

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Şaban GÜRCAN

**TRAKYA BÖLGESİ KIRSAL ALANLARINDA
KENE ISIRIĞI ÖYKÜSÜ OLAN KİŞİLERDE
ERLİHYOZ SEROPOZİTİFLİĞİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Haluk KILIÇ

EDİRNE-2008

TEŞEKKÜR

YetiŐmemdeki katkılarından dolayı, Trakya Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD Başkanı Prof. Dr. H. Murat TUĐRUL'a, değerli katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Şaban GÜRSCAN'a, Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Doç. Dr. Nermin ŐAKRU'ya, Doç. Dr. NeŐe AKIŐ'a, Halk Sağlığı AD Öğretim Üyesi Doç. Dr. Muzaffer ESKİOCAK'a, saha çalışması süresince bana yardımcı olan sayın Günay DEDEOĞLU-KILINÇ, Yrd. Doç. Dr. Hakan KUNDURACILAR'a, başta Aytiben AKSOY ve Hasan DEDELER olmak üzere yardımlarını esirgemeyen bütün çalışma arkadaşlarıma; en içten duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
KENELER VE KENE KAYNAKLI BAKTERİYEL HASTALIKLAR.....	3
ERLİHYOZLAR.....	5
KLİNİK TABLOLAR.....	10
PATOGENEZ.....	14
TANI.....	15
TEDAVİ	17
KENELERDEN KORUNMA	18
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	19
BULGULAR	24
TARTIŞMA.....	29
SONUÇLAR.....	35
ÖZET	36
SUMMARY	37
KAYNAKLAR	38
EKLER	

KISALTMALAR

HGA : Human Granulocytic Anaplasmosis (İnsan Granülositik Anaplazmozu)

HGE : Human Granulocytic Ehrlichiosis (İnsan Granülositik Erlihyozu)

HME : Human Monocytic Ehrlichiosis (İnsan Monositik Erlihyozu)

IFA : Indirect Immune Fluorescence Assay (İndirekt İmmün Floresan Antikor Yöntemi)

PCR : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

GİRİŞ VE AMAÇ

Erlhiya grubundaki mikroorganizmalar kene kaynaklı zoonozlar olup, zorunlu intrasellüler bakterilerdir ve lökositlere tropizm gösterirler (1,2). Sebep oldukları enfeksiyon hastalıkları erlihyozlar olarak isimlendirilir.

Erlhiyoz etkenleri, kenelerle hayvanlar arasındaki döngüde yer alırlar. Memelilerin, doğadaki bu bakterilerin idamesi ve yaşam döngüsünde büyük rolü vardır. Erlhiyozların asıl rezervuarları memelilerdir (1-3). Hayvan kesim işiyle uğraşan kasaplarda kene ısırığı olmadan direkt inokülasyon yolu ile de hastalık bildirilmiştir (1,4).

Ehrlichia canis ile enfeksiyon ilk 1935'de Cezayir'de köpeklerde gösterilmiştir ve uzun yıllar hayvan patojeni olarak tanımlanmıştır (5). 1986'da *E. canis* ile ilk insan vakası bildirilmiştir. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda bunun *E. canis* olmadığı ancak ona benzeyen *E. chaffeensis* olduğu anlaşılmıştır (6). Bu tür insan monositik erlihyoz (HME) etkenidir (2). 1986 yılına kadar insanlarda enfeksiyöz mononükleoz benzeri sendroma (sennetsu ateşi) yol açan *E. sennetsu*, insanlarda hastalık oluşturan tek erlihyoz etkeni olarak düşünülmüştü (5). Yapılan filogenetik çalışmalar ile ismi değiştirilmiş ve *Neorickettsia sennetsu* denmiştir (7,8). 1994 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de sadece granüositlere tropizm gösteren insan granüositik erlihyozu (HGE) ilk kez tanımlanmış ve Avrupa'da da olduğu gösterilmiştir (2-4). HGE'ye sebep olan ajanlar *E. equi* ve *E. phagocytophila*, yakın ilişkili olarak bulunmuş ve *Anaplasma* cinsi içinde *Anaplasma phagocytophilum* olarak isimlendirilmiştir (9). Hastalık da tekrar isimlendirilerek insan granüositik anaplasmoz (HGA) olarak değiştirilmiştir. 1999'da ABD'de köpek granüositik

erlihyoz etkeni *E. ewingii*'nin immün yetmezlikli insanlarda da erlihyoz yaptığı gösterilmiştir (2,3,10).

ABD'nin güney-orta, güneydoğu ve orta-Atlantik kıyılarındaki bölgelerinden insidansı eyaletlere göre değişmekle birlikte 1986'dan 2007'ye 2396 HME vakası bildirilmiştir (11).

ABD'nin kuzeydoğu, orta-Atlantik, üst-orta batı ve kuzeybatısı *A. phagocytophilum* için endemik bölgelerdir. 1994'den 2008'e kadar 4137 HGA olgusu bildirilmiştir (12). New York'taki kene ile ısırılmış değişik popülasyonlardaki kişilerde *A. phagocytophilum* seroprevalansı %8.9-36 arasında bulunmuştur (13).

Avrupa ve Asya (Çin, Sibirya, Kore) *A. phagocytophilum* için endemik bölgelerdir (11). Avrupa'da seroprevalans oranı %0-28 arasındadır (14).

Ülkemizde yapılan seroprevalans çalışmasında Ongut ve ark. (15) Antalya'da kene ile ısırılmış 201 kişinin 16'sında (%8) *A. phagocytophilum*'a karşı antikorları pozitif bulmuştur.

Kırsal kesimde yaşayan bireyler kene ısırığına maruz kalır. Bu popülasyonda erlihyoz saptanması Avrupa'da %28'e kadar varabilmekte hatta ABD'de bu rakam %36'lara çıkmaktadır. Ülkemizin büyük kesiminin kırsal alanlarda yaşadığı düşünülürse ülkemizde nasıl bir erlihyoz potansiyel tehlike riski bulunduğu açıkça anlaşılmaktadır. Erlihyozlarda, grip gibi hafif enfeksiyon tablolarından ölüme kadar varabilen ağır tablolar izlenmektedir. Etkenlerin saptanmasındaki ve enfeksiyonun kontrol edilmesindeki zorluklar sorunu ciddileştirmektedir. Ülkelerin bölgelerindeki erlihyoz dağılımını bilmeleri, ulusal kontrol önleme stratejilerini belirlemek ve prevalansı izlemek için önemlidir. Bu çalışmayla Trakya Bölgesi'nin kırsal alanlarında yaşayan, kene ile ısırılmış insanlarda erlihyoz seropozitifliğini serolojik yöntemlerle ortaya çıkarmayı amaçladık. Ayrıca bu çalışmayla, ülkemizdeki olguların yakalanmasında kullanılan tanı ve ayırıcı tanı yöntemlerinin verimliliği ve tetkiklerin yaygınlaştırılmasının gerekliliği anlaşılabacaktır.

GENEL BİLGİLER

KENELER VE KENE KAYNAKLI BAKYERİYEL HASTALIKLAR

Keneler, insanlar için vektör olarak sivrisineklerden sonra ikinci sırada gelir ve coğrafi dağılım gösterip kene kaynaklı hastalıklar için risk bölgeleri oluştururlar. Hastalıklar, patojenler için vektör veya rezervuar oldukları durumda ortaya çıkar. 1982 yılında *Borrelia burgdorferi*'nin Lyme etkeni olduğunun belirlenmesinden sonra 2001 yılına kadar dünyada 8'i *Rickettsia*, 3'ü *Ehrlichia* ve 4'ü *B. burgdorferi*'nin alt türü olan toplam 15 kene kaynaklı bakteriyel patojen tanımlanmıştır (10). 2005'e gelindiğinde kene kaynaklı *Rickettsia* sayısı 11'e çıkmıştır (16).

Keneler kan emen canlılar olup, tüm omurgalılar için parazittirler. Yaklaşık olarak 879 tür ve alt türü bildirilmiştir. Dört büyük kene ailesi vardır. Bunlar, *Ixodidae* (sert kene), *Argasidae* (yumuşak kene), *Laelaptidae* ve Güney Afrika'da *Nuttallellidae*'dir (17).

Sert ve yumuşak keneler anatomik yapı ve yaşam döngüleri bakımından farklılıklar gösterirler. Sert kenelerin ağız kısımları üstten bakılınca görülür, sklerozan sırt yapıları vardır, cinsiyet ayırımı belirgindir. Yumuşak kenelerde ise bükülebilir kitin tabakası vücuda homojen dağılmıştır, ağız kısımları üstten bakılınca görülmez ve koksal organları vardır. Sert kenelerin ısırıkları ağrısız olup, konak tarafından uzun süre fark edilmezler. Yaşamlarının her evresinde bir kez, yavaş olarak, pek çok farklı tür omurgalıdan beslenirler ve açık alanlarda bulunurlar. Mevsimsel olarak konak aralar. Yumuşak keneler ise daha sık olarak beslenir, genellikle de aynı türden birçok konağı kullanırlar. Konaklarının yakınına sığınır, evlerin içi ve mağaraları tercih ederler. Kenelerin, larva, nimf ve erişkin olmak üzere yaşamlarında üç evre vardır (10).

Ondokuzuncu yüzyılın sonlarında kenelerde ilk mikroorganizma soyutlanmıştır. Smith ve Kilbourne protozoon *Babesia bigemina*'yı *Boophilus annulatus* türü sert kenede göstermişlerdir. 1910 yılında Conor ve Bruch, Akdeniz benekli ateşini tanımlamış ve 1930 yılında hastalığın bulaşmasında *Rhipicephalus* türü sert kenelerin rolü bildirilmiştir. 1929'da Francis tarafından tularemi epidemiyolojisi ve kenelerin rolü gösterilmiştir. İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra hayvanlar ve insanlardaki viral, protozal ve bakteriyel kene kaynaklı hastalıklar tanımlanmıştır. *B. burgdorferi* etkenli Lyme hastalığının tanımlanmasından sonra da *Rickettsia* ve *Ehrlichia* türleri kene kaynaklı patojenler olarak tanınmıştır (10).

Keneler, *Arachnida* sınıfının en geniş alt gurubu olan akarlar alt gurubu içindedirler. Aralarındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek için; mitokondriyal ya da nükleer rDNA gen sekans analizi yapılmaktadır. Ancak bu çalışmalar tüm türler için yetersiz olup ek gen çalışmaları lazımdır.

Kene geçişli hastalıklar; keneleri, insanları, vahşi ya da evcil hayvanları kapsayan, doğada bulunan zoonozlardır. Bu hastalıklar için bir veya birden fazla kene vektörü ve bir veya birden fazla rezervuarı bulunur. Rezervuar konakların enfektivitesi, kene enfestasyon hızı, konak yoğunluğu, kene geçişli hastalıklar için major değişkenlerdir. Bunlar çevresel koşullar, konağın bakteriye karşı direnci, kenelerin ve konağın mevsimsel aktivitesi, biyolojik ve ekolojik faktörlerden etkilenir (10).

Keneler birden fazla mikroorganizma ile enfekte olabilir. Bu durum, kenelerin etkenleri aktardığı canlılarda atipik kliniklere neden olabilir. Lyme hastalığında olduğu gibi aynı kene türünden geçen *A. phagocytophilum* ve diğer ajanların (*B. burgdorferi*, *Babesia sp.*, ensefalit virüsü) koenfeksiyonu ABD ve Avrupa'da yayınlanmıştır (2,4,10,18).

Bakterilerin insanlara geçişi kenelerin beslenme sırasındaki enfekte tükrük salgıları (benekli ateş grubu riketsiyoz, döneke ateş grubu borrelyoz, tularemi, erlihyoz, Q ateşi ve Lyme borrelyoz), dışkıları (Q ateşi, tularemi) veya yumuşak kenelerde koksal sıvı ile (döneke ateş grubu borrelyoz) olmaktadır. Kenelerin parmaklarla ezilmesini takiben cildin ve gözün kontaminasyonu gibi indirekt (Q ateşi ve tularemi etkenleri, *Brucella* türleri, *Salmonella* türleri, *Yersinia* türleri) bulaşma da olasıdır (10).

Keneler sadece vektör değildir. Aynı zamanda tularemi, döneke ateş ve benekli ateş etkenleri için rezervuardır. Kenelerin rezervuar olduğu bakterilerin kenelerde geçişi yaşam evrelerinin birinden diğerine larvadan, nimfe ve erişkine (transstadyal) ve aynı zamanda bir nesilden diğerine yumurtaları yoluyla (transovaryal) olur (10,19). Ancak erlihyoz etkenlerinde transovaryal geçiş gösterilmemiştir.

ERLİHYOZLAR

Epidemioloji

Ehrlichia ve *Anaplasma* türleri kene ısırmasından sonra bulaşır. *Neorickettsia* türleri ise en sık enfekte balıkların yenmesi yoluyla hayvan ve insanlara bulaşır (20). Ruminantların anaplazmoz etkeni *A. marginale* kenelerden başka kan emen böcekler tarafından da bulaştırılır (21). *A. marginale* için enfekte eritrositlerin kazara inokülasyonu gibi bulaşmanın diğer bir şekli bildirilmiştir. Kuşlar ve amfibiyanlara *Aegyptianella* cinsinin üyelerini bulaştırmada keneler önemlidir (22).

İnsan erlihyozunun kene vektörleri sert kenelerdir. *Ixodes*, *Amblyomma*, *Hyalomma*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* ve *Boophilus* grubu keneler enfekte tükrük salgıları ile etkeni bulaştırırlar. Yapılan çalışmalar (10); enfekte kenenin yaşamının her evresine etkeni taşıdığını, (Avrupa koyun kenesi *Ixodes ricinus* için transovaryal geçiş olabilir) yumurtaları yolu ile sonraki nesillere aktaramadığını göstermiştir. Transovaryal geçişin olmaması nedeni ile keneler erlihyoz için sadece vektördür, rezervuar değildir (1,2,10).

İnsanlar erlihyalar için rastlantısal son konaktır ve dikkatsizlik sonucu enfekte olurlar (4). Kene kaynaklı erlihyaların doğada devamını sürdürmeleri çevrede uygun kene vektörlerinin ve memeli konakların varlığına bağlıdır (23).

ABD’de *E. chaffeensis*’in doğal rezervuarları beyaz kuyruklu geyik (*Odocoileus virginianus*) ve evcil köpeklerdir (24). ABD’de beyaz ayaklı fareler (*Peromyscus leucopus*), çizgili sincap (*Tamias striatus*) ve tarla fareleri (*Clethrionomys gapperi*) gibi küçük memeliler doğal olarak enfekte olurlar ve *I. scapularis*’in olgunlaşmamış evreleri için konaktır (23,25). Hayvan rezervuarların uzamış enfeksiyonları etkenlerin doğadaki devamı için gereklidir. Avrupa’da kırmızı geyikler, koyunlar, sığırlar ve keçiler persistan olarak enfekte olurlar ve *A. phagocytophilum*’un rezervuarı olarak hizmet ederler (14). Avrupa’da HGA etkeni *I. ricinus* kenelerinde saptanmıştır ve pek çok ülkede büyük memelilere ilaveten küçük orman kemiricilerinin de doğal rezervuar olduğu kanıtlanmıştır (2,4).

Çiğ balık tüketiminin sennetsu ateşiyle ilişkili olduğu gösterilmesine rağmen *N. sennetsu* için rezervuar bilinmemektedir. Potomac at ateşi etkeni olan *N. risticii*’nin enfekte serkaryaları taşıyan böceklerin kazara yenilmesiyle atlara bulaştığı görülür (26). Benzer olarak *N. helminthoeca* trematodla enfeste balıkların yenmesi yoluyla köpekleri enfekte eder (27).

