

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Funda ÖZATA tarafından hazırlanan ‘*Ehrlichia canis* ve *Anaplasma phagocytophilum* ile infekte köpeklerde trombosit indeksleri; plateletkrit, ortalama trombosit hacmi ve trombosit dağılım genişliği’’ başlıklı tez, 08/06/2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Unvanı, Adı ve Soyadı :

Prof. Dr. Serdar PAŞA

Doç. Dr. Kerem URAL

Yrd. Doç. Dr. C.Çağrı CINGİ

Üniversitesi :

Adnan Menderes Üniversitesi

Adnan Menderes Üniversitesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi

imzası:

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Doç. Dr. Sacide KARAKAŞ
Enstitü Müdürü

Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Telefon: (256)2182044

09100-AYDIN
Fax: (256) 2182044

ÖNSÖZ

İklim değişiklikleri artropod vektörlerle bulaşması muhtemel infeksiyonların yayılmasında oldukça önem arz etmekte; vektörlerin biyolojileri, morfolojileri, çoğalmaları, direnci, doğada konakçı oldukları hayvanlardaki dağılımları ve populasyon özellikleri, patojenlerin vektörleri ve konakçıları enfekte etme oranları üzerinde etkili olmaktadırlar (Şen 2007).

Süregelen ısınmanın gerek insan gerekse hayvan sağlığına etkileri üzerindeki çalışmalar özellikle, "yeni çıkan" veya "yeniden çıkarak beliren" hastalıklar üzerinde yoğunlaşmaktadır. Burada üzerinde durulan teorilerden biride artan küresel sıcaklık derecelerinin patojenik olabilen mikroorganizmaların bulaşma oranlarını yükseltebileceği yönündedir. Artropodlarla taşınan hastalıklarla ilgili geçmiş kanıtlar iklim değişikliklerinin, infeksiyonların epidemiyolojik özelliklerinin yanısıra seroprevalansını ve dağılım alanlarını etkileyebileceğini göstermektedir. Özet olarak küresel ısınma vektörlerle bulaşabilen infeksiyonların epidemiyolojisini değiştirmektedir (Torfinn 2004, Şen 2007).

Köpeklerde vektör patojenlerle oluşturulan hastalıkların tanı, koruma ve sağaltımı ancak söz konusu infeksiyonların belirli coğrafik bölgelerde ki dağılımı belirlendiğinde etkili olmaktadır. Yurdumuzda ancak bölge bazında münferit olarak seçilmiş bölgelerde ya da illerde sınırlı sayıda hayvan populasyonu ile seroprevalans çalışmaları yapıldığından infeksiyonların gerçek dağılımı bilinmemektedir. Böylelikle SCI kapsamında ki önemli dergilerde yapılan yurtdışı çalışmalarda genel itibariyle Türkiye’deki seroprevalans çalışmalarına sınırlı sayıda atıf yapılmaktadır. Biz bu proje kapsamında daha önceki ön çalışma ve gözlemlerimiz doğrultusunda özellikle *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile infekte olduğu bilinen ve tespit edilmiş olan köpeklerin bulunduğu Ege bölgesinde ki illerin başında gelen İzmir ve Aydın illerini çalışma kapsamına aldık. Özellikle önce ki yıllarda Ege bölgesinde ki kimi illerde *E. canis* seropozitiflik oranları bilinmesine karşın özellikle *A. phagocytophilum*’un gerçek seroprevalansının ne olduğu en önemli soru işaretiydi. İlaveten söz konusu iki etkene ilişkili klinik tabanlı detaylı bir çalışma tarafımızdan belirlenemediği gibi hematolojik anormalliklerden özellikle trombosit belirteçlerinin irdelendiği bir çalışmada saptanamamıştır. Bu çalışmada *E. canis* ve *A. phagocytophilum* ile doğal olarak infekte köpeklerde klinik ve hematolojik bulguların ve özellikle trombosit indeksleri olan plateletkrit, ortalama trombosit hacmi ve trombosit

dağılım genişliğinin incelenerek söz konusu hastalıkların muhtemel tanısında ve belki de prognozunun belirlenmesinde ki önemini araştırmayı amaçladık.

Bu Yüksek Lisans Tezi Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından (VTF-11025) nolu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Ehrlichia canis</i>	3
1.1.1. Etiyoloji.....	3
1.1.2. Prevalans.....	4
1.1.3. Patogenez- hastalığın bulaşma seyri.....	6
1.1.4. Klinik Bulgular.....	7
1.1.5. Laboratuvar bulguları.....	8
1.1.6. Tanı.....	11
1.1.7. Sağaltım ve Korunma.....	13
1.2. <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	15
1.2.1. Etiyoloji.....	15
1.2.2. Patogenez- Hastalığın bulaşma seyri.....	16
1.2.3. Klinik Bulgular.....	18
1.2.4. Laboratuvar Bulguları.....	20
1.2.5. Tanı.....	21
1.2.6. Sağaltım ve Korunma.....	22
1.3. Trombosit İndeksleri.....	23
1.3.1. Ortalama Trombosit Hacmi.....	24
1.3.2. Platelekrit.....	26
1.3.3. Trombosit Dağılım Genişliği.....	27
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	28
2.1. Hayvan Materyalinin Seçimi.....	28
2.2. Laboratuvar Muayeneleri.....	29

2.2.1. Hematolojik Muayene.....	29
2.2.2. Serolojik Muayene.....	30
2.2.3. İstatistiksel Analiz.....	31
3. BULGULAR.....	33
3.1. Laboratuvar Bulguları.....	33
3.2. Serolojik Bulgular.....	33
3.3. Klinik Bulgular.....	35
3.4. Hematolojik Bulgular.....	44
3.4.1. Hematolojik değerlere ilişkin korelasyon analizi bulguları.....	44
4. TARTIŞMA.....	50
5. SONUÇ.....	57
ÖZET.....	59
SUMMARY.....	60
KAYNAKLAR.....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	82
TEŞEKKÜR.....	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
aPTT	: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
ELISA	: Enzim-linked Immunosorbent assay
IFAT	: İndirekt fluoresan antikor testi
Hb	: Hemoglobin değeri
HCT	: Hematokrit değeri
Ig G	: Immun globülin G
Ig M	: Immun globülin M
MCHC	: Ortalama eritrosit hemoglobilin hacmi
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MPV	: Ortalama trombosit hacmi
PCT	: Platelekrit
PDW _c	: Trombosit dağılım genişliği
PLT	: Trombosit sayısı
PSGL-1	: P selektif glikoprotein ligandı
PT	: Protrombin zamanı
PZR	: Polimeraz zincir tepkimesi
RBC	: Eritrosit sayısı
WBC	: Lökosit sayısı

ÇİZELGELER DİZİNİ

		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1	<i>Ehrlichia canis</i> infeksiyonunun Türkiye’ deki prevalansı	5
Çizelge 1.2	Köpeklerde trombosit indeksleri referans değerleri	27
Çizelge 2.1	‘Bilgi Onam Formu’ örneği	31
Çizelge 3.1	<i>E. canis</i> ve/veya <i>A. phagocytophilum</i> ile infekte köpeklerde hematolojik anormallikler	33
Çizelge 3.2	Tüm gruplarda burun akıntısına ilişkin tanımlayıcı istatistikler	39
Çizelge 3.3	Tüm gruplarda iştaha ilişkin tanımlayıcı istatistikler	40
Çizelge 3.4	Tüm gruplarda kilo kaybına ilişkin tanımlayıcı istatistikler	41
Çizelge 3.5	Tüm gruplarda kene enfestasyonuna ilişkin tanımlayıcı istatistikler	42
Çizelge 3.6	Tüm gruplarda lefadenopatiye ilişkin tanımlayıcı istatistikler	43
Çizelge 3.7	Tüm gruplarda lökosit ve eritrosit parametrelerine ait tanımlayıcı istatistikler	46
Çizelge 3.8	Tüm gruplarda trombosit parametrelerine ait tanımlayıcı istatistikler	47
Çizelge 3.9	Tüm gruplarda trombosit belirteçleri olan PCT, MPV ve PDWc ile paralel eritrosit parametreleri arasında korrelasyon katsayıları	48
Çizelge 3.10	Trombosit parametreleriyle anemi testleri arasındaki korelasyon	49

RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Resim 1.1.a <i>E. canis</i> morulası	12
Resim 1.1.b <i>E. canis</i> morulası	12
Resim 2.1 Tam kan sayımı için kullanılan Abacus Junior kan sayım cihazı	29
Resim 2.2 Snap 4Dx test prosedürü	30
Resim 3.1 1, 4, 5, 9, 12, 14 ve 16 numaralı olgu <i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> ile infekte, 7 numaralı olgu yalnızca <i>E. canis</i> ile infekte, 10 numaralı <i>E. canis</i> , <i>A. phagocytophilum</i> ve <i>D. immitis</i> ile ko-infekte ve çalışma kapsamına dahil edilmeyen olgu	34
Resim 3.2 <i>E. canis</i> ve <i>A. phagocytophilum</i> ile mix infekte bir köpeğin SNAP 4Dx sonucu	34
Resim 3.3 <i>A. phagocytophilum</i> ile infekte köpeğin snap 4DX ile tanısı	35
Resim 3.4.a <i>E. canis</i> ile infekte Boxer ırkı bir köpekte arka bacakta muhtemelen derin ven trombozuna bağlı ödem	36
Resim 3.4.b Aynı köpeğe ait Snap 4Dx testi ve tam kan sayımı sonucu	36
Resim 3.5 Granulositik Anaplasmozis ile infekte Rottweiler ırkı bir köpekte, yüksekateş, topallık ve santral sinir sistemi bulguları mevcut	37
Resim 3.6 <i>E. canis</i> ile infekte Terrier ırkı bir köpekte korneada hemorajik odaklar	37
Resim 3.7 <i>E. canis</i> ile infekte samoyed ırkı bir köpekte abdomen bölgesinde dermal peteşi ve ekimoz odakları	38
Resim 3.8 <i>A. phagocytophilum</i> ile infekte terrier bir köpekte abdomende dermal peteşi ve ekimoz odakları	38

1. GİRİŞ

Dış parazitler etkenlere bağlı şekillenen infeksiyöz ve zoonotik hastalıklar gerek insan sağlığı gerekse hayvan sağlığını direkt olarak olumsuz yönde etkileyen halen önemli bir sağlık sorunudur. Paraziter kaynaklı infeksiyöz hastalıklar veteriner hekimlikte önemli yer tutmaktadır. Antiparaziter mücadeledeki gelişmelere rağmen özellikle köpekler açısından parazitler zoonozlar endüstriyel gelişmeye karşı olan olumsuz etkilerini sürdürmektedirler.

Keneler riketsiyal, spiroketal, parazitik ve bakteriyel hastalıkların çok önemli bir vektörü olan kan emen ektoparazitlerdir. Kene ile nakledilen hastalıklar gerek sağlıklı gerekse hasta hayvanlarda ciddi infeksiyonlara dolayısıyla organ disfonksiyonlarına ve ölüme neden olmaktadır. Seyahat hastalığı olarak bilinen *Dirofilariozis*/*Ehrlichiosis*/*Borelliosis*/*Anaplazmozis* infeksiyonları yabancı ülkelere farklı ırk köpek ithalatının artması, hasta sahipleri ile birlikte köpeklerinin Avrupa veya diğer kıtalar/tropik bölgelere seyahatleri ve endemik oldukları bölgelerdeki mevcudiyeti ve yaygınlıkları ile oldukça önemlidirler.

Yukarıda sözü edilen bilgiler ışığında küresel ısınmanın tüm dünyadaki ülkeleri etkilediği göz önüne alındığında ülkemizde de Aydın ve İzmir gibi iklimik koşulların yoğun şekilde yaşandığı şehirlerde vektörlerle bulaşan hastalıkların da sıklığının arttığını gözlemlemekteyiz.

Vektörlerle bulaşan infeksiyöz hastalıkları az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için gerek insan sağlığı gerekse hayvan sağlığını direkt olarak olumsuz yönde etkileyen halen önemli bir sağlık sorunudur. Söz konusu infeksiyöz hastalıklar veteriner hekimlikte önemli yer tutmaktadır. *Ehrlichia* infeksiyonlarında bu infeksiyöz ve zoonoz hastalık etkenlerinin içerisinde yer almakta gerek insan gerekse hayvanlarda giderek artan sayıda olguların şekillenmesinden sorumlu olmaktadır.

Söz konusu hastalıklar içerisinde önemli bir yere sahip olan Granülositik Anaplazmozis ve Monositik Ehrlichiosis insan ve köpeklere kenelerle bulaşan bakteriyel hastalıklardır. Yapılan literatür taramalarında yurdumuzdaki belirsizliğin aksine, zoonotik aciller arasında gösterilen, önemi gittikçe artan *Ehrlichia canis* ve *Anaplasma phagocytophilum* enfeksiyonları ile ilgili klinik tabanlı araştırma yapılması gerekliliği

açıktır. Özellikle yurdumuzda Anaplazmozis’le ilişkili bazı çalışmalara münferit olarak rastlanılsada söz konusu çalışmaların hiçbirinde hastalığın etiyo-patogenezinine ilişkin klinik tabanlı detaylı bir çalışma bulunamamıştır.

Canine monositik ehrlichiosis ya da köpekte monositik ehrlichiosis’ inin etkeni *E. canis*’ dir (Harrus ve ark 1997). Bu etken köpek monositleri içerisinde replike olduğu gibi (hücre boyanmasından sonra morula evresi), kenelerin hedef hücreleri yerine, kırmızı kan hücreleri, tükürük bezleri ve intestinal hücrelerde de bulunabilir. Önemli kene türlerinden *Rhiphicephalus sanguineus* bu hastalığın ana vektörüdür ve parazitlerin aynı zamanda *Dermacentor variabilis*’ de bu ajanı nakledebilmektedir. Keneler bakterilerin ve parazitlerin doğal birer rezervuarlarıdır. Etken trans-ovarial ve trans-stadial olarak aktarılabilir. Hastalığın dünya üzerinde ki dağılımı, çeşitli çalışmalarda gösterildiği gibi vektörün varlığını takip eder (Harrus ve ark 1997).

Türkiyede günümüzde ilk klinik olgu 1997 yılında tespit edilmiştir. Daha sonra 2001 yılında 20 olgu saptanmıştır (Batmaz ve ark 2001). *E. canis* Türkiye’deki köpeklerde moleküler olarak 2005 yılında saptanmıştır (Unver ve ark 2006). Anılan çalışmada serolojik olarak aynı yıl 284 köpeğin 59’ unda *E. canis*’ e karşı spesifik antikorlar belirlenmiştir. Daha yüksek seropozitivite saptanan diğer bir serolojik çalışmada ise Ayvalık bölgesinde sağlıklı köpeklerde indirekt florasan antikor tekniği ile (111/164) %69’ unda seropozitivite saptanmıştır (Batmaz ve ark 2001).

A. phagocytophilum kene kaynaklı zoonotik hastalığa neden olan zorunlu intrasellüler bir bakteridir ve lökositlere ilgi gösterir. Önceki yıllarda riketsiyal hastalıklar içinde gösterilen Ehrlichia ve Anaplazma türleri günümüzde moleküler metodların gelişmesi ve diyagnostik analiz yöntemlerinin ilerlemesi ile birlikte taksonomileri değiştirilerek bakteri olarak yeniden tanımlanmıştır. Anaplazmoz etkenleri, kenelerle hayvanlar arasındaki döngüde yer almaktadır. Memeliler doğada ki bu bakterilerin idamesi ve yaşam döngüsünde çok önemli bir role sahiptir. Anaplazmoz etkenlerinin asıl rezervuarları memelilerdir. Hayvan kesimiyle uğraşan kasaplarda kene ısırığı öyküsü olmaksızın muhtemelen direkt inokülasyon yolu ile de hastalık şekillendiği bildirilmektedir (Engvall ve ark 1996, Liddell ve ark 2003, Melter ve ark 2007).

Ehrlichiozis terimi önceki yıllarda gerek insan gerekse hayvanlarda *Ehrlichia* genusunda bulunan birçok patojen ve ilişkili hastalığı tanımlamaktaydı. Ancak son yıllarda

mikroorganizmaların taksonomilerinde yapılan değişikliklerle birlikte *Anaplasma* ve *Neorickettsia* ve *Cowdria ruminantium* gibi bazı türlerinin *Ehrlichia sp.* ile birlikte *Ehrlichia* genusunda sınıflandırılmasının daha doğru olacağı bildirilmektedir (Dumler ve ark 2001). Son yıllarda özellikle *Ehrlichia chaffeensis* (human monocytic ehrlichiosis (HME) veya *A. phagocytophilum* human granulocytic ehrlichiosis (HGE) gibi Ehrlichiozis infeksiyonları giderek artan sayıda insanda hastalık tablosuna neden olmaktadır (McQuiston ve ark 1999). Kene ile mücadele yöntemlerindeki gelişmelere rağmen kene ile bulaşan söz konusu Ehrlichia infeksiyonları köpeklerde de benzer şekilde hastalık tablosu meydana getirmektedir. Köpeklerde *E. canis* Canine Monocytic Ehrlichiosis (Harrus 1997, Waner 2008) ve *A. phagocytophilum* ise Canine Granulocytic Anaplasmosis (Engvall ve ark 1996, Liddell ve ark 2003, Melter ve ark 2007) hastalıklarına neden olmaktadır. Dolayısıyla Ehrlichia infeksiyonlarının patogenezinin, oluşturduğu hastalık tablosunun kan ve ilişkili hücrelerden özellikle trombositlerde meydana getirdiği değişikliklerin incelenmesi gerek köpeklerde ve gerekse de elde edilecek sonuçların insan sağlığı açısından da hastalığın oluşturduğu tablonun aydınlatılmasına yardımcı olacaktır. Söz konusu hastalıkların köpeklerdeki patojenitesi ve dağılımı ile ilgili geniş bir bilgi dağılımı olmasına rağmen köpeklerde özellikle oluşturduğu hastalık tablosu ve etkilediği primer hematolojik değişikliklerden trombosit indeklerinin değerlendirildiği yeterli sayıda literatür bulunmamaktadır. Bu çalışmada *E. canis* ve *A. phagocytophilum* ile doğal olarak infekte köpeklerde trombosit indeksleri olan plateletkrit, ortalama trombosit hacmi ve trombosit dağılım genişliğinin incelenerek söz konusu hastalıkların muhtemel tanısı ve prognozunun değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

1.1. *Ehrlichia canis*

1.1.1. Etiyoloji

Ehrlichia canis çeşitli hayvan türlerini ve insanlarda farklı kan hücrelerini infekte eden, küçük, pleomorfik ve zorunlu hücre içi bir kokoidal gram negatif bir etkindir (Donatien ve Lestoquard 1937, Groves 1975). Söz konusu etken 1,315,030 adet nükleotitden oluşan tek dairesel kromozomdan yapılmıştır (Mavromatis ve ark 2006). Son yapılan sınıflandırmada Ehrlichial türler *Anaplasmatacea* ailesine dahil edilmiştir (Rikihisa 2003). Bu yeni sınıflandırmaya göre; köpeklerde Ehrlichia bakterilerinin neden olduğu iki tane lökotropik hastalık tanımlanmıştır bunlar köpek monositik Ehrlichiozisi (*E. canis*' in neden olduğu) ve köpek granulositik Ehrlichiozisi (*E. ewingi*' nin neden olduğu)

(Rikihişsa 2003). *E. canis* ile infeksiyon genellikle vektör olan kenelerin aktif olduğu sıcak mevsimlerde şekillenmektedir. Hastalıkla ilişkili olarak doksisisiklin veya tetrasiklin ile yeterli dozda ve uygun sürelerde sağaltılan köpeklerin büyük bir çoğunluğunda infeksiyonun akut ve subklinik fazlarında iyileşme meydana gelmektedir (Harrus ve ark 1999). Söz konusu etkenle infekte köpeklerden bazıları hastalığın kronik fazına geçmekte ve bu olgularda prognoz kötü seyretmektedir (Mylonakis ve ark 2004).

Köpeklerde monositik ehrlichiosis keneler tarafından bulaştırılan ve *Ehrlichia* genusunda *Anaplasmatacea* ailesinde yer alan gram negatif bir bakteri olup *E. canis* tarafından oluşturulan bir hastalıktır (Buhles ve ark 1974, Dumler ve ark 2001, Diniz ve ark 2008). Bu hastalığın akut fazı post enfeksiyöz 8 ila 21 gün içerisinde başlamaktadır ve hastalık tablosu 2 ila 24 hafta arasında sürebilmektedir (Neer ve Harrus 2006). *E. canis* etkeni monosit ve makrofajlara tropizm gösteren ve klasik bakterilerde ki gibi lipopolisakkarit içermeyen obligat intrasellüler bir bakteridir (Buhles ve ark 1974, Unver ve ark 2006). Köpek monositik ehrlichiosisi tüm dünyada yaygın olmakla birlikte tropikal ve subtropikal bölgelerde çok sıklıkla karşılaşılmaktadır (Buhles ve ark 1974, Rikihişsa ve ark 1991, Dumler ve ark 2001, Faria ve ark 2010). Brezilya’ da Canine Ehrlichiosis ile ilgili yapılan bir çalışmada 2553 köpeğin %19,8’ inin seropozitif olduğu belirlenmiştir (Labarthe ve ark 2003).

1.1.2. Prevalans

Yurdumuzda *E. canis*’in epidemiyolojisi üzerine oldukça sınırlı sayıda çalışma mevcut olduğundan gerçek anlamda bu hastalığın dağılımı ve seroprevalansı bilinmemektedir. İlk kapsamlı araştırmalardan birinde Akdeniz, Ege, Güneydoğu Anadolu bölgelerinde çok çeşitli illerde gerçekleştirilen bir çalışmada 284 köpeğin 59’unda %20,8 prevalans saptanmıştır (Batmaz ve ark 2001). Söz konusu çalışmaya dâhil edilen illerden Adana (%65,3) ve İzmir (%40,6) en yüksek prevalansa sahip iller olarak dikkat çekmektedir. Önceki yıllarda ağırlıklı olarak münferit olgu sunumlarına rastlanılsada (Börkü ve ark, 2003), moleküler düzeyde ilk çalışmalardan birisinde *E. canis* yönünden test uygulanan 239 köpekte Immun flörsan antikor testi ve dot-ELISA ile sırasıyla 162 (%67,8) ve 37 (%53,3) köpekte seropozitivite belirlenmiştir (Erdeğer ve ark 2002).

Daha sonraki yıllarda yapılan bir başka moleküler ağırlıklı çalışmada Ankara ilindeki 12 köpeğin 3’ünde PZR ile *E. canis*’ in pozitif olduğunu bildirilmiştir (Unver ve ark 2006). Ege bölgesinde Manisa, Marmaris, Muğla, Selçuk, Aydın gibi il bazlı bir

çalışmada, çeşitli yaş gruplarından ve ırklardan 371 köpekte Nested PZR ile teşhis edilen 154 olguda (% 41,5) *E. canis*' in pozitif olduğunu bildirilmektedirler (Karagenç ve ark 2005). Diyarbakır ilinde yakın zamanda hızlı ELİSA test kitleri (Snap 3Dx) ile yapılan yapılan bir çalışmada 82 köpeğin yalnızca 4'ünde (%4,8) *E.canis* antikorları tespit edilmiştir (İçen ve ark 2011). Ege bölgesinde yakın zamanda gerçekleştirilen bir projede köpeklerde Snap 4Dx ile % 27,5 seroprevalans saptanmıştır (Ural ve ark 2012).

Çizelge 1.1. *E. canis* infeksiyonunun Türkiye'deki prevalansı

Bölge	Hayvan Sayısı	Yöntem	Prevalans	Kaynak
Ege Bölgesi (İzmir) Akdeniz (Adana, Antalya) Marmara (Bursa, Balıkesir) Güneydoğu Anadolu Bölgesi (Şanlıurfa)	284	IFAT	%20,8	Batmaz ve ark. 2001
İç Anadolu Bölgesi (Ankara) Ege Bölgesi (Muğla, Aydın)	239	IFAT	%67,8	Erdeğer ve ark 2002
Ege Bölgesi (Aydın, Muğla, İzmir, Manisa)	371	PZR	%41,5	Karagenç ve ark 2005
Ege Bölgesi (Aydın, İzmir)	224	IFAT	%36,2	Tuna 2008
Ege Bölgesi (Aydın, İzmir, Muğla, Denizli, Manisa)	275	Snap4Dx	%27,5	Ural ve ark 2012

1.1.3. Patogenez- Hastalığın Bulaşma Seyri

Enfeksiyon, kenenin kan emmesi esnasında tükürük yoluyla iletilmekte veya kan transfüzyonu sonrasında bulaşma meydana gelmektedir.

Köpek monositik ehrlichiosis (KME)' in etkeni olan *E. canis* monosit ve makrofajlara ilgi göstermektedir. Hastalığın akut fazında post infeksiyöz 8 ila 21 gün içerisinde başlamakta (Neer ve Harrus 2006) ateş, depresyon, dispne, anoreksi, hemoraji, ödem ve kilo kaybına eşlik eden trombositopeni ve lökopeni, hafif anemi ve hipergamaglobulinemi gibi laboratuvar bulgularıyla seyretmektedir (Buhles ve ark 1974, Rikihisa ve ark 1991, Harrus ve ark 1999, Waner ve ark 2008). Hastalığın subklinik fazı yıllarca sürebilir ve buda parazitin konakçıda oluşturduğu persiste enfeksiyona işaret etmektedir (Harrus ve ark 1999). Kronik fazda ise kanama bozuklukları ve kemikiliği baskılanmasına eşlik eden pansitopeni hakimdir (Harrus ve ark 1999). *E. canis* tarafından oluşturulan immunopatolojik mekanizmalar köpeklerde tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Ancak granulositik ehrlichiozisli insanlarda yapılan çalışmalarda bazı sitokinlerin hastalığın klinik görünümünden sorumlu olduğu belirlenmiştir (Dumler ve ark 2000). Ehrlichia ile paraziteminin düşük düzeyde olması ve oluşan klinik bulguların tabiatı, konakçının immun cevabının ve proinflamatuvar sitokin üretiminin köpekler de ehrlichiosis' in patogenezinde rol oynayan en önemli faktörler olduğu tespit edilmiştir (Rikihisa 2003, Unver ve ark 2006, Faria ve ark 2010). Obligat intraselüler bakteriler tarafından oluşturulan enfeksiyonların büyük bir çoğunluğunda tam bir hücrel bağışıklık sağlanarak hastalıktan iyileşme ve re-enfeksiyonlara karşı korunma sağlanmaktadır (Rikihisa 2003, Baneth 2010).

E. canis enfeksiyonunun patogenezinde immun mediatörler önemli rol oynamaktadırlar. Deneysel olarak *E. canis* ile infekte edilmiş köpeklerde en az 1 hafta sonrasında anti-trombosit antikorlarının (APA) varlığı saptanmıştır. İnfekte köpeklerde; trombosit agregasyon bozuklukları, pozitif coombs testi, eritrosit otoaglutinasyonu ve dolaşımdaki immun kompleksler saptanmıştır ve bu hastalık ile ilişkilendirilmiştir (Baneth 2010).

Ehrlichiozis ile enfeksiyon esnasında trombositopeninin muhtelemelen birkaç sebebi bulunmaktadır. Bu mekanizmalar; kemik iliğinde üretim düşüklüğü, hücrel aktivitede azalma, antikorların opsonizasyonuna bağlı dolaşımdaki trombositlerin yarılanma ömürlerinin azalması, trombofagositozis ile immunolojik yıkılma, vasküler

endotelialdeki değişiklikler, trombositlerin dalağa sekresyonu ve dalakta g llenmesidir. Dolaşımdaki trombosit sayısının azalmasına ek olarak, monositik ehrlichiosisli bir köpekte trombosit fonksiyon eksikliği, trombosit disfonksiyonundan sorumlu tutulmaktadır (Baneth 2010).

Trombositopeni, *E. canis* ile doğal ya da deneysel olarak infekte köpeklerde ortak ve sık karşılaşılan bir hematolojik bulgudur (Waner ve ark 1995). Köpek monositik ehrlichiosis de trombositopeni hastalığının farklı aşıamalarında çeşitli mekanizmalara dayanabilmektedir. Hastalığının akut fazında trombositopeninin patogeneğinde rol oynayan mekanizmalar; damar endotelinde inflamasyon nedeniyle trombosit tüketiminde artış, trombositlerin dalakta sekestrasyonunda artış ve immunolojik yıkımlanmaları veya hasar nedeniyle trombositlerin yaşıam sürelerinde anlamlı bir azalma şeklinde açıklanabilmektedir. Radyoizotop kullanılarak yapılan çalışmalarda *E. canis* ile infeksiyonu takiben trombositlerin yaşıam sürelerinin ortalama 4-9 günden, 2 ila 4 güne düştüğü saptanmıştır. Buna ek olarak trombosit g   inhibisyon faktörü karakterize edilmiştir. Bu faktör periferik kan da trombosit sayısının azalmasına neden olmakta ayrıca trombositlerin sekestrasyonu ve stazisinde rol oynamaktadır (Abeygunawardene ve ark 1990).

1.1.4. Klinik Bulgular

KME akut, subklinik ve kronik formlarda multisitemik hastalık tablosuna neden olmaktadır (Diniz ve ark 2008, Mylonakis ve ark 2010, Harrus ve Waner 2011). *E. canis* hemen hemen tüm köpek ırklarını infekte edebilmekte, bunun yanı sıra Alman  oban köpeklerinin daha duyarlı oldukları ve diğer ırklara oranla hastalığının daha yüksek bir morbidite ve mortalite ile seyrettiği bildirilmektedir (Nyindo ve ark 1980, Harrus ve Waner 2011). Hastalıkla ilişkili olarak herhangi bir yaşı ya da cinsiyet predispozisyonu belirtilmemiştir. Hastalığının oluşturduğu klinik tablo, *E. canis* 'in değişik suşlarının ve diğer artropod kökenli patojenlerle ko-infeksiyon durumunun meydana getirdiği patojeniteye bağlı olarak değişmektedir. Özellikle *E. canis* ile aynı vektör tarafından bulaştırılabilen *Babesia canis* ve *Hepatozoon canis* gibi patojenlerle ko-infeksiyon durumunda KME çok daha şiddetli seyretmektedir (Gal ve ark 2007, Diniz ve ark 2008, Mylonakis ve ark 2010, Harrus ve Waner 2011).

Hastalığının oluşturduğu akut tablo; akut fazda yüksek ateş, depresyon, letarji, anoreksi, lenfadenomegali, splenomegali ve hemorajik bozukluklar ile karakterizedir. Son

sözü edilen kanama bozuklukları kanama eğiliminde artışla birlikte dermal peteşi, ekimoz ve epistaksis şeklinde kliniğe yansımaktadır. Oftalmolojik lezyonlar olarak sıklıkla antreior uveitis, korioretinitis, pupillar ödem, retinal kanama, retinal perivasküler infiltrat birikimi ve retinal döküntü şeklinde seyretmektedir (Komnenou ve ark 2007). Kanda oluşan hiperviskozite subretinal hemarajiye ve retinal döküntüye yol açarak körlük oluşumuna sebep olur (Harrus ve ark 1998). Menenjit ve meningeal kanamalar hastalıkta meydana gelebilecek nörolojik bulgular arasındadır (Harrus ve Waner 2011).

Hastalığın subklinik fazında herhangi bir klinik bulgu meydana gelmeyebilirken (Waner ve ark 1997, Mylonakis ve ark 2010) KME ile infekte bazı köpeklerin bazılarında hastalığın kronik fazına geçiş meydana gelebilmektedir. KME' nin kronik fazında şekillenen semptomlar akut fazdaki bulgulara çok benzerlik göstermekte ancak daha şiddetle seyretmektedir (Harrus ve ark 1997, Harrus ve Waner 2011). Solgun mukoz membranlar, kas zafiyeti, kanama bozuklukları ve belirgin kilo kaybı hastalığın kronikleştiği dönemde sıkça meydana gelmektedir (Harrus ve ark 1997).

E. canis' in serolojik yöntemlerle ve PZR ile tayiniyle KME ile infekte köpeklerde hastalık 4 ayrı faza ayrılmaktadır. Akut *E. canis* enfeksiyonu (antikor negatif ancak belirlenebilecek düzeyde DNA [PZR pozitif]), *E. canis*' e maruz kalma (belirlenebilecek düzeyde DNA [PZR negatif] ancak *E. canis* seroaktif), aktif enfeksiyon (PZR pozitif ve *E. canis* seroaktif) ve hiç *E. canis*' e hiç maruz kalmamış köpekler (PZR negatif antikor negatif) olmak üzere hastalıkla ilişkili 4 ayrı sınıflandırma mevcuttur (Diniz ve ark 2008).

1.1.5. Laboratuvar Bulguları

KME' nin tanısında en önemli basmalardan biri tam kan sayımıdır. Hastalığın akut fazında orta dereceden şiddetli derecelere kadar değişebilen trombositopeni baskın bir hematolojik bulgudur. Trombositopeninin, in vitro pseudotrombositopeniden ayrılmasında kan sürme frotilerinin trombosit sayıları açısından değerlendirilmesi olmazsa olmaz koşuldur. Deneysel olarak *E. canis* ile infekte edilen köpeklerde yaklaşık 10 ila 21. günler arasında belirgin bir trombositopeni gelişebilmekte, trombosit sayısı 20. 000 ila 52. 000 /µl arasında değişebilmektedir. Ortalama trombosit hacmi deneysel enfeksiyonlarda 6. günden sonra yükselişe geçmektedir. Hastalığın akut fazında meydana gelen trombositopeniye genellikle hafif bir anemi ve hafif bir lökopeni eşlik etmektedir (Assarasakorn ve ark 2008, Mylonakis ve ark 2010, Harrus ve Waner 2011).

Hatalığın subklinik fazında, klinik bulgular olmaksızın hafif trombositopeni oluşabilmektedir (Mylonakis ve ark 2010, Harrus ve Waner 2011). Deneysel olarak infekte edilen köpeklerde trombosit sayısının % 42 ye varan oranlarda azaldığı tespit edilmiştir (Waner ve ark 1997, Harrus ve ark 1998). Lökosit ve eritrosit düzeyleride ayrıca azalabilmekte ancak bu değişiklikler çok hafif düzeyde kalmaktadır (Waner ve ark 1997). Hastalığın kronik fazında trombositopeni genellikle hafif düzeydedir ve bu tabloya belirgin bir anemi ve lökopeni eşlik eder. Şiddetli pansitopeni' de hastalığın kronik formunda meydana gelen kemikiliği hipoplazisinin belirgin bir işaretidir (Harrus ve ark 1997).

Trombosit sayımları ve trombosit belirteçleri olarak adlandırılan ortalama trombosit hacmi, platelekrit ve trombosit dağılım genişliği günümüzde KME nin tanısında ve prognozunda önemle üzerinde durulan parametreler olacağı düşünülmektedir (Harrus ve ark 1997).

KME' nin tanısında ışık mikroskopik incelemelerle kan sürme frotilerinde yer alan monositler içerisinde tipik sitoplazmik *E. canis* morulalarının görülmesi önemli bir yer teşkil etmektedir. Morulalar membran bağımlı vakuoller şeklinde bakterilerle yoğun olarak bir arada bulunan elektron mikroskopik cisimciklerdir (Hildebrandt ve ark 1973). Ancak morulaların mikroskopik olarak tespit edilmesi güçtür ve ancak olguların % 4' ünde tespit edilmektedir (Woody ve Hoskins 1991). Birden çok sayıda sürme froti hazırlanması *E. canis* morulalarının saptanma şansını artırmaktadır. 1000 adet immersiyon objektif sahası incelendiğinde sürme frotilerin duyarlılığı % 66 olarak tespit edilmiştir. Kemikiliğinden hazırlanan sürme frotilerin yine 1000 adet immersiyon objektif sahasında ki duyarlılığı % 34' dür. Burada dikkat edilmesi gereken nokta 1000 adet immersiyon sahasının incelenmesi için gereken süre 50 ile 60 dk arasında değişmesidir (Mylonakis ve ark 2003, Harrus ve Waner 2010).

Trombositler, lenfositik azurofilik granüller ve fagositize nükleer materyaller gibi mikroskop sahasında karşılaşılabilecek tüm materyaller Ehrlichial inklüzyon cisimcikleriyle karışabilir. İlave olarak *Anaplasma* ailesinde ki diğer ehrlichial organizmalar (*E. chaffeensis*, *Neorickettsia risticii* ve *Ehrlichia ruminantium*) aynı zamanda köpeklerde monositleri infekte edebilmektedir (Kelly ve ark 1994, Breitschwerdt ve ark 1998). Epidemiyolojik bilgiler dikkate alındığında ehrlichial patojenlerin ve onların vektörlerinin prevalansı dikkate alındığında coğrafik bölgelere göre farklılıklar şekilleneceğinden ayırıcı tanı dikkatle ele alınmalıdır. Bu sebeple moleküler karakterizasyon sağlamak amacıyla

PZR uygulamaları ile sekans dizimleri sağlanmalı ancak bu sayede mikroorganizmanın identifikasyonu ve spesifikasyonu belirlenebilmektedir (Breitschwerdt ve ark 1998).

Hastalığın akut döneminde çoğunlukla şiddetli trombositopeni, hafif veya orta dereceli hafif lökopeni ve anemi (genellikle normositik, normokromik, non-rejeneratif) gözlenmektedir (Kuehn ve Gaunt 1985, Dagnone ve ark 2003, Castro ve ark 2004). Trombositopeni infeksiyondan sonraki 10–20. günlerde ortaya çıkmakta ve büyük, rejeneratif trombositler eş zamanlı olarak artabilmektedir. Hafif lökopeni infeksiyondan sonra 3–4 hafta görülmekte ve bunu lökositoz ve monositozis takip etmektedir (Kuehn ve Gaunt 1985, Dagnone ve ark 2003).

Hastalığın subklinik döneminde hafif derecede bir trombositopeni görülebilmektedir. Nötrofil sayısında bir azalma bildirilirken eritrosit parametrelerinin önemli derecede etkilenmediği rapor edilmektedir (Kuehn ve Gaunt 1985).

Ciddi trombositopeni, lökopeni ve anemi KME'nin kronik döneminde sıklıkla rastlanılan hematolojik değişikliklerdir. Pansitopeni, hiposelüler kemik iliğinin baskılanmasının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Breitschwerdt 2000). Monositozis ve lenfositosis görülebilmektedir. Eozinopeni ve lenfopeni, endojen ve ekzojen glukokortikoidlere karşı yanıt olarak sekonder olarak saptanabilmektedir (Breitschwerdt 2000, Wanner ve Harrus 2000).

KME ile enfekte köpeklerde sık karşılaşılan biyokimyasal parametreler hipoalbuminemi, hiperglobinemi ve hipergamaglobulinemidir. Serum globulin konsantrasyonu hastalığın seyri süresince belirgin olarak artmaktadır. İnfeksiyondan sonraki 1–3. haftalarda bu artış sıklıkla gözlemlenmektedir (Wanner ve Harrus 2000). Pansitopeni görülen enfekte köpeklerde, görülmeyenlere oranla serum total protein ve globulin konsantrasyonlarının (özellikle gammaglobulin) daha düşük olduğu bildirilmektedir. Bu durumun *E. canis* ile enfekte pansitopenik köpeklerin sekonder infeksiyonlara karşı daha duyarlı olmasının nedenlerinden biri olduğu rapor edilmektedir (Wanner ve Harrus 2000).

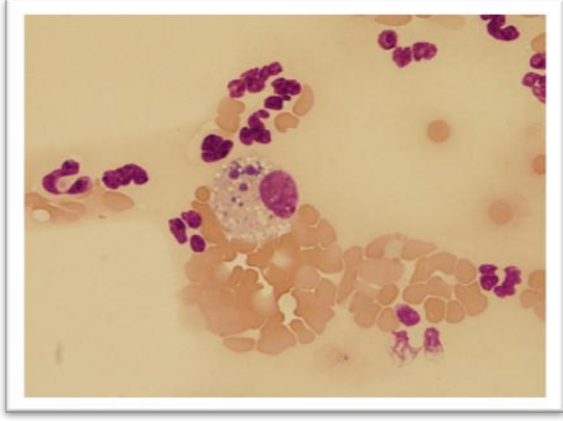
KME'li köpeklerde özellikle akut dönemde serum alkalen fosfataz (ALP) ve alanin aminotransferaz (ALT) aktivitelerinde geçici süreyle hafif bir artış söz konusudur (Breitschwerdt 2000). *E.canis* ile deneysel enfekte köpeklerde akut dönemde, geçici proteinüri, glomeruluslarda immunkompleks birikimi, kalıcı minimal glomerüler

bozukluklar ve membranoproliferatif glomerulonefritis belirlenmektedir (Codner ve Farri-Smith 1986, Codner ve Maslin 1992, Codner ve ark 1992, Iqbal ve Rikihisa 1994). Kronik dönemde ise sürekli antijenik uyarıma bağlı olarak glomeruluslarda immunkompleks birikimi artmakta ve membranoproliferatif glomerulonefritis ilerlemektedir (Breitschwerdt 1995). Proteinüri, ehrlichiosisli köpeklerin yaklaşık yarısında bulunmaktadır. Azotemi prerenal kökenli ya da sekonder olarak başlı başına renal hastalıktan kaynaklanabilmektedir. Ehrlichiosisli köpeklerde esas renal azotemi, glomerulonefritis ve renal interstitial plasmositozis sonucu oluşmaktadır (Greene 1990).

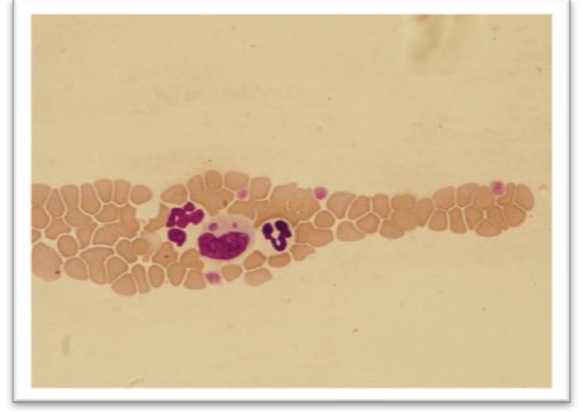
1.1.6. Tanı

E. canis' in tanısında lenf nodülü aspirasyonunda (Mylonakis ve ark 2003), dalaktan alınan aspirasyonlarda (Faria ve ark 2010) ve buffy coat (Elias 1991) ta *E. canis*' in morula formalarına ve inklüzyon cisimciklerine rastlanmakta; spesifik antikor tespiti için indirekt IFAT (O' connar ve ark 2006) ve antijenik tanı amacı ile PZR kullanılmaktadır (Nakaghi ve ark 2008).

KME' in tanısında kan sürme frotilerinden hazırlanan preparatların değerlendirilmesinde monositler içerisinde tipik *E. canis* morulalarının görülmesi tanısıyı desteklemektedir. Morulalar mikroorganizmalarla yoğun olarak bir arada bulunan elektron mikroskopik cisimciklerdir (Hildebrandt ve ark 1973, Harrus ve Waner 2011). Etkene ait morulaların mikroskopik olarak belirlenmesi olguların yalnızca % 4' ünde mümkündür (Woody ve Hoskins 1991, Harrus ve Waner 2011). Çok sayıda sürme froti hazırlanması, *E. canis* morulalarının saptanma şansını artırmaktadır. Ancak 1000 adet immersiyon objektif sahası mikroskopik olarak incelendiğinde sürme frotilerin duyarlılığı % 66 civarında tespit edilmiştir. Kemik iliğinden hazırlanan sürme frotilerin 1000 adet immersiyon objektif sahasında ki duyarlılığı % 34' dür. (Mylonakis ve ark 2003, Harrus ve Waner 2010).



Resim 1. 1.a. *E. canis* morulası



Resim 1. 1.b. *E. canis* morulası

*Resim 1a ve Resim 1b ADÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Kliniği arşivinden alınmıştır.

KME ile infekte köpeklerde kan sürme frotileri reaktif monositleri eritrofagositozis, trombofagositozis, nükleer materyalin fagositozu ve trombositleri içerebilmektedir. Ancak eritrositlerde morfoloji çoğu olguda değişmemektedir (Harrus ve ark 2007). Hastalığın ileriki aşamalarında yoğun granuler lenfositosis şekillenebilmektedir. Wright- Giemsa ile boyanmış frotide 200 lenfositin yaklaşık % 50 sinde azurofilik granüller şekillenmektedir. Son sözü edilen hücrelerde nükleuslar hasar görmüştür veya olgun nükleer kromatinle yer değiştirerek büyük granuler lenfosit oluşumu meydana gelmektedir (Heep ve ark 2003). Klinisyenler bu fenomen yüzünden yanlışlıkla lenfositik lökemi tanısı koyabilmektedirler (Harrus ve Waner 2011).

Ayrıca kan sürme frotilerinin değerlendirilmesi KME ile ko-infekte diğer vektör kaynaklı patojenler olan ve hastalık üzerine etkileri bulunan diğer etkenlerin tespitinede yaramaktadır (Gal ve ark 2007).

KME' nin teşhisinde birçok serolojik yöntem bulunmaktadır. Anti *E. canis* antikorlarının belirlenmesinde altın standart indirekt immun florasan antikor testidir. Bu testte belirlenen Ig M seviyelerinin *E. canis*' e maruz kalan köpeklerde söz konusu antikorun hastalık esnasında kandaki seviyelerinin düzensiz olarak artışı nedeniyle gerçekçi bir indikatör olmamaktadır (Mc Bryte ve ark 2003). Buna karşın *E. canis*' e saptanan köpeklerde IgG titrelerinin $\geq 1/40$ olması pozitif kabul edilmektedir. Akut infeksiyonlarda 7- 14 gün arayla ardışık olarak yapılan IFA testinin uygulanması

önerilmekte ve bu test ile antikor titrelerinde ki 4 kat veya daha fazla artış aktif bir enfeksiyona işaret etmektedir (Harrus ve Waner 2011). Anti Ehrlichial IgG antikorları enfeksiyon sağlandıktan aylar ya da yıllar sonra dahi persiste olarak kalmaktadır (Bartsch ve Greene 1996).

IFA testi dışında KME' nin tanısında ELİSA testide kullanılmaktadır (Harrus ve ark 2002). *E. canis* Ig antikorlarının belirlenmesinde Dot-ELİSA yönteminin ticari olarak oluşturulmuş test kitleri bulunmaktadır. ELISA yöntemiyle çalışan Snap3Dx (Hegarty ve ark 2009), Snap 4 DX test kitleri (Carrade ve ark 2011) major immunodominant *E. canis* proteinleri olan P30 ve P30-1 in tanısına dayanmaktadır (IDEXX laboratuvarları) (Harrus ve ark 2002). Daha önce İsrail'de *E. canis* ile enfekte köpeklerde yapılan bir çalışmada SNAP 3 DX testinin spesifitesinin oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada yazarlar Dot-ELİSA test kitlerinin yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip olduğunu belirtmişleridir. Aynı yazarlar ilk antikoru belirlendiği süreçten sonraki 1-2 hafta içerisinde ELISA testinin tekrarlanarak bu testin sensitivitesinin daha da arttırılacağını belirtmişlerdir (Harrus ve ark 2002). SNAP 4 DX test kitlerinin *E. canis*' in yıllık monitorizasyonunun sağlanması için ve söz konusu enfeksiyonun klinik öneminin belirlenmesi amacıyla yılda bir kez tekrarlanması gerekmektedir. Ancak test sonuçlarının trombosit sayımları ve moleküler bulgularla birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir (Hegarty ve ark 2009).

1.1.7. Sağaltım ve Korunma

Semisentetik tetrasiklin türevi olan doksisiklin, KME' nin sağaltımında ilk sırada tercih edilen geleneksel ilaçlardan biridir. Akut KME de doksisiklin enfeksiyonun eliminasyonu açısından oldukça etkili bir seçenek olmasına rağmen (Harrus ve ark 2004, Breitschwerdt ve ark 1998), subklinik ve klinik *E. canis* enfeksiyonlarındaki etkinliği tartışmalıdır (Wen ve ark 1997, Harrus ve ark 1998, Schaefer ve ark 2008, Eddlestone ve ark 2006). Doksisiklinin günümüzde önerilen dozu oral yolla 5 mg/kg günde iki kez en az 4 haftadır (Neer ve ark 2002). Ancak kronik enfekte köpeklerde daha uzun süreli bir kullanım gerekebilmektedir (Harrus ve ark 1999). Oral doksisiklin sağaltımı esnasında mide bulantısı ve kusma sıklıkla karşılaşılan yan etkiler olduğundan söz konusu ilacın yemekle karıştırılarak verilmesi gerekmektedir. Diğer tetrasiklin türevlerinin (minosiklin, tetrasiklin, oksitetrasiklin), kloramfenikol, enrofloksasin veya imidocarb dipropionatın *E. canis* enfeksiyonunda ki rolleriyle ilgili çok az bilgi bulunmaktadır (Mylonakis ve ark

2010). İmidocarb dipropionatın *E. canis* ile doğal ve deneysel infeksiyonlarda etkili olmadığı tespit edilmiştir (Eddlestone ve ark 2006, 2007). Yakın zamanda yapılan çalışmalardan birinde deneysel olarak oluşturulan subklinik *E. canis* infeksiyonunun sağaltımında 15 mg/ kg dozunda rifampin oral yolla günde 2 kez kullanımıyla sağaltım etkinliği sağlandığı bildirilmiştir (Schaefer ve ark 2008). Ancak rifampinin doksisisikline bir alternatif olarak kullanılıp kullanılmayacağı konusunda daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

E. canis ile infekte pansitopenik ve şiddetli hasta köpeklerde yaşama şansını artırmada destekleyici sağaltım amacıyla dengeli kristaloid solüsyonlar ve/veya tam kan transfüzyonları uygulanabilmektedir. Ayrıca pratik olmamakla birlikte trombosit komponentlerinin nakli de yapılabilmektedir. Tam kan nakliyle 20 kg lık bir köpekte trombosit sayısı 20.000 ila 30.000/ μ l arttırılabilmektedir ve böylelikle devam eden hemorajinin durdurulmasına yardımcı olabilmektedir (Lewis 2000). Demir sülfat birleşiklerinin (100-300 mg günlük peroral 3 ila 5 ay süreyle) oral doksisisiklin tedavisinden en az 2 saat önce veya daha sonra uygulanması endike olmakla birlikte kronik KME li köpeklerde demir depolarının tükenebilmesi muhtemelen kronik hemorajiye yatkınlıkla ilişkilendirilebilmektedir (Mylonakis ve ark 2010).

E. canis ile infekte trombositopenik ve mevcut kanaması bulunan 3 köpekte 1 μ g/kg subkutan yolla her 24 saatte bir toplam 3 kez uygulanan desmopressin asetatın trombosit sayısı ve fibrinojen miktarında belirgin bir artış sağladığı, pT ve aPTT de belirgin bir azalmaya neden olduğu böylelikle KME tarafından oluşturulan hemorajik bozuklukların giderildiği bildirilmektedir (Giudice ve ark 2010).

KME ile infekte köpeklerde şiddetli (nötrofil sayısı < 1000/ μ l) ve persistent (2 haftadan daha uzun süre) nötropenik durumlarda profilaktik amaçla antibiyotiklerin kullanımı hayatı tehdit eden bakteriyel infeksiyonların riskini azaltmaktadır (Abrams-Ogg 2000). KME ile ilişkili pansitopenilerde başlangıçta ki antibiyotik seçimi gram negatif ve gram pozitif aerobik bakterileri seçici olarak azaltan ve trombosit fonksiyonları üzerine minimal etkinliği bulunanlar arasından seçilmelidir (Abrams-Ogg 2000). Bu bağlamda myelosupresik KME de sulfonamidler, kloromfenikol ve penicilinlerden kaçınılmalıdır (Abrams-Ogg 2000, Stokol 2000, Weiss 2003). Asemptomatik nötropenik köpeklerde florokinolonlar doksisisikline ilave olarak nötrofil sayısını arttırana dek kullanılmaktadır (Mylonakis ve ark 2010). KME ile infekte herhangi bir köpekte profilaktik sağaltıma rağmen ateş geliştiğinde antibiyotik seçimine kültür ve duyarlılık testlerine göre karar verilmelidir ancak bunlar uygulanamadığı takdirde intravenöz florokinolon ve herhangi bir

betalaktam (sefazolin 30mg/kg 8 saatte bir intravenöz veya intramuskuler vb gibi) verilmelidir. Eğer 2 gün içerisinde ateş düşmediği takdirde bu protokole metronidazol (15 mg/kg 8 saatte bir intravenöz) uygulanarak anaerobik spektrum genişletilebilir (Myolonakis ve ark 2010).

KME ile infekte anemik veya pansitopenik köpeklerde hematopoietik büyüme faktörleri (rekombinant insan granulositik koloni stimülatörü ve rekombinant human eritropoietin) nin kullanılabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır (Aroch ve Harrus 2001, Paddock ve ark 2003,). KME ile infekte köpeklerde yapılan bir çalışmada filgrastim 5 µg/ kg subkutan yolla günde bir kez toplam 5 gün uygulandığı şiddetli pansitopenik 3 köpeğin birinde pansitopeni giderilmiştir (Myolonakis ve ark 2010).

Glukokortikoidler KME ile infekte köpeklerde hastalığın immun kökenli klinik bulgularını hafifletmede tercih edilmektedir. KME nin miyelosupresif formunda glukokortikoidlerin tamamen yararlı olduğuna dair net bir bulgu bulunmamakla (Myolonakis ve ark 2010) birlikte immun kökenli kemikiliği yıkımlanması dışında kullanılmamalıdır (Shipov ve ark 2008).

Pansitopenik lökopenik nötroopenik veya anemik köpeklerde, özellikle Alman Çoban köpeklerinde prognozun çok zayıf olduğu bildirilmektedir (Shipov ve ark 2008, Mylonakis ve ark 2004, Harrus ve ark 1997).

1.2. *Anaplasma phagocytophilum*

1.2.1. Etiyoloji

A. phagocytophilum tüm Avrupa ülkelerinde, memeliler ve kenelerde Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile tespit edilmiştir (Strle 2004). *A. phagocytophilum* evcil ruminantların yanı sıra kedi (Björnsdörff ve ark 1990), köpek (Bellström 1989, Jennifer ve ark 2009, Björnsdörff ve ark 1990), kemirgenler (Liz ve ark 2000, Christova ve Gladnishka 2005), geyikler (Jenkins ve ark 2001)ve insanlarda (Petrovec ve ark 1997) da identifiye edilmiştir.

Avrupa’ da *A. phagocytophilum*’ un vektörü olarak *Ixodes ricinus* olarak tespit edilmiştir (Strle 2004). Ancak *A. phagocytophilum*’ un diğer kene türleri olan; *Haemaphysalis punctata* (MacLeod 1962), *I. persulcatus* (Aleksiev ve ark 1998), *I. trianguliceps* (Ogden ve ark 1998) ve *Rhipicephalus sanguineus* (Alberti ve ark 2005) ile de ilişkisi olabileceği bildirilmektedir. Son yapılan çalışmalarda Avrupa’ da *A. phagocytophilum* ile infekte *I. ricinus* kenelerinin göçmen kuşlarla dağılımının önemli

olduğu belirlenmiştir (Alekseev 2001, Bjoërsdorff 2001, de la Fuente ve ark 2005, Skoracki 2006).

Avrupa’ da *A.phagocytophilum* ile infekte *I. ricinus* kenelerinin bölgeden bölgeye ve bölgeler arasında gelişimlerinde prevalans değişmektedir. Nimf formlarında ki prevalans % 0,25- 25 arasında değişmektedir (Walker ve ark 2001).

Günümüzde koyun (Stuen ve ark 1998), at (Franze’n 1999), köpek (Egenvall ve ark 2000), kırmızı geyik (Stuen ve ark 2001) ve sığır (Larsson ve ark 2006) gibi türlerde *A.phagocytophilum* ile persiste infeksiyon tespit edilmiştir. Persiste infekte bireylerin coğrafik bölgeler arasındaki hareketleri hastalığın yayılmasına sebep olmaktadır (Brayton 2001).

1.2.2. Patogenez-Hastalığın Bulaşma Seyri

A. phagocytophilum kene ile transtadiyel olarak bulaşmakta ve bulaşmanın şekillenmesi için kenenin konakçı üzerinde 36-48 saat durması gerekmektedir (Hodzic ve ark 1998a, Katavolos ve ark 1998). Söz konusu mikroorganizma iki farklı forma dönüşerek çoğalmaktadır; bunlardan ilki konakçıdaki hücresel hedeflere bağlanan küçük koyu çekirdekli hücre formu ve ikinci formu oluşturan intraselüler olarak çoğalan ve takiben yoğun çekirdekli olgun hücrelere dönüşen retikülosit tarzı hücrelerdir (Popov ve ark 2007, Popov ve ark 1998, Lai ve ark 2009). *A. phagocytophilum* ile infekte insanlarda yapılan çalışmalarda anılan bakterinin nötrofillerin yüzeyindeki silialı alanlara bağlandığı ve bununda P selektif glikoprotein ligandı (PSGL-1) olarak adlandırılabilceği bildirilmektedir (Goodman ve ark 1999, Herron ve ark 2000, Rikihisa 2006). Son yıllarda yapılan çalışmalarda *A. phagocytophilum*’ un infeksiyon oluşturabilmesi ve konakçı hücreye adaptasyonu için bakteriyel komponent sistemini kullanarak siklik di-GMP’ ye ihtiyaç duydukları tespit edilmiştir (Herron ve ark 2000). Söz konusu bakterinin intrasellüler yaşam döngüsü ve replikasyonu açısından anahtar model nötrofil–bakterisidal fonksiyonların ortadan kaldırılmasına yöneliktir. Asıl önemli olan adı geçen bakterinin nötrofil süperoksit üretimini baskılamasıdır (Rikihisa 2006, Carlyon ve ark 2006). Buna ilaveten *A. phagocytophilum*’ un nötrofil motilitesi ve fagositozisi azalttığı ayrıca nötrofillerin endotelial olarak yapışmasını ve göçünü engellediği bildirilmektedir (Garyu ve ark 2005). Nötrofillerin tipik olarak dokulara girişinden önce dolaşımda 10- 12 saat kaldıkları ve daha sonra apoptozis yoluyla öldükleri bilinmektedir. İlginç olarak *A. phagocytophilum* hem in vitro hem invivo ortamda nötrofil apoptozisini geciktirdiği,

nötrofillerin yaşam süresinin uzamasına neden olduğu ve böylelikle normalde kısa yaşam süresine sahip kimi lökositleri morula oluşturmaya neden olduğu bildirilmektedir (Rikihisa 2006, Carlyon ve ark 2006, Borjesson ve ark 2001). Hücreden hücreye bakteriyel transfer mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulmamış olmasına rağmen bu mikroorganizmayla infekte hayvanlarda interlökin- 8 salınımının rol oynadığı düşünülmektedir (Akkoyunlu ve ark 2001, Scorpio ve ark 2004). Bunun yanı sıra *A. phagocytophilum* un insanlarda kemikiliğini (Klein ve ark 1997), endotelial hücreleri (Munderloh ve ark 2004) ve megakaryosit hücreleri (Granick ve ark 2008) bildirilmektedir.

A. phagocytophilum infeksiyonlarının çoğunlukla hafif düzeyden orta şiddete kadar değişen derecelerde trombositopeniye ayrıca nötropeni, lenfopeni, anemi gibi diğer sitopenilerde neden olduğu tespit edilmiştir (Carrade ve ark 2009). Söz konusu hematolojik anormalliklerin mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. *A. phagocytophilum* PSGL-1 in açığa çıkmasına neden olan megakaryositik kök hücrelerine girmekte, buna rağmen söz konusu infeksiyon megakaryositlerin trombosit üretim yeteneğini bozmamaktadır (Granick ve ark 2008). Granulositik anaplasmozisle infekte insan (Wong ve ark, 1998) ve köpeklerde (Granick ve ark 2008) antiplatelet antikorlarının varlığı serumda ispatlanmıştır. Bununla ilişkili olarak trombositopeninin oluşumunda immun aracılıklı mekanizmaların rol oynadığı düşünülmektedir. Ancak akut hastalık tablosunda oluşan trombositopeninin yukarıda söylenilen antikorlardan önce şekillenmesi ve B veya T hücrelerine sahip olmayan farelerde immun yetmezlikle ilişkilendirilmesi diğer mekanizmalarında önemli olabileceğini düşündürmektedir (Borjesson ve ark 2001).

A. phagocytophilum ile infeksiyon durumunda bozulmuş nötrofil fonksiyonları ve lökopeninin sonucu olarak sekonder fırsatçı infeksiyonlar gelişebilmektedir (Carrade ve ark 2009). Opportünistik infeksiyonlar granulositik anaplasmozisli insanlarda ve köpeklerde mortalitenin olası bir nedeni olarak görülmektedir (Goodman ve ark 1999, Bakken ve ark 2008, Lepidi ve ark 2000). *A. phagocytophilum*’ la infekte insanlarda nötrofil fonksiyonlarının bozulmasının Borreliozisle koinfeksiyonlara neden olabileceği tespit edilmiştir (Nyarko ve ark 2006). Granulositik anaplasmozis köpeklerde başlı başına bir infeksiyon olmakla birlikte patogeneziyle ilgili halen yeterli sayıda literatür bulunmamaktadır. Bu infeksiyonda oluşan doku hasarı bakterinin kendi oluşturduğu patogenezden ziyade konakçının yangısal cevabına bağlı olarak şekillenmektedir (Dumler ve ark 2007). İnsanlara da söz konusu infeksiyonun patogeneziyle ilgili yine kısıtlı bilgi bulunmakla birlikte splenik lenfoid göllenme, makrofaj agregasyonu ve karaciğer içinde

apoptozisi, parakortikal lenfoid hiperplazisi ve retikuloendotelial sisteminin içindeki hemofagositik hücrelerin rol oynadığı düşünülmektedir (Lepidi ve ark 2000). Granulositik anaplazmozisli at ve insanlarda mikroskobik patolojik değişiklikler olarak nekrotize vaskulitis, hyalin trombozisi ve perivasküler hücre infiltrasyonu tanımlanmıştır (Franze'n ve ark 2007, Bakken ve ark 2008). Tanımlanan bu vasküler değişikliklerin dissemine intravasküler koagülasyona yorumlanabilmektedir (Bakken ve ark 2008). Oluşan doku hasarı infekte nötrofiller tarafından salınan yangı mediatörlerinin ya da prokoagülan aktivite uyarıcı monosit doku faktörünün salınmasıyla ilişkili olduğu saptanmıştır (Behl ve ark 2000). İnsan Granulositik Anaplazmozisinde oluşan makrofaj aktivasyonu yüksek serum ferritin, interlekin ve interferon konsantrasyonlarıyla ilişkilendirilmiştir (Dumler ve ark 2007).

A. phagocytophilum infeksiyonlarında oluşan immün cevap tam olarak tanımlanamamıştır. Interferon gama üretiminin *A. phagocytophilum* infeksiyonlarının başlangıç kontrolünde çok önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Egenvall ve ark 2000).

T hücre aracılıklı hücresel bağışıklığın genellikle intraselüler patojenlerin bağışıklık sistemi tarafından temizlenmesinde en önemli rolü üstlendiği bilinmekle birlikte, fare modelinde elde edilen bilgiler ışığında ehrlichial türlerin humoral bağışıklıkla yok edilmesinde bu hücrelerin çok önemli rol aldığı düşünülmektedir (Winslow ve ark 2005, Sun ve ark 1997). Bu bakteriye maruz kalınması sonrasında infeksiyonun ekstraselüler fazında antikorlar oluşmaktadır. Oluşan bu antikorlar ehrlichial türlerin intraselüler komponentlerine girmekte veya fagositik aktiviteyi arttırmaktadırlar (Winslow ve ark 2005).

1.2.3. Klinik Bulgular

A. phagocytophilum ile infekte hayvanlarda ortak klinik bulgu 1-2 haftalık inkubasyon periyodundan sonra meydana gelen yüksek ateş ve letarjidir. Letarji hemen hemen enfekte bütün köpeklerde bildirilmiştir (Egenvala ve ark 1997, Poitout ve ark 2005, Greig ve ark 1996). Hastalıktan etkilenen köpeklerin %90'ında yüksek ateş tespit edilmiştir. Bu köpekler de rektal vücut sıcaklığı 39,2 – 41,4°C arasında değişmektedir (Jennifer ve ark 2009, Ebberts ve ark 2011). Köpeklerin % 44-88 inde iştah kaybı veya anoreksia bildirilmektedir (Poitout ve ark 2005, Greig ve ark 1996, Kohn ve ark 2008).

Kas ve iskelet sistemi bulguları, hareket etmede isteksizlik ve topallık yaygın olarak saptanmaktadır. Avrupa’ da yapılan bir çalışmada *A. phagocytophilum* ile infekte 18 köpekten 2’ sinde (Skotarczak 2004), ABD’ de yapılan farklı bir çalışmada 8 köpekten 5’ inde (Poitout ve ark 2005), farklı çalışmalarda 17 köpekten 1’ inde (Greig ve ark 1996) topallık bildirilmiştir. Söz konusu infekte köpeklerin bazılarında topallığın sebebi nötrofilik poliartritis olabilmektedir (Skotarczak ve ark 2004, Foley ve ark 2007, Ebberts ve ark, 2011).

A. phagocytophilum ile infekte köpeklerde öksürük şekillenmektedir ve tipik olarak yumuşak ve kuru bir öksürük meydana gelir (Poitout ve ark 2005, Plier ve ark 2009). *A. phagocytophilum* ile infekte köpekten alınan bir toraks radyografisinde intersitisyel infiltrasyon alanları ile alveollerde fokal infiltrasyon odakları ve trakeal yıkamadan sonra büyük nötrofillerin içerisinde morulalar tespit edilmiştir (Plier ve ark 2009).

Anaplazmosisli köpeklerde polidipsi, solgun mukozalar, kusma, ishal ve hemoraji gibi gastrointestinal belirtiler, mukozal peteşi, melena ya da burun kanaması şeklinde kanama bozuklukları tespit edilmektedir (Poitout ve ark 2005, Greig ve ark 1996, Kohn ve ark 2008, Ebberts ve ark, 2011). Yakın zaman diliminde ateş, kusma ve hipersalivasyon gibi anamnezle kliniğe götürülen köpeklerde granulositler içindeki morula formu ve PZR ile infeksiyonun tanısı konulabilmektedir. Ayrıca fiziksel muayene veya radyografik ve ultrasonografik görüntüleme sonrası splenomegali ve lenfadenopati tespit edilir (Greig ve ark 1996, Kohn ve ark 2008). İnfeksiyonun köpek ve fare modellerinde reaktif lenfoid hiperplazi ve ekstramedullar hematopoezis olduğundan dolayı splenomegali ve lenfadenopati mevcuttur (Egenvall ve ark 1998, Hodzic ve ark 1998b).

Granülositik Anaplasmozisli insanlarda nadir olarak cerebros spinal sıvı içerisinde etken saptanmış ve nörolojik bulgularla tespit edilmiştir (Lee ve ark 2008). Granülositik anaplazmosis ile infekte 17 köpeğin 2 sinde nörolojik bulgularla ataklar ve propriyoseptif eksiklik tespit edilmiştir fakat atak geçiren köpeklerde geçmişte idiopatik epilepsi varlığının olduğuda saptanmıştır (Greig ve ark 1996). Köpeklerde ki nörolojik işaretler ve hastalıklar arasındaki ilişki; incelendiğinde önceden yapılan bir çalışmada 248 köpeğin yalnızca birinde tespit edilen sinir sisteminde ki bozukluğun belirgin olmadığı vurgulanmıştır (Ja derlund ve ark 2007). ABD’ de menenjitli köpeklerde beyin omurilik sıvısından yapılan sitolojik yoklamada granülositik morula tespit edilmiştir. Söz konusu köpeklerde karşılaştırmalı serum antikor titreleri sırasıyla en yüksek *E. canis* (Garyu ve ark

2005, de la Fuente ve ark 2005), *R. rickettsii* (Bown ve ark 2008, Martin ve ark 2001) ve *A. phagocytophilum* 'dur (de la Fuente ve ark 2005).

1.2.4. Laboratuvar Bulguları

Granülositik anaplasmozisteki hematolojik değişiklikler eritropeni, trombositopeni (Bexfield ve ark 2005), düşük hemoglobin ve hematokrit seviyeleri (Ebberts ve ark 2011), nötrofili ile karakterizedir (Kirtz ve ark 2005).

Anaplazmosiste en sık rastlanılan laboratuvar bulgusu köpeklerin % 90 nında meydana gelen trombositopenidir (Greig ve ark 1996, Poitout ve ark 2005, Beall ve ark 2008, Ebberts ve ark 2011). Trombositopenik köpeklerdeki trombosit sayıları 5.000 ila 164.000 trombosit/ μ L aralığında olduğu bildirilmektedir (Greig ve ark 1996, Egenvall ve ark 1997, Poitout ve ark 2005, Kohn ve ark 2008). İnfekte köpeklerde mevcut kemik iliğinde ki megakaryosit ve olgunlaşmamış megakaryosit sayısı normal köpeklere göre daha fazladır çünkü trombositopeni trombosit yıkımından dolayı gelişebilmektedir (Lilliehook ve ark 2008). Etkilenen köpeklerin çoğunluğunda az sıklıkta lenfopeninin ya da lenfositosis ile birlikte olduğu belirtilmiştir (Greig ve ark 1996, Poitout ve ark 2005, Kohn ve ark 2008). Amerikada yapılan bir çalışmada *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerin bir kısmında non rejeneratif ve orta şiddette anemi saptanmıştır (Greig ve ark 1996, Poitout ve ark 2005). Almanyada ki bir başka çalışmada 18 köpeğin 11' inin anemik olduğu ve hematokriti değerinin % 39 ile % 19 arasında belirlendiği saptanmıştır (Kohn ve ark 2008). Bu anemik köpeklerin 8' de 3' ünde aneminin rejeneratif olduğu belirlenmiştir. Hematolojik bulgular olarak nötropeni ve nötrofili tespit edilmiş buna rağmen etkilenen köpeklerin çoğunda nötrofil sayısının referans aralığının yarısı kadar olduğu saptanmıştır (Greig ve ark 1996, Egenvall ve ark 1997, Poitout ve ark 2005). Amerikada monositopeni infekte 3 köpekten birinde tespit edilmiştir (Greig ve ark 1996, Egenvall ve ark 1997). Aynı zamanda Almanyada ki bazı köpeklerde monositosis rastlanmıştır (Kohn ve ark 2008). Hipoalbumemi, hiperglobulinemi ve orta düzeyde hepatik enzim düzeylerde artış çoğu infekte köpeğin biyokimya profilinde gözlenmiştir (Greig ve ark 1996, Egenvall ve ark 1997, Gravinove ark 1997, Poitout ve ark 2005). Kuzey Amerikada hastalıktan etkilenen köpeklerin %88 inde yüksek alkalen fosfat aktivesi tespit edilmiştir. Avrupada Granulositik Anaplasmozisli 22 köpeğin 5' inde hiperbilirubinemi bildirilmiştir (Greig ve ark 1996, Egenvall ve ark 1997, Gravinove ark 1997, Poitout ve ark 2005).

1.2.5. Tanı

İnsan Granulositik Anaplasmozisinin tanısında klinik ve laboratuvar bulguların yanı sıra aşağıda ki kriterler dikkate alınmaktadır.

1. *A. phagocytophilum* antikor titresinin ≥ 80 olarak tespit edilmesiyle birlikte nötrofillerin içerisinde morulaların iki taraflı saptanmasıyla
2. Antikor titresinde 4 hafta içerisinde ki 4 kat artış veya azalış
3. *A. phagocytophilum*' un primerleri kullanılarak elde edilen pozitif PZR sonuçları
4. Kanda *A. phagocytophilum*' un izolasyonu (Foley ve ark 2008).

Bu kriterler köpeklere de uygulanabildiği gibi tanıda etken izolasyonu rutin olarak kullanılmamaktadır.

Sitolojik muayenede Romanowsky ile boyanan periferik kan frotilerinde nötrofiller içerisinde morula görülebilir. Buna rağmen endemik bölgelerde ki köpeklerin periferik kan frotilerinde nötrofiller içerisinde morula formlarının saptanması bunların *A. phagocytophilum* olma olasılığının yüksek olması yanı sıra ehrlichia türleri ilede karışabilmektedir (örneğin *E. ewingii*); bunların ayırıcı tanısı için PZR ve serolojik testler kullanılmaktadır. Yapılan 4 çalışmada *A. phagocytophilum* saptanan köpeklerin sırasıyla % 36, 56, 67 ve 100'ünde nötrofil içerisinde morula saptanmıştır (Greig ve ark 1996, Egenvall ve ark 1997, Gravinove ark 1997, Poitout ve ark 2005, Kohn ve ark 2008). Akut infeksiyonlarda bu oranın % 7-32 arasında değiştiği bildirilmektedir (Greig ve ark 1996, Egenvall ve ark 1997, Gravinove ark 1997, Poitout ve ark 2005). Deneyisel olarak infekte köpeklerde inokulasyondan en az 4 gün sonra morula formunun gözükteği ve 4- 8 gün daha görölmeye devam ettiği saptanmıştır (Egenvall ve ark 1998).

Dalak dokusu, periferik kan, kemik iliği, buffy coat da *A. phagocytophilum* DNA'sının tespit edilmesi için çeşitli konvansiyonel yöntemler ve gerçek zamanlı PZR geliştirilmiştir (Egenvall ve ark 2000).

Köpeklerde Anaplasmozis'in teşhisinde geleneksel ve klasik yöntem olarak periferik kanda bulunan nötrofillerdeki morulaların mikroskopik olarak belirlenmesinin hastalığın akut fazında mümkün olacağı, bununla beraber, deneyisel çalışmalarda inokulasyonu takiben 4 ila 14. günler arasında periferik kanda mikroorganizmanın belireceği ve 8 gün boyunca kanda kalacağı bildirilmektedir (Egenvall ve ark 1998). Etkene ait morulaların kanda nötrofillerin % 1 ila 27'sinde görülebileceği saptanmıştır.

Hastalığın serolojik olarak tespitinde sıklıkla kullanılan yöntemler immün flöresan antikor tekniği (IFAT) ve hızlı diagnostik ELISA test kitleridir. Deneysel çalışmalarda periferik kanda morula belirdikten 2-5 gün içerisinde serokonversiyon şekillendiği belirlenmiştir. Özellikle 1:80' e eşit veya daha yüksek titreler IFAT testinde *A. phagocytophilum* antikorları yönünden pozitif olarak kabul edilmektedir. Bir diğer analiz olarak kullanılan hızlı Elisa testlerinin kullanıldığı çalışmalarda sensitivite ve spesifitesi % 99,4 ve %100 olarak belirtilmiştir (Chandrashekar ve ark 2007). Yine bu hastalığın tanısında önemli tanı yöntemlerinden biride PZR testidir (de la Fuente ve ark 2005, Torina ve ark 2007).

1.2.6. Sağaltım ve Korunma

Hastalığın klasik sağaltımında diğer Ehrlichia türlerinde olduğu gibi tetrasiklin türevi ilaçlar, özellikle doksisisiklin tercih edilmektedir. Önerile doz genellikle 5-10 mg/kg günde 2 kez olmak üzere 30 gündür (Greig ve Armstrong 2006, Breitschwerdt ve ark 1998). Tetrasiklin türevlerinin uzun süreli kullanımı, gebe hayvanlarda fötüs üzerine olan etkileri, dişlerde renk değişikliğine neden oluşu ve gastrointestinal sistem yan etkileri nedeniyle alternatif ilaç kullanımına ihtiyaç olduğu açıktır.

Ateş, topallık ve iştahsızlık şikayetleri bulunan 11 aylık yaşta Golden Retriever 14 gün süreyle oral doksisisiklinle sağaltılmış ve klinik bulguların 6 gün içerisinde giderildiği rapor edilmiştir (Melter ve ark 2007). Letarji, keyisizlik ve güç yürüme şikayetiyle kliniğe götürülen 7 yaşlı labrador köpekte 3 hafta süreyle oral doksisisiklin kullanılmış ve tüm hematolojik parametrelerin düzeldiği, klinik bulguların ortadan kalktığı tespit edilmiştir (Lester ve ark 2005). *A. phagocytophilum* ' la infekte 34 köpeğin 31 tanesinde doksisisiklinle sağaltım uygulanmış klinik bulgu ve ateşin 3 ila 5 günde gerilediği trombosit sayımlarında ortanca değer olarak 7 gün içerisinde normal değerlere döndüğü tespit edilmiştir (Granic ve ark 2009). Letarjik, iştahsızlık ve topallığın yaygın olarak görüldüğü *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde yapılan bir başka çalışmada doksisisiklinle sağaltıma rağmen klinik bulgularda nöks gözlemlendiği bildirilmiştir (Mazepa ve ark 2010).

1.3 Trombosit İndeksleri

Veteriner hekimlikte birçok hastalıkta benzer şekilde olguların değerlendirilmesine muhakkak dikkatli bir anamnez ile başlanmalıdır. Trombositlerin etkilendiği hastalıklarda temel bulgu, mukoza ve deride kanamalar olabilmektedir. Hemogram rutin laboratuvarında kullanılan çok gerekli pratik, düşük maliyetli kullanımı kolay kan testidir. Hayvanın sağlık durumu hakkında yardımcı olarak, muhtemel infeksiyonun durumu, hastalığın prognozu, sağaltıma alına cevabın monitorizasyonu ve hematopoietik sistemin cevabı hakkında yararlı bilgiler sağlar. (Kerr 2003, Jain 1993). Trombosit sayımı tam kan sayımı cihazları ile yapılabilir. Yetişkin köpeklerde trombosit sayısı $200-500 \times 10^9/l$ ile arasındadır. Trombositopeni ise değerin $< 200 \times 10^9/l$ olmasıdır (Turgut 2000, Feldman ve ark 2000, Jain 1993).

Trombosit ya da kan pulcukları kan pıhtısının oluşumunda görev alan hücrelere verilen isimdir. Platelet olarak adlandırılırlar. Azalmış trombosit seviyeleri (trombositopeni) veya fonksiyon anormallikleri (disfonksiyon) kanama eğilimini artırırken, yüksek trombosit seviyeleri çoğunlukla asemptomatik tromboz (damarda kanın pıhtılaşması) riskini yükseltmektedir (Turgut 2000).

Trombositler memelilerde kemik iliğinden ki çok çekirdekli megakaryositler olan kök hücrelerinden temel alırlar. Trombositlerin yaşam süreleri yaklaşık olarak 3 ila 5 gündür ve parçalanmaları retiküloendotelial sistem ve özellikle dalakta olmaktadır. Hemostazis ile ilişkili birçok fizyolojik aktivite için yeter miktarda trombosit gerekmektedir. Trombositler temelde başlangıç hemostatik plağını oluşturmak için kümeleşerek koagülasyon ve pıhtı yıkımlanmasını başlatmaktadır (Turgut 2000, Feldman 2000).

Trombositlerin hemostaziste üç primer fonksiyonları vardır. Bunlar;

- a) Damarın hasarlı bölgesinde trombosit plağının oluşumu (küçük damarlarda kanamanın durdurulması için yeterlidir)
- b) Trombosit aktivasyonu (trombositlerin yüzeyinde negafit yüklü fosfolipidlerin (trombosit faktör 3;PF 3) birikimine neden olur)
- c) Normal vasküler bütünlüğün sürdürülmesine yardımcı olur. Vasküler endotelyum incedir ve trombosit sayısı düşük olan hayvanlarda (trombositopeni) bozulma eğimli vardır (Turgut 2000, Feldman 2000).

1.3.1. Ortalama Trombosit Hacmi

Rutin hemogramda önemli bir yer tutan trombosit analizleri açısından ortalama trombosit hacmi (MPV) oldukça önemlidir çünkü MPV trombosit fonksiyonunu ve aktivasyonunu ifade etmektedir. Trombosit fonksiyonu ile agregasyonu, tromboksan A2 salınımını, platelet faktör 4 ve beta-tromboglobulin arasındaki ilişkiyi gösterdiği gibi trombosit üretim indeksi, trombosit stimülasyonunu da yansıtır (Bommer ve ark 2008, Zvorc ve ark 2010, Kaito ve ark 2005). Homeostaziste ve trombopoiezisin regülasyonu ile ilişkili en önemli fizyolojik parametrelerden biri toplam trombosit hacmidir (Tvedten ve ark 2008).

MPV trombosit büyüklüğünü tahmini olarak verir ve trombosit sayısı ile tersine orantılıdır (Felman ve ark 2000). İnsanlarda diabetes mellitus, myeloproliferatif sendrom, dissemine intravasküler kolagülasyon, trombotik trombositopenik purpura, idiopatik trombositik purpura ve hipertiroidizm (Greiseneger ve ark 2004), köpeklerde babesioziste (Zvorc ve ark 2010, Ulutaş ve ark 2010), endotoksemilerde (Yılmaz ve ark 2008) platelet üretim eksikliğine bağlı olarak MPV değerinde yükselme meydana gelmektedir.

Ehrlichia ile infekte hayvanlarda trombosit belirteçleri içerisinde özellikle MPV nin belirgin şekilde değişiklik gösterdiği bildirilmektedir (Waner 2008, Waner ve ark 1996, Lilliehöök ve ark 1998, Smith ve ark 1975). Ancak *Ehrlichia sp.* ve/veya *Anaplasma sp.* ile infekte köpeklerde trombosit belirteçlerinin tamamının birlikte incelendiğine ilişkin bir literatür tarafımızdan saptanmamıştır.

Elektronik ölçüm cihazlarından önce MPV, ortalama eritrosit hacmine benzer şekilde, hematokrit tipi mikrosantrifuj tüpünde ölçülen plateletkrit'in trombosit sayısına bölünmesi ile ölçülürdü. Günümüzde değişik hücre boyutlarının elektronik hücre sayıcılarında başarılı bir şekilde ölçülmesi, MPV, klinikte ve araştırmalarda sıklıkla değerlendirilmesine olanak sağlanmaktadır. Trombopoezin arttığı durumlarda, dolaşımda genç trombositlerin artmasına bağlı olarak MPV de yükseldiği belirlenmiştir. Büyük trombositler daha yoğun granüller içerirler. Klinik olarak İdiopatik Trombositopenik Purpurada (ITP) olduğu gibi, trombosit ömrünün azaldığı durumlarda boyut ve yoğunluğun genç trombosit popülasyonu ile orantılı olarak arttığı belirlenmiştir. Ciddi trombositopenilerde düşük MPV'nin kanama temayülü ile korele olduğu gösterilmiştir (Eldor ve ark 1982). Trombosit büyüklüğü artmış megakaryosit sayısı ile de ilişkilidir

(Threatte ve ark 1993). Normalde trombositler megakaryositlerden serbestleştikleri zaman heterojendir, hepsi yeni oldukları için büyük ve yoğun değildirler, aynı zamanda küçük ve daha az yoğun olabilirler (Threatte ve ark 1993). Ancak trombosit yapımını stimüle eden bir neden varsa MPV sadece artmakla kalmaz, aynı zamanda trombosit dağılım genişliği (TDG ya da PDW) de artar. Myeloproliferatif hastalıklar ve esansiyel trombositozun, reaktif trombositozların ayırımında MPV ve PDG önem taşır (Osselaer ve ark 1997, Sehayek ve ark 1998). Megakaryositlerin artmış trombosit boyutuna proliferatif bir yanıt oluşturduğu, trombosit kitlesi normale döndüğünde hacmin de normale döndüğü gösterilmiştir. Trombosit kitlesinin yerine konamadığı, artmış yıkımla giden kronik durumlarda MPV yüksekliği, düşük ya da sınırda trombosit sayısı ile birlikte dir. Yetersiz trombopoiesi olan, kemoterapi almış ya da kronik böbrek yetmezliği olan olgularda ise MPV normalden küçük olmaktadır (Threatte ve ark 1993).

Trombosit boyutu ve trombosit sayısı arasında ki ters ilişki insan hekimliğinde trombosit kütlesi konseptinin gelişimine neden olmuştur (Boudreaux ve Ebbe, 1998). Teorik olarak trombosit kütlesi sabit ve türler arasında farklılık gösterebilmekle birlikte yüksek trombosit sayısının düşük trombosit hacmi ya da tam tersi durumla ilişkili olduğu tespit edilmiştir (von Behrens 1972). Trombosit hacmi trombopoietin üretimi/regülasyonunu oldukça önemli bir belirteci olmakla birlikte trombopoietin hormonunun bağlanma kapasitesiyle doğrudan ilişkilidir (Kuter ve Rosenberg 1995).

İnsanlarda yapılan çalışmalarda trombosit sayısının ve trombosit hacminin ters ilişkili olduğu ancak trombosit hacminin artmış olan trombosit sayısı ile birlikte artabileceğide (Bessman ve ark 1981, Levin ve Bessman 1983) dikkate alındığında sabit bir trombosit hacminin dengelenmesinde ki mekanizmaların halen çok açık olmadığı anlaşılmaktadır. Trombopoietin adlı hormonun keşfi ile birlikte trombosit hacminin söz konusu bu hormonun konsantrasyonlarının belirlenmesinde önemli bir regülatör olduğu saptanmıştır (Boudreaux ve Ebbe 1998). Daha önceden belirlenen bir teoriyle trombopoietinin sürekli sentezlenerek trombositlerin üzerlerinde yer alan reseptörlere bağlandığı saptanmıştır. Platelet sayısı azaldıkça megakaryosit reseptörlerine bağlanabilecek daha fazla trombopoietin salınmaktadır (Kuter ve Rosenberg, 1995). Trombosit hacmi terimi çoğunlukla trombosit sayısının yerine kullanılarak, trombosit genişliği ve hacmi kombinasyonunun dolaşımda mevcut trombopoietin reseptörleri sayısının belirlenmesinde önemli rol oynar (Boudreaux ve Ebbe 1998).

Dolaşımdaki trombosit sayısının kontrolünden asıl sorumlu hormon trombopoietindir. Değişik hayvan türlerinde trombopoietin kendi başına megakaryositlerin proliferasyonunu ve olgunlaşmasını sağlayarak trombosit üretimini düzenlenmektedir (Boudreaux ve Ebbe 1998, Kuter ve Rosenberg 1995). Akut trombositopenide trombopoietin hormonu megakaryosit proliferasyonunu ve olgunlaşmasını sağlamadan önceki 8 saat içerisinde büyük trombositler dolaşıma katılır (Corash ve ark 1987). Bu durum trombositopeniye akut bir cevap olarak olgunlaşma safhasında megakaryositlerin büyük şekilli trombositleri şekillendirdiğini düşündürmektedir. Bunun yanı sıra trombosit hacmini ve sayısını değişik mekanizmaların kontrol ettiği açıktır (Boudreaux ve Ebbe 1998).

Trombosit stimülasyonu ya da trombosit üretimi düzeyi ile MPV'nin ilişkili olduğu bilinmektedir. Son yıllarda trombositopeniler (Bessman 1984, Corash 1987), trombositozis (Bessman 1984, Osselaer ve ark 1997, Sehayek ve ark 1988), konjenital trombosit hastalıkları, sepsis, tiroid hastalıkları [hipertiroidide yüksek (Ford ve ark 1988), hipotiroidide düşük (Van Doormaal ve ark 1987)], kronik obstruktif akciğer hastalıkları (Wedzicha ve ark 1988), splenektomi, mikrositik anemiler, serebral infarktüs (Valkila ve ark 1994, Tohgi ve ark 1991, O'Malley ve ark 1995), venöz dolaşım yetmezliği (Davis ve ark 1992), gebelikte hipertansiyon ve preeklampsi, organik solvent toksisitesi gibi pek çok konuda MPV'nin klinik yararı üzerine yapılmış çalışmalar vardır. Standart bir yöntemle ve stabil kan örneklerinin hazırlanması ile yapılacak MPV'nin ölçümleri, öncelikle vasküler hastalıklar olmak üzere pek çok klinik durumun tanı ve monitorizasyonunda yararlı olabilir (Threatte 1993).

1.3.2 Plateletkrit

Plateletkrit (PCT), total kan hacmindeki trombosit yüzdesini ifade eder ve direkt total trombosit sayısı ile ilişkilidir (Moraes 2001, Bommer ve ark 2008). PCT trombositlerin vücuttaki durumunun en belirgin ve en önemli fizyolojik parametresidir (Bommer ve ark 2008, Zvorc ve ark 2010). Bu parametre ile trombosit bozuklukları ile seyreden birçok hastalığın intravital diyagnozu ve patogenezi aydınlatılmaktadır.

Herhangi bir kan örneğinde ki PCT değeri, aynen vücutta ki total eritrosit hacminin indikatörü olan hematokrit değeri gibi, vücutta ki trombosit hacminin bir indikatörüdür (Tvedten ve ark 2008). PCT özelleşmiş kan sayım cihazları tarafından platelet sayısının

hesaplanmasıyla ortaya çıkan bir parametredir (Tvedten ve ark 2008). PCT değerinin MPV değerinden yola çıkılarak hesaplanamayacağı bildirilmektedir (Tvedten ve ark 2008).

1.3.3. Trombosit Dağılım Genişliği

Trombosit dağılım genişliği (PDW), trombositlerin üretiminde farklı büyüklüklerdeki trombositler arasındaki ilişkiyi gösterir. PDW, MPV de olduğu gibi trombosit üretimindeki bozuklukların tamamını göstermez (Moraes, 2001).

Çizelge 1.2. Köpeklerde trombosit indeksleri referans değerleri

	Boudreaux Ebbe (1998)	Zvorc (2010)	Ferreira (2009)
MPV	5,1 – 9,7	7,9 – 13,5	12,54 – 14
PCT	1 – 3,4	0,3 – 0,16	0,33 – 0,39
PDW	-	-	19,85 – 20,48

MPV = Ortalama trombosit hacmi, fl

PCT = Plateletkrit, %

PDW= Trombosit dağılım genişliği

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Hayvan Materyalinin Seçimi

Araştırmanın hayvan materyalini Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Küçük Hayvan Kliniklerine ve Aydın ile İzmir illerindeki özel veteriner kliniklerine iştahsızlık, kilo kaybı, yüksek ateş, generalize lenadenopati, splenomegali, kas zafiyeti, deride ekimoz ve peteşi, epistaksis, bacaklarda ödem, dispne veya poliartiritis şikayetleri ile getirilen farklı ırk (8 Terrier, 7 Golden Retriever, 4 Cocker spaniel, 3 Rottweiler, 2 Türk Çoban Köpeği, 1'er Doberman, Alman Çoban köpeği, Jack Russel, Samoyed, Pointer, Setter, Daschund, Siberian Husky, 39 melez), yaş (1-9) ve her iki cinsiyetten (32 erkek, 39 dişi) 71 köpek oluşturdu. Kliniklere başvuran ve yukarıda sözü edilen klinik bulguların yanı sıra kan tablosunda trombositopeni belirlenen veya belirlenmeyen yaklaşık 200 köpek kesin tanı ve ayırıcı tanı amacıyla klinik muayene ve laboratuvar testleri aracılığıyla incelendi. Bu amaçla tüm olgular hızlı ELISA prensibiyle çalışan ticari test kitleri (Snap 4DX) aracılığıyla test edilerek, söz konusu hastalıklar (Ehrlichiosis, Anaplasmosis, Dirofilariosis, Borreliosis) yönünden değerlendirildi. İlaveten ayırıcı tanı amacı ile sözü edilen klinik bulgulara ve kan tablosuna sebep olabilen diğer infeksiyöz hastalıklarda (Babesiosis, Hepatozoonosis, Leishmaniosis) gerekli görüldüğü takdirde lenf aspirasyonları ve sitolojik muayeneye değerlendirilerek olguların tüm bu infeksiyöz hastalıklar yönünden tekil ya da çoğul etkenle hasta olup olmadığı belirlendi. Elde edilen serum örneklerinden ADÜ Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda IFAT yöntemiyle *leishmaniozis* varlığı değerlendirildi, IFAT sonucu 1/64 ve üzeri olan olgular çalışma kapsamına alınmadı. Tüm bu laboratuvar analizleri sonrası yalnızca *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile infekte olgular çalışma kapsamına alınırken, yukarıda ki söz konusu diğer infeksiyöz etkenler yönünden pozitif kombine infekte hiçbir olgu çalışma kapsamına alınmadı. Çalışma öncesi Adnan Menderes Üniversitesi hayvan deneyleri yerel etik kurulundan B.30.2.ADÜ.0.00.00.00-0.50.0.4-2010-077 sayılı etik kurul onayı alındı.

Doğal yolla oluşan Ehrlichiosis ve/veya Anaplasmosis tanısı konulan her iki cinsiyetten (32 erkek, 39 dişi) ve çeşitli yaş gruplarından 51 köpek 3 farklı gruba ayrıldı. II. grupta *A. phagocytophilum* ile infekte (n=10) (7 melez, 1'er Terrier, Setter, Golden Retriever), III. grupta (n=13) *E. canis*+ *A. phagocytophilum* ile infekte (13 melez), IV.

grupta (n=28) *E. canis* ile infekte (10 melez, 5 Terrier, 3 Golden Retriever, 2' şer Rottweiler, Türk Çoban Köpeği, Cocker Spaniel, 1' er Doberman, Alman Çoban Köpeği, Jack Russel Terrier, Samoyed) yer aldı. Sağlıklı oldukları klinik/fiziksel muayene ile belirlenen ve test kitleriyle kanda herhangi bir etken saptanmayan (n=20) köpekler ise diğer bir grupta (I.) kontrol olarak ayrıldı. Çalışma kapsamına alıncak köpekler daha önceden herhangi bir sağaltım protokolü uygulanmamış olanlar arasından seçildi. Tüm köpeklerin eşgal, anamnez bilgileri, fiziksel muayene bulguları ve laboratuvar analiz sonuçları kayıt altına alındı. Çalışmaya dâhil edilecek tüm olgular hasta sahipleri bilgilendirilerek gönüllülük esasıyla elde edildi. Bu çalışmada *E. canis* ve *A. phagocytophilum* ile doğal olarak infekte köpeklerde trombosit indeksleri olan plateletkrit, ortalama trombosit hacmi ve trombosit dağılım genişliğinin incelenerek söz konusu hastalıkların muhtemel tanısında ve belki de prognozunun belirlenmesinde ki öneminin araştırması amaçlandı. Leishmania ile ko-infekte olgular çalışmaya dahil edilmedi.

2.2. Laboratuvar Muayeneleri

2.2.1. Hematolojik Muayene

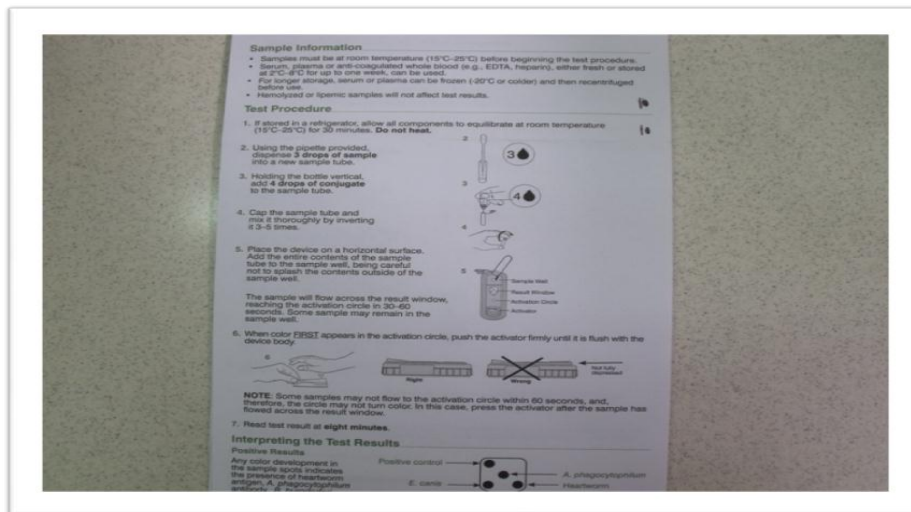
Tüm gruplardaki köpeklerde vena cephalica antebrahi'den antikoagulanlı (EDTA) tüplere 5'er ml kan alınarak ADÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD laboratuvarında bulunan Abacus Junior kan sayımı cihazında tam kan sayımı gerçekleştirildi (Resim 2.1) ve özellikle trombosit belirteçleri (ortalama trombosit hacmi, trombosit dağılım genişliği ve plateletkrit) değerlendirildi.



Resim 2.1. Tam kan sayımı için kullanılan Abacus Junior kan sayım cihazı (ADÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları A.B.D).

2.2.2 Serolojik Muayene

Çalışma kapsamında tüm olgulardan alınan kan hızlı ELISA prensibiