

Kene Isırığı Öyküsü Olan Kişilerde Anaplazmoz Seropozitifliği

Anaplasmosis Seropositivity in People Exposed to Tick Bite

Haluk KILIÇ,¹ Şaban GÜRCAN,¹ Hakan KUNDURACILAR,² Muzaffer ESKİOCAK³

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi ¹Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ³Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Edirne;

²Trakya Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Yüksek Okulu, Edirne

Başvuru tarihi / Submitted: 02.03.2008 **Kabul tarihi / Accepted:** 20.03.2008

Amaç: Kene ısırığı öyküsü olan kişilerde anaplazmoz seropozitifliğinin araştırılması amaçlandı.

Gereçler ve Yöntemler: Trakya Bölgesi kırsal alanlarında kene ısırığı öyküsü olan 116 kişi (89 erkek, 27 kadın; ort. yaş 43; dağılım 6-88) çalışmaya alındı. Bir anket formu ile risk faktörü olabilecek durumlar sorgulandı. Gönüllülerden alınan serumlar çalışma yapıncaya kadar -70°C'lik derin dondurucuda saklandı. Serumlarda indirekt floresan antikor (IFA) yöntemi ile *Anaplasma phagocytophilum* antikorları araştırıldı.

Bulgular: *A. phagocytophilum* antikorları 29 kişide (%25) pozitif bulundu. Anaplazmoz seropozitifliği için at/eşek teması bir risk faktörü olarak belirlendi.

Sonuç: Trakya Bölgesi'nin kırsal alanlarında yaşayan, kene ile ısırılmış insanlarda *A. phagocytophilum*'a karşı gelişen antikorlar yüksek oranlarda saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: Erlihyoz; anaplazmoz; seroprevalans; kene kaynaklı hastalıklar.

Objectives: It was aimed to investigate anaplasmosis seropositivity in people exposed to tick bite.

Materials and Methods: A total of 116 individuals (89 males, 27 females; mean age 43; range 6 to 88 years) with tick bite history in rural areas of Thrace Region were included in this study. Possible risk factors were evaluated by a questionnaire. Sera obtained from volunteers were preserved in -70°C deep freezer until the study is done. Antibodies against *Anaplasma phagocytophilum* were investigated by indirect fluorescent antibody (IFA) test in the sera.

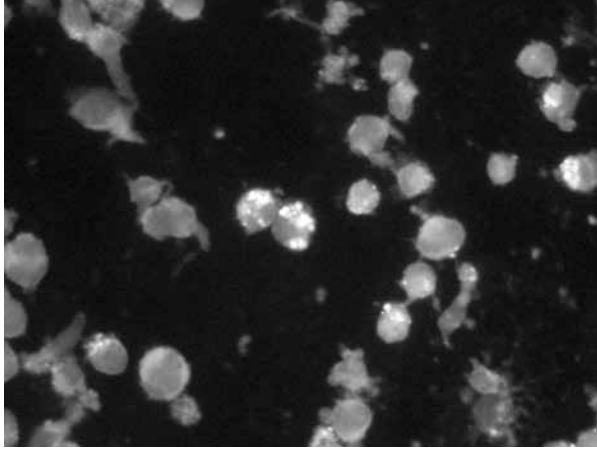
Results: Antibodies against *A. phagocytophilum* were positive for 29 individuals (25%). Contact with horse/donkey is defined as a risk factor for anaplasmosis seropositivity.

Conclusion: Antibodies against *A. phagocytophilum* were found at high rates in people exposed to tick bite in rural areas of Thrace Region.

Key words: Ehrlichiosis; anaplasmosis; seroprevalance; tick-borne diseases.

Anaplasma phagocytophilum kene kaynaklı zoonotik hastalıklara neden olan zorunlu intrasellüler bakterilerdir ve lökositlere tropizm gösterirler.^[1,2] Erlihyoz/anaplazmoz etkenleri, kenelerle hayvanlar arasındaki döngüde yer alırlar. Memelilerin, doğadaki bu bakterilerin idamesi ve yaşam döngüsünde büyük rolü vardır. Erlihyoz/anaplazmozların asıl rezervuarları memelilerdir.^[1-3] Hayvan kesim işiyle uğraşan kasaplarda kene ısırığı olmadan direkt inokülasyon yolu ile de hastalık bildirilmiştir.^[1,4]

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 1994 yılında sadece granülositlere tropizm gösteren insan granülositik erlihyozu (HGE) ilk kez tanımlanmış ve Avrupa'da da olduğu gösterilmiştir.^[2-4] HGE'ye sebep olan ajanlar *Ehrlichia equi* ve *E. phagocytophila* yakın ilişkili olarak bulunmuş ve artık *Anaplasma* cinsi içinde *Anaplasma phagocytophilum* olarak isimlendirilmiştir.^[5] Hastalık da tekrar isimlendirilerek insan granülositik anaplazmoz (HGA) olarak değiştirilmiştir.^[2,3,6]