Erlhiyoz mevsimsel bir hastalık olup insidansı kene aktivitesi ile ilişkilidir. HGA ve HME ile ilgili vakalar Mart-Kasım ayları arasında bildirilmesine rağmen; özellikle Mayıs-Ağustos ayları vakaların pik yaptığı aylardır (1,2,18).

Avrupa’da Erlihya

HGA’nın Avrupada seroprevalansı %0-28 arasındadır. Oranlar giderek artmaktadır. İlk kez 1994’de ABD’de tanımlanan HGA, 1995’de İsviçre’de serolojik olarak gösterilmiştir. İngiltere, Norveç, İtalya, İsveç, Almanya, Danimarka, Estonya, Çek Cumhuriyeti, Bulgaristan, Slovenya, İspanya, Avusturya, Hollanda, Polonya, Belçika, Yunanistan’da da HGA serolojik olarak gösterilmiştir. Kanıtlanmış ilk vaka 1997’de Slovenya’da olmuştur. 1997’den 2003’e kadar 65 vaka çeşitli Avrupa ülkelerinden bildirilmiştir. Slovenya, İsveç, Hollanda, İspanya, Çek Cumhuriyeti, Norveç, Hırvatistan ve İtalya bu ülkelerdendir. HGA Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile ilk kez 2001’de Slovenya’da, daha sonra 2002’de Çek Cumhuriyeti’nde gösterilmiştir. 1999’da Hollanda’da yeni bir erlihya türü *I. ricinus* kenelerinde tespit edilmiştir. İtalya’nın kuzeyinde farklı bir erlihya türünün varlığı da ortaya çıkarılmış ve bu tür için *Candidatus Ehrlichia walkerii* ismi önerilmiştir (14).

İnsan granülositik anaplazmoz, İngiltere ve Norveç’te koyunlarda gösterilmiş, bazı fare türlerinin doğal rezervuar oldukları belirlenmiştir. Kuzey İspanya’da karacalarda serolojik yöntemlerle, Slovenya’da kırmızı geyiklerde serolojik ve moleküler yöntemlerle gösterilmiştir. Yine Avusturya ve Çek Cumhuriyeti’nde karacalarda PCR ile gösterilmiştir. Bu çalışmalarda karacalardan ve insanlardan elde edilen HGA gen sekansların fazla derecede yakın olduklarına dikkat çekilmektedir (14).

I. ricinus türü keneler HGA’nın Avrupa’daki vektörüdür. İsveç, İtalya, Fransa, Almanya, İngiltere, Slovenya, Hollanda, Norveç, Rusyanın Avrupa parçası, İspanya, Bulgaristan, Polonya, Avusturya, Çek Cumhuriyeti ve Litvanya’dan yayınlarda HGA etkeninin *I. ricinus* türü kenelerde olduğu gösterilmiştir. Nimflere göre erişkin kenelerde HGA etkeni daha çok oranda bulunmuştur (14). Rusya’nın Baltık ve Perm Bölgesi’nde ve Kuzeydoğu Çin’de *I. persulcatus* türü sert kenelerde de etken gösterilmiştir (28,29).

Türkiye’de Erlihya

Ülkemizde yapılan seroprevalans çalışmasında Ongut ve ark. (15) Antalya’da kene ile ısırılmış 201 kişinin 16’sında (%8) *A. phagocytophilum*’a karşı antikorları pozitif bulmuştur. Şen (30) İstanbul Üniversitesi Arboretumu’ndan toplanmış 196 *I. ricinus* kenesinde PCR ile

A. phagocytophilum'u (%3 oranında) göstermiştir. 2003'de Christova ve ark. (31) Akdeniz (Antalya), İç Anadolu (Kayseri) ve Doğu Anadolu (Malatya) bölgelerinden toplanan *Hyalomma*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* ve *Boophilus* türü sert kenelerde PCR ve reverse line blotting (RLB) hibridizasyon yöntemleri ile erlihyoz etkenlerini göstermişlerdir. Ege Bölgesi'nde yapılan çalışma sonucunda, Nested-PCR ile 371 köpeğin 154'ünde (%41,5) *E. canis*, 146'sında (%39,4) *A. platys*, 193'ünde (%52) *A. phagocytophilum* bulunmuştur (32).

Karadeniz'de yapılan bir çalışmada; 720 koyunun İndirekt immün floresan antikor yöntemi (IFA) ile 107'sinde, nested-PCR ile 22'sinde ve 720 ineğin IFA ile 110'unda, nested PCR ile 73'ünde *A. phagocytophilum* enfeksiyonu tespit edilmiştir (33). Rodriguez ve ark. (34) yayınlarında Batmaz ve arkadaşlarının 2001'de köpeklerde *E. canis* antikorlarını serolojik olarak %21 oranında gösterdiğini belirtmektedirler.

Ülkemizdeki hayvanlardaki kenelerle bulaşan *Ehrlichia* ve *Anaplasma* türlerinin son durumu Arslan (35) tarafından derlenmiş ve bölgelere göre görülme oranları verilmiştir. Bu bilgilere göre Marmara bölgesinde, sığırlarda *A. marginale* %0.4, *A. centrale* %0.8, köpeklerde *E. canis* %14.0 oranında bildirilmiştir. Ege bölgesinde, köpeklerde *E. canis* %40.6 oranında saptanmıştır. Akdeniz bölgesinde, köpeklerde *E. canis* %11.1-65.4 oranında gözlenmiştir. Karadeniz bölgesindeki sığır ve koyunlarda *A. marginale* %7.4 oranında belirlenmiştir. *A. phagocytophilum* sığırlarda %10.1-15.3 ve koyunlarda %9.9-13.6 oranında görülmüştür. İç Anadolu bölgesinde ruminantlarda *A. marginale* %3.2 oranında bildirilmiştir. Güneydoğu Anadolu bölgesinde ruminantlarda *E. canis* %7.4 oranında tespit edilmiştir (35).

Afyon yöresinde bir sığırcılık işletmesinde sığırlarda competitive enzyme-linked immunosorbent assay (cELISA) testi ile incelenen 506 serum örneğinin 312 (%61,66)'si *A. marginale*'ye spesifik antikorlar yönünden pozitif bulunmuştur (21).

Yine Aydın yöresinden toplanan 422 adet sığır kanı, reverse line blotting (RLB) testi ile değerlendirilmiştir. *A. centrale* (%13.3), *A. marginale* (%6.6), *Ehrlichia* spp. (%1.66) oranında belirlenmiştir (36).

Morfolojik Özellikler ve Taksonomi

Erlihya grubundaki mikroorganizmalar, zorunlu intrasellüler, küçük (0.5µm x 2µm), pleomorfik (5,37) daha çok kok şeklinde, zayıf gram negatif boyanan, hareketsiz bakterilerdir (1,2). Romanovsky boyası ile koyu mavi-mor boyanır, giemsa ve wright boyaları ile de boyanabilirler (4,10). Pili ve kapsülleri yoktur (38).

Ehrlichia türlerinin tüm üyeleri, proteobacteria filumunun alfa bölümünde *Anaplasmataceae* ailesi içinde yer alırlar. *Anaplasmataceae* ailesi, *Rickettsiaceae* ailesi ile birlikte *Rickettsiales* takımı içindedir (10,37,39). *Anaplasmataceae* ailesinde: *Aegyptianella* cinsi; *A. pullorum*, *Anaplasma* cinsi; *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *A. marginale*, *Ehrlichia* cinsi; *E. ruminantium*, *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris*, *Neorickettsia* cinsi; *N. risticii*, *N. sennetsu*, *N. helminthocea*, *Neoehrlichia* cinsi ve tam olarak sınıflandırılmayan *Anaplasmataceae* üyeleri bulunur (40).

Taksonomik sınıflamada büyük oranda groESL operonları ve 16S rRNA genlerinin sekans incelemeleri temel alınmıştır (7). Daha sonra sitrat sentaz (gltA), RNA polimerazın β altbirimi (rpoB), FtsZ protein (ftsZ) ve RNA genlerinin sekans incelemeleriyle taksonomik sınıflanma desteklenmiştir (41-44).

Bu bakterilerin sonraki ve önceki isim değişiklikleri Tablo 1’de (45) gösterilmiştir. *Anaplasmataceae* ailesinin kene kaynaklı bakterileri *Ehrlichia* ve *Anaplasma* diye iki cins olarak gruplandırılmıştır. Önceden *E. equi* ve *E. phagocytophila* diye adlandırılan iki tür *A. phagocytophilum* olarak *Anaplasma* cinsi içinde tek tür olarak birleştirilmiştir (9). Sonrasında *A. phagocytophilum*’un genetik varyantları ABD’de ve Avrupa’daki kene ve memelilerde bildirilmiştir (46,47). Yakın zamanda yapılan çalışmalarda Kuzey İtalya’da asemptomatik kişilerden çıkarılan *I. ricinus* kenelerinde *E. ruminantium* ile yakın ilişkili yeni bir ajan bulunmuş ve bu ajan için “*Candidatus Ehrlichia walkerii*” ismi önerilmiştir (48).

Ehrlichia türleri insan ve memelilerin lökositlerini, *Anaplasma* türleri farklı hayvan konaklarında kemik iliği kaynaklı tüm hücreleri, *Neorickettsia* türleri baskın olarak mononükleer fagositleri ve genellikle memeli konaklardaki enterositleri enfekte ederler. *A. marginale* ruminantların, *Aegyptianella spp.* kuşlar, amfibiyenler veya sürüngenlerin eritrositlerini enfekte ederler (49).

Ehrlichia ve *Anaplasma* türleri granülosit, monosit, eritrosit ve trombositler dahil kemik iliği kaynaklı hücrelerde membran kökenli vakuoller içinde yerleşip ikiye bölünerek çoğalırken, *E. ruminantium* ilaveten endotelial hücrelerde de çoğalır. Ciddi enfeksiyonlarda tüm eritrositler nonhemopoetik hücreleri de enfekte edebilir (1-3).

Eritrositler hücre içinde inklüzyonlar (morula) yaparlar. Büyük dağınık şekilde (0.8-1.5 μ m) olabildiği gibi, küçük (0.2-0.4 μ m) yoğun şekilde iki farklı morula şekli tanımlanmıştır (50). *N. sennetsu* için ışık mikroskopunda hücre içi inklüzyon belirlenemeyebilir. Hücre içi bu patojenler enfekte ettiği hücreyi eritip diğer sağlam hücreleri enfekte ederler (51).

Tablo 1. Anaplasmataceae ailesi üyeleri eski ve yeni isimleri, yaptığı hastalıklar, enfekte ettiği hücreler, hastalandırıldığı ve rezervuar konakları (45)

Organizma adı	Önceki adı	Yaptığı hastalık	Hastalandırıldığı konaklar	Enfekte hücre	Rezervuar konaklar
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Ehrlichia equi</i> <i>Ehrlichia phagocytophila</i>	EGE HGA	At İnsan, köpek	Granülosit	Geyik, koyun Beyaz ayaklı fare
<i>A. marginale</i> , <i>A. centrale</i> , <i>A. ovis</i> , <i>A. platys</i>	<i>Ehrlichia platys</i>	Ruminanat anaplazmoz Köpek siklik trombopenisi	Koyun, keçi Köpek	Eritrosit Trombosit	Geviş getirenler
<i>Anaplasma bovis</i>	<i>Ehrlichia bovis</i>	İnek erlihyozu	İnek	Mononükleer lökosit	Geviş getirenler? Tavşan?
<i>Ehrlichia chaffensis</i>		HME	İnsan, köpek	Mononükleer lökosit	Beyaz kuyruklu geyik Evcil köpekler
<i>Ehrlichia ewingii</i>		CGE, Ewingii Erlihyozu	Köpek, İnsan	Granülosit	
<i>Ehrlichia canis</i>		CME	Köpek, İnsan?	Mononükleer lökosit	
<i>Ehrlichia ruminantium</i>	<i>Cowdria ruminantium</i>	Kovdriyoz (heartwater)	Geviş getirenler	Granülosit Endotel	Geviş getirenler
<i>Ehrlichia muris</i>		İsimlendirilmemiş	Laboratuvar fareleri	Mononükleer lökosit	bilinmiyor
<i>Neorickettsia sennetsu</i>	<i>Ehrlichia sennetsu</i>	Sennetsu ateşi	İnsan	Mononükleer lökosit	Enfeste balık
<i>Neorickettsia risticii</i>	<i>Ehrlichia risticii</i>	Potomac at ateşi	At	Mononükleer lökosit	Enfekte böcekler
<i>Neorickettsia helminthoeca</i>		Som balığı zehirlenmesi hastalığı	Köpek, ayı	Mononükleer lökosit	Enfeste balık
<i>Aegyptianella spp.</i>		Bilinmiyor	Kuşlar, Amfibiyenlerin	Eritrosit	Bilinmiyor

CGE: Köpek granülositik erlihyozu, **CME:** Köpek monositik erlihyozu, **EGE:** At granülositik erlihyozu, **HGE:** İnsan graülositik erlihyozu, **HME:** İnsan monositik erlihyozu.

Elektron mikroskopu ile *Ehrlichia* ve *Anaplasma* türlerinin iki lamelli olduğu ve hücre duvarında büyük miktarda peptidoglikan içermediği görülmüştür (12).

A. marginale ve *E. ruminantium*, *E. chaffeensis*, *E. canis* ve *A. phagocytophilum*'un tam genomik sekansı çıkarılmıştır. Erlihyalarda lipopolisakkarit, peptidoglikan, glutamat biyosentezi ve glikoliz ile ilgili genlerin çoğu yoktur. Primer karbon kaynakları glutamindir (12). Krebs döngüsünün tüm enzimleri mevcuttur. Muhtemelen ATP sentaz kompleksine ve aerobik solunum zincirinin diğer enzimlerine sahip oldukları için ATP sentezi gerçekleştirirler. Tip II-IV sekresyon sistemi genleri diğer α -proteobakterilerdeki gibi vardır ve bunlar virulansla ilgilidir (12,52).

KLİNİK TABLOLAR

İnsan Hastalıkları

İnsan monositik erlihyozu: HME için kene ısırığı ve kene maruziyeti hastalardaki ortak bulgudur. Hastalığın kuluçka süresi 1-2 hafta olup ortalama 9 gündür ve her üç hastanın ikisi erkektir. En sık 50 yaş üzeri erişkin hastalarda görülür. Medyan yaş 44'tür (53,54). HME ateşli bir hastalıktır. Hastalarda genellikle spesifik muayene bulguları olmaksızın tipik olarak ateş (%97), baş ağrısı (%81), halsizlik (%84) ve kas ağrısı (%40-60) olur. Ayrıca lenfadenomegali, hepatomegali, splenomegali, farenjit, daha az sıklıkla konjonktivit, dizüri ve periferik ödem görülür. Gastrointestinal tutulumla ilgili bulantı, kusma ve ishal, solunum sistemi tutulumu belirtileri öksürük veya pulmoner infiltratlar ve eklem ağrıları nadirdir. Merkezi sinir sistemi tutulumu ense sertliği, bilinç bulanıklığı ve menenjit tanımlanmıştır (55). Hastaların üçde birinde döküntü görülür (4), sıklığı çocuklarda daha fazladır ve çocuk olguların %67'sinden daha fazlasında görülür (56). Döküntü şekilleri özellik, dağılım ve görünüşleri itibarıyla değişkendir. Döküntüler peteşiyal, maküler, makülopapüler ve eritematöz olabilir (57). Nonspesifik klinik belirti ve bulgulara rağmen laboratuvar bulguları hastaların en az %86'sında anormaldir. Lenfopeni ve nötropeniyle birlikte olan lökopeni (%60-74), trombositopeni (%70-90) ve artmış serum aspartat transaminaz aktiviteleri (%80-90) görülür. Çoklu organ yetmezliği ile seyreden toksik şok benzeri sendrom, meningoensefalit, renal yetmezlik, erişkin respiratuvar distress sendromu ile ilişkili diffüz alveoler hasar ve insan immün yetmezlik virusu (HIV) tarafından oluşturulan, yüksek doz kortikosteroid veya organ nakli ile meydana gelen immün düşüklüğü olan hastalarda fulminan enfeksiyonlar ciddi komplikasyonlardır (58-62). Etkin antimikrobiyal tedavi

verilmezse olgu ölüm oranı yaklaşık %2-3'ten yüksek olur. Ölüm en sık olarak erkeklerde, yaşlı hastalarda, immün düşkün olanlarda ve güçten düşürücü hastalığı olanlarda, gecikmiş tanı ve tedavi alanlarda tanımlanmıştır. Vakaların yarısından çoğunda hastaneye yatış gerekmektedir (3).

Amerika Birleşik Devletleri'nde Teksas'da ulusal referans laboratuvarında serolojik olarak 1997-1998 arasında toplam 486 olguya tanı konulmuştur (3). 1.300'den fazla HME'li olgu hastalık önleme ve kontrol merkezi (CDC) tarafından 1999-2004 arasında belirlenmiştir (63). Yapılan çalışmalar ABD'de hastalığın riketsiyoz kadar sık veya daha fazla olduğunu göstermektedir (18,55). Üç yıllık prospektif bir çalışmada 100.000 kişide 2 ila 4.7 arasında bir insidans gösterilmiştir (64). Olguların çoğu ABD'nin güney, orta ve güneydoğusunda belirlenmiştir, ancak orta Atlantik bölgesinde de artan bir şekilde enfeksiyonlar bildirilmektedir.

Kene ısırığı olanların prospektif olarak değerlendirilmesi sonucu, *E. chaffeensis*'e karşı antikor serokonversiyonu gelişenlerin yaklaşık %75'inin subklinik olduğu görülmüştür (53). Yapılan bildirimler *E. chaffeensis*'in veya yakın ilişkili mikroorganizmaların Latin Amerika, Afrika, Avrupa ve Asya'da da bulunduğunu göstermektedir (65-69). Çin'in farklı bölgelerinden farklı kene türlerinde *E. chaffeensis* nükleotit sekansları PCR ile gösterilmiştir (70).

İnsan granülositik anaplazmoz: HGA enfeksiyonunun gerçek insidans ve prevalansı bilinmemekle birlikte, kuzeybatı Wisconsin'de 1990-1995 boyunca pasif olgu toplama yoluyla yapılan çalışmada yıllık 100.000 kişide 16 olguluk insidans oranı olduğu gösterilmiştir (71). Ülke genelinde 1999 ve 2004 yılları arasında 2000'den fazla olgu bildirilmiştir (63). Yıllık en yüksek insidans oranları kuzeydoğu ve ortabatı eyaletlerindedir. Bazı Avrupa ve Asya ülkeleri gibi birçok diğer ülkelerden de enfekte olgular bildirilmiştir (4,18,72-79).

Klinik olarak HGA, HME den ayrılamayabilir. HGA'nın ortalama kuluçka süresi kenelerinin ısırmasından sonraki 5 ila 11 gündür ve en çok 43-60 yaşlarındaki hastalarda görülür (71,80). Hastalık erkeklerde kadınların iki katı kadar fazladır (81). 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. Oysa HME'li hastaların 1/3'ünde döküntü görülür. Yine HGA'da adenomegali

görülme oranları daha düşüktür. 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 (81,82). Semptomları olan hastaların yarısında hastaneye yatış gerekmektedir (2). HGA'nın ciddi komplikasyonları çoklu organ yetmezliği ile birlikte toksik şok benzeri bir hastalık, erişkin respiratuvar distres sendromu ve fırsatçı enfeksiyonlardır (71,82-84). HGA'lı hastalarda menenjit bildirilmemiştir. Vertigo, fasiyal paralizi, periferik nöropati, pankardit, dissemine intravasküler koagülasyon, perikardiyal effüzyon ve tamponat görülebilen komplikasyonlardır. Ölüm oranı %1 kadardır. Avrupa'da bildirilmemiştir. En az altı ölüm HGA ile ilişkilendirilmiştir; bu hastaların en az üçünün kandida ösafajiti, kriptokok pnömonisi, invaziv pulmoner aspergilloz ve herpes ösafajiti gibi fırsatçı enfeksiyonlara sahip olduğu belirlenmiştir (71,83,84). HGA enfeksiyonu kendini sınırlar, tedavi ile 1-2 günde geçebilir, tedavisiz 60 gün kadar sürebilir. Kronik formu görülmez (1).

Ewingii erlihyozu: *E. ewingii* ile insan hastalıklarının ilişkisi ilk kez 1999 yılında Missouri'de HME'den ayırt edilemeyen klinik ve rutin laboratuvar bulguları bulunan hastaların kanlarında DNA'sının saptanmasıyla gösterilmiştir (85). Esas vektörü *A. americanum*'dur. *Dermacentor variabilis* kenelerinde *E. ewingii*'nin bulunduğu da bildirilmiştir (86,87). Beyaz kuyruklu geyikler bu bakterinin rezervuarıdır ve son epidemiyolojik çalışmalar köpeklerin de hastalıkta rol oynayabileceğini göstermektedir (24,87). Serolojik olarak *E. chaffeensis*'e benzer ancak *A. phagocytophilum* gibi granülositlerde çoğalır (11). Ewingii erlihyozunun HIV'li hastalar dahil çoğunlukla immün yetmezlikli hastaları etkilediği görülür (2,3,10). Ancak HIV ile koenfekte hastalarda ölümün bir nedeni olarak bildirilmemiştir. Klinik olarak HGA ve HME den ayıramayabilir. Köpeklerde *E. ewingii* köpek granülositotropik erlihyozundan sorumludur.

Sennetsu erlihyozu (Neoriketsiyoz): *E. sennetsu* ilk kez 1953'te izole edilmiştir. 1986 yılına kadar insanlarda hastalık oluşturan tek erlihyoz etkeni olarak düşünülüyordu (5). Yapılan filogenetik çalışmalar ile ismi değiştirilmiş ve *N. sennetsu* denmiştir (8).

Hastalık nadir görülür, hastalarda titreme, baş ağrısı, halsizlik, boğaz ağrısı, iştahsızlık ve yaygın lenfadenopati ile birlikte kendini sınırlayan ateşli bir hastalığa neden olur. Olgular Japonya'da ve Malezya'da tanımlanmıştır. Laboratuvar bulguları erken dönemde lökopeni,

erken iyileşme dönemi boyunca periferik kanda atipik lenfositöz ve serum transaminazlarında yükselmedir (88). Ölüm veya ciddi komplikasyonlar bildirilmemiştir.

Diğer insan erlihyozları: 1996'da Venezuela'dan periferik kan monositleri içinde morulaya sahip olan asemptomatik bir hastanın kanından *E. canis* benzeri bir ajan izole edilmiştir. Venezuela insan erlihya ajanının 16S rRNA genlerinin *E. canis* kökenleriyle karşılaştırılması bir veya iki baz farklılığının olduğunu göstermiştir. Asemptomatik insan enfeksiyonları ile bire bir ilişkili olan yeni bir HME dizisi ya da *E. canis*'in subtipi olduğu düşünülmüştür (89).

Hayvan Hastalıkları

Ehrlichia, *Anaplasma* ve ilişkili cinslerin üyeleri insan patojeni olarak tanımlanmadan önce veterinerlik patojenleri olarak bilinmekteydiler. Veteriner mikrobiyologlar tarafından bu alandaki çalışmalar insanlarda neden oldukları hastalıkların anlaşılmasında ve tanınmasında büyük bir katkı sağlamıştır.

Köpek erlihyozu: *E. canis* ve *E. chaffeensis* tarafından oluşturulan köpek monositik erlihyozu, *E. ewingii* tarafından oluşturulan granülositik erlihyoz, *A. phagocytophilum* tarafından oluşturulan granülositik anaplazmoz ve *A. platys* tarafından oluşturulan köpek siklik trombopenisi dahil Tablo 1'de gösterildiği gibi bazı ajanlar köpeklerde enfeksiyonlara neden olurlar (90-92). Sombalığı zehirlenmesi hastalığı, köpeklerin *N. helminthoeca*'yı barındıran sombalığı benzeri balıkları yemesinden sonra ortaya çıkan bir hastalık olup, mononükleer hücreleri enfekte eder (91).

At erlihyozu: At granülositik erlihyozu ilk kez 1969'da tanımlanmıştır. hastalık ABD ve Avrupa'nın diğer bölgelerinde görülmesine karşın esas olarak Kuzey California'nın dağlık kesimlerinde görülür (93). İnsanlardaki HGA'ya benzer şekilde atlarda kendini sınırlayan bir hastalığa neden olur (94) ve vektörü *I. pacificus* keneleridir. Potomac at ateşi etkeni *N. risticii* olup atlarda ateş ve kolit ile seyreden bir hastalık yapar. Monositleri enfekte eder (95). Enfekte serkaryaları taşıyan böceklerin kazara yenilmesiyle atlara bulaştığı görülür (26,96).

Ruminantların anaplazmoz: Dünyada sığırlarda görülen kene kaynaklı en yaygın hastalıktır (97). *A. marginale* etyolojik ajanıdır. Isıran sinekler ve böcekler aracılığı ile de

bulaşma meydana gelebilir. Organizmalar eritrositleri enfekte eder ve ciddi anemi, kilo kaybı, düşük ve bazen ölüme neden olabilir. Bu enfeksiyon klinik iyileşmeden sonra bile persistan düşük düzeyde bakteriyemi yapabildiğinden enfekte hayvanlar diğer hayvanlara bulaşmada bir rezervuar haline gelir.

Kuşların ve amfibiyaların *Aegyptianella* enfeksiyonları: *Aegyptianella pullorum* kuşların, *A. bacterifera* amfibiyaların enfeksiyonlarıyla ilişkilidir. *Aegyptianella* türleri eritrositleri enfekte eder. Afrika'da miğferli afrika tavuğunu enfekte eden *A. botuliformis*'in enfekte *Amblyomma* cinsi kenelerin ısırması yoluyla bulaştığı görülür (22). Gen sekansları temel alındığında *Anaplasma spp.* ile en yakın ilişkili olan *A. pullorum*'dur.

Heartwater (Kovdriyoz): *E. ruminantium* evcil ve vahşi ruminantların nötrofil ve endotelial hücrelerini enfekte eder. *Amblyomma* türü kene vektörleriyle bulaşır. Hastalık ruminantlarda yüksek oranda ölüme neden olur. Sıklıkla Sahra-altı Afrika'da ve Atlantik ve Hint Okyanusları'nın ve Karayib Denizi'nin adalarında görülür (98).

PATOGENEZ

İnsan Granülositik Anaplazmozu

Patogeneze ilgili yeterli bilgi yoktur. Daha çok kemik iliğindeki myeloid prekürsörleri etkiler (18). Deriden giren mikroorganizma kan ve lenfatikler ile yayılır ve nötrofillerin %1-2'sini enfekte eder. Nötrofillere bağlanma fukolize P-selektin gikoprotein ligand-1'e olur (8). Bu olgun nötrofillerde ve indifransiyel HL-60 hücrelerinde bol olmasına karşın makrofajlarda yoktur. Bu nedenle mikroorganizma makrofajlara bağlanamaz (38).

Hücre içinde morula denilen inklüzyon benzeri yapıda çoğalır. Endotel gibi farklı hücrelerde de görülebilir. Nötrofil aderens, emigrasyon ve öldürme gücünü azaltır. Antikor üretimini azaltır. Lenfosit mitogenezini azaltır. Ancak bunları nasıl yaptığı tam olarak bilinmemektedir. Sonuçta konak savunması baskılanır, fırsatçı viral ve fungal enfeksiyonlar oluşur (18).

İnsan Monositik Erlihyozu

Deriden giren mikroorganizma kan yolu ile yayılır. Monosit ve makrofajlara bağlanma dış membran proteinleri ile olabilir (18). Bağlanma sonrası protein kinaz A aktivasyonu sonucu

monosit-makrofaj aktivasyonu bozulur, böylece konak stoplazmasında yaşama şansı bulur. Hastalardaki sitopeni nedeni; kemik iliği depresyonundan ziyade, sekestrasyon, tüketim ve yıkımdır. Enfekte monosit azdır bu nedenle lizis lökopeni nedeni olarak önemsizdir (38). Karaciğer, lenfnodu, kemikiliği, dalak, akciğer, böbrek ve beyin omurilik sıvısındaki makrofajlar etkilenir. Organlarda; perivasküler lenfohistiyositik infiltrasyon, karaciğer, lenfnodu, kemik iliğinde hemofagositoz, İnterstisyel pnömoni, pulmoner hemoraji, lenfnodu, dalak ve karaciğerde fokal nekroz görülür. En sık kemik iliği bulgusu, kemik iliğinde granülomdur. Tüm bunların organizmaya karşı makrofaj reaksiyon göstergeleri olduğu düşünülür (18).

Erlhiyozlardaki hematolojik değişiklikler ve klinik bulgular; muhtemelen sitokin salınımına bağlıdır. Çünkü kan ve dokularda etken mikroorganizma çok az sayıda bulunur (38). Erlhiyozda bağışıklık ve iyileşmeyi sağlayan mekanizma T-hücre aracılıklı immünite ve INF γ sekresyonudur (18,99).

TANI

Ateş, lökopeni, trombositopeni ve serum transaminazlarında yükselme ile gelen ve hikayesinde kene ısırığı bulunan olgularda epidemiyolojik faktörlerde göz önüne alınarak kene ile bulaşan hastalıklar ve erlihyoz düşünülmelidir (38).

Periferik Yayma

Periferik kan, kemik iliği ve BOS'ta lökositlerdeki morula formunun görüntülenmesi karakteristiktir (38). Fakat bu inklüzyonlar nadir saptanmaktadır. Hastaların %60'ında ilk hafta akut ateşli dönem içinde nötrofillerde morula görülebilir (1,37). Spesifikliği yüksektir ancak duyarlı değildir. Deneyim gerektirir. Dohle cisimleri ve toksik granülasyon yanlış pozitif olarak değerlendirmelere neden olabilir (4,37).

İndirekt İmmün Floresan Antikor Yöntemi

Günümüzde tanı için en sık kullanılan ve en duyarlı yöntem, enfekte hücrelerden elde edilen antijen kullanılarak yapılan IFA yöntemidir (38). Tanı için akut dönem ve konvelesan dönem serum örneklerinde antikor titreleri arasında en az 4 kat artış gösterilmeli veya en az 1/80 titrede antikor saptanmalıdır (1,2).

Bu yöntem, *E. canis* enfeksiyonlarında altın standarttır. İn vitro üretilen standart *E. canis* ve *E. chaffeensis* kökenleri antijen olarak kullanılır. Mikroorganizma ile şu an veya geçmişte

karşılaştığını gösterir. HGA için $\geq 1/80$ antikor pozitifliği anlamlıdır (18). HME için $\geq 1/64$ titrede pozitiflik veya her ikisi için IgG'de serokonversiyon anlamlıdır (3,18,37). Ancak hastalığın akut fazında antikor saptanmaz (3,18). İmmün yetmezlikte serokonversiyon olmayabilir. HGA, *E. canis*, *E. ruminantum* ve diğer türler arasında çapraz reaksiyon görülebilir bu nedenle türlerin ayırımı yapılamaz ve yalancı pozitiflikler söz konusu olabilir (3,4).

Artan özgüllük anlayışından dolayı immüno blot işlemleri artan bir şekilde popüler hale gelmektedir (100-102). Biyopsi/otopsi örneklerinde antijenin immün boyanması ile etkenin varlığının gösterilmesi bir diğer yöntemdir (38). Western blot (immüno blot) ve ELISA da tanıda kullanılır (18,38)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR 1-2 gün içerisinde hızlı sonuç veren (37) oldukça duyarlı ve özgül bir yöntemdir (38). Enfeksiyöz ajanı doğrudan tespit eder. Özellikle akut fazda IFA'dan daha duyarlıdır (18). Türleri ayırabilir (4). Ancak IFA pozitif, PCR negatif vakalar teşhisi dışlamaz. HGA için (ge2, ge9f, ge10r) primerleri kullanılır (4,39). 16S rRNA geni sınıflandırmada altın standarttır (38). Real-Time PCR, Nested PCR; standart PCR'dan daha duyarlıdır. Sitrat geni (gltA) son zamanlarda kullanılmaktadır. Dış membran proteinleri PCR'ın hedefidir (39). PCR için periferik kan ya da kemik iliği tercih edilir. Buffy coatta (18) DNA izolasyon şansı artar. Kan tercihen EDTA'lı olmalıdır (3,39).

Kültürde İzolasyon

Klinik örneklerde kültür en güvenilir yöntemdir (38). Birçok enfekte hastada periferik kanda organizmaların daha yüksek miktarlarda bulunmasından dolayı *E. chaffeensis*, *E. canis* ve *N. sennetsu* başarıyla üretilmiştir (80). Vakaların %40'ında inkübasyon dönemi ve ilk semptomlardan bağımsız pozitifdir (4). Ancak zaman alıcı olduğu için pratik tanıda değeri yoktur (5). *E. ewingii* için başarılamamıştır (38).

HGA Avrupa ve Asya'da tanımlanmasına rağmen ABD dışında herhangi bir yerde henüz *A. phagocytophilum*'un insan izolatları bildirilmemiştir. Ancak Avrupa'da birkaç hayvan kökeni üretilmiştir (103,104). İzolasyon en iyi insan promiyelositik hücre dizisi HL-60'ta başarılmıştır ve erlihya periferik kan yaymasında saptanmadığında da başarılı olmuştur (105). Eritrositler HL-60 hücrelerinde ters etki yaratmadığından EDTA'lı antikoagülan kanın doğrudan inokülasyonu etkindir.

Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (CDC) Olgu Sınıflaması (38)

Olası erlihyoz :

- 1- Kliniği uyumlu hasta (kene ısırığı olan veya kene ile karşılaşmış, ateşli hastalığı olan).
- 2- Akut veya konvelesan dönemde tek pozitif IFA titresi $\geq 1/80$.
- 3- Pozitif PCR veya kan örneğinde intrastoplazmik morula varlığı.

İnsan granülositik anaplazmoz ve insan monositik erlihyoz için doğrulanmış erlihyoz:

- 1- Kliniği uyumlu hasta
- 2- 2-4 hafta ara ile alınmış çift serum örneğinde IFA titresinde 4 kat artış.
- 3- DNA varlığının PCR ile kanda doğrulanması veya lökositler içinde morulanın gösterilmesi veya biyopsi/otopsi örneklerinde antijenin immünolojik boyalar ile gösterilmesi veya klinik örneklerde kültür pozitifliği.

Diğer insan erlihyozları için doğrulanmış erlihyoz:

- 1- 2-4 hafta ara ile alınmış çift serum örneğinde IFA titresinde 4 kat artış.
- 2- Birden çok türe karşı gelişen ancak hakim reaksiyonun belirlenemediği *A. phagocytophilia* ve *E. chaffeensis* hariç türlerin PCR, immünolojik boya veya kültür ile gösterilmesi.

TEDAVİ

Hastalarda doğrulamayı beklemeden ampirik tedaviye başlanmalıdır (4). *Ehrlichia* veya *Anaplasma* türleri için rutin antimikrobiyal duyarlılık testi gereksizdir. Bu bakteriler keneler ve memeli konakları arasında varlığını devam ettirirler bu nedenle antimikrobiyal direnç çok olası değildir. İn vitro çalışmalarla tetrasiklik antibiyotikler değişmez bir şekilde *Ehrlichia* ve *Anaplasma* türleri için bakterisidaldir (106-108). Tetrasiklin veya doksisisiklin tercih edilmelidir. Doksisisiklin ile HME veya HGA'lı çoğu hasta tedavinin 48 saati içinde afebril hale gelir ve klinik iyileşme gerçekleşir (53,71). Günde 200 mg doksisisiklin için önerilen süre 7-10 gün veya iyileşme sonrası 3-5 gündür (2,10). Ateş tedavinin ikinci veya üçüncü gününde düşmüyor ise ilaç direnci veya koenfeksiyon akla gelmelidir. HGA, β laktam ve makrolitlere yanıtızsızdır (4,18,109). Doksisisiklin direnci varsa rifampin ve kinolonlar denenmelidir (1,2,4). Ancak *E. chaffeensis* için kinolon direnci gösterilmiştir (2).

Rifamisinler (rifampin ve rifabutin) *Ehrlichia* ve *Anaplasma* türlerini in vitro öldürme veya inhibe etme etkisine sahiptir (106). Rifampin hamilelik esnasında HGA'yı tedavi etmek

için başarıyla kullanılmıştır ve tetrasiklin alamayacak hastalar için yararlı bir alternatiftir (110).

Ehrlichia ve *Anaplasma* türleriyle persistan enfeksiyonlar tetrasiklinle tedaviden sonra bile enfekte hayvanlarda meydana gelebilirken, insanlarda erlihya persistansı nadiren bildirilmiştir (111-113). Tedavi enfekte insanların kanlarından erlihyaları elimine etmekte oldukça etkindir.

KENELERDEN KORUNMA

Kene popülasyonunu azaltmak veya kontrol etmek zordur. Otların kesilmesi, yakılması, yabani otlarla mücadele edilmesi, ıslak alanların kurutulması kene kontrol yöntemleri olmakla beraber; etkileri kısa süreli olup ciddi ekolojik hasara neden olabilir. Kişisel korunma daha önemlidir. Gür ot bulunan yerlerden uzak durulmalı, böyle yerlerde uzun giysiler giyilmeli ve kene kaçırganlar kullanılmalıdır. Çevresel etkiler düşünölüp, bölgeye özgü böcek kontrol yöntemleri uygulanmalıdır (1,4,10).

Şayet kene ısırımış ise deriye en yakın kısmından pens ile hafifçe oynatıp çıkarılmalı ve en yakın sağlık kuruluşuna başvurulmalıdır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

ARAŞTIRMANIN YERİ

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.

EVREN VE ÖRNEKLEM

Trakya Bölgesi (Edirne, Kırklareli, Tekirdağ illerinin kırsal alanı). Bölge 2000 yılı nüfus sayımı verilerine göre toplam 564 560 kişiden oluşmaktadır. Nüfusun %38'i Tekirdağ, %37'si Edirne ve %25'i Kırklareli illerindedir. Örneklem grubu, tularemi seroprevalans çalışması (114) için 30 köyden toplanmış 1782 ve ek olarak kene ısırığının sık olduğu 3 köyden toplanmış 76 serum örneği içinden sırasıyla 98 ve 18 kene ısırığı öyküsü olan toplam 116 kişiden oluşmaktadır.

ARAŞTIRMANIN TİPİ

Kesitseldir.

BAĞIMSIZ DEĞİŞKENLER

Yaş, cins, yerleşim birimi, meslek, ev çevresinde hayvan besleme, doğada uğraş.

BAĞIMLI DEĞİŞKENLER

Erlihyoza özgü serolojik belirteçler (HGA IFA IgG).

KULLANILACAK ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER

Biyolog Günay Dedeoğlu-Kılınç'ın Trakya Bölgesinde Kırsal Alanlarda Tularemi Seroprevalansı adlı yüksek lisans tezi için 2006 yılının Mayıs-Ağustos aylarında toplanan serumlarda araştırma yapılmıştır. Bu tezde Dünya Sağlık Örgütü'nün seroprevalans çalışmalarında kullandığı yöntemlerden 30 küme yöntemine göre her ilden 30 köy belirlendi. Gönüllülere yapılacak işlem ve çalışma özetlendi ve ilgili formun (Ek-1) doldurulmasını müteakip kan örnekleri alındı. Eş zamanlı olarak Kırklareli kırsalında kene ısırığı fazla görülen üç köydeki gönüllülerden kan alındı. Bunlar santrifüj edildikten sonra serumları -70°C 'de donduruldu. Daha önce toplanan bu serumlar içinden kene ısırılma öyküsü olan toplam 116 kişinin serumları ayrılarak, bu kişiler formda belirttikleri telefon numaralarından arandı. Hastalıkla ilgili bilgiler verilerek ve sözlü onayları alındıktan sonra indirekt floresan antikor yöntemi ile serolojik olarak erlihyoz antikorları araştırıldı. Pozitif çıkan serumlarda, çapraz reaksiyon ve koenfeksiyon açısından *Rickettsia conorii*, *Treponema pallidum* ve *Borrelia burgdorferii* antikorları araştırıldı.

Bu çalışma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan alınan izinle yapıldı (Ek-2). Çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP)'ne sunulmuş ve TÜBAP-27 no'lu proje ile gerekli test malzemelerin alımı sağlanmıştır (Ek-3). Çalışmaya katılım gönüllük esası ve uluslararası Helsinki deklarasyonuna uygun şekilde sağlandı.

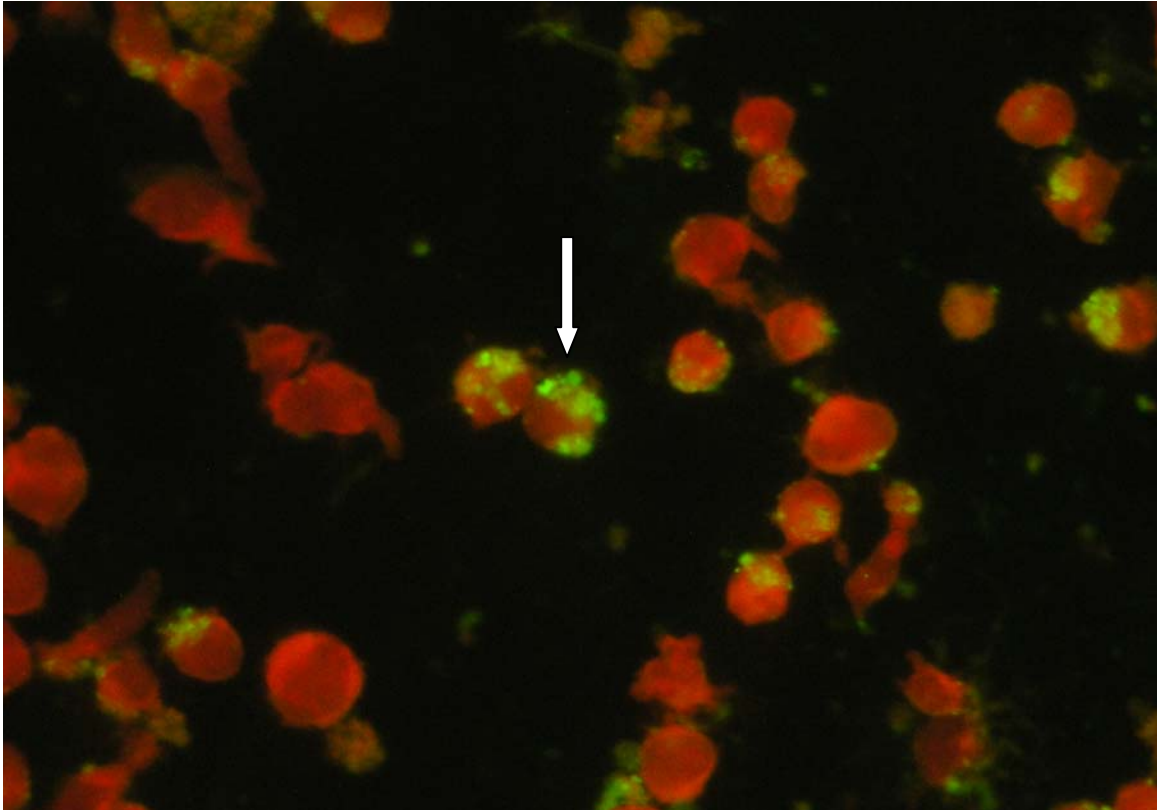
Deneyler

Yüzonaltı serum önce *Anaplasma phagocytophilum* IFA IgG (Focus Technologies, USA) ile test edildi. Pozitif çıkan serumlar (Şekil 1) çapraz reaksiyon ve koenfeksiyon açısından *Rickettsia sp.* IFA IgG (Focus Technologies, USA), *Treponema pallidum* hemaglütinasyon (TPHA) (OMEGA Diagnostics) ve *Borrelia burgdorferii* IFA IgG (ZEUS Scientific) testi ile bu mikroorganizmalara karşı oluşan antikorları bakımından araştırıldı.

Anaplasma phagocytophilum IFA IgG

1. Serumlar -70°C 'den çıkartıldı ve çözülmesi için bekletildi. Çözünen serumlar fosfat buffer solusyonu (PBS) ile 1/64 titrasyonda dilüe edildi.
2. 25µl IgG pozitif kontrol 25µl PBS ile iki kat sulandırıldı. 1/32 dilüsyon elde edildi ve slaytlardaki bir kuyucuğa 25µl eklendi.
3. 25µl IgG negatif kontrol dilüe edilmeden slayttaki bir başka kuyucuğa eklendi.
4. Sonra diğer kuyucuklara 1/64 titrasyonda dilüe edilmiş 25µl hasta serumu eklendi.

5. 30±2 dakika 35-37 C°'de inkübe edildi.
6. Sonra PBS ile çalkalandı ve içinde PBS olan kaptaki 10 dakika bekletildi.
7. Sonra kaptan çıkarılıp distile su ile yıkandı ve havada kurutuldu.
8. Her kuyucuğa 25µl IgG konjugatı eklendi.
9. 30±2 dakika 35-37 C°'de inkübe edildi.
10. Sonra PBS ile çalkalandı ve içinde PBS olan kaptaki 10 dakika bekletildi.
11. Sonra kaptan çıkarılıp distile su ile yıkandı ve havada kurutuldu.
12. Slaytların üzerine örtücü sıvı (mounting medium) konulup lamelle kapatıldı ve floresan mikroskopunda 400X büyütmede hemen değerlendirildi.
13. Ilımlıdan yoğun elma yeşili floresan veren preparatlar 2-4 pozitif olarak değerlendirildi.
14. Floresan var ama bulanık olanlar 1 pozitif olarak değerlendirildi.
15. Hiç floresan yok ise negatif olarak değerlendirildi.



Şekil 1. Çalışmada saptadığımız *Anaplasma phagocytophilum* IFA IgG pozitif örneklerden biri (lökosit içinde floresans veren bakteri kümeleri (morula) görülmekte)

***Rickettsia sp.* IFA IgG**

1. Serumlar -70°C 'den çıkartıldı ve çözülmesi için bekletildi. Çözünen serumlar PBS ile 1/4 titrasyonda dilüe edildi. Ardından Yolk Sac sulandırıcısı ile 1/64 titrasyonda dilüe edildi. Sonra 15 dakika oda ısısında bekletildi.
2. 25µl benekli ateş grubu pozitif kontrol IgG 25µl PBS ile iki kat sulandırıldı. 1/64 dilüsyon elde edildi ve slaytlardaki bir kuyucuğa 25µl eklendi
3. 25µl tifus grubu pozitif kontrol IgG 25µl PBS ile iki kat sulandırıldı. 1/64 dilüsyon elde edildi ve slaytlardaki bir kuyucuğa 25µl eklendi.
4. 25µl negatif kontrol slayttaki uygun kuyucuğa konuldu. Dilüe edilmedi.
5. Sonra diğer kuyucuklara 1/64 titrasyonda dilüe edilmiş 25µl hasta serumu eklendi.
6. 30 ± 2 dakika $35-37^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edildi.
7. Sonra PBS ile çalkalandı ve içinde PBS olan kapta 10 dakika bekletildi.
8. Sonra kaptan çıkarılıp distile su ile yıkandı ve havada kurutuldu.
9. Her kuyucuğa 25µl IgG konjugatı eklendi.
10. 30 ± 2 dakika $35-37^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edildi.
11. Sonra PBS ile çalkalandı ve içinde PBS olan kapta 10 dakika bekletildi.
12. Sonra kaptan çıkarılıp distile su ile yıkandı ve havada kurutuldu.
13. Slaytların üzerine mounting medium konulup lamelle kapatıldı ve floresan mikroskopunda 200X büyütmede hemen değerlendirildi.
14. Ilımlıdan yoğun elma yeşili floresan veren preparatlar 2-4 pozitif olarak değerlendirildi.
15. Floresan var ama bulanık olanlar 1 pozitif olarak değerlendirildi.
16. Hiç floresan yok ise negatif olarak değerlendirildi.

***Treponema pallidum* hemaglütinasyon**

1. Reaktifler ve serumlar oda ısısına getirildi.
2. Mikrotitrasyon pleytindeki bitişik kuyucuklarda hasta serumu ve sulandırıcı eklenerek 1/20 oranında sulandırılma sağlandı.
3. Kullanmadan önce hücre süspansiyon şişeleri (test ve kontrol) çalkalandı.
4. Pleyttteki kuyucuklardan birine test diğerine kontrol süspansiyonu eklenerek 1/80 dilüsyon elde edildi.
5. Mikropleyti kapatılıp oda ısısında karanlık bir alanda 60 dakika inkübe edildi.

6. Makroskobik olarak hücrelerin aglutinasyonu gözlemlendi. Test hücrelerinin aglutinasyonu, kontrol hücrelerinin aglutinasyonu ile karşılaştırıldı.
7. Kuyucuğun tabanını düz mat hücreler örtüyorsa 4+, parçalar halinde düz mat hücreler örtüyorsa 3+, düz mat hücrelerin etrafı kırmızı bir daire ile sarılı ise 2+, düz mat hücreler daha az bir alanı kaplıyor ve kırmızı daire daha büyük ise 1+, kırmızı daire tabanı kaplamış ise negatif olarak değerlendirildi.

***Borrelia burgdorferii* IFA IgG**

1. Serumlar oda ısısına getirildi.
2. 0.1ml pozitif kontrol, 1.5ml PBS ile sulandırılıp 1/16 dilüsyon elde edildi.
3. Dilüe pozitif kontrol slayttaki bir kuyucuğa 20µl eklendi.
4. Negatif kontrol dilüe edilmeden slayttaki bir kuyucuğa 20µl eklendi.
5. Hasta serumları PBS ile sulandırılıp 1/128 dilüsyon elde edildi.
6. Dilüe hasta serumları kuyucuklara 20µl eklendi.
7. 30 dakika 20-25 C°'de inkübe edildi.
8. Sonra 2-5 dakika PBS ile yıkandı, 5-10 saniye distile su ile çalkalandıktan sonra havada kurutuldu.
9. Daha sonra her bir kuyucuğa 20µl anti-insan immünglobulini eklendi.
10. 30 dakika 20-25 C°'de inkübe edildi.
11. Sonra 2-5 dakika PBS ile yıkandı, 5-10 saniye distile su ile çalkalandıktan sonra havada kurutuldu.
12. Slaytların üzerine mounting medium konulup lamelle kapatıldı ve floresan mikroskopunda 400X büyütmede hemen değerlendirildi.
13. Ilımlıdan yoğun elma yeşili floresan veren preparatlar 2-4 pozitif olarak değerlendirildi.
14. Floresan var ama bulanık olanlar 1 pozitif olarak değerlendirildi.
15. Hiç floresan yok ise negatif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel analiz

Veriler yüzdelikler olarak gösterildi, karşılaştırmalarda ki-kare analizi yapıldı. p değeri < 0.05 olduğunda fark anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Edirne'den 13, Tekirdağ'dan 23, Kırklareli'den 80 kişi olmak üzere toplam 116 kene ısırığı öyküsü olan kişiden alınmış kanların serumlarında *A. phagocytophilum*'a karşı antikorlar araştırıldı. 29 kişide (%25) antikor pozitif bulunurken, 87 kişide (%75) antikor negatifti. İllere göre dağılıma bakıldığında antikor pozitifliği oranı en fazla Edirne ili kırsalında yaşayanların %30.77'sinde saptanmasına rağmen iller arasında seropozitiflik oranı açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı (ki-kare=0.361, p=0.835) (Tablo 2).

Tablo 2. Antikor görülme frekansı ve illere göre dağılımı

İller	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
Edirne	4	30.77	9	69.23	13	100
Tekirdağ	5	21.74	18	78.26	23	100
Kırklareli	20	25	60	75	80	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G, (ki-kare=0.361, p=0.835)

Gönüllülerin 89'u erkek, 27'si kadındı. Çalışmamızda antikor pozitifliği en fazla kadınlarda bulundu (%33.33) ancak cinsiyetler arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı (ki-kare=1.303, p=0.254) (Tablo 3).

Tablo 3. Antikor görölme frekansı ve cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
Erkek	20	22.47	69	77.53	89	100
Kadın	9	33.33	18	66.67	27	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G, (ki-kare=1.303, p=0.254).

Meslekler incelendiğinde, antikor pozitifliği en fazla ev hanımlarında görölmektedir (%34.61). İkinci sırada çiftçilerde görölmektedir (%24.63). Ancak meslekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı (ki-kare=2.954, p=0.566) (Tablo 4).

Tablo 4. Antikor görölme frekansı ve mesleklere göre dağılımı

Meslekler	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
Çiftçi	17	24.63	52	75.37	69	100
Ev hanımı	9	34.61	17	65.39	26	100
Memur/öğrenci	1	10	9	90	10	100
işçi	2	20	8	80	10	100
İşsiz	0	0	1	100	1	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G, (ki-kare=2.954, p=0.566)

Gönüllülerin medyan yaşı 43 (6-88) idi. Çalışmamızda antikor pozitifliğini en fazla 40-49 yaş arasındaki kişilerde bulundu (%40) (Tablo 5).

Antikor görölme frekansı köpek besleyenlerde %26.76, kedi besleyenlerde %33.33, büyükbaş hayvan besleyenlerde %23.46, küçükbaş hayvan besleyenlerde %21.05, kümes hayvanı besleyenlerde %23.68, at/eşek besleyenlerde %75, doğa uğraşı olanlarda %24.72 bulundu. Köpek, kedi ve at/eşek besleyenlerde frekans yüksek bulunurken, büyükbaş hayvan, küçükbaş hayvan, kümes hayvanı beslemeyenlerde ve doğa uğraşı olmayanlarda frekans yüksek bulundu. At/eşek beslemek hariç hiçbir grupta istatistiksel fark bulunmadı. (Tablo 6-12).

Tablo 5. Antikor görülme frekansı ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş aralığı	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
0-9	0	0	1	100	1	100
10-19	1	16.66	5	83.34	6	100
20-29	0	0	6	100	6	100
30-39	7	26.92	19	73.08	26	100
40-49	10	40	15	60	25	100
50-59	5	20.83	19	79.17	24	100
60-69	3	27.27	8	72.73	11	100
70-79	3	30	7	70	10	100
80-89	0	0	1	100	1	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G.

Tablo 6. Köpek beslemenin antikor görülme frekansına etkisi

	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
Köpek besleyen	19	26.76	52	73.24	71	100
Köpek beslemeyen	10	22.22	35	77.78	45	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G, (ki-kare=0.303, p=0.582)

Tablo 7. Kedi beslemenin antikor görülme frekansına etkisi

	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
Kedi besleyen	12	33.33	24	66.67	36	100
Kedi beslemeyen	17	21.25	63	78.75	80	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G, (ki-kare=1.933, p=0.164)

Tablo 8. Büyükbaş hayvan beslemenin antikor görülme frekansına etkisi

	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
Büyükbaş hayvan besleyen	19	23.46	62	76.54	81	100
Büyükbaş hayvan beslemeyen	10	28.57	25	71.43	35	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G, (ki-kare=0.341, p=0.559)

Tablo 9. Küçükbaş hayvan beslemenin antikor görülme frekansına etkisi

	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
Küçükbaş hayvan besleyen	8	21.05	30	78.95	38	100
Küçükbaş hayvan beslemeyen	21	26.92	57	73.08	78	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G., (ki-kare=0.470, p=0.493)

Tablo 10. Kümes hayvanı beslemenin antikor görülme frekansına etkisi

	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
Kümes hayvanı besleyen	9	23.68	29	76.32	38	100
Kümes hayvanı beslemeyen	20	25.64	58	74.36	78	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G, (ki-kare=0.052, p=0.819)

Tablo 11. At/eşek beslemenin antikor görülme frekansına etkisi

	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		toplum	
	N	%	N	%	N	%
At/eşek besleyen	3	75	1	25	4	100
At/eşek beslemeyen	26	23.21	86	76.79	112	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G., (ki-kare=5.524, p=0.019)

Tablo 12. Doğada uğraşmanın antikor görülme frekansına etkisi

	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	N	%	N	%	N	%
Doğa uğraşı olan	22	24.72	67	75.28	89	100
Doğa uğraşı olmayan	7	25.92	20	74.08	27	100
Toplam	29	25	87	75	116	100

HGA IgG: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin G, (ki-kare=0.016, p=0.899)

Çalışmamızda, pozitif bulduğumuz serumları çapraz reaksiyon veya koenfeksiyon olabileceği için TPHA ve *Rickettsia* IFA IgG ile test edildi. Hiçbir serum TPHA ile pozitif sonuç vermedi. Pozitif bulduğumuz 29 serumun 17 tanesinde riketsiya antikorları pozitif bulundu. Koenfeksiyon açısından pozitif bulunan 29 serum *Borrelia* IFA IgG ile test edildi. İki tanesi pozitif bulundu.

HGA IFA IgG pozitifliği olan kişilerde çapraz reaksiyonlar veya koenfeksiyonlar değerlendirildiğinde bir olgunun hem HGA IFA IgG hem de IgM antikorları pozitif. HGA IgG seropozitif 29 olgunun 17'sinde *Rickettsia* IgG pozitifliği saptandı. *Borrelia* IgG pozitifliği olan iki olgunun birinde HGA ve *Rickettsia* antikorları birlikte bulunmaktaydı (Tablo 13).

Tablo 13. HGA IgG pozitifliği olan 29 kişide HGA IgM, *Rickettsia* ve *Borrelia* antikorları birlikteliği (IFA ile)

	HGA IgM	<i>Rickettsia</i> IgG	<i>Borrelia</i> IgG	Toplam
HGA IgM	1	1	0	1
<i>Rickettsia</i> IgG	1	17	1	17
<i>Borrelia</i> IgG	0	1	2	2
Toplam	1	17	2	

HGA IgM: *Anaplasma phagocytophilum* immünglobulin M, ***Rickettsia* IgG:** *Rickettsia* sp. immünglobulin G, ***Borrelia* IgG:** *Borrelia burgdorferii* immünglobulin G.

TARTIŞMA

1906'da kayalık dağlar benekli ateşi tanımlandıktan sonra dünyada pek çok kene kaynaklı bakteriyel enfeksiyon tanımlanmıştır. Kene kaynaklı hastalık etkenlerinden biri olan erlihyalar küçük, gram negatif zorunlu hücre içi bakterilerdir. Hayvan hastalıkları ile ilgili pek çok tür insan hastalıklarından daha önce tanımlanmıştır. İlk 1910'da Theiler tarafından ruminantlarda anaplazmoz yapan *A. marginale* tanımlanmıştır. Cowdry tarafından 1925'de ruminantlarda kovidriyoz yapan *E. ruminantium*, Donatien ve Lestoquard tarafından da 1935'de Cezayir'de köpeklerde monositik erlihyoz yapan *E. canis* tanımlanmıştır. Gordon 1940'da koyun ve ineklerde ateşli hastalık yapan *E. phagocytophila*'yı inek ve koyunların periferik kanlarında göstermiştir. 1945'de Alman mikrobiyolog Paul Ehrlich riketsiya ve erlihyaların virüsler ve protozoonlardan farklı türler olduğunu ortaya koymuş ve ondan sonra bu bakterilerle ilgili antibiyotik ve elektron mikroskopi çalışmaları hızlanmıştır (18). 1954'de Japonya'da *E. sennetsu*'nun etkeni olduğu enfeksiyöz mononükleoz benzeri bir hastalık insanlarda tanımlanmıştır (8).

1986'da ABD'de kene tarafından ısırılmış 51 yaşındaki, 5 günden beri ateş, baş ağrısı, kas ağrıları yakınması olan hastada hastaneye başvurduğunda konfüzyon, azotemi, trombositopeni ve periferik kan yaymasında lökositler içinde stoplazmik inklüzyonlar tespit edilmiş ve CDC tarafından elektron mikroskobik inceleme ile inklüzyonların *Ehrlichia sp.* olduğu gösterilmiştir. Hastaya yapılan serolojik tetkiklerde, ilk kez köpeklerde tespit edilmiş olan *E. canis*'e karşı antikolar yüksek titrede pozitif bulunmuş ve *E. canis* ile ilk insan erlihyozu diye tanımlanmıştır. Yapılan prospektif çalışmalarla kene ısırığı öyküsü olan riketsiyöz benekli ateşi tanılı hastalarda *E. canis*'e karşı antikolar tespit edilmiş ve hatta bazı bölgelerde kene

ısırığı olup da benekli ateş ön tanısı ile yatırılan hastalarda insidansının benekli ateşten daha fazla olduğu gösterilmiştir. Daha sonraki yıllarda yapılan gen sekans çalışmalarıyla bulunan bu bakterinin *E. canis* olmadığı ancak ona benzeyen *E. chaffeensis* olduğu anlaşılmıştır (6,18). 1991’de *E. chaffeensis* ABD’de izole edilmiştir (115). Bu tür insan monositik erlihyoz (HME) etkenidir (2). *E. chaffeensis* ile HME hastaları ABD’de bildirilirken, ilave olarak kenelerde ve hayvanlarda *E. chaffeensis*’in varlığı Afrika ve Avrupa’dan da bildirilmiştir (18).

1990’da Bakken tarafından Dulut Minnesota’da ateşli hastalığı olan bir hastanın granüositlerinde stoplazmik inklüzyonların (morula) görülmesi ile granülositik erlihyoz ilk kez insanlarda fark edilmiş ve 1990 ile 1993 yılları arasında Chen ve arkadaşları Minnesota ve Wisconsin’de stoplazmik inklüzyonları olan hastalarda kültür ve PCR ile araştırmalar yapmıştır. Yapılan deneylerde kültürler negatif bulunmuş ancak PCR ile *E. phagocytophila* ve *E. equi* ile çok yakın ilişkili yeni bir tür bulunmuştur (9). Bu tür insan granülositik erlihyoz (HGE) etkenidir. Daha önce atlarda ve köpeklerde granülositik erlihyoza sebep olduğu bilinen *E. equi* ve *E. phagocytophila*’nın ve insanlarda tespit edilen bu yeni türün tek bir tür olabileceği düşünülüp çalışmalar yapılmıştır. İsveç ve Minnesota’daki köpeklerde ve atlarda HGE etkeni gösterilmiş ve bu etkenin *E. equi*’den farklı olduğu bulunmuştur ancak HGE ile enfekte insan kanı atlara verilirse atlarda HGE etkeni ile enfeksiyon geliştiği ve *E. equi*’ye karşı bağışıklık oluştuğu görülmüştür. (116-118).

Goodman ve ark. (105) tarafından 1996’da HGE etkeni izole edilmiştir. 2001’de Dumler ve ark. (7) HGE ajanını ve yakın ilişkili *E. equi* ve *E. phagocytophila*’yı tek tür olarak düşünüp *A. phagocytophilum* adını vermişler ve hastalık tekrar isimlendirilerek insan granülositik anaplazmoz (HGA) olarak belirlenmiştir. Köpeklerde granülositik erlihyoz yapan *E. ewingii*’nin sebep olduğu ikinci insan granülositik erlihyozu (*ewingii* erlihyozu) 1999’da tanımlanmıştır (85).

Yukarıdaki bilgilerden anlaşılacağı gibi dünyada son yüzyılda erlihyalarla ilgili çok sayıda çalışma yapılmışken ülkemizde bu hastalıklarla ve etkenlerle ilgili çalışmalar 2000 yılından sonra başlamıştır. Bu çalışmalarda (21,30,32-36) hayvanlarda ve kenelerde etkenlerin varlıkları serolojik veya moleküler yöntemlerle gösterilmiş ve bir seroprevalans çalışmasında (15) da insanların da bundan etkilendikleri belirlenmiştir.

Avkan ve ark. (119) 73 yaşında evinde köpek besleyen, öksürük, ateş, uykuya eğilim, halsizlik, iştahsızlık, baş ağrısı, bulantı, kusma, tüm vücutta makülopapüler ve yer yer peteşial döküntülerle başvuran hastada kene ile bulaşan hastalıklardan diğer kene kaynaklı

enfeksiyonların yanında erlihyozu da düşünmüşlerdir. Spesifik olmayan klinik belirtiler, akciğer tutulumu ve kenenin saptanmasıyla pulmoner tutulumlu kene kaynaklı enfeksiyon olduğu göz önüne alınarak olgu doksisisiklin ile tedavi edilmiştir. Ancak bu olguda serolojik veya başka bir incelemeyle hastalığın erlihyozla bağlı olduğu kanıtlanamamıştır.

Türkiye’de bizim bilgilerimize göre insanlarda erlihyoz varlığının gösterildiği ilk ve tek yayın Ongut ve ark. (15)’nin çalışması olarak kabul edilebilir. Şen (30) bölgemizdeki kenelerde *Anaplasma* varlığını moleküler yöntemlerle göstermiş olması, Trakya Bölgesi’nde orman arazilerinin geniş olması, halkın büyük bir kısmının tarım ve hayvancılıkla uğraşması ve kene kaynaklı enfeksiyonlardan riketsiyozun Türkiye’de en çok bölgemizden bildirilmiş olması (120) erlihyozun da bölgemizde insanları etkileyebileceği ve hastalıklara neden olabileceği yönünde kanılara sahip olmamıza neden olmuştur. Yapılan bu çalışma ile bölgemizdeki kene ısırma öyküsü olan insanların *Anaplasma* türleriyle karşılaşma oranlarını dolayısıyla oluşan seropozitifliği belirlemeyi amaçladık. Çalışmamızda %25 oranında seropozitiflik saptanması, bölgemizden ve Türkiye’den bu güne kadar hiçbir erlihyoz olgusunun bildirilmediği göz önüne alınarak bazı olguların yanlış tanı aldıklarını düşündürmekte ve ayırıcı tanılarda daha fazla düşünülmesi ve tanı için laboratuvar tetkiklerinin yaygınlaştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

A. phagocytophilum tarafından meydana getirilen HGA’nın insidansı son 20 yılda giderek artmış ve bu hastalık bazı ölümlerin nedeni olmuştur. Antibiyotik kullanmadan HGA’dan iyileşen immünitesi sağlam hastalar varken, pek çok hastaya antibiyotik tedavisi gerekmektedir. HGA’nın erken dönem belirtileri spesifik değildir, hatta viral hastalıkları taklit eder. Spesifik teşhis erken dönemde yapılamayabilir ancak antibiyotik tedavisi başarılıdır (12). Ülkemizde bu güne kadar herhangi bir erlihyoz/anaplazmoz olgusunun bildirilmemiş olması hiç olgu olmamasına mı yoksa ayırıcı tanıda düşünülmemesine mi bağlı olup olmadığı bilinmemektedir. Bu çalışma ile insanların bu hastalıklardan etkilendiğinin bir kanıtı olarak yüksek oranda seropozitiflik tespit edilmesi, Ongut ve ark. (15)’nin Akdeniz Bölgesi’nde de seropozitiflik saptamaları, Türkiye’deki tanı laboratuvarlarının bu hastalığın tanısını koymaya yardım edecek tetkik olanaklarını da portföylerinde bulundurma gerekliliklerini vurgulanmıştır.

HGA etkeninin hayat döngüsü; sert keneler, insan olmayan vertebralılar ve insan şeklindedir. HGA etkeni ABD’nin kuzeyinde *I. scapularis* türü kenelerde ve kuzeydoğu ve üst-orta batı bölgelerinde *I. pacificus* türü sert kenelerde gösterilmiştir (12). Avrupa’daki kene vektörü *I. ricinus*’tur (14). Rusya’nın Baltık ve Perm Bölgesi’nde ve Kuzeydoğu Çin’de *I.*

persulcatus türü sert kenelerde de etken gösterilmiştir (28,29). Ülkemizde Şen (30) *I. ricinus* kenelerinde PCR ile *A. phagocytophilum*'u (%3 oranında) göstermiştir. Yine ülkemizde 2003'de Christova ve ark. (31) Akdeniz (Antalya), İç Anadolu (Kayseri) ve Doğu Anadolu (Malatya) bölgelerinden toplanan *Hyalomma*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* ve *Boophilus* türü sert kenelerde PCR ve revers line-blot hibridizasyon yöntemleri ile erlihyoz etkenlerini göstermişlerdir ancak *A. phagocytophilum* için bir oran belirlememişlerdir. Çalışmamızda seropozitiflik araştırılacak popülasyonu seçmemizde kenelerin bahsedilen önemli rolü göz önüne alınarak kene ısırığı öyküsü olanlar etkili olmuştur. Yüksek oranda seropozitiflik saptanması, riketsiyozda olduğu gibi anaplazmoz yönünden de bölgemizin yüksek risk taşıdığını göstermektedir. Özellikle bölgemizde şüpheli olgularda tanı koymayı sağlayabilecek tanı testlerinin rutin tetkikler arasına alınmasının zorunlu olduğu sonucuna varılabilir.

New York'ta aralarında kene ile ısırılmış kişilerinde olduğu değişik popülasyonlarda *A. phagocytophilum* seroprevalansı %8.9-36 arasında bulunmuştur (13). Ongut ve ark. (15) Antalya'da 2001 yılında yaptıkları çalışmada, son 6 ay içerisinde kene ile ısırılmış 201 kişiden kan almış ve bunların 16'sında (%8) IFA ile *A. phagocytophilum*'a karşı antikoları 1/80 titrede pozitif bulmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada %25 oranında seropozitiflik olması etkeni taşıyan kenelerin veya rezervuar olan memelilerin dağılımı ile alakalı olabilir. Başka bir deyişle Trakya Bölgesi HGA için Akdeniz Bölgesi'nden daha fazla bir riske sahiptir.

Keneler ve kemiricilerin aynı anda birden fazla etkeni taşıdığı ile ilgili çok sayıda yayın vardır. Komşu ülke olan Bulgaristan'da yapılan bir çalışmada rodentlerde *Francisella tularensis*, *B. burgdorferi* ve *A. phagocytophilum* etkenlerinin bir arada bulunabildikleri gösterilmiştir (121). Sun ve ark. (122) topladıkları kenelerde *Borrelia*, *Bartonella*, *Anaplasma* ve *Ehrlichia* türlerinin iki veya daha fazlasının bir arada bulunabildiklerini kanıtlamışlardır. Aralarında Türkiye'den toplanan kenelerin de bulunduğu bir çalışmada Christova ve ark. (31) *Borrelia*, *Anaplasma* ve *Rickettsia* cinslerinden aynı kenede ikisinin bir arada bulunma oranını %17-23, üçünün bir arada bulunma oranını ise %7-21 oranında saptamışlardır. Bu çalışma sonuçlarına göre bir kene ısırığı ile aynı anda çok sayıda etken insanlara bulaştırılabilir. *A. phagocytophilum* ile birlikte aynı kene vektörü ile geçen Lyme borrelyoz, babesiyoz ve kene kaynaklı ansefalit gibi çeşitli hastalıkların etkenleri ABD, Avrupa ve Asya'da bildirilmiştir (28,123,124). Agüero-Rosenfeld ve ark. (13) yaptıkları bir çalışmada 57 Lyme serolojisi pozitif çocuğun 3'ünde (%5.3), 118 Lyme serolojisi pozitif erişkinin 42'sinde

(%36) ve 42 kültürle doğrulanmış Lyme hastalığı olan çocuğun 9'unda (%21.4) HGA antikorlarını IFA ile pozitif bulmuştur. Bizim çalışmamızda HGA IFA IgG pozitifliği olan kişilerde çapraz reaksiyonlar veya koenfeksiyonlar değerlendirildiğinde 29 HGA IgG seropozitif olgunun 17'sinde Rickettsia IgG pozitifliğinin bulunması dikkat çekicidir. Trakya Bölgesi'nin riketsiyozun ülkemizden en çok olgunun bildirildiği bölge olması göz önüne alındığında, buna eşlik edebilen anaplazmozlar açısından olguların dikkate alınmadığı ve verilen riketsiyozu yönelik tedavi ile bu etkenlerin de yok edilmesi sonucu olgu bildirimlerinin eksik kaldığı ve koenfeksiyonların belirlenemediği kanısına varılmıştır. Çalışmamızda ilk anaplazmoz olgusunu yakalayabilme amacıyla HGA IgG pozitifliği saptanan olgulara HGA IgM antikorları da araştırıldığında sadece bir olguda pozitiflik saptandı. Bu olgunun gerçekten akut anaplazmoz olgusu olarak değerlendirilebilmesi için klinik muayene ve laboratuvar tetkiklerinin de yakın zaman içinde değerlendirilmesiyle tanı kesinleştirilebilirdi. Ancak çalışmamızda kan alımı ile çalışmanın yapıldığı zaman arasında çok uzun zaman geçmiş olması bu olanağımızın yok olmasına neden olmuştur. Borrelia IgG pozitifliği olan iki olgunun birinde HGA ve Rickettsia antikorlarının da birlikte bulunması kayda değer bir bulgudur. Bu bulgu üç kene kaynaklı enfeksiyonun bir arada bulunabileceğini göstermesi açısından çok önemli bir bulgudur.

Ongut ve ark. (15) *A. phagocytophilum* IgG antikorlarının çapraz reaksiyonlar veya multiple enfeksiyonlar açısından sifiliz, riketsiyoz ve Lyme hastalığında oluşan antikorlarla test edilmelerini gerekli görerek çalışmalarında bu testleri de yapmışlardır. Bizim çalışmamızdaki birkaç hastalığın bir arada bulunduğunu gösteren bulgular çapraz reaksiyon veya ko-enfeksiyon açısından ayrıca değerlendirilmelidir. Bizim çalışmamızda kısıtlı mali sorunlardan dolayı hastalıkların her birinde oluşan antikorların hangisinin daha yüksek düzeyde olduğu ve diğer laboratuvar incelemelerinin eksikliği nedeniyle bu konuda bir ayırım yapılamamıştır.

Trakya Bölgesi'nin coğrafi yapısının dağlardan oluştuğu ve ormanlık alanı açısından en zengin ili Kırklareli'dir. Çalışmamızda kene ısırığı öyküsünün en sık alındığı il ve örneklem grubunda büyük bir çoğunluğunun yaşadığı il Kırklareli idi. HGA IFA IgG pozitifliğinin de en çok bu ilden alınan kan örneklerinde saptanması (29 seropozitif örneğin 20'si) şaşırtıcı değildir. İstatistiksel analiz yapıldığında iller arasında anlamlı fark bulunmadı. Cinsiyet, meslek, yaş grupları arasında da fark saptanmaması herkesin bu hastalık açısından eşit riske sahip olduğunu gösterir.

Çalışmamızda erlihyoz için risk faktörü olabilecek diğer durumlar da sorgulandı. Kedi, köpek, büyükbaş hayvan, küçükbaş hayvan, kümes hayvanı, at/eşek besleme ve doğada uğraşma analiz edildi. HGA IFA pozitif çıkan grup ile negatif grubun karşılaştırılmasında; at/eşek besleme hariç yukarıda bahsedilen çeşitli özellikler arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. At/eşek besleyenlerin %75'inde HGA IgG antikorları pozitif bulundu. Bakken ve ark. (125) Wisconsin'de yaptığı seroprevalans çalışmasında son bir hafta içerisinde atlarla vakit geçirmeyi risk faktörü olarak belirlemişler ve atlarla vakit geçirmeyi istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. Bu durum bizim çalışmamızdaki bulguya benzerdir. HGA'nın atlarla ilişkisi *A. phagocytophilum*'un yeni bir tür olarak tanımlandığı dönemlerde yapılan çalışmalarda da (116-118) açık şekilde görülmektedir.

SONUÇLAR

Trakya Bölgesi'nde kene ısırığı öyküsü olanlarda insan granülositik anaplazmoz varlığını göstermek için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılan çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1-Yüksek oranda (%25) seropozitiflik saptandı.

2-Seropozitif olgularda at/eşek besleme bir risk faktörü olarak belirlendi.

3-Kene ısırığı öyküsü olan kişilerde HGA seropozitifliğinin diğer kene kaynaklı enfeksiyonlarla (Riketsiyoz ve Lyme) birlikte bulunabileceğinin serolojik kanıtları elde edildi.

4-Yapılan bu çalışma ile Trakya Bölgesi'nin HGA ve diğer kene kaynaklı enfeksiyonlar açısından önemli bir endemik bölge olduğu görüldü. Kene ısırığı olan hastalarda HGA'nın da ayırıcı tanılar arasında daha fazla düşünülmesi ve tanı testlerinin yaygınlaştırılması gerektiği sonucuna varıldı.

ÖZET

Trakya Bölgesi kırsal alanlarında kene ısırığı öyküsü olan 116 kişi çalışmaya dahil edildi. Bu kişilerin sözlü onaylarının alınmasını takiben indirekt floresan antikor yöntemi ile serolojik olarak *Anaplasma phagocytophilum* antikorları araştırıldı. *Anaplasma phagocytophilum*'a karşı immünglobulin G pozitifliği olan serumlarda, çapraz reaksiyon veya koenfeksiyon açısından *Rickettsia conorii*, *Treponema pallidum* ve *Borrelia burgdorferi* antikorları da arandı.

A. phagocytophilum antikorları 29 kişide (%25) pozitif bulundu. Seropozitiflerin 17'sinde *R. conorii* ve 2'sinde *B. burgdorferii* antikorları pozitif bulunurken, hiçbirinde *T. pallidum* antikorları saptanmadı. Bir olguda *A. phagocytophilum*, *R. conorii* ve *B. burgdorferii* türlerinin üçüne karşı da antikor belirlendi. *Anaplasma phagocytophilum* seropozitifliği için at/eşek beslemek bir risk faktörü olarak belirlendi.

Sonuç olarak, Trakya Bölgesi'nin kırsal alanlarında yaşayan, kene ile ısırılmış insanlarda *A. phagocytophilum* ve *R. conorii* daha fazla olmak üzere kene kaynaklı enfeksiyonlar yüksek oranlarda saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Erlihyoz, Anaplazmoz, Seropozitiflik, Kene kaynaklı hastalıklar

SEROPOSITIVITY OF EHRLICHIOSIS IN POPULATION WITH TICK BITE HISTORY IN RURAL AREAS OF THRACE REGION

SUMMARY

A total of, 116 individuals who have tick bite history in rural areas of Thrace Region were included in this study. Antibodies to *Anaplasma phagocytophilum* were investigated by IFA after verbal approval of participants. Antibodies to *Rickettsia conorii*, *Treponema pallidum* and *Borrelia burgdorferi* were investigated for cross reaction and coinfection in *Anaplasma phagocytophilum* immunoglobulin G positive sera.

Antibodies to *A. phagocytophilum* were positive for 29 individuals (25%). Of 29 seropositivite sera, 17, 2 were reactive for antibodies to *R. conorii*, and *B. burgdorferii*, respectively. None of them were reacted for *T. pallidum*. Triple seropositivity was detected for *A. phagocytophilum*, *R. conorii* and *B. burgdorferi* in one case. Exposure to horse/donkey is defined as a risk factor for *Anaplasma phagocytophilum* seropositivity.

In conclusion; tick borne infections especially of *A. phagocytophilum* and *R. conorii* were found in high rate in people exposure to tick bite in rural areas of Thrace Region.

Key words: Ehrlichiosis, Anaplasmosis, Seropositivity, Tick borne diseases

KAYNAKLAR

1. Bakken JS and Dumler JS. Human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Infect Dis* 2000;31:554-60.
2. Parola P, Davoust B and Raoult D. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. *Vet Res* 2005;36:469-92.
3. Olano JP, Hogrefe W, Seaton B, and Walker DH. Clinical manifestations, epidemiology, and laboratory diagnosis of human monocytotropic ehrlichiosis in a commercial laboratory setting. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:891-6
4. Blanco JR and Oteo JA. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2002;8:763-72.
5. Akalın H. Erlihiyozis. *Mikrobiyol Bul* 1995;29:424-8
6. Anderson BE, Dawson JE, Jones DC and Wilson KH. Ehrlichia chaffeensis, a new species associated with human ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* 1991;29:2838-42.
7. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001;1:2145-65.
8. Dumler JS, Choi KS, Garcia-Garcia JC, Barat NS, Scorpio DG, Garyu JW et al. Human granulocytic anaplasmosis and Anaplasma phagocytophilum. *Emerg Infect Dis* 2005;1:1828-34.
9. Chen SM, Dumler JS, Bakken JS and Walker DH. Identification of a granulocytotropic 1994;32:589-95.

10. Parola P and Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis* 2001;22:897-928.
11. Dumler JS, Madigan JE, Pusterla N and Bakken JS. Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Clin Infect Dis* 2007;45 Suppl 1: 45-51.
12. Bakken JS and Dumler S. Human granulocytic anaplasmosis. *Infect Dis Clin North Am* 2008;22:433-48.
13. Aguero-Rosenfeld ME, Donnarumma L, Zentmaier L, Jacob J, Frey M, Noto R et al. Seroprevalence of antibodies that react with *Anaplasma phagocytophila*, the agent of human granulocytic ehrlichiosis, in different populations in Westchester County, New York. *J Clin Microbiol* 2002;40:2612-5.
14. Strle F. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Int J Med Microbiol* 2004;293 Suppl 37:27-35.
15. Ongut G, Ogunc D, Mutlu G, Colak D, Gultekin M, Gunseren F et al. Seroprevalence of antibodies to *Anaplasma phagocytophilum* in Antalya, Turkey. *Infection* 2006;34:107-9.
16. Flicek BF. Rickettsial and other tick-borne infections. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2007;19:27-38.
17. Anderson JF and Magnarelli LA. Biology of ticks. *Infect Dis Clin North Am* 2008;22:195-215.
18. Walker DH and Dumler JS. Emergence of the ehrlichioses as human health problems. *Emerg Infect Dis* 1996;2:18-29.
19. Dumler JS and Bakken JS. Ehrlichial diseases of humans: emerging tick-borne infections. *Clin Infect Dis* 1995;20:1102-10.
20. Wen B, Rikihisa Y, Yamamoto S, Kawabata N and Fuerst PA. Characterization of the SF agent, an *Ehrlichia* sp. isolated from the fluke *Stellantchasmus falcatus*, by 16S rRNA base sequence, serological, and morphological analyses. *Int J Syst Bacteriol* 1996;46:149-54.
21. Sevinç F ve Derinbay Ö. Bir sığırcılık işletmesinde anaplasmosis problemi. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi. İzmir, 2005.
22. Huchzermeyer FW, Horak IG, Putterill JF and Earle RA. Description of *Aegyptianella botuliformis* sp. (Rickettsiales: Anaplasmataceae) from helmeted guineafowl, *Numida meleagris*. *Onderstepoort J Vet Res* 1992;59:97-101.
23. Telford SR, Dawson JE, Katavolos P, Warner CK, Kolbert CP and Persing DH. Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:6209-14.

24. Arens MQ, Liddell AM, Buening G, Gaudreault-Keener M, Sumner JW, Comer JA et al. Detection of Ehrlichia spp. in the blood of wild white-tailed deer in Missouri by PCR assay and serologic analysis. J Clin Microbiol 2003;41:1263-5.
25. Walls JJ, Greig B, Neitzel DF and Dumler JS. Natural infection of small mammal species in Minnesota with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. J Clin Microbiol 1997;35:853-5.
26. Madigan JE, Pusterla N, Johnson E, Chae JS, Pusterla JB, DeRock E et al. Transmission of Ehrlichia risticii, the agent of Potomac horse fever, using naturally infected aquatic insects and helminth vectors: preliminary report. Equine Vet J 2000;32:275-9.
27. Rikihisa Y, Zhang C, Kanter M, Cheng Z, Ohashi N and Fukuda T. Analysis of p51, groESL, and the major antigen P51 in various species of Neorickettsia, an obligatory intracellular bacterium that infects trematodes and mammals. J Clin Microbiol 2004;42:3823-6.
28. Cao WC, Zhao QM, Zhang PH, Dumler JS, Zhang XT, Fang LQ et al. Granulocytic Ehrlichiae in Ixodes persulcatus ticks from an area in China where Lyme disease is endemic. J Clin Microbiol 2000;38:4208-10.
29. Alekseev AN, Dubinina HV and Jushkova OV. First report on the coexistence and compatibility of seven tick-borne pathogens in unfed adult Ixodes persulcatus Schulze (Acarina: Ixodidae). Int J Med Microbiol 2004;293 Suppl 37:104-8.
30. Şen E. İstanbul'daki Ixodes ricinus kenelerinde, Borrelia burgdorferi ve ilk kez olarak Anaplasma (ehrlichia) phagocytophila ve IRIC-ES1 ovaryum simbiyont bakterilerinin moleküler yöntemlerle gösterilmesi. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı. Aydın, 2004.
31. Christova I, Van De PJ, Yazar S, Velo E and Schouls L. Identification of Borrelia burgdorferi sensu lato, Anaplasma and Ehrlichia species, and spotted fever group Rickettsiae in ticks from Southeastern Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2003;22:535-42.
32. Karagenc T, Hosgor M, Bilgic HB, Pasa S, Kırılı G and Eren H. Detection of prevalence of E. canis, A. phagocytophila and A. platys in dogs around the Aegean coast of Turkey by using a nested PCR. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi. İzmir, 2005.
33. Gokce HI, Genc O, Akca A, Vatansever Z, Unver A and Erdogan HM. Molecular and serological evidence of Anaplasma phagocytophilum infection of farm animals in the Black Sea Region of Turkey. Acta Vet Hung 2008;56:281-92.
34. Rodriguez-Vivas RI, Alborno RE and Bolio GM. Ehrlichia canis in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. Vet Parasitol 2005;127:75-9.
35. Arslan MÖ. Türkiye'de hayvanlarda kene enfestasyonları ve kenelerin bulaştırdığı hastalıkların durumu. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi. İzmir, 2005.

36. Karagenc T, Bilgic HB, Hosgor M, Aysul N, Aypak S ve Eren H. Aydın yöresi sığırlarında RLB tekniği kullanılarak *Theileria*, *Babesia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* türlerinin belirlenmesi. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi. İzmir, 2005.
37. Kostman JR. Laboratory diagnosis of rickettsial diseases. Clin Dermatol 1996;14:301-6.
38. Gürcan Ş. Ehrlichia. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı. Aydın, 2004.
39. Fenollar F and Raoult D. Molecular genetic methods for the diagnosis of fastidious microorganisms. APMIS 2004;112:785-807.
40. Anaplasmataceae. 2008.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=942>
41. Inokuma H, Brouqui P, Drancourt M and Raoult D. Citrate synthase gene sequence: a new tool for phylogenetic analysis and identification of Ehrlichia. J Clin Microbiol 2001;39:3031-9.
42. Lee KN, Padmalayam I, Baumstark B, Baker SL and Massung RF. Characterization of the *ftsZ* gene from Ehrlichia chaffeensis, Anaplasma phagocytophilum, and Rickettsia rickettsii, and use as a differential PCR target. DNA Cell Biol 2003;22:179-86.
43. Massung RF, Lee K, Mauel M and Gusa A. Characterization of the rRNA genes of Ehrlichia chaffeensis and Anaplasma phagocytophila. DNA Cell Biol 2002;21:587-96.
44. Taillardat-Bisch AV, Raoult D and Drancourt M. RNA polymerase beta-subunit-based phylogeny of Ehrlichia spp., Anaplasma spp., Neorickettsia spp. and Wolbachia pipientis. Int J Syst Evol Microbiol 2003;53:455-8.
45. Olano J and Aguero-Rosenfeld ME. Ehrlichia, Anaplasma, and related intracellular Bacteria. In: Murray P, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ME and Pfaller MA (Eds). Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. Washington DC: ASM Press;2007. p.1046-61.
46. Stuen S, Van DP, Bergstrom IK and Schouls LM. Identification of Anaplasma phagocytophila (formerly Ehrlichia phagocytophila) variants in blood from sheep in Norway. J Clin Microbiol 2002;40:3192-7.
47. Massung RF, Mauel MJ, Owens JH, Allan N, Courtney JW, Stafford KC et al. Genetic variants of Ehrlichia phagocytophila, Rhode Island and Connecticut. Emerg Infect Dis 2002;8:467-72.
48. Brouqui P, Sanogo YO, Caruso G, Merola F and Raoult D. Candidatus Ehrlichia walkerii: a new Ehrlichia detected in Ixodes ricinus tick collected from asymptomatic humans in Northern Italy. Ann N Y Acad Sci 2003;990:134-40.
49. Blouin EF and Kocan KM. Morphology and development of Anaplasma marginale (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in cultured Ixodes scapularis (Acari: Ixodidae) cells. J Med Entomol 1998;35:788-97.
50. Popov VL, Chen SM, Feng HM and Walker DH. Ultrastructural variation of cultured Ehrlichia chaffeensis. J Med Microbiol 1995;43:411-21.

51. Brouqui P, Birg ML and Raoult D. Cytopathic effect, plaque formation, and lysis of *Ehrlichia chaffeensis* grown on continuous cell lines. *Infect Immun* 1994;62:405-11.
52. Ohashi N, Zhi N, Lin Q and Rikihisa Y. Characterization and transcriptional analysis of gene clusters for a type IV secretion machinery in human granulocytic and monocytic ehrlichiosis agents. *Infect Immun* 2002;70:2128-38.
53. Fishbein DB, Dawson JE and Robinson LE. Human ehrlichiosis in the United States, 1985 to 1990. *Ann Intern Med* 1994;120:736-43.
54. Paddock CD and Childs JE. *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:37-64.
55. Standaert SM, Yu T, Scott MA, Childs JE, Paddock CD, Nicholson WL et al. Primary isolation of *Ehrlichia chaffeensis* from patients with febrile illnesses: clinical and molecular characteristics. *J Infect Dis* 2000;181:1082-8.
56. Schutze GE and Jacobs RF. Human monocytic ehrlichiosis in children. *Pediatrics* 1997;100:e10.
57. Olano JP and Walker DH. Human ehrlichioses. *Med Clin North Am* 2002;86:375-92.
58. Safdar N, Love RB and Maki DG. Severe *Ehrlichia chaffeensis* infection in a lung transplant recipient: a review of ehrlichiosis in the immunocompromised patient. *Emerg Infect Dis* 2002;8:320-3.
59. Paddock CD, Suchard DP, Grumbach KL, Hadley WK, Kerschmann RL, Abbey NW et al. Brief report: fatal seronegative ehrlichiosis in a patient with HIV infection. *N Engl J Med* 1993;329:1164-7.
60. Paddock CD, Sumner JW, Shore GM, Bartley DC, Elie RC, McQuade JG et al. Isolation and characterization of *Ehrlichia chaffeensis* strains from patients with fatal ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* 1997;35:2496-502.
61. Marty AM, Dumler JS, Imes G, Brusman HP, Smrkovski LL and Frisman DM. Ehrlichiosis mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura. Case report and pathological correlation. *Hum Pathol* 1995;26:920-5.
62. Fichtenbaum CJ, Peterson LR and Weil GJ. Ehrlichiosis presenting as a life-threatening illness with features of the toxic shock syndrome. *Am J Med* 1993;95:351-7.
63. Table 2. Summary of provisional cases of selected notifiable diseases. 2005. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml>
64. Olano JP, Masters E, Hogrefe W and Walker DH. Human monocytotropic ehrlichiosis, Missouri. *Emerg Infect Dis* 2003;9:1579-86.
65. Brouqui P, Le CC, Kelly PJ, Laurens R, Tounkara A, Sawadogo S et al. Serologic evidence for human ehrlichiosis in Africa. *Eur J Epidemiol* 1994;10:695-8.

66. Cinco M, Barbone F, Grazia CM, Mascioli M, Anguero RM, Stefanel P et al. Seroprevalence of tick-borne infections in forestry rangers from northeastern Italy. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:1056-61.
67. Gongora-Biachi RA, Zavala-Velazquez J, Castro-Sansores CJ and Gonzalez-Martinez P. First case of human ehrlichiosis in Mexico. *Emerg Infect Dis* 1999;5:481.
68. Ripoll CM., Remondegui CE, Ordonez G, Arazamendi R, Fusaro H, Hyman MJ et al. Evidence of rickettsial spotted fever and ehrlichial infections in a subtropical territory of Jujuy, Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:350-4.
69. Wen B, Jian R, Zhang Y and Chen R. Simultaneous detection of *Anaplasma marginale* and a new *Ehrlichia* species closely related to *Ehrlichia chaffeensis* by sequence analyses of 16S ribosomal DNA in *Boophilus microplus* ticks from Tibet. *J. Clin. Microbiol.* 40:3286-90.
70. Cao WC, Gao YM, Zhang PH, Zhang XT, Dai QH, JS Dumler et al. Identification of *Ehrlichia chaffeensis* by nested PCR in ticks from Southern China. *J Clin Microbiol* 2000;38:2778-80.
71. Bakken JS, Krueth J, Wilson-Nordskog C, Tilden RL, Asanovich K and Dumler JS. Clinical and laboratory characteristics of human granulocytic ehrlichiosis. *JAMA* 1996;275:199-205.
72. Remy V, Hansmann Y, De MS, Christmann D and Brouqui P. Human anaplasmosis presenting as atypical pneumonitis in France. *Clin Infect Dis* 2003;37:846-8.
73. Petrovec M, Lotric FS, Zupanc TA, Strle F, Brouqui P, Roux V et al. Human disease in Europe caused by a granulocytic *Ehrlichia* species. *J Clin Microbiol* 1997;35:1556-9.
74. Park JH, Heo EJ, Choi KS, Dumler JS and Chae JS. Detection of antibodies to *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis* antigens in sera of Korean patients by western immunoblotting and indirect immunofluorescence assays. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:1059-64.
75. Karlsson U, Bjoersdorff A, Massung RF and Christensson B. Human granulocytic ehrlichiosis--a clinical case in Scandinavia. *Scand J Infect Dis* 2001;33:73-4.
76. Heo EJ, Park JH, Koo JR, Park MS, Park MY, Dumler JS et al. Serologic and molecular detection of *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophila* (human granulocytic ehrlichiosis agent) in Korean patients. *J Clin Microbiol* 2002;40:3082-5.
77. Comer JA, Nicholson WL, Olson JG and Childs JE. Serologic testing for human granulocytic ehrlichiosis at a national referral center. *J Clin Microbiol* 1999;37:558-64.
78. Brouqui P, Bacellar F, Baranton G, Birtles RJ, Bjoersdorff A, Blanco JR et al. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:1108-32.
79. Arnez M, Petrovec M, Lotric-Furlan S, Zupanc TA and Strle F. First European pediatric case of human granulocytic ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* 2001;39:4591-2.

80. Aguero-Rosenfeld ME. Diagnosis of human granulocytic ehrlichiosis: state of art. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2002;2:233-9.
81. Bakken JS, Aguero-Rosenfeld ME, Tilden RL, Wormser GP, Horowitz HW, Raffalli JT et al. Serial measurements of hematologic counts during the active phase of human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Infect Dis* 2001;32:862-70.
82. Hossain D, Aguero-Rosenfeld ME, Horowitz HW, Wu JM, Hsieh TC, Sachdeva N et al. Clinical and laboratory evolution of a culture-confirmed case of human granulocytic ehrlichiosis. *Conn Med* 1999;63:265-70.
83. Hardalo CJ, Quagliarello V and Dumler JS. Human granulocytic ehrlichiosis in Connecticut: report of a fatal case. *Clin Infect Dis* 1995;21:910-4.
84. Walker DH and Dumler JS. Human monocytic and granulocytic ehrlichioses. Discovery and diagnosis of emerging tick-borne infections and the critical role of the pathologist. *Arch Pathol Lab Med* 1997;121:785-91.
85. Buller RS, Arens M, Hmiel SP, Paddock CD, Sumner JW, Rikihisa Y et al. Ehrlichia ewingii, a newly recognized agent of human ehrlichiosis. *N Engl J Med* 1999;341:148-55.
86. Wolf L, McPherson T, Harrison B, Engber B, Anderson A and Whitt P. Prevalence of Ehrlichia ewingii in Amblyomma americanum in North Carolina. *J Clin Microbiol* 2000;38:2795.
87. Yabsley MJ, Varela AS, Tate CM, Dugan VG, Stallknecht DE, Little SE et al. Ehrlichia ewingii infection in white-tailed deer (Odocoileus virginianus). *Emerg Infect Dis* 2002;8:668-71.
88. Barnewall RE, Ohashi N and Rikihisa Y. Ehrlichia chaffeensis and E. sennetsu, but not the human granulocytic ehrlichiosis agent, colocalize with transferrin receptor and up-regulate transferrin receptor mRNA by activating iron-responsive protein 1. *Infect Immun* 1999;67:2258-65.
89. Perez M, Rikihisa Y and Wen B. Ehrlichia canis-like agent isolated from a man in Venezuela: antigenic and genetic characterization. *J Clin Microbiol* 1996;34:2133-9.
90. Egenvall A, Bonnett BN, Gunnarsson A, Hedhammar A, Shoukri M, Bornstein S et al. Sero-prevalence of granulocytic Ehrlichia spp. and Borrelia burgdorferi sensu lato in Swedish dogs 1991-94. *Scand J Infect Dis* 2000;32:19-25.
91. Rikihisa Y. The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. *Clin Microbiol Rev* 1991;4:286-308.
92. Ulutaş B, Bayramlı G and Karagenç T. First Case of Anaplasma (Ehrlichia) platys Infection in a Dog in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2005;31:279-82.
93. Madigan JE and Gribble D. Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968-1981). *J Am Vet Med Assoc* 1987;190:445-8.

94. Barlough JE, Madigan JE, DeRock E, Dumler JS and Bakken JS. Protection against Ehrlichia equi is conferred by prior infection with the human granulocytotropic Ehrlichia (HGE agent). J Clin Microbiol 1995;33:3333-4.
95. Holland CJ, Ristic M, Cole AI, Johnson P, Baker G and Goetz T. Isolation, experimental transmission, and characterization of causative agent of Potomac horse fever. Science 1985;227:522-4.
96. Pusterla N, Madigan JE, Chae JS, DeRock E, Johnson E and Pusterla JB. Helminthic transmission and isolation of Ehrlichia risticii, the causative agent of Potomac horse fever, by using trematode stages from freshwater stream snails. J Clin Microbiol 2000;38:1293-7.
97. Palmer GH, Brown WC and Rurangirwa FR. Antigenic variation in the persistence and transmission of the ehrlichia Anaplasma marginale. Microbes Infect 2000;2:167-76.
98. Mattioli RC, Bah M, Reibel R and Jongejan F. Cowdria ruminantium antibodies in acaricide-treated and untreated cattle exposed to Amblyomma variegatum ticks in The Gambia. Exp Appl Acarol 2000;24:957-69.
99. Tajima T and Rikihisa Y. Cytokine responses in dogs infected with Ehrlichia canis Oklahoma strain. Ann N Y Acad Sci 2005;1063:429-32.
100. Brouqui P, Lecam C, Olson J and Raoult D. Serologic diagnosis of human monocytic ehrlichiosis by immunoblot analysis. Clin Diagn Lab Immunol 1994;1:645-9.
101. Chen SM, Dumler JS, Feng HM and Walker DH. Identification of the antigenic constituents of Ehrlichia chaffeensis. Am J Trop Med Hyg 1994;50:52-8.
102. Wong SJ, Brady GS and Dumler JS. Serological responses to Ehrlichia equi, Ehrlichia chaffeensis, and Borrelia burgdorferi in patients from New York State. J Clin Microbiol 1997;35:2198-205.
103. Bjoersdorff A, Bagert B, Massung RF, Gusa A and Eliasson I. Isolation and characterization of two European strains of Ehrlichia phagocytophila of equine origin. Clin Diagn Lab Immunol 2002;9:341-3.
104. Woldehiwet Z, Horrocks BK, Scaife H, Ross G, Munderloh UG, Bown K et al. Cultivation of an ovine strain of Ehrlichia phagocytophila in tick cell cultures. J Comp Pathol 2002;127:142-9.
105. Goodman JL, Nelson C, Vitale B, Madigan JE, Dumler JS, Kurtti TJ et al. Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis. N Engl J Med 1996;334:209-15.
106. Horowitz HW, Hsieh TC, Aguero-Rosenfeld ME, Kalantarpour F, Chowdhury I, Wormser GP et al. Antimicrobial susceptibility of Ehrlichia phagocytophila. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:786-8.

107. Klein MB, Nelson CM and Goodman JL. Antibiotic susceptibility of the newly cultivated agent of human granulocytic ehrlichiosis: promising activity of quinolones and rifamycins. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:76-9.
108. Brouqui P and Raoult D. In vitro antibiotic susceptibility of the newly recognized agent of ehrlichiosis in humans, *Ehrlichia chaffeensis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2799-803.
109. Branger S, Rolain JM and Raoult D. Evaluation of antibiotic susceptibilities of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Anaplasma phagocytophilum* by real-time PCR. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:4822-8.
110. Buitrago MI, Ijdo JW, Rinaudo P, Simon H, Copel J, Gadbow J et al. Human granulocytic ehrlichiosis during pregnancy treated successfully with rifampin. *Clin Infect Dis* 1998;27:213-5.
111. Iqbal Z and Rikihisa Y. Reisolation of *Ehrlichia canis* from blood and tissues of dogs after doxycycline treatment. *J Clin Microbiol* 1994;32:1644-9.
112. Dumler JS, Sutker WL and Walker DH. Persistent infection with *Ehrlichia chaffeensis*. *Clin Infect Dis* 1993;17:903-5.
113. Roland WE, McDonald G, Cauldwell CW and Everett ED. Ehrlichiosis-a cause of prolonged fever. *Clin Infect Dis* 1995;20:821-5.
114. Dedeoglu-Kılınç G, Gurcan S, Eskiocak M, Kılıc H and Kunduracılar H. [Investigation of tularemia seroprevalence in the rural area of Thrace region in Turkey]. *Mikrobiyol Bul* 2007;41:411-8.
115. Dawson JE, Anderson BE, Fishbein DB, Sanchez JL, Goldsmith CS, Wilson KH et al. Isolation and characterization of an *Ehrlichia* sp. from a patient diagnosed with human ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* 1991;29:2741-5.
116. Johansson KE, Pettersson B, Uhlen M, Gunnarsson A, Malmqvist M and Olsson E. Identification of the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in Swedish dogs and horses by direct solid phase sequencing of PCR products from the 16S rRNA gene. *Res Vet Sci* 1995;58:109-12.
117. Madigan JE, Richter PJ, Kimsey RB, Barlough JE, Bakken JS and Dumler JS. Transmission and passage in horses of the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis* 1995;172:1141-4.
118. Greig B, Asanovich KM, Armstrong PJ and Dumler JS. Geographic, clinical, serologic, and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis, a likely zoonotic disease, in Minnesota and Wisconsin dogs. *J Clin Microbiol* 1996;34:44-8.
119. Avkan-Oğuz V, Uçan ES, Peksel H, Fidan F, Şengün B, Yılmaz E ve ark. Kene Kaynaklı Akciğer Hastalığı: Bir Olgu Nedeniyle. *Toraks Derg* 2004;5:211-5.

120. Kuloglu F, Akata F, Tansel Ö, Gurcan S, Sakru N, Otkun M et al. Serologically Confirmed Cases of Mediterranean Spotted Fever in the Trakya Region of Turkey. *Turkiye Parazitol Derg* 2004;28:167-70.
121. Christova I and Gladnishka T. Prevalence of infection with *Francisella tularensis*, *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* in rodents from an endemic focus of tularemia in Bulgaria. *Ann Agric Environ Med* 2005;12:149-52.
122. Sun J, Liu Q, Lu L, Ding G, Guo J, Fu G et al. Coinfection with Four Genera of Bacteria (*Borrelia*, *Bartonella*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia*) in *Haemaphysalis longicornis* and *Ixodes sinensis* Ticks from China. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008 (In press).
123. Stanczak J, Racewicz M, Kruminis-Lozowska W and Kubica-Biernat B. Coinfection of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in northern Poland with the agents of Lyme borreliosis (LB) and human granulocytic ehrlichiosis (HGE). *Int J Med Microbiol* 2002;291 Suppl 33:198-201.
124. Mitchell PD, Reed KD and Hofkes JM. Immunoserologic evidence of coinfection with *Borrelia burgdorferi*, *Babesia microti*, and human granulocytic *Ehrlichia* species in residents of Wisconsin and Minnesota. *J Clin Microbiol* 1996;34:724-7.
125. Bakken JS, Goellner P, Van EM, Boyle DZ, Swonger OL, Mattson S et al. Seroprevalence of human granulocytic ehrlichiosis among permanent residents of northwestern Wisconsin. *Clin Infect Dis* 1998;27:1491-6.

EKLER

Ek 1

Gönüllülerin özelliklerinin kaydedildiği form

TULAREMİ ANKET FORMU			
Adı – Soyadı:		Yaşı:	Cinsiyet:
Adres: Mahalle: Köy: İlçe: İl:		Telefon Ev: cep:	Meslek:
Kullandığı su kaynağı	Şebeke: ()	Akarsu: ()	Diğer:
Su klorlanıyor mu?	Evet ()	Hayır ()	
Yağmurlu günlerde su bulanıyor mu?	Evet ()	Hayır ()	
<u>Son üç ay içerisinde:</u>			
Av hayvanı: Yeme: Var () Yok () Temas (temizlik, dokunma, kesme vb): Var ()Yok ()			
Fare ile temas (ölü veya canlı): Var () Yok ()			
Farelerde artış: Var ()Yok () Varsa evde (), çevrede (), diğer.....			
Kemirici dışkı, idrar vb gibi hayvan atıklarına rastlama: Var () Yok () Varsa nerelerde? ahırda () evde () mutfakta () çevrede ()			
Kemirici hayvan ölüsü görme: Var () Yok () Varsa nerede? Evde (), çevrede (), diğer.....			
Böcek ısırığı: Var () Yok () Varsa ne tür böcek? Sivrisinek (), kene (), diğer.....			
Çevreden yiyecek toplama: Var () Yok () Varsa ne tür? Mantar (), böğürtlen (), diğer.....			
Çevreden su içme: Var () Yok () Varsa nerelerden? Göl (), dere (), pınar (), diğer			
Yüzme: Var () Yok () Varsa nerelerde? Göl (), dere (), diğer.....			
Ev içinde hayvan besleme: Var () Yok () Varsa ne tür? Kedi (), köpek (), diğer.....			
Bahçede hayvan besleme: Var () Yok () Varsa ne tür? Kedi (), köpek (), diğer.....			
Ev hayvanlarında ölüm: Var () Yok () Bilgi.....			
Doğada uğraş (bahçe, orman, yayla...): Var () Yok () Varsa: Hangi ayda:.....			
Seyahat: Var () Yok () Varsa; neresi..... ne zaman.....			
Taze peynir yeme: Var () Yok ()		Hayvanlarda yavru atma: Var () Yok ()	
Çiğ süt içme: Var () Yok ()			
<i>Tularemi araştırılmasıyla ilgili çalışmaya kendi isteğimle katılıyorum.</i>			
<i>Tarih:</i>			
<i>İmza:</i>			

Ek 2

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı: 12

Karar Tarihi:14.06.2007

9-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 14.06.2007 tarihinde; "Trakya Bölgesi Kırsal Alanlarında Kene Isırığı Öyküsü Olan Kişilerde Erlihyoz Seropozitifliği" adlı TÜTFEK-2007/113 protokol no.lu çalışmayı incelemek üzere toplandı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yapılacağı, Doç. Dr. Şaban GÜRCAN'ın yürütücüsü olduğu ve araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda Helsinki Deklerasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve araştırma bütçesinin Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılmasının UYGUN olduğuna mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. Ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Gürcan ALTUN Üye	Adli Tıp	T.Ü.T.F. Adli Tıp A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Avukat Mustafa POLAT Üye	Ceza Hukuku	T.Ü. Rektörlüğü	E	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile ilişki

** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA
Dekan

Posta Adresi:

T.Ü. Tıp Fakültesi Dekanlığı

Güllapoğlu Yerleşkesi

22030 EDİRNE

Tel: (0284) 235 76 53 – 235 73 73

Faks: (0284) 235 76 52

E-posta: dekanlik@trakya.edu.tr

Elektronik Ağ: http://tipfak.trakya.edu.tr



T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ

SAYI : B.30.2.TRK.0.70.73.0/1944-5596
KONU :

EDİRNE

11 NİSAN 2008

Sayın Doç. Dr. Şaban GÜRCAN
Trakya Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
EDİRNE

Yöneticiliğini yapmış olduğunuz ve Arş. Gör. Dr. Haluk KILIÇ'ın "Trakya Bölgesi Kırsal Alanlarında Kene Isırığı Öyküsü Olan Kişilerde Erlihyoz Seropozitifliği" başlıklı tıpta uzmanlık projesinin, 6 (altı) ay süre ve 12.435,00 YTL ile desteklenmesine, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun 01.04.2008 tarih ve 63 sayılı toplantısında mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesi'nin 12. maddesi uyarınca düzenlenen ve ekte sunulan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Sözleşmesi'nin tarafınızca imzalanarak 1 (bir) hafta içinde Rektörlüğe iletilmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Beyhan KARAMANLIOĞLU
Rektör Yardımcısı ve
Komisyon Başkanı

EK: 1 adet protokol sözleşmesi