkan örneklerin sayısı sırasıyla 0, 1, 28, 28'dir. Pozitif örneklerin 26'sında *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, 1'inde *A. marginale*, *A. bovis*, *A. phagocytopilum*, pozitif olarak tespit edilmiştir (Çizelge 22). Soy PZR'ında pozitif çıkan 2 örneğin türlere özgü primerlerle yapılan PZR'larında negatif sonuç alınmıştır.

### 3.3. Sekans Analiz Sonuçları

MAR1bB2, mpb58, AB1 ve SSAP primer çiftleri kullanılarak PZR ve nested PZR ile çoğaltılan sırasıyla *A. marginale*, *A. centrale*, *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* türlerine özgü ürünlerin sekans analizleri sonucunda elde edilen nükleotid dizilimleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Çoğaltılan ürünlerin nükleotid dizilim sonuçları nükleotid blast programı kullanılarak NCBI veri tabanında kontrol edilmiş. MAR1bB2 primer çifti ile çoğaltılan 265 bp'lık ürün *A. marginale*'nin msp1 $\beta$  genine %100 oranında benzerlik göstermiştir (Şekil 1A). Mpb58 primer çifti kullanılarak çoğaltılan 904 bp'lık ürün *A. centrale*'nin yüzey antijen proteini genini kodlayan bölgesine %99 benzerlik göstermiştir (Şekil 1B). AB1 primer çifti ile çoğaltılan 551 bp'lık ürün *A. bovis*'in 16S rRNA genine %97 oranında benzerlik göstermiştir (Şekil 1C). SSAP primer çifti ile çoğaltılan 641 bp'lık ürün *A. phagocytophilum*'un 16S rRNA genine %98 oranında benzerlik göstermiştir (Şekil 1D).

(A) MAR1bB2 forward

1 primer 156  
 Seq. GCTCTAGCAGGTTATGCGTCAGTTGAACAGCTAGAAGAAGCAAAGGCAGCAGACAGGGCACAGGCTGAGCAGCAAGCTGAAGAACAAGCAATGACCAAGAGTGTGGCACAGGAGCGTGCAGCAACAGTTGCTGCAGGGACTGAAACCATTAAAGACC  
 AM90 GCTCTAGCAGGTTATGCGTCAGTTGAACAGCTAGAAGAAGCAAAGGAAGCAGACAGGGTACAGGCTGAGCAGCAGAGCTGAAGCACAAGCAATGACCGAGCGTGTGGCAGGGGAGCGTGCAGCAACAGTTGCTGCAGGGACTGAAACCATTAAAGACC  
 AM98 GCTCTAGCAGGTTATGCGTCAGTTGAACAGCTAGAAGAAGCAAAGGAAGCAGACAGGGTACAGGCTGAGCAGCAGAGCTGAAGCACAAGCAATGACCGAGCGTGTGGCAGGGGAGCGTGCAGCAACAGTTGCTGCAGGGACTGAAACCATTAAAGACC  
 \*\*\*\*\*  
 157 MAR1bB2 reverse primer 265  
 Seq. ATCGTCAGCGATATGCGGAATGAGCTTGCTAAAGGGCATGAACAGCTTCAGCTCGTCATCACCGATATGTGTAATGAGCTTGCACAAATAGGTGCATTCTCCCAAGCAG  
 AM90 ATCGTCAGCGATATGCGGAATGAGCTTGCTAAAGGGCATGAACAGCTTCAGCTCGTCATCACCGATATGTGTAATGAGCTTGCACAAATAGGTGCATTCTCCCAAGCAG  
 AM98 ATCGTCAGCGATATGCGGAATGAGCTTGCTAAAGGGCATGAACAGCTTCAGCTCGTCATCACCGATATGTGTAATGAGCTTGCACAAATAGGTGCATTCTCCCAAGCAG  
 \*\*\*\*\*

(B)

1 Mpb58 forward primer 157  
 Seq. CATAACTTTGTTGTTGTAAGCCATAAAAATTTGCTAACGTATGCATTGACGTATTGTAGGGTTAATTTCTCTGAATCAACTCTAGAATCGCAGTTGGTTTTTTTGTATTGCTTTTGTGAATTATGTGCTATTACAGGGGCGTCGCTTTTTTGGCT  
 AF35. CATAACTTTGTTGTTGTAAGCCATAAAAATTTGCTAACGTATGCATTGACGTATTGTAGGGTTAATTTCTCTGAATCAACTCTAGAATCGCAGTTGGTTTTTTTGTATTGCTTTTGTGAATTATGTGCTATTACAGGGGCGTCGCTTTTTTGGCT  
 \*\*\*\*\*  
 158 314  
 Seq. GAGTCTCAGGGGAGGGGTGGCCGAGTGGTCAAAGGCAGCAGACTGTAATCTGCCACTTATGTGTACGTAGGTTCAAATCCTACCTCCTCCACGGCTGTTGCGGGTATAACTCAGTGGTAGAGTAGCAGCCTTCCAAGCTGCCCGCTGGGTTCTGA  
 AF35. GAGTCTCAGGGGAGGGGTGGCCGAGTGGTCAAAGGCAGCAGACTGTAATCTGCCACTTATGTGTACGTAGGTTCAAATCCTACCTCCTCCACGGCTGTTGCGGGTATAACTCAGTGGTAGAGTAGCAACCTTTCAAGCTGCCCGCTGGGTTCTGA  
 \*\*\*\*\*  
 315 471  
 Seq. TTCCCATTAACCGCTCTTTGAAAAGGTATCTTGTGCTGTGATGTGTTGTTTGTGTTTGGGGTAATTTATGACAGAAGGGAGAAAGCCGACATAAAACGTAGGTACGATAGGGCATGTTGACCACGGGAAGACCACGTTAACGGCTGCGCTTACTGC  
 AF35. TTCCCATTAACCGCTCTTTGAAAAGGTATCTTGTGCTGTGATGTGTTGTTTGTGTTTGGGGTAATTTATGACAGAAGGGAGAAAGCCGACATAAAACGTAGGTACGATAGGGCATGTTGACCACGGGAAGACCACGTTAACGGCTGCGCTTACTGC  
 \*\*\*\*\*  
 472 628  
 Seq. GGTATTGACAAGAAGGCTCAGTGGGGCGAACAAGGTAGTGAAGTACGACGAGATAGACAAGGCGCCTGAGGAGAGAGCTCGTGGCATTACCATTCCACAGCGCATGTAGAGTACGAGACGGAGAGCAGGCCTATGCGCATGTAGACTGTCCTGGT  
 AF35. GGTATTGACAAGAAGGCTCAGTGGGGCGAACAAGGTAGTGAAGTACGACGAGATAGACAAGGCGCCTGAGGAGAGAGCTCGTGGCATTACCATTCCACAGCGCATGTAGAGTACGAGACGGAGAGCAGGCCTATGCGCATGTAGACTGTCCTGGT  
 \*\*\*\*\*  
 629 785  
 Seq. CATGCGGACTACATAAAGAACATGATAACTGGTGTGCTGCGCAGATGGACGTGGCGATACTGGTAGTTTCTGCGACTGATGGAGCGATGCCACAGACTCGTGAGCACATACTACTAGCCAAGCAGGTGGGTGTGAAGGACATAGTCACATGGATAAACA  
 AF35. CATGCGGACTACATAAAGAACATGATAACTGGTGTGCTGCGCAGATGGACGTGGCGATACTGGTAGTTTCTGCGACTGATGGAGCGATGCCACAGACTCGTGAGCACATACTACTAGCCAAGCAGGTGGGTGTGAAGGACATAGTCACATGGATAAACA  
 \*\*\*\*\*  
 786 Mpb58 reverse primer 904  
 Seq. AGTGTGACGTGGTTGAAGATGAAGAAATGCTGTCGATAGTTGAGATGGAGGTCAGGGAGCTTCTGAGCAACTATGGGTATGACGGTGACAGTGTGACGTAGTTAGGGAAGGTCTGGAA  
 AF35. AGTGTGACGTGGTTGAAGATGAAGAAATGCTGTCGATAGTTGAGATGGAGGTCAGGGAGCTTCTGAGCAACTATGGGTATGACGGTGACAGTGTGACGTAGTTAGGGAAGGTCTGGAA  
 \*\*\*\*\*

(C)

1 AB1 forward primer

157

Seq. CTCGTAGCTTGCTATGAGAACAATTAGTGGCAGACGGGTGAGTAATGCATAGGAATCTACCTAGTAGTATAGGATAGCCACTAGAAAGTGGTGGGTAATACTGTATAATCCCTGCGGGGAAAGATTATCGCTACATGATGAGCCTATGTTAGATTA  
AB19. CTCGTAGCTTGCTATGAGAACAAATTAGTGGCAGACGGGTGAGTAATGCATAGGAATCTACCTAGTAGTATAGGATAGCCACTAGAAAGTGGTGGGTAATACTGTATAATCCCTGCGGGGAAAGATTATCGCTACATGATGAGCCTATGTTAGATTA  
\*\*\*\*\*

158

314

Seq. GCTAGTTGGGGGGTAAATGGCCTACCAAGGCAGTGATCTATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCTATGCCGC  
AB19. GCTAGTTGGGGGGTAAATGGCCTACCAAGGCAGTGATCTATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCTATGCCGC  
\*\*\*\*\*

315

471

Seq. GTGAGTGAGGAAGGCCTTAGGGTTGTAACACTCTTTCAGTGGGAAGATAATGACGGTACCCACAGAAGAAGTCCCGGCAAACCTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGGCAAGCGTTGTTTCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCATGTAGG  
AB19. GTGAGTGAGGAAGGCCTTAGGGTTGTAACACTCTTTCAGTGGGAAGATAATGACGGTACCCACAGAAGAAGTCCCGGCAAACCTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGGCAAGCGTTGTTTCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCATGTAGG  
\*\*\*\*\*

472

AB1 reverse primer 551

Seq. TGGTTTGGTTAGTTAAAGGTGAAATGCCAGGGCTTAACCTGGAGCTGCTTTTAATACTGCCAGACTGGAGTCCGGGAGA  
AB19. TGGTTTGGTTAGTTAAAGGTGAAATGCCAGGGCTTAACCTGGAGCTGCTTTTAATACTGCCAGACTGGAGTCCGGGAGA  
\*\*\*\*\*

(D)

1 SSAP forward primer

158

Seq. GCTGAATGTGGGGATAATTTATCTCTGTGTGAAGCTAACCGCTTAAGCACTCCGCCTGGGACTACGGTCGCAAGACTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCACTAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTAC  
HM13. GCTGAATGTGGGGATAATTTATCTCTGTGTGTAGCTAACCGCTTAAGCACTCCGCCTGGGACTACGGTCGCAAGACTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTAC  
\*\*\*\*\*