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

Kırsal kesimde yaşayan bireyler kene ısırığına maruz kalır. Bu popülasyonda erlihyoz/anaplazmoz saptanması Avrupa'da %28'e kadar varabilmekte hatta ABD'de bu rakam %36'lara çıkmaktadır. Ülkemizde son yıllarda kene kaynaklı enfeksiyonlardaki artış ve çeşitlilik düşünülürse özellikle kırsal alanlarda yaşayanlarda anaplazmozun da potansiyel bir tehlike oluşturduğu söylenebilir. Hatta bu hastalıkların tanılarını için bir inceleme yapılmadığından yanlış tanımlarla izlem ve takipleri yapılmakta olabilir. Bu çalışmayla Trakya Bölgesi'nin kırsal alanlarında yaşayan, kene ile ısırılmış insanlarda anaplazmoz seropozitifliğinin araştırılması amaçlandı.

GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Trakya Bölgesi'nin (Edirne, Kırklareli, Tekirdağ) kırsal alanlarında daha önceden yapılan tularemi seroprevalans çalışması^[7] için 30 köyden toplanmış 1782 ve ek olarak kene ısırığının sık olduğu üç köyden toplanmış 76 serum örneği içinden kene ısırığı öyküsü olan toplam 116 kişinin serumları incelendi. Serumlar çalışma yapılncaya kadar -70 °C'de saklandı. Etkene karşı gelişen antikorlar *Anaplasma phagocytophilum* IFA IgG (Focus Technologies, USA) kiti ile floresan mikroskopide araştırıldı (Şekil 1).

Veriler yüzdelikler olarak gösterildi, karşılaştırmalarda ki-kare analizi yapıldı. P değeri <0.05 olduğunda fark anlamlı kabul edildi. Bu çalışma yerel etik kuruldan alınan izinle yapıldı. Çalışmaya katılım gönüllülük esası

ve uluslararası Helsinki deklarasyonuna uygun şekilde sağlandı.

BULGULAR

Toplam 116 kene ısırığı öyküsü olan kişilerin 13'ü Edirne'de, 23'ü Tekirdağ'da, 80'i Kırklareli'de oturuyordu. Gönüllülerin 89'u erkek, 27'si kadın ve medyan yaşı 43 (6-88) idi.

Örneklerin 29'unda (%25) antikor pozitif bulunurken, 87 kişide (%75) negatifti. İllere göre dağılım, cinsiyet, yaş ve mesleğe göre seropozitiflik oranı açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 1).

Antikor görülme frekansı köpek, kedi, büyükbaş ve küçükbaş hayvan, kümes hayvanı besleyenlerde seropozitiflik oranı açısından bir fark saptanmazken, at/eşek besleyenlerde seropozitiflik daha fazla saptandı (ki-kare=5.524, p=0.019) (Tablo 2).

TARTIŞMA

Dünyada son yüzyılda erlihyoz/anaplazmozlarla ilgili çok sayıda çalışma yapılmışken ülkemizde bu hastalıklarla ve etkenlerle ilgili çalışmalar 2000 yılından sonra başlamıştır. Bu çalışmalarda^[8-13] hayvanlarda ve kenelerde etkenlerin varlıkları serolojik veya moleküler yöntemlerle gösterilmiş ve bir seroprevalans çalışmasında^[14] da insanların bundan etkilendikleri belirlenmiştir.

Türkiye'de bizim bilgilerimize göre insanlarda anaplazmoz varlığının gösterildiği ilk ve tek yayın Ongut ve ark.nın^[14] çalışması olarak kabul edilebilir. Şen^[9] tarafından yapılan bir çalışmada Trakya Bölgesi'ndeki kenelerde *Anaplasma* varlığı moleküler yöntemlerle gösterilmiştir. 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 erlihyoz/anaplazmozun da bölgemizde insanları etkileyebileceği ve hastalıklara neden olabileceği yönünde kanılara sahip olmamıza neden olmuştur.^[15] 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 bugüne kadar hiçbir akut anaplazmoz olgusunun bildirilmediği göz önüne alındığında bazı olguların yanlış tanı aldıklarını akla getirmektedir.

Tablo 1. Antikor görülme frekansı ve illere göre dağılımı (ki-kare=0.361, p=0.835)

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

Tablo 2. At/eşek beslemenin antikor görülme frekansına etkisi

	HGA IgG pozitif		HGA IgG negatif		Toplam	
	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

A. phagocytophilum tarafından meydana getirilen HGA'nın insidansı son 20 yılda giderek artmış ve bu hastalık bazı ölümlerin nedeni olmuştur. HGA'nın erken dönem belirtileri spesifik değildir, hatta viral hastalıkları taklit eder. Spesifik teşhis erken dönemde yapılamayabilir ancak antibiyotik tedavisi başarılıdır.^[16] Ülkemizde bugüne kadar herhangi bir erlihyoz/anaplazmoz olgusunun bildirilmemiş olmasının hiç olgu olmamasına mı yoksa ayırıcı tanıda düşünülmemesine mi bağlı olup olmadığı bilinmemektedir. Bu çalışmada yüksek oranda seropozitiflik tespit edilmesi insanların bu hastalıklardan etkilendiğinin bir kanıtı olarak değerlendirilebilir. Ongut ve ark.nın^[14] Akdeniz Bölgesi'nde de seropozitiflik saptamaları, Türkiye'deki tanı laboratuvarlarının bu hastalığın tanısını koymaya yardım edecek tetkik olanaklarını da rutin uygulamada bulundurma gerekliliklerini vurgulaması açısından önemlidir.

HGA etkeninin hayat döngüsü; sert keneler, insan olmayan vertebralılar ve insan şeklindedir. HGA etkeni ABD'nin kuzeyinde *Ixodes scapularis* türü kenelerde ve kuzeydoğu ve üst-orta batı bölgelerinde *I. pacificus* türü sert kenelerde gösterilmiştir.^[16] 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.^[17,18] Ülkemizde Şen^[9] *I. ricinus* kenelerinde PCR ile *A. phagocytophilum*'u (%3 oranında) göstermiştir. Yine ülkemizde 2003'te Christova ve ark.^[19] 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 alınmış ve kene ısırığı öyküsü olanlarda seroprevalans araştırılmıştır. Yüksek oranda seropozitiflik saptanması, riketsiyozda olduğu gibi anaplazmoz yönünden de bölgemizin yüksek risk taşıdığı göstermektedir.

Sunulan çalışmada anaplazmoz için risk faktörü olabilecek 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.nın^[20] 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^[21-23] da açık şekilde görülmektedir.

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

Teşekkür

Çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP 2008/27) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Bakken JS, Dumler JS. Human granulocytic ehrlichiosis. Clin Infect Dis 2000;31:554-60.
2. Parola P, Davoust B, Raoult D. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. Vet Res 2005;36:469-92.
3. Olano JP, Hogrefe W, Seaton B, 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, Oteo JA. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. Clin Microbiol Infect 2002;8:763-72.
5. Chen SM, Dumler JS, Bakken JS, Walker DH. Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease. J Clin Microbiol 1994;32:589-95.
6. Parola P, Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. Clin Infect Dis 2001;32:897-928.
7. Dedeoğlu-Kılıç G, Gürcan Ş, Eskiocak M, Kılıç H, Kunduracılar H. Trakya Bölgesinin köylerinde tularemi seroprevalansının araştırılması. Mikrobiyol Bul 2007;41:411-8.
8. Sevinç F, Derinbay Ö. Bir sığırcılık işletmesinde anaplazmoz problemi. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi; 18-25 Eylül 2005; İzmir.
9. 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; 19-23 Eylül 2004; Aydın.
10. Karagenc T, Hosgor M, Bilgic HB, Pasa S, Kırılı G, 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; 18-25 Eylül 2005; İzmir.
11. Gokce HI, Genc O, Akca A, Vatansever Z, Unver A, 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.
 12. Arslan MÖ. Türkiye'de hayvanlarda kene enfestasyonları ve kenelerin bulaştırdığı hastalıkların durumu. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi; 18-25 Eylül 2005; İzmir.
 13. 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; 18-25 Eylül 2005; İzmir.
 14. 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.
 15. Kuloğlu F, Akata F, Tansel Ö, et al. Serologically confirmed cases of Mediterranean spotted fever in the Trakya Region of Turkey. *Türkiye Parazitol Derg* 2004;28:167-70.
 16. Bakken JS, Dumler S. Human granulocytic anaplasmosis. *Infect Dis Clin North Am* 2008;22:433-48.
 17. 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.
 18. Alekseev AN, Dubinina HV, 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.
 19. Christova I, Van De Pol J, Yazar S, Velo E, 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.
 20. Bakken JS, Goellner P, Van Etten M, 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.
 21. Johansson KE, Pettersson B, Uhlén M, Gunnarsson A, Malmqvist M, 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.
 22. Madigan JE, Richter PJ Jr, Kimsey RB, Barlough JE, Bakken JS, Dumler JS. Transmission and passage in horses of the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis* 1995;172:1141-4.
 23. Greig B, Asanovich KM, Armstrong PJ, 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.