159

316

Seq. CACTCCTTGACATGGAGATTAGATCCTTCTTAACGGAAGGGCGCAGTTCCGGCTGGGTCTCGCACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGTAACCCCTCATCCTTAGTTGCCAGCGGAT-AAT  
HM13. CACTCCTTGACATGGAGATTAGATCCTTCTTAACGGAAGGGCGCAGTTCCGGCTGGATCTCGCACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGTAACCCCTCATCCTTAGTTGCCAGCGGGTTAA-  
\*\*\*\*\*

317

476

Seq. GCCGGTACTTTAAGGAAACTGCCGGTGGTAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGATGTCAAGTCAGCACGGCCCTTATAGGGTGGGTACACACGTGCTACAATGGTGACTACAATAGGTTGCAACGCGCAAGGCTGAGCTAATCCATAAAAGTCATCTCA  
HM13. GCCGGTACTTTAAGGAAACTGCCAGTGGTAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGATGTCAAGTCAGCACGGCCCTTATAGGGTGGGTACACACGTGCTACAATGGTGACTACAATAGGTTGCAACGCGCAAGGCTGAGCTAATCCATAAAAGTCATCTCA  
\*\*\*\*\*

475

SSAP reverse primer

635

Seq. GTTCGGATTGTCTCTGTAACCTCGAGGGCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGCATGCCACGGTGAATACGTTCTCGGGTCTGTACACACTGCCCGTCACGCCATGGGAATTGGCTTAACCTCGAAGCTGGTGCGCTAACCGAAAGGAAG  
HM13. GTTCGGATTGTCTCTGCAACTCGAGGGCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGCATGCCACGGTGAATACGTTCTCGGGTCTGTACACACTGCCCGTCACGCCATGGGAATTGGCTTAACCTCGAAGCTGGTGCGCTAACCGAAAGGAAG  
\*\*\*\*\*

636 641

Seq. AGCCAT

HM13. AGCCAT

\*\*\*\*\*

**Şekil 1.** Sekans analizi sonuçları. *A. marginale* (A), *A. centrale* (B), *A. bovis* (C) ve *A. phagocytophilum* (D) türlerine ait gen bölgelerinin sırasıyla MAR1bB2 (265 bp), mpb58 (904 bp), AB1 (551 bp) ve SSAP (641 bp) primer çiftleri kullanılarak PZR ve nested PZR yöntemiyle çoğaltılan gen bölgelerinin dizilim sonuçlarının clustal X (1.83) programı kullanılarak NCBI data bankasındaki ilgili gen bölgeleri ile karşılaştırılması. MAR1bB2 (265 bp) primer çiftleri kullanılarak PZR ile çoğaltılan *A. marginale*' ye ait majör yüzey protein Iβ geninin (A) mevcut dizilimlerle karşılaştırılmasında %100 nükleotid benzerliği, mpb58 (904 bp) primer çifti kullanılarak PZR ile çoğaltılan *A. centrale*'ye ait yüzey antijeni kodlayan genin (B) mevcut dizilimlerle karşılaştırılmasında %99'lik nükleotid benzerliği, AB1 (551 bp) primer çifti kullanılarak nested PZR ile çoğaltılan *A. bovis*'e ait 16S rRNA geninin (C) mevcut dizilimlerle karşılaştırılmasında %97 nükleotid benzerliği, SSAP (641 bp) primer çifti kullanılarak nested PZR ile çoğaltılan *A. phagocytophilum*'a ait 16S rRNA geninin (D) mevcut dizilimlerle karşılaştırılmasında %98 nükleotid benzerliği göstermiştir. '\*' işareti ile belirtilen bazlar aynı olan baz çiftlerini, '-' işareti ile belirtilen bazlar boşlukları göstermektedir. **Gölgelenmiş bölgeler** (A, B, C, D) ilgili geni çoğaltmada kullanılan primer çiftlerinin bağlanma yerlerini göstermektedir.

## 4. TARTIŞMA

Sığırlarda önemli ekonomik kayıplara yol açan ehrlichiosis ve anaplasmosis keneler tarafından nakledilen riketsiyal etkenlerin neden olduğu hastalıklardır. Bu hastalıkların naklinde rol oynayan keneler (*Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* (*Boophilus*), *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Ornithodoros*) Türkiye’de yaygın olarak görülmektedir (Kurtpınar 1954, Çetindağ 1996, Aydın ve Bakırcı 2007, Bakırcı 2009). Ehrlichiosis, *Ixodidae* ailesine bağlı keneler tarafından nakledilen *Anaplasmatacea* ailesinde *Ehrlichia* soyunda bulunan türlerin neden olduğu bir hastalıktır. *Ehrlichia* etkenleri konağının lökositlerine intrastoplazmik olarak yerleşir (Dumler ve ark 2005). Anaplasmosis, *Anaplasmatacea* ailesinde *Anaplasma* soyuna bağlı türlerin neden olduğu bir hastalıktır. Sığırlarda patojen olan tür *Anaplasma marginale*’dir. Tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak görülen anaplasmosis ekonomik kayıplara neden olması yönünden önemli bir hastalıktır. Anaplasmosis klinik olarak ateş, hemolitik anemi, ağırlık kaybı, gebe hayvanlarda yavru atma ve bazı durumlarda ölümle seyretmektedir (Vidotto ve ark 2006). Anaplasmosis, hayvanlarda vücut ağırlığında azalma, yavru atma, süt veriminde azalma, ölüm ve tedavi masraflarından dolayı özellikle hayvan yetiştiriciliği için önemli bir hastalıktır (Rymaszewska ve Grenda 2008). Çiftlik hayvanlarında ve daha az derecede de insanlarda bu etkenlerin patojenik aktiviteleri birbirleri ile bağlantılıdır (Rymaszewska ve Grenda 2008).

Sığırlarda hastalık oluşturan *Anaplasma* türlerinin mikroskopik muayenede teşhisi paraziteminin düşük olduğu durumlarda zordur. Serolojik testlerde, türler arasında çapraz reaksiyonların oluşmasından dolayı *Anaplasma* türlerinin ayırt edilmesinde uygun bir yöntem değildir. Moleküler yöntemler ise yüksek sensitivite ve spesifitesinden dolayı *Anaplasma* türlerinin tespitinde kullanılan en duyarlı tanı yöntemidir (Noaman ve Shayan 2010).

Bu çalışma, Aydın Yöresinde sığırlardan toplanan kan ve kenelerde *Anaplasma* türlerinin tespiti ve karakterizasyonu ile bu bölgede *Anaplasma* türlerinin yoğunluğunu belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışma başlangıcında soy PZR’ında *Anaplasma* türlerinin ortak korunmuş bölgesine spesifik primerler kullanılarak 16S rRNA geni çoğaltılarak elde edilen ürünlerin sekans analizleri yapılmıştır. Ancak bu gen bölgesi kullanılarak yapılan soy PZR’u sonucunda elde edilen ürünlere ait değişken bölgedeki farklılıklar daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara (Noaman ve ark 2010) benzer şekilde tür bazında tespiti olanak vermemiştir. Bundan dolayı türlere özgü primerler kullanılarak etkenlerin karakterizasyonu yapılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla *A. marginale* ve *A. centrale* için tür

tespitinde daha fazla duyarlı olduğu belirlenmiş (Bilgiç 2010, Molad ve ark 2006) msp gen bölgesine spesifik primerler seçilerek PZR'lar yapılmış, *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* türlerinde ise 16S gen bölgesi çoğaltıldıktan sonra duyarlılığı daha önceki çalışmalarda belirlenmiş (Kawahara ve ark 2006) türlere spesifik primerler ile nested PZR yapılarak bölgedeki *Anaplasma* türlerinin tespiti ve karakterizasyonu ortaya konmuştur.

*Anaplasma marginale* genomunda bulunan *msp 1*; *msp 1a* tarafından kodlanan *msp 1a* ve *msp 1b* tarafından kodlanan *msp 1b* polipeptidler tarafından oluşturulan dimer yapısında bir proteindir. *Msp 1a* geni tek kopyalı bir gen olup *A. marginale* izolatları arasında uzunluk farklılıkları göstermektedir. *Msp 1b* ise ikisi tüm gen, üçüde kısmi gen bölgesi olmak üzere beş genden oluşan küçük bir çoklu kopyalı gen ailesini temsil etmektedir (Kelly ve ark 2004, Barbet ve Allred 1991). Bu genlerin her ikisinde (*msp 1a*, *msp 1b*) tandem tekrarlı dizilimlerden oluşan alanlar içermesine karşın, bu alanlar *msp1b* geninde *msp1a* geni kadar yaygın değildir (Barbet ve Allred 1991). *Msp 1a* peptidlerini kodlayan gene ait 2 kb DNA bölgesi kullanılarak *A. marginale*'nin sığırlarda ve vektör kenelerde prob aracılı olarak tespiti için yapılan çalışmada, sığırlarda farklı coğrafik bölgelere ait üç *A. marginale* izolatı ile vektör kenelerde iki izolatın özgül olarak teşhisi yapılmıştır (Goff ve ark 1988). Ayrıca, sığırlarda *A. marginale* enfeksiyonunun *msp 1b* genine dayalı teşhisinde kullanılan tag – man gerçek zamanlı PZR (Carelli ve ark 2007) ve nested PZR (Molad ve ark 2006) yöntemleri ile etkenin özgül ve duyarlı tespiti yapılmıştır (Carelli ve ark 2007, Molad ve ark 2006). *A. marginale*'nin *msp 1b* geninin farklı izolatlar arasında korunmuş 265 bp'lık bölgesini çoğaltan MAR1bB2 primer çiftinin bu türün tespitinde oldukça duyarlı olduğu gösterilmiştir (Bilgiç 2010). *A. centrale* türüne ait yüzey antijenlerinin polimorfizm göstermesinden dolayı tür bazında rahatlıkla tespit edilebilmektedir. *A. centrale*'nin tür bazında PZR ile tespit için kullanılan gen bölgeleri arasında 16S rRNA geni (Inokuma ve ark 2001) ile *msp2* ve *mpb58* gen bölgeleri (Molad ve ark 2006) yer almaktadır.

Türkiye'de *Anaplasma* türlerinin tespiti ve karakterizasyonu ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Yapılan çalışmalar daha çok *A. marginale* ve *A. centrale*'nin tespitine yöneliktir (Arslan 2005, Sevinç ve ark 2005, Karagenç ve ark 2005, Çakmak ve ark 1990). Çakmak tarafından 1980 yılında Ankara Beytepe'de sığırlarda kan parazitlerinin varlığını belirlemek için serolojik yöntemlerden yararlanılmıştır. Toplanan 123 serum örneğinden CF (komplement fikzasyon) testi ile 4 serum örneğinde *A. marginale*'ye spesifik antikörlerin varlığı tespit edilmiştir. Afyon ilinde bir sığırcılık işletmesinde yapılan bir çalışmada 506 sığır kan serumu örneği cELISA yöntemi ile bakılmış ve bunların 312'si *A. marginale*'ye spesifik antikörler yönünden pozitif bulunmuştur (Sevinç ve ark 2005).

Karagenç ve ark (2005) Aydın yöresi sığırlarında RLB (reverse line blot) tekniği kullanılarak *Theileria*, *Babesia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* türlerini belirlemeye çalışmışlardır. 120 kan örneği *Theileria/Babesia* ve *Ehrlichia/Anaplasma* türlerine spesifik 36 adet prop kullanılarak hazırlanmış ticari bir membranla değerlendirilmiştir. RLB testi sonucunda, 120 kan örneğinin 16'sında *A. centrale*, 8'inde ise *A. marginale*'ye rastlanmıştır. Türler göre enfeksiyon oranları *A. centrale* % 13,3 ve *A. marginale* için % 6,6'dır. Gökçe ve ark (2008) tarafından Karadeniz Bölgesinde yapılan çalışmada, mikroskopik, moleküler ve serolojik yöntemlerle *A. phagocytophilum*'u tespit etmeye çalışmışlardır. Bu amaçla, 2002 yılında Artvin, Rize, Trabzon, Giresun, Ordu ve Samsun'dan toplam 720 sığırdan kan örneği alınmıştır. Bu örneklerin mikroskopik bakışı sonucunda 720 kan preparatının 73 tanesinde *A. phagocytophilum*'a benzer organizmalar tespit edilmiştir. Serum örnekleri IFAT ile incelenmiş ve 720 serumdan 110 tanesi *A. phagocytophilum* yönünden pozitif bulunmuştur. Moleküler olarak PZR yapılmış ve 183 örnekten 27 (% 3,75)'sinde *A. phagocytophilum* pozitif bulunmuştur.

Bu çalışmada ise Osmanbükü'nden Haziran 2006'da alınan 45 örneğin 1 (% 2,2)'inde, Eylül 2006'da alınan 48 örneğin 1 (% 2,1)'inde, Aralık 2006'da alınan 66 örneğin 4 (% 6,1)'ünde, Mart 2007'de alınan 20 örneğin 1 (% 5)'inde *A. phagocytophilum* pozitif bulunmuştur. Söke'den Haziran 2006'da alınan 50 örneğin 4 (% 8)'ünde, Eylül 2006'da alınan 61 örneğin 23 (% 37,7)'ünde, Aralık 2006'da alınan 32 örneğin 20 (% 62,5)'sinde, Mart 2007'de alınan 39 örneğin 28 (% 71,8)'inde *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. Dalama'dan Haziran 2006'da alınan 48 örneğin 6 (% 12,5)'sında, Eylül 2006'da alınan 48 örneğin 27 (% 56,2)'sinde, Aralık 2006'da alınan 26 örneğin 15 (% 57,7)'inde, Mart 2007'de alınan 29 örneğin 16 (% 55,2)'sında *A. phagocytophilum* pozitif bulunmuştur. Akçaova'dan Haziran 2006'da alınan 46 örneğin 15 (% 32,6)'inde, Eylül 2006'da alınan 54 örneğin 33 (% 61,1)'ünde, Aralık 2006'da alınan 34 örneğin 17 (% 50)'sinde, Mart 2007'de alınan 33 örneğin 26 (% 78,8)'sında *A. phagocytophilum* türüne rastlanmıştır. Gökçe ve ark (2008) Karadeniz Bölgesinde yaptığı çalışmaya kıyasla *A. phagocytophilum*'a Aydın iline bağlı kan toplanan ilçelerde daha yüksek oranda rastlanmıştır. Bakırcı (2009) tarafından Batı Anadolu Bölgesi sığırlarında bulunan kene türlerini, mevsimsel aktivitelerini ve yaygınlıklarını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, Aydın ilinde toplanan 7424 keneden 3584 (% 48,28)'ünün *Hyalomma marginatum*, 1876 (% 25,27)'sının *Hyalomma excavatum* olduğunu tespit edilmiştir (Bakırcı 2009). Bu çalışmada *A. phagocytophilum*'a vektörlük eden *Ixodes* türü kenelere rastlanmamıştır. Ancak bölgedeki insanlarda görülen kene ısırığı vakalarında tespit edilmiştir (ADÜ Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalına ait



yayınlanmamış veri). Buna istinaden çalışma yapılan bölgelerde hayvan giriş çıkışları fazla olduğu için diğer bölgelerden enfekte hayvanların bu bölgelere gelmiş olabileceği ve enfeksiyon kaynağı olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Günümüzde, dünyada *Anaplasma* ile ilgili moleküler tanı yöntemlerine dayalı çok sayıda çalışma bulunmaktadır çok fazla çalışma bulunmaktadır. Noaman ve ark (2008) tarafından İran'da yapılan çalışmada, 2008 yılında Mart ve Temmuz ayları arasında toplanan 150 sığır kanı PZR-RFLP yöntemi ile bakılmış ve 150 sığır kanından 50 (% 33,3) tanesinde *A. marginale* pozitif bulunmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada ise Osmanbükü'de Haziran 2006 da alınan 45 örnekten 2'sinde, Söke'den Aralık'ta alınan 66 örnek ve Mart ayında alınan 39 örnekte 1'er tane pozitif bulunmuştur. Akçaova'da da Haziran, Eylül ve Mart aylarında 1'er örnekte *A. marginale*'ye rastlanmıştır. Bu çalışmada, *A. marginale* türü en yüksek oranda Dalama Beldesinde bulunmuştur. Dalama'da Haziran 2006'da toplanan 48 örneğin 4 (% 8,3)'ünde, Eylül 2006'da toplanan 48 örneğin 17 (% 35,4)'sinde, Aralık 2006'da toplanan 26 örneğin 8 (% 30,7)'inde ve Mart 2007'de toplanan 29 örneğin 13 (% 44,8)'ünde *A. marginale* pozitif bulunmuştur. Ooshiro ve ark (2008) nested-PZR yöntemi ile 15 sığırın 8'inde *A. bovis*, 12'sinde *A. phagocytophilum* tespit etmişlerdir. Jilintai ve arkadaşları tarafından Japonya'da yapılan bir çalışmada, *Ehrlichia/Anaplasma* soyuna spesifik EC9 ve EC12A ileri ve geri yönlü primerler ile *A. phagocytophilum* ve *A. bovis*'e spesifik sırasıyla SSAP2 R/F, AB1 R/F primer çiftleri kullanılarak 78 sığır incelenmiştir. Türlelere spesifik primerler kullanılarak yapılan nested-PZR yöntemi 12 (% 15,3) sığırdaki *A. bovis*, 1 (% 1,3) sığırdaki ise *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir (Jilintai ve ark 2009). Bu çalışmada her bölgeden Haziran, Eylül, Aralık ve Mart aylarında sığırlardan toplanan kanlar 679 adettir. Bu kanlar, Osmanbükü'nde 57 sığır, Söke'de 81 sığır, Dalama'da 59 sığır ve Akçaova'da 58 sığırın farklı aylarda toplanan kanlarının sayısıdır. Buna göre Osmanbükü'nde 57 sığırın 4 (% 7)'ünde *A. phagocytophilum*, 4 (% 7)'ünde *A. bovis*, Söke'de 81 sığırın 43 (% 53)'ünde *A. phagocytophilum*, 46 (% 56,8)'sında *A. bovis*, Dalama'da 59 sığırın 34 (% 57,6)'ünde *A. phagocytophilum*, 25 (% 42,3)'inde *A. bovis*, Akçaova'da 58 sığırın 42 (% 72,4)'sinde *A. phagocytophilum*, 40 (% 70)'ünde *A. bovis* tespit edilmiştir.

Toplanan kan ve kene örneklerinden yapılan soy PZR'lerinde pozitif bulunan örneklerden türlelere özgü primerler kullanılarak yapılan PZR'lerinde bazı örneklerin negatif sonuç verdiği görülmüştür. Negatif çıkan örneklerin çalışmamızda baktığımız etkenlerden farklı etkenler olabileceği veya mutasyon geçirmiş olabilecekleri düşünülmektedir. Bu nedenle gelecekteki çalışmalarda bu örneklerin ayrıntılı bir şekilde incelenmesi ve sekansları

yapılarak türlerinin belirlenmesi, bölgemizde bulunan *Anaplasma* türlerinin daha net bir şekilde ortaya konmasına olanak sağlayacaktır.

Bu çalışmada kan toplanan tüm bölgelerde hayvanlarda birden fazla *Anaplasma* türünün tespit edilmesi mikis enfeksiyonların sığırlarda oldukça yoğun olduğunu göstermiştir. Bu durum Ege Bölgesinde *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis* ve *A. phagocytophilum*'a vektörlük edebilen ixodid kene türlerinin yoğun olarak bulunmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür (Bakırcı 2009).

*Ehrlichia/Anaplasma* soy PZR sonuçlarına göre en yüksek pozitiflik Akçaova'da saptanmıştır (Çizelge 6). Bakırcı'nın Batı Anadolu Bölgesinde yaptığı çalışmada, Haziran, Eylül, Aralık 2006 ve Mart 2007'de çalışma yaptığımız Akçaova, Dalama, Söke ve Osmanbükü beldelerinden topladığı kene sayıları sırasıyla 1635, 471, 183, 165'dir (Bakırcı, 2009). Kene popülasyonunun en fazla olduğu yer Akçaova Beldesidir. Kene popülasyonuna bağlı olarak, bu çalışmada soy PZR'ında en yüksek pozitifliğin Akçaova'da saptanması, Bakırcı (2009)'nın yaptığı çalışmayla paralellik göstermektedir.

Akçaova'da soy PZR sonuçlarına göre en yüksek pozitiflik Mart ayında saptanmıştır. En az pozitifliğe ise Aralık ayında rastlanmıştır. Bakırcı (2009)'nın Batı Anadolu Bölgesinde yaptığı çalışmada, Aydın ilinde sığırlar üzerinde en çok bulunan kene türlerin mevsimsel dağılımlarına bakılmıştır. Buna göre *Hyalomma marginatum*'un Mart – Eylül ayları arasında önemli düzeylerde bulunduğu, *H. detritum*'un ise Haziran ayında en üst seviyesine ulaştığı belirlenmiştir. *H. excavatum*'un, Mayıs ve Ekim olmak üzere iki kez pik yaptığı, *Rhipicephalus turanicus*'un da ilkbahar aylarından yazın başlangıcına kadar olan dönemde aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Bakırcı, 2009). Buna bağlı olarak Akçaova'da Aralık ayında pozitifliğin azalması, kene popülasyonunun azalmasına bağlı olabilir. Türlerine spesifik primerler kullanılarak yapılan PZR sonuçlarında *A. marginale* ve *A. centrale*'ye çok düşük oranlarda rastlanmıştır (Çizelge 7,9). Karagenç ve ark (2005) Aydın yöresi sığırlarında RLB (reverse line blot) tekniği kullanılarak yaptığı çalışmada, 120 hayvanda *A. centrale* %13,3 ve *A. marginale* % 6,6 oranında tespit edilmiştir (Karagenç ve ark 2005). Bu çalışmada enfeksiyon oranının az olmasının nedeni, çalışma yapılan bölgede enfeksiyon oranının azalması ve bölgede enfekte hayvanların ölüm, satım vb. gibi nedenlerle çıkarılmış olması şeklinde yorumlanmıştır. Jilintai ve ark (2009) tarafından Japonya'da yapılan çalışmada, 78 sığırın 12 (% 15,3)'sinde *A. bovis*, 1 (% 1,3)'inde *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir (Jilintai ve ark 2009). Bu çalışmada Akçaova'da 58 adet sığırın 42 (% 72,4)'sinde *A. phagocytophilum*, 40 (% 70)'ında *A. bovis* tespit edilmiştir. Bölgemizde *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* etkenlerine yüksek oranda rastlanmıştır. Bunun nedeninin kene

populasyonundaki yükseklikten kaynaklandığını düşünebiliriz. Ayrıca Akçaova'da *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* etkenlerin aylara göre dağılımı birbirine paralellik göstermektedir. İki etkeninde dönemsel olarak dalgalanma gösterdiği, Haziran ve Aralık aylarında enfeksiyon oranının düştüğü, Eylül ve Mart aylarında yükseldiği görülmüştür. Ancak *A. bovis* ve *A. phagocytophilum*'un tanısı için nested PCR *A. centrale* ve *A. marginale* için ise tür düzeyinde tek PCR testi uygulanmıştır. *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* tanısı için kullanılan testin daha duyarlı olması bu örneklerin diğer örneklere göre daha fazla tespit edilmiş olmasına yol açmış olabileceği de göz ardı edilmemelidir. .

Osmanbükü soy PZR sonuçlarına göre en düşük pozitiflik bulunan beldedir. Türlerle özgü primerler kullanılarak yapılan PZR sonuçlarında *A. marginale*, *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* için sırasıyla % 3,5, % 7, %7'dir. Osmanbükü'nde *A. centrale* tespit edilmemiştir. Bu bölgede enfeksiyon oranının düşük olmasının nedeni, bölgedeki üreticilerin kene mücadelesine özen göstermesi, bu bölgede hayvan giriş çıkışlarının fazla olmaması ve bakım besleme koşullarına dikkat etmeleri olarak yorumlanmıştır.

Sığırların üzerinden toplanan kenelerden 20 havuz oluşturulmuş ve bu havuzlardan 14'ü soy PZR'ında pozitif tespit edilmiştir. Türlerle spesifik primerler kullanılarak yapılan PZR ve nested PZR sonucunda en yoğun olarak *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir. *A. phagocytophilum*'un ana vektörlerinin *Ixodes* türleri olmasına rağmen (Aktaş ve ark 2010) bu çalışmada *A. phagocytophilum* pozitif çıkan örneklerdeki kene türleri *Hyalomma* türleridir. Bu kenelerin *A. phagocytophilum*'un vektörü olduğunu söyleyemeyiz. Buradaki pozitiflik enfekte hayvanlardan kan emerken kenelerinde enfekte olduğu olarak yorumlanmıştır. İleriki çalışmalarda bu konunun incelenmesi ve *Ixodes* türlerinin dışında *A. phagocytophilum*'a vektörlük eden kene türlerinin belirlenmesi hayvan sağlığı için olduğu kadar insan sağlığı içinde önem taşımaktadır. Kene örneklerinden yapılan PZR sonuçlarında *A. centrale* tespit edilmemiştir. Bunun nedeni, bölgede *A. centrale* türüne az olarak rastlanması ve çalışılan kene sayısının az olması olarak yorumlanmıştır.

Bu çalışmada soy PZR'da pozitif çıkan fakat türlere özgü spesifik primerler kullanılarak yapılan PZR ve nested PZR'larda negatif sonuç alınan örnekler tespit edilmiştir. Bunun nedeni, örneklerin DNA ekstraksiyonu aşamasında kişisel hatalardan, PZR aşamasında ekstraksiyonu yapılan DNA örneklerinin çok fazla dondurma ve/veya çözündürme uygulaması yapılması ve/veya bu türlerin bu çalışmada bakılan türlerden farklı türler olabileceği olarak yorumlanmıştır. Çalışma bütçesindeki maddi sıkıntılardan dolayı bu örneklerin klonlanması ve sekans analizleri yapılamamıştır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma Haziran 2006 - Mart 2007 tarihleri arasında Aydın yöresinde 4 farklı merkezde (Söke, Akçaova, Dalama, Osmanbükü) sığırlarda ve kenelerde *Ehrlichia/Anaplasma* türlerini belirlemek amacı ile yapılmıştır. Bu amaçla 4 farklı merkezde toplanan 679 sığır kanı moleküler teknikler (PZR, nested PZR) ile bakılmış olup neticede Aydın yöresinde *A. centrale*, *A. marginale*, *A. bovis* ve *A. phagocytophilum* türleri saptanmış ayrıca bu 4 türün sekans analizleri yapılmıştır.

*Anaplasma bovis* en yoğun (%90,3) Söke'de Mart ayında, *A. phagocytophilum* en yoğun (%89,65) Akçaova'da yine Mart ayında belirlenmiştir. Ayrıca *A. marginale* en yoğun (%44,8) Dalama'da Mart ayında ve *A. centrale* ise Akçaova'da en yoğun (%11,76) Aralık ayında saptanmıştır. Bu çalışma ile Türkiye'de moleküler düzeyde ilk kez *A. bovis* tespit edilmiştir.

Ayrıca sığırların üzerinden toplanan 186 kene örneği türlere spesifik primerler kullanılarak PZR ve nested PZR yöntemleri ile incelenmiş ve kenelerde *A. centrale* hariç diğer 3 tür belirlenmiş olup en yoğun *A. phagocytophilum* türü saptanmıştır.

Bu çalışma ile Aydın yöresinde *Anaplasma* türleri ve karakterizasyonları belirlenmiş olup bu tür çalışmaların Türkiye geneline yayılması, her bölgedeki türlerin ve bu türlerin antijenik polimorfizimlerinin belirlenmesi ayrıca taşıyıcı kenelerin ortaya konması, Anaplazmozisin neden olduğu kayıpların önlenmesi ve hastalığın kontrolünde uygulanacak stratejileri belirleme konusunda Türkiye ekonomisine katkı sağlayacaktır.

## ÖZET

Bu çalışmada Aydın Yöresinde Sığır ve Kenelerde *Ehrlichia/Anaplasma* türlerinin karakterizasyonu amaçlanmıştır. Bu doğrultuda Haziran 2006-Mart 2007 tarihleri arasında Aydın iline bağlı Osmanbükü, Akçaova, Dalama ve Söke ilçelerinde çalışma yürütülmüştür. On iki ay boyunca üç ayda bir düzenli olarak odaklara gidilmiş, toplam 679 kan ve sığırların üzerinden 186 kene örneği toplanmıştır.

Toplanan kan ve kenelerden DNA ekstraksiyonları yapıldıktan sonra *Ehrlichia/Anaplasma* türlerini tespit etmek için Soy PZR ve Nested PZR yapılmıştır. PZR sonuçlarına göre Osmanbükü'nden toplanan 179 sığır kanından 13'ü pozitif, Söke'den toplanan 182 sığır kanından 92'si pozitif, Dalama'dan toplanan 151 sığır kanından 96'sı pozitif, Akçaova'dan toplanan 167 sığır kanından ise 126'sı pozitif çıkmıştır. Türlerle spesifik primerlerle yapılan PZR ve nested PZR sonuçlarına göre, *A.marginale*, *A. centrale*, *A. bovis*, *A. phagocytophilum* pozitif sığır sayısı Osmanbükü'de sırasıyla, 2, 0, 7, 7, Söke'de sırasıyla, 2, 2, 80, 75, Dalama'da sırasıyla 42, 12, 46, 64, Akçaova'da sırasıyla 3, 14, 87, 91'dir. Kenelerden yapılan PZR sonuçlarında ise 4 örnekte *A.marginale*, 1 örnekte *A. bovis*, 5 örnekte *A. phagocytophilum* pozitif bulunmuştur. Pozitif çıkan örnekler klonlanarak sekans analizleri yaptırılmıştır.

PZR sonuçlarına göre *A. bovis* en yoğun olarak Söke'de tespit edilmiştir. Etkenler en yoğun olarak Mart ayında görülmüştür. *A. phagocytophilum* en yoğun olarak Akçaova'da tespit edilirken, etkenler en yoğun olarak Mart ayında görülmüştür. *A. marginale* ise en yoğun olarak Dalama'da tespit edilirken, en yüksek olarak Mart ayında görülmüştür. *A. centrale* ise Akçaova'da en yoğun Aralık ayında görülmüştür. Bu çalışma ile, *A. bovis* Türkiye'de ilk kez moleküler olarak saptanmıştır

**Anahtar Kelimeler:** Aydın Yöresi, Kene, Sığır, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma phagocytophilum*, PZR.

## 7. SUMMARY

The aim of this study was to characterize *Ehrlichia/Anaplasma* species in cattle and ticks. For this purpose a total of 679 blood and 186 tick samples were regularly collected in every three months period from Osmanbükü, Akçaova, Dalama and Söke districts of Aydın during June, September, December 2006 and March 2007.

Following DNA extraction from ticks and blood samples, genus and nested PCR was performed to determine *Ehrlichia/Anaplasma* species in DNA samples. According to genus PCR results 13 out of 179 samples collected from Osmanbükü, 92 out of 182 samples collected from Söke, 96 out of 151 samples collected from Dalama and 126 out of 167 samples collected from Akçaova were *Ehrlichia/Anaplasma* genus positive. According to nested PCR results, performed using species specific primers, 2, 0, 7, 7 in Osmanbükü, 2, 2, 80, 75 in Söke, 42, 12, 46, 64 in Dalama and 3, 14, 87, 91 in Akçaova districts were positive for *A.marginale*, *A. centrale*, *A. bovis*, *A.phagocytophilum*, respectively. PCR results obtained from DNA samples extracted from ticks showed that 4, 1 and 5 samples were positive for *A.marginale*, *A. bovis*, *A. Phagocytophilum*, respectively. Positive samples were cloned into PCR4/TOPO vectors and send for sequencing.

PCR results showed that *A.bovis* was most abundantly seen in blood samples collected from Söke during March. *A. phagocytophilum* was intensively seen in Akçaova during March. *A. marginale* species were mostly seen in blood samples collected from Dalama during September. Finally, *A. centrale* was intensively seen in Akçaova in December. This study describes the first molecular detection of *A.bovis* in Turkey.

**Key Words:** Aydın Region, Tick, Cattle, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma phagocytophilum*, PCR.

## 8. KAYNAKLAR

**Aktaş M, Altay K, Dumanlı N (2006)** A molecular survey of bovine *Theileria* parasites among apparently healthy cattle and with a note on the distribution of ticks in eastern Turkey. Vet. Parasitol., 138:179 – 185

**Aktaş M, Vatansever Z, Altay K, Aydın MF, Dumanlı N (2010)** Molecular evidence for *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* from Turkey. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 104:10–15

**Amerault TE, Roby TO, (1968)** A rapid card agglutination test for bovine anaplasmosis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 153:1828–1834.

**Amerault TE, Rose JE, Roby TO (1972)** Modified card agglutination test for bovine anaplasmosis: evaluation with serum and plasma from experimental and natural cases of anaplasmosis. Proc. U.S. Anim. Health. Assoc., 76: 736-744.

**Arslan MÖ, (2005)** Türkiye’de Hayvanlarda Kene Enfestasyonları ve Kenelerin Bulaştırdığı Hastalıkların Durumu. XIV. Ulusal Parazitoloji Kongresi Özet Kitabı, 80–86.

**Aydın L, Bakırcı S, (2007)** Geographical distribution of ticks in Turkey. Parasitol Res., 101 (2): 163–166

**Aysul N, Karagöç T, Eren H, Aypak S, Bakırcı S (2008)** Aydın İli Sığırlarında Tropikal Theileriosisin Yaygınlığı ve *Theileria annulata* Şizont Aşısının Sahada Etkinliğinin Değerlendirilmesi. T. Parazitol Derg, 32 (4): 322 – 327.

**Aytuğ CN, Görgül S, Tuncer ŞK, Alaçam E, Gökçen H, Yılmaz K (1991)** Sığır Hastalıkları. Tümvet Hayvancılık ve Veteriner Hizmetleri San. Tic. Ltd. Şti. Yayını No: 3: 358-360.

**Bakırcı S (2009)** Batı Anadolu Bölgesi Sığırlarında Görülen Kene Türleri ve Yaygınlığı. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi)

**Bakken JS, Krueth J, Wilson-Nordskog C, Tilden RL, Asanovich K and Dumler JS, (1996)** Clinical and laboratory characteristics of human granulocytic ehrlichiosis. J. Am. Med. Assoc., 275:199-205

**Barbet AF, Blentlinger RYJ, Lundgren AM, Blouin EF, Kocan KM (1999)** Comparison of surface protein of *Anaplasma marginale* grown in tick cell culture, tick salivary glands, and cattle. Infect. Immun., 67: 102–107.

**Bekker CPJ, Vos S, Taoufik A, Sparagano AE, Jongejan F, (2002)** Simultaneous detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ruminants and detection of *Ehrlichia ruminantium* in *Amblyomma variegatum* ticks by reverse line blot hybridization. Vet. Microbiol., 89:223–238.

**Bilgiç HB (2010)** *Theileria annulata*'nın Tanısında Serolojik (İndirekt ELISA) ve Moleküler (PZR, çoklu PZR ve LAMP) Yöntemlerin Geliştirilmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi)

**Blouin EF, Kocan KM, de la Fuente J, Saliki JT (2002).** Effect of tetracycline on development of *Anaplasma marginale* in cultured *Ixodes scapularis* cells. *Vet. Parasitol.*, 107(1-2): 115-126.

**Borjesson DL, Kobayashi SD, Whitney AR, Voyich JM, Argue CM, Deleo FR (2005)** Insights into pathogen immune evasion mechanisms: *Anaplasma phagocytophilum* fails to induce an apoptosis differentiation program in human neutrophils. *J. Immunol.*, 174: 6364-6372.

**Brown, WC, Norimine J, Knowles DP, Goff WL (2006)** Immune control of *Babesia bovis* infection. *Vet. Parasitol.*, 138: 75–87.

**Carelli G, Decaro N, Lorusso A, Elia G, Lorusso E, Mari V, Ceci L, Buonavoglia C (2007)** Detection and quantification of *Anaplasma marginale* DNA in blood samples of cattle by real-time PCR. *Vet. Microbiol.*, 124: 107-114.

**Carlyon JA, Chan WT, Galan J, Roos D, Fikrig E (2002)** Repression of *rac2* mRNA expression by *Anaplasma phagocytophila* is essential to the inhibition of superoxide production and bacterial proliferation. *J. Immunol.*, 169: 7009-7018.

**Carlyon JA, Fikrig E (2003)** Invasion and survival strategies of *Anaplasma phagocytophilum*. *Cell. Microbiol.*, 5: 743–754.

**Coetzee JF, Schmidt PL, Apley MD, Reinbold JB, Kocan KM (2007)** Comparison of the complement fixation test and competitive ELISA for serodiagnosis of *Anaplasma marginale* infection in experimentally infected steers. *Am. J. Vet. Res.*, 68:872–878.

**Çakmak A, (1990)** Ankara Yöresinde Bir Sığır Sürüsünde Hemoparazitlerin İnsidensinin Araştırılması. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 37(3): 632-645.

**Çakmak A, Öz İ (1993)** Adana Yöresi Sığırlarında Kan Protozoonlarının Serodiagnosu. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 40(1): 70-77.

**Çetindağ, M (1996)** The important ticks, tick-borne diseases and helminth infections of livestock in Turkey. *Acta Parasitol.*, 20: (2) 293–300.

**De Castro J.J (1997)** Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. *Vet. Parasitol.*, 71: 77–97.

**de la Fuente J, Ayoubi P, Blouin EF, Almazan C, Naranjo V, Kocan KM (2005)** Gene expression profiling of human promyelocytic cells in response to infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Cell. Microbiol.*, 7: 549-559.

**Derdakova M, Halanova M, Stanko M, Stefancikova A, Cislakova L, Pet'ko B (2003)** Molecular Evidence for *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in *Ixodes ricinus* Ticks From Eastern Slovakia. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 10: 269–271.



**Donovan-Myhand J, Hart LT, Liu C, Ohrberg C, Seger C (1984)** A rapid staining procedure for *Anaplasma marginale* in bovine erythrocytes. Am. J. Vet. Res., 45: 2143-2144.

**Dumanlı N, (1987)** Keneler meydana getirdikleri zararlar ve savaş yolları. Elazığ Bölgesi Vet. Hek. Odası Derg., 2(2-3): 22-28.

**Dumanlı N, Özer E, (1987)** Elazığ Yöresinde Sığırlarda Görülen Kan Parazitleri ve Yayılışları Üzerinde Araştırmalar. Selçuk Üniversitesi Vet. Fak. Derg., 3(1): 159-166.

**Dumler JS, Rikihisa Y, Dasch GA, (2005)** Family II. Anaplasmataceae. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 117-125.

**Duzgun A, Schunter CA, Wright IG, Leatch G, Waltisbuhl DJ (1988)** A sensitive ELISA technique for the diagnosis of *Anaplasma marginale* infections. Vet. Parasitol., 29:1-7.

**Eren H, Çakmak A, Yukarı B.A, (1995)** Türkiye'nin Farklı Bölgelerinde *Theileria annulata*'nın Sero-Prevalansı. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 42(1): 57-60, (Ayrı Basım).

**Frisch J.E (1999)** Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. Int. J. Parasitol., 29: 57 – 71.

**Galindo RC, Ayoubi P, Garcia Perez AL, Naranjo V, Kocan KM, Gortazar C, Fuente J (2008)** Differential expression of inflammatory and immune response genes in sheep infected with *Anaplasma phagocytophilum*. Vet. Immunol. Immunopathol., 126: 27-34.

**Ghosh S, Ray D.D, Vanlahmuaka, Das G, Singh N.K, (2008)** Progress in development of vaccine against *Hyalomma anatolicum anatolicum* – Indian scenario. Vaccine, 26: 40 – 47.

**Goff W, Barbet A, Stiller D, Palmer G, D Knowles, Kocan K, Gorha J and McGuire T (1988)** Detection of *Anaplasma marginale* infected tick vectors by using a cloned DNA probe, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85; 919-923.

**Gökçe HA, Genç O, Akça A, Vatansever Z, Unver A, Erdoğan HM, (2008)** Molecular ve Serological Evidence of *Anaplasma phagocytophilum* Infection of Farm Animals in The Black Sea Region of Turkey. Acta Vet. Hung., 56(3): 281-292.

**Göksu K, (1968)** Batı Karadeniz bölgesi İllerinin Sığırlarında Müşahade edilen *Babesidae* (Sporozoa: Piroplasmida) Enfeksiyonları ve Kene Enfestasyonları. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 15 (1): 46-57.

**Göksu K, (1970)** Yurdumuzun Çeşitli Bölgelerinde Sığırlarda Piroplasmida Enfeksiyonları (Piroplasmosis, Babesiosis, Theileriosis) ve Anaplasmosis'in Yayılış Durumları. Türkiye Veteriner Hekimler Derneği Derg., 40(4): 29-39.

**Göksu K, Tüzer E, (1981)** Kenelerin ve neden oldukları hastalıkların önemi. İ. Ü. Vet. Fak. Derg., 7(1): 69-113.

**Granquist EG, Stuen S, Lundgren AM, Braten M, Barbet AF (2008)** Outer membrane protein sequence variation in lambs experimentally infected with *Anaplasma phagocytophilum*. Infect. Immun., 76: 120-126.

**Han S, Norimine J, Palmer GH, Mwangi W, Lahmers KK, Brown WC (2008)** Rapid Deletion of Antigen-Specific CD4 + T Cells following Infection Represents a Strategy of Immune Evasion and Persistence for *Anaplasma marginale*. J. Immunol., 181: 7759-7769.

**Hart LT, Morris NG, Bessin R, LePrince DJ, Todd WJ, Enright FM, Luther DG (1992)** Single-step technique for staining *Anaplasma marginale* in bovine blood smears. Am. J. Vet. Res., 53: 1732-1733.

**Harvey JW, Simpson CF, Gaskin JM (1978)** Cyclic trombocytopenia induced by a rickettsiae-like agent in dogs. J. Infect. Dis., 137: 182-188.

**İnci A, Düzlü Ö, (2009)** Vektörler ve Vektörlerle Bulaşan Hastalıklar. Erciyes Üniversitesi Vet. Fak. Derg., 6 (1): 53.63.

**Jilintai, Seino N, Hayakawa D, Suziki M, Hata H, Kondo S, Matsumoto K, Yokoyama N, Inokuma H, (2009)** Molecular Survey for *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* Infection in Cattle in a Pastureland Where Sika Deer Appear in Hokkaido, Japan. Jpn. J. Infect. Dis., 62:73-75.

**Johnston LAY, Trueman KF, Leatch G, Wilson AJ (1980)** A comparison of direct fluorescent antibody and Giemsa staining for the postmortem diagnosis of anaplasmosis. Aust. Vet. J., 56: 116-118.

**Jones, WE, Kliever IO, Norman BB, Brock WE (1968)** *Anaplasma marginale* infection in young and aged cattle. Am. J. Vet. Res., 29: 535-544.

**Karagenc T, Bilgiç HB, Hoşgör M, Aysul N, Aypak S, Eren H, (2005)** Aydın Yöresi Sığırlarında RLB Tekniği Kullanılarak *Theileria*, *Babesia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* Türlerinin Belirlenmesi. XIV. Ulusal Parazitoloji Kongresi Özet Kitabı, 262-263.

**Kawahara M, Rikihisa Y, Lin Q, Isogai E, Tahara K, Itagaki A, Hiramitsu Y, Tajima T (2006)** Novel Genetic Variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a Novel *Ehrlichia* sp. in Wild Deer and Ticks on Two Major Islands in Japan. Appl. Environ. Microbio., 42(2): 1102-1109.

**Kelly AB, Lowell SK, Herndon DR, Dark MJ, Tibbals DL, Palmer GH, McGuire TC and Knowles DP Jr (2004)** Complete genome sequencing of *Anaplasma marginale* reveals that the surface is skewed to two superfamilies of outer membrane proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102; 844-849.

**Kılıç H, (2008)** Trakya Bölgesi Kırsal Alanlarında Kene Isırığı Öyküsü Olan Kişilerde Erlhiyoz Seropozitifliği, Uzmanlık Tezi.

**Kocan KM, Blouin EF, Barbet AF, (2000)** Anaplasmosis control: past, present, and future Ann. N.Y. Acad. Sci., 916: 501-509.

**Kocan KM, de la Fuente J, Guglielmone AA, Melendez RD (2003)** Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. Clin. Microbiol. Rev., 16(4): 698-712.

**Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF, Garcia-Garcia JC (2004)** *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host-pathogen adaptations of a tick-borne Rickettsia. *Parasitol.*, 129: 285–300.

**Kocan KM, Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF, Ewing SA (2010)** The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet. Parasitol.*, 167: 95–107.

**Kurtpınar, H (1954)** Türkiye keneleri: Morfoloji, biyoloji, konakçı yayılışları ve medikal önemleri. Güven Matbaası, 112s.

**Kuttler KL (1984)** *Anaplasma* infection in wild and domestic ruminants: a review. *J. Wildl. Dis.*, 20(1): 12–20.

**Lincoln SD, Eckblad WP, Magonigle RA (1982)** Bovine anaplasmosis: clinical, hematologic, and serologic manifestations in cows given a long-acting oxytetracycline formulation in the prepatent period. *Am. J. Vet. Res.*, 43(8):1360-1362.

**Melendez RD (2000)** Future perspective on veterinary hemoparasite research in the tropic at the start of this century. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 916: 253–258.

**Molad T, Mazuz ML, Fleiderovitz L, Fish L, Savitsky I, Krigel Y, Leibovitz B, Molloy J, Jongejan F, Shkap V (2006)** Molecular and serological detection of *A. centrale*- and *A. marginale*-infected cattle grazing within an endemic area. *Vet. Microbiol.*, 113: 55–62.

**Montenegro-James S, James MA, Ristic M (1985)** Modified indirect fluorescent antibody test for the serodiagnosis of *Anaplasma marginale* infections in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 46:2401–2403.

**Montenegro-James S, Guillen AT, Ma SJ, Tapang P, Abdel-Gawad A, Tori M, Ristic M (1990)** Use of the dot enzyme-linked immunosorbent assay with isolated *Anaplasma marginale* initial bodies for serodiagnosis of anaplasmosis in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 51:1518–1521.

**Noaman V, Shayan P, (2010)** A new PCR-RFLP method for detection of *Anaplasma marginale* based on 16S rRNA. *Vet. Res. Commun*, 34: 43–50.

**Noaman V, Shayan P, (2010)** Molecular Detection of *Anaplasma bovis* in Cattle from Central Part of Iran. *Vet. Res.*, 1(2):117-122.

**Noh SM, Brayton KA, Brown WC, Norimine J, Munske GR, Davitt CM, Palmer GH (2008)** Composition of the Surface Proteome of *Anaplasma marginale* and Its Role in Protective Immunity Induced by Outer Membrane Immunization. *Infect. Immun.*, 76 (5): 2219–2226

**Noh SM, Zhuang Y, Futse JE, Brown WC, Brayton KA, Palmer GH (2010)** The immunization-induced antibody response to the *Anaplasma marginale* major surface protein 2 and its association with protective immunity. *Vaccine* 28: 3741–3747.

**Ooshiro M, Zakimi S, Matsukawa Y, Katagiri Y, Inokuma H, (2008)** Detection of *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* from cattle on Yonaguni Island, Okinawa, Japan. *Vet. Parasitol.*, 154:360–364.

**Özlem MB, Karaer Z, Turgut K, Eren H, Irmak K, İnci A (1988)** Efficacy of long acting oxytetracycline on bovine anaplasmosis. *A. Ü. Vet Fak Derg*, 35(1):1-5.

**Özkoç Ü, Onar E, (1980)** Yurdumuzun Değişik Yörelere İndirgenen *Theileria annulata* Suşlarının Doku Kültürüne Adaptasyonu ve Üretilmesi. *Doğa Bilim Dergisi.*, Seri D Cilt:4, Sayı: 1, 36-40.

**Palmer GH, Futse JE, Leverich CK, Knowles DP, Rurangirwa FR, Brayton KA (2007)** Selection for Simple Major Surface Protein 2 Variants during *Anaplasma marginale* Transmission to Immunologically Naive Animals. *Infect. Immun.*, 75(3): 1502-1506.

**Pedra JH, Sukumaran B, Carlyon JA, Berliner N, Fikrig E (2005)** Modulation of NB4 promyelocytic leukemic cell machinery by *Anaplasma phagocytophilum*. *Genomics*, 86: 365-377.

**Rajput ZI, Hu SH, Arijo AG, Habib M, Khalid M (2005)** Comparative study of *Anaplasma* parasites in tick carrying buffaloes and cattle. *J. Zhejiang Univ. Sci.*, 6B: 1057–1062.

**Rey Valeiron C, Aso PM, Coronado A, (2003)** Prevalence of *Anaplasma marginale* and specific antibodies in new born calves. *Acta Cient. Venez.*, 54 (2): 121-126.

**Richey EJ, (1999)** Bovine anaplasmosis. College of Veterinary Medicine, University of Florida: ([http://www.vetmed.ufl.edu/lacs/Richey/Anaplasmosis\\_99](http://www.vetmed.ufl.edu/lacs/Richey/Anaplasmosis_99)).

**Richey EJ, Palmer G, (1986)** Anaplasmosis in beef cattle. Florida Cooperative Extension Service: (<http://hammock.ifas.ufl.edu>).

**Ristic M, (1968)** Chapter 23: Anaplasmosis. In: *Infectious Blood Diseases of Man and Animals*, Academic Press, New York, USA, Vol. 11: 473–542.

**Roby TO, Mazzola V (1972)** Elimination of the carrier stage of bovine anaplasmosis with imidocarb. *Am. J. Vet. Res.*, 33: 1931-1933.

**Roby TO, Gates DW, Mott LO (1961)** The comparative susceptibility of calves and adult cattle to bovine anaplasmosis. *Am. J. Vet. Res.*, 22: 982–985.

**Rodriguez SD, Ortiz MAG, Ocampo RJ, Vega CA, (2009)** Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico. *Infect. Genet. Evol.*, 9(6): 1092–1101.

**Rymaszevska A, Grenda S, (2008)** Bacteria of the genus *Anaplasma*- characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. *Vet. Med.*, 53(11): 573–584.

**Samish M, Ginsberg H, Glazer I, (2004)** Biological control of ticks. *Parasitol.*, 129: 389-403.

**Sainz A, Amusatogui I, Tesouro MA (1999)** *Ehrlichia platys* infection and disease in dogs in Spain. J. Vet. Diagn. Invest., 11(4): 382–384.

**Santos CF, Carvalho CB (2006)** First report of *Anaplasma bovis* (Donatien and Lestoquard, 1936) Dumler et al. (2001) at micro region of Campos dos Goytacazes, State of Rio de Janeiro, Brazil. Rev. Brasileira de Parasitol. Vet., 15: 126–127.

**Sevinç F, (2004)** Sığırlarda Anaplasmosis. Erciyes Üniversitesi Vet. Fak. Derg., 1(2): 113-118.

**Sevinç F, Derinbay Ö, (2005)** Bir Sığırcılık İşletmesinde Anaplasmosis Problemi. XIV. Ulusal Parazitoloji Kongresi Özet Kitabı, 133–134.

**Shkap V, Molad T, Fish L, Palmer GH (2002)** Detection of the *Anaplasma centrale* Vaccine Strain and Specific Differentiation from *Anaplasma marginale* in Vaccinated and Infected Cattle. Parasitol. Res., 88(6):546–552.

**Sukumaran B, Carlyon JA, Cai JL, Berliner N, Fikrig E (2005)** Early transcriptional response of human neutrophils to *Anaplasma phagocytophilum* infection. Infect. Immun., 73: 8089-8099.

**Splitter EJ, Twiehaus MJ, Castro ER (1955)** Anaplasmosis in sheep in the United State. J. Am. Vet. Med. Assoc., 127: 244–245.

**Stiller D (1992)** Biotechnology: a new approach to the diagnosis and control of tickborne hemoparasitic diseases. Ann. N.Y. Acad. Sci., 683: 19–25.

**Stuen S, Bergstrom K, Palmer E (2002)** Reduced weight gain due to subclinical *Anaplasma phagocytophilum* (formerly *Ehrlichia phagocytophila*) infection. Exp. Appl. Acarol., 28: 209–215.

**Stuen S, Nevland S, Moum T (2003)** Fatal cases of tick-borne fever (TBF) in sheep caused by several 16S rRNA gene variants of *Anaplasma phagocytophilum*. Ann. N. Y. Acad. Sci., 990: 433–434.

**Tassi P, Carelli G, Ceci L (2002)** Tick-borne diseases (TBDs) of dairy cows in a Mediterranean environment: a clinical, serological, and hematological study. Ann N.Y Acad Sci., 969: 314-317.

**Todorovic RA, Gonzalez EF, Garcia O (1979)** Evaluation of a new long-acting anaplasmosis in colombian cattle. Tropenmed Parasitol., 30(2):236-238.

**Türkiye İstatistik Kurumu.** Hayvancılık İstatistikleri. [http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb\\_id=46&ust\\_id=13](http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13). Erişim Tarihi: 20.01.2010.

**Tüzdil A.N, (1954)** Memleketimiz Sığırlarında *Theileria annulata*'dan (Dschunkowsky ve Luhs, 1904) Husule Gelen Theileriosis. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 1(2): 43-58.

**Waal DTD (2000)** Anaplasmosis control and diagnosis in South Africa. Ann. N.Y. Acad. Sci., 916: 474-483.

**Willadsen P (2004)** Anti – tick vaccines. *Parasitol.*, 129: 367 – 387.

**Vidotto MC, Kano SF, Gregori F, Headley SA, Vidotto O, (2006)** Phylogenetic Analysis of *Anaplasma marginale* Strains from Parana´ State, Brazil, Using the msp1 $\alpha$  and msp4 genes. *J. Vet. Med. B* 53, 404–411

**Woldehiwet Z (2008)** Immune evasion and immunosuppression by *Anaplasma phagocytophilum*, the causative agent of tick-borne fever of ruminants and human granulocytic anaplasmosis. *Vet. J.*, 175: 37-44.

**Woldehiwet Z (2010)** The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. *Vet. Parasitol.*, 167: 108–122.

**Yoshimoto K, Matsuyama Y, Matsuda H, Sakamoto L, Matsumoto K, Yokoyama N, Inokuma H (2010)** Detection of *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* DNA from *Haemaphysalis megaspinosa* in Hokkaido, Japan *Vet. Parasitol.*, 168: 170–172.

**Yu Xue J, Walker DH (2006)** The Order Rickettsiales, *Prokaryotes*, 5: 493–528.

**Zivković Z, Esteves E, Almazán C, Daffre S, Nijhof A.M, Kocan K.M, Jongejan F, de la Fuente J (2010)** Differential expression of genes in salivary glands of male *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in response to infection with *Anaplasma marginale*. *BMC Genomics* 11:186

## TEŞEKKÜR

Bana her türlü desteği sağlayan baŐta annem, eŐim ve ailem olmak üzere doktora tezimin çalıŐmalarında ve hazırlanmasında bana her türlü imkanı veren danışman hocam Prof. Dr. Hasan EREN ile Anabilim Dalı Öğretim Üyesi olan hocam Doç. Dr. Tülin KARAGENÇ'e teşekkür ederim. Bunun yanında doktora çalıŐmalarım esnasında gerek laboratuvar çalışmaları gerekse materyal sağlamada bana her türlü yardımı esirgemeyen Dr. Serkan BAKIRCI, Dr. Hüseyin Bilgin BİLGİÇ, Vet. Hek. Hakan SARALI ve Gülcan PEKEL, Yrd. Doç. Dr. Nuran AYSUL SELEK ile diğer tüm iŐ arkadaşlarıma ve Karpuzlu İlçe Tarım Müdürü Sayın Nuri KAPLAN'a desteklerinden ve gösterdikleri hoŐgörüden dolayı çok teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında İzmir ilinin Bayraklı ilçesinde doğdum. İlk ve orta okul eğitimimi Erzurum'da, lise eğitimimi ise İzmir'de tamamladım. 1998 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne girdim ve 2003 yılında mezun oldum. 2004 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na doktora eğitimime başladım. 2006 yılında Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Karpuzlu Tarım İlçe Müdürlüğü'nde (AYDIN) Veteriner Hekim olarak göreve başladım. Yabancı dilim İngilizcedir. Evliyim.



## EKLER

Çizelge 1. Odaklardan toplanan kan örneklerinin odaklara ve aylara göre dağılımı,

ODAK	Hayvan Kodu	Nevi	AYLAR			
			Haziran 2006	Eylül 2006	Aralık 2006	Mart 2007
OSMANBÜKÜ	EH01	8 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH02	5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH03	8 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH04	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH05	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH06	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH07	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH08	7 aylık ♀ holştein	+	+	+	-
	EH09	1 aylık ♀ holştein	+	+	+	-
	EH10	1 aylık ♀ holştein	+	+	+	-
	EH11	4 aylık ♀ holştein	+	+	+	-
	EH12	4 aylık ♀ holştein	+	+	+	-
	EH22	9 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH23	2 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH24	20 aylık ♀ holştein	+	+	+	+
	EH25	2 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH26	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH27	1,5 yaşlı ♀ montofon	-	-	+	+
	EH28	1,5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH29	8 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH30	4 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH31	5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH32	6 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH33	4 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH34	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH35	16 aylık ♀ holştein	+	+	+	-
	EH36	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH37	16 aylık ♀ holştein	+	+	+	-
	EH38	10 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH39	4 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	EH40	9 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+

*Devam*

Çizelge 1. Odaklardan toplanan kan örneklerinin odaklara ve aylara göre dağılımı (*Devam*),

ODAK	Hayvan Kodu	Nevi	AYLAR			
			Haziran 2006	Eylül 2006	Aralık 2006	Mart 2007
OSMANBÜKÜ	EH41	9 aylık ♀ holştein	+	-	+	-
	EH42	17 aylık ♀ holştein	+	+	+	+
	EH43	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH44	5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH45	6 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH46	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH47	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH48	6 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH49	7 aylık ♀ holştein	+	+	+	+
	EH50	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH51	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH52	6 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH53	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH54	3 yaşlı ♀ holştein	+	-	+	-
	EH55	10 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	EH56	9 yaşlı ♀ holştein	-	-	+	-
	EH57	4 yaşlı ♀ holştein	-	+	+	-
	EH58	4 yaşlı ♀ holştein	-	+	+	+
	EH59	4 yaşlı ♀ holştein	-	+	+	+
	EH60	4 yaşlı ♀ holştein	-	+	+	-
	EH61	4 yaşlı ♀ holştein	-	+	+	-
	EH62	3 aylık ♀ holştein	-	-	+	-
	EH63	2 aylık ♀ holştein	-	-	+	+
	EH64	19 aylık ♀ holştein	-	-	+	+
	EH65	7 aylık ♀ holştein	-	-	+	+
	EH66	4,5 aylık ♀ holştein	-	-	+	+
	EH67	2 aylık ♀ holştein	-	-	-	+

*Devam*

Çizelge 1. Odaklardan toplanan kan örneklerinin odaklara ve aylara göre dağılımı (Devam),

ODAK	Hayvan Kodu	Nevi	AYLAR			
			Haziran 2006	Eylül 2006	Aralık 2006	Mart 2007
DALAMA	DK01	4 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	-
	DK02	6yaşlı ♀ holştein	+	-	-	-
	DK03	12 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	-
	DK04	1,5 aylık ♀ holştein	+	+	-	-
	DK05	2 aylık ♀ holştein	+	+	-	-
	DK06	1 aylık ♀ holştein	+	+	-	-
	DK07	14 aylık ♀ holştein	+	+	-	-
	DK08	4 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	+
	DK09	2 yaşlı ♀ montofon	+	+	+	-
	DK10	5 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	-
	DK11	2 aylık ♀ holştein	+	+	-	-
	DK12	4 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	+
	DK13	3,5 yaşlı ♀ montofon	+	+	-	-
	DK14	10 günlük ♀ montofon	+	+	-	-
	DK15	4 yaşlı ♀ montofon	+	+	-	+
	DK16	3 aylık ♀ montofon	+	+	-	+
	DK17	5 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	+
	DK18	2 yaşlı ♀ montofon	+	+	+	+
	DK19	5 yaşlı ♀ montofon	+	+	+	-
	DK20	1,5 aylık ♀ montofon	+	+	-	-
	DK21	8 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	-
	DK22	6 yaşlı ♀ montofon	+	+	-	-
	DK23	14 aylık ♀ montofon	+	+	-	-
	DK24	2 yaşlı ♀ montofon	+	+	+	+
	DK25	1,5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK26	2.5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK27	5,5 yaşlı ♀ montofon	+	+	-	-
	DK28	3 aylık ♀ montofon	+	+	-	-
	DK29	1 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK30	1.5 yaşlı ♀ montofon	+	+	-	-
	DK31	6 aylık ♀ montofon	+	+	+	+
	DK32	4 yaşlı ♀ montofon	+	+	+	+

Devam

Çizelge 1. Odaklardan toplanan kan örneklerinin odaklara ve aylara göre dağılımı (Devam),

ODAK	Hayvan Kodu	Nevi	AYLAR			
			Haziran 2006	Eylül 2006	Aralık 2006	Mart 2007
DALAMA	DK33	5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK34	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK35	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK36	6 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK37	4 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK38	4 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK39	7 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK40	4 aylık ♀ holştein	+	+	+	-
	DK41	1 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	DK42	2 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK43	12 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	DK44	4 aylık ♀ holştein	+	+	+	+
	DK45	1,5 yaşlı ♀ holştein	+	-	-	-
	DK46	1,5 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	-
	DK47	2 yaşlı ♀ holştein	+	-	-	-
	DK48	1,5 yaşlı ♀ holştein	+	-	+	-
	DK51	3 yaşlı ♀ montofon	-	-	-	-
	DK52	2 yaşlı ♀ montofon	-	-	-	-
	DK53	2 yaşlı ♀ montofon	-	+	-	-
	DK54	4 aylık ♀ montofon	-	+	+	-
	DK55	5 yaşlı ♀ holştein	-	-	+	-
	DK57	5 yaşlı ♀ holştein	-	+	+	-
	DK58	6 aylık ♀ holştein	-	+	+	+
	DK59	1 yaşlı ♀ holştein	-	-	-	-
	DK60	1 yaşlı ♀ holştein	-	-	-	+
	DK61	1 yaşlı ♀ holştein	-	-	-	+
	DK62	1 yaşlı ♀ montofon	-	-	-	+

Devam

Çizelge 1. Odaklardan toplanan kan örneklerinin odaklara ve aylara göre dağılımı (*Devam*),

ODAK	Hayvan Kodu	Nevi	AYLAR			
			Haziran 2006	Eylül 2006	Aralık 2006	Mart 2007
SÖKE	A401	3 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A402	4 aylık ♀ holstein	+	+	-	-
	A403	1 yaşlı ♀ simental m.	+	+	-	-
	A404	2 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A405	4 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A406	8 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A407	4 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A408	5 aylık ♀ holstein	+	+	-	-
	A409	6 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A410	3 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A411	7 yaşlı ♀ holstein	+	-	-	-
	A412	3 yaşlı ♀ holstein	+	-	-	-
	A413	10 yaşlı ♀ holstein	+	-	-	-
	A414	2 yaşlı ♀ holstein	+	-	-	-
	A415	2 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A416	2 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A417	7 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A418	7 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A419	3 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A420	3 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A421	6 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A422	14 aylık ♀ holstein	+	+	-	+
	A423	9 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A424	3 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	-
	A425	2 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	-
	A426	5 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A427	10 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	-
	A428	11 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A429	3 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A430	5 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	-
	A431	4 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A432	4 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+

*Devam*

Çizelge 1. Odaklardan toplanan kan örneklerinin odaklara ve aylara göre dağılımı (Devam),

ODAK	Hayvan Kodu	Nevi	AYLAR			
			Haziran 2006	Eylül 2006	Aralık 2006	Mart 2007
SÖKE	A433	10 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A434	8 aylık ♀ holstein	+	+	+	-
	A435	3 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A436	6 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A437	4 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A438	4 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A439	6 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	+
	A440	4 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	-
	A441	8 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	-
	A442	4 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	-
	A443	8 yaşlı ♀ holstein	+	+	+	-
	A444	10 aylık ♀ holstein	+	+	-	-
	A445	3 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A446	3 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A447	8 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A448	4 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A449	7 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A450	4 aylık ♀ holstein	+	+	-	-
	A451	3 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A452	3,5 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A453	9 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A454	2 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A455	4 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A456	10,5 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A457	7 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A458	2 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A459	3 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A460	11 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A461	6 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A462	7 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A463	4 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A464	5 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	+

Devam

Çizelge 1. Odaklardan toplanan kan örneklerinin odaklara ve aylara göre dağılımı (*Devam*),

ODAK	Hayvan Kodu	Nevi	AYLAR			
			Haziran 2006	Eylül 2006	Aralık 2006	Mart 2007
SÖKE	A465	4 yaşlı ♀ holstein	-	+	-	-
	A466	4 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	-
	A467	14 aylık ♀ holstein	-	-	-	+
	A468	5 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	+
	A469	7 yaşlı ♀ simental	-	-	-	+
	A470	1 aylık ♀ simental	-	-	-	+
	A471	2,5 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	+
	A472	13 aylık ♀ holstein	-	-	-	+
	A473	4 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	+
	A474	5 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	+
	A475	1 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	+
	A476	14 aylık ♀ holstein	-	-	-	+
	A477	2,5 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	+
	A478	3,5 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	+
	A479	5 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	+
	A480	4 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	+
	A482	8 yaşlı ♀ holstein	-	-	-	-

*Devam*

Çizelge 1. Odaklardan toplanan kan örneklerinin odaklara ve aylara göre dağılımı (Devam),

ODAK	Hayvan Kodu	Nevi	AYLAR			
			Haziran 2006	Eylül 2006	Aralık 2006	Mart 2007
AKÇAOVA	A201	14 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	A202	6 yaşlı ♀ montofon	+	+	+	+
	A203	5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	A204	4 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	+
	A205	9 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	-
	A206	13 yaşlı ♀ yerli kara	+	+	+	+
	A207	10 yaşlı ♀ yerli kara	+	+	-	+
	A208	4 aylık ♂ holştein	+	+	+	-
	A209	7 aylık ♂ holştein	+	+	-	-
	A210	3 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A211	16 aylık ♀ simental	+	+	+	-
	A212	2 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	A213	5 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	+
	A227	6 yaşlı ♀ montofon	+	+	+	+
	A228	5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	A229	8 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	+
	A230	5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	+
	A231	3 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	+
	A232	1,5 yaşlı ♀ holştein	+	+	+	-
	A233	7 yaşlı ♀ montofon	+	+	+	-
	A234	3 aylık ♀ holştein	+	+	+	+
	A235	5 aylık ♀ yerli kara	+	+	+	+
	A236	6 yaşlı ♀ holstein	+	+	-	-
	A237	13 yaşlı ♀ yerli kara	+	+	+	-
	A238	10 yaşlı ♀ yerli kara	+	+	-	-
	A239	5 yaşlı ♀ yerli kara	+	+	+	-
	A240	4 yaşlı ♀ yerli kara	+	+	+	-
	A241	3 yaşlı ♀ yerli kara	+	+	+	-
	A242	8 yaşlı ♀ montofon	+	+	-	+
	A243	4 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	+
A244	4 yaşlı ♀ montofon	+	+	+	+	
A245	2 yaşlı ♀ montofon	+	+	-	-	

Devam



Çizelge 1. Odaklardan toplanan kan örneklerinin odaklara ve aylara göre dağılımı (Devam),

ODAK	Hayvan Kodu	Nevi	AYLAR			
			Haziran 2006	Eylül 2006	Aralık 2006	Mart 2007
AKÇAOVA	A246	2 yaşlı ♀ montofon	+	+	-	-
	A247	2 yaşlı ♀ holştein	+	+	-	-
	A249	5 yaşlı ♀ yerli kara	-	-	-	-
	A250	4 yaşlı ♀ montofon	-	+	-	+
	A251	5 yaşlı ♀ yerli kara	-	+	+	+
	A252	4,5 yaşlı ♀ yerli kara	-	+	-	+
	A253	5 yaşlı ♀ holşteinxmo	-	+	+	+
	A254	9 yaşlı ♀ yerli kara	-	+	-	+
	A255	3 yaşlı ♀ holştein	-	+	+	+
	A256	7 yaşlı ♀ holştein	-	+	-	-
	A257	8 yaşlı ♀ holştein	-	+	+	+
	A258	3 yaşlı ♀ holştein	-	-	+	+
	A259	3 yaşlı ♀ holştein	-	-	+	+

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları

ODAK	AYLAR																
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007				
	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	
<b>Osmanbükü</b>																	
EH1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH4	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH5	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
EH6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH13	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
EH14	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
EH15	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
EH16	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
EH17	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
EH18	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
EH19	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
EH20	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
EH21	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
EH22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH24	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Devam

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.
Osmanbükü																
EH27	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	-	-
EH28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH41	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH45	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
EH46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
EH50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Devam

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.
Osmanbükü																
EH54	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok
EH55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	-	-	-
EH56	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok
EH57	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH58	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	-	-	-
EH59	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EH60	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok
EH61	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH62	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
EH63	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	-	-	-
EH64	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	-	-
EH65	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	-	-
EH66	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	-	-
EH67	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-

Devam

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.
Dalama																
DK1	-	-	-	-	-	-	-	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK2	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK3	-	-	-	-	-	+	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK4	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK5	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK6	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK7	-	+	+	+	-	+	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK8	-	-	-	-	-	+	-	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	+	-	+
DK9	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
DK10	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK11	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK12	-	+	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	+	-	+
DK13	-	-	-	-	-	+	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK14	-	-	-	-	+	+	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK15	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	+
DK16	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
DK17	-	-	-	-	-	+	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	-	+	-	-
DK18	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
DK19	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	Yok	Yok	Yok	Yok
DK20	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK21	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK22	-	-	+	+	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK23	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DK25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
DK26	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
DK27	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok

Devam

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.
Dalama																
DK28	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK29	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
DK30	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK31	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
DK32	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
DK33	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
DK34	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+
DK35	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+
DK36	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
DK37	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+
DK38	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+
DK39	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
DK40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
DK41	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
DK42	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
DK43	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+
DK44	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DK45	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK46	+	-	+	-	+	+	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK47	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK48	+	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	+	-	-	+	Yok	Yok	Yok	Yok
DK49	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK50	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK51	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK52	Yok	Yok	Yok	Yok	+	-	-	+	-	-	-	+	Yok	Yok	Yok	Yok
DK53	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	+	Yok	Yok	Yok	Yok
DK54	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok

Devam

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
	<i>Anap. cent.</i>	<i>Anap marg.</i>	<i>Anap bovis</i>	<i>Anap phago.</i>	<i>Anap. cent.</i>	<i>Anap marg.</i>	<i>Anap bovis</i>	<i>Anap phago.</i>	<i>Anap. cent.</i>	<i>Anap marg.</i>	<i>Anap bovis</i>	<i>Anap phago.</i>	<i>Anap. cent.</i>	<i>Anap marg.</i>	<i>Anap bovis</i>	<i>Anap phago.</i>
Dalama																
DK55	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
DK56	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
DK57	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	+	+	-	+
DK58	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
DK59	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
DK60	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
DK61	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
DK62	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-

Devam

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
Söke	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.
A401	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A402	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A403	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A404	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A405	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A406	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A407	-	-	-	-	+	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A408	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A409	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A410	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A411	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A412	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A413	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A414	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A415	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
A416	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A417	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
A418	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
A419	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
A420	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
A421	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
A422	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
A423	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
A424	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
A425	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
A426	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
A427	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok

Devam



Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
Söke	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.
A428	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
A429	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A430	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Yok	Yok	Yok	Yok
A431	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
A432	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
A433	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
A434	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A435	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
A436	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A437	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
A438	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
A439	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
A440	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A441	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A442	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A443	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A444	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A445	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A446	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A447	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A448	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A449	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A450	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A451	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A452	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A453	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A454	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok

Devam

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
Söke	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.
A455	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A456	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A457	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A458	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A459	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A460	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A461	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A462	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A463	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A464	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
A465	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
A466	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	+	+
A467	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
A468	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A469	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A470	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
A471	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A472	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A473	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A474	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
A475	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
A476	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-
A477	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A478	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A479	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A480	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A481	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A482	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+

Devam

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.
Akçaova																
A201	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
A202	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
A203	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A204	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	+
A205	-	-	-	-	+	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A206	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
A207	-	+	+	+	-	+	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	+	+	+
A208	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
A209	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A210	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A211	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
A212	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
A213	-	-	+	+	+	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A214	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A215	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
A216	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
A217	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A218	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
A219	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok
A220	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A221	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
A222	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
A223	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A224	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A225	-	-	-	-	Yok	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A226	+	-	-	-	-	-	+	-	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A227	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Devam

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.	Anap. cent.	Anap marg.	Anap bovis	Anap phago.
Akçaova																
A228	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
A229	-	-	-	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A230	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
A231	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A232	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A233	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A234	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A235	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
A236	+	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A237	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A238	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A239	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A240	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A241	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok
A242	-	-	+	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A243	-	-	+	-	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A244	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
A245	-	-	-	+	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A246	-	-	-	-	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A247	-	-	+	-	+	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A248	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A249	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A250	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
A251	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A252	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
A253	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+
A254	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+

Devam

Çizelge 2. Odaklardan toplanan örneklerin türlere göre PZR sonuçları (Devamı),

ODAK	AYLAR															
	HAZİRAN 2006				EYLÜL 2006				ARALIK 2006				MART 2007			
	<i>Anap. cent.</i>	<i>Anap marg.</i>	<i>Anap bovis</i>	<i>Anap phago.</i>	<i>Anap. cent.</i>	<i>Anap marg.</i>	<i>Anap bovis</i>	<i>Anap phago.</i>	<i>Anap. cent.</i>	<i>Anap marg.</i>	<i>Anap bovis</i>	<i>Anap phago.</i>	<i>Anap. cent.</i>	<i>Anap marg.</i>	<i>Anap bovis</i>	<i>Anap phago.</i>
Akçaova	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
A255	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
A256	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	-	+
A257	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	-	-	-	-	+	+
A258	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	-	+
A259	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	-	-	+	+	-	-	-	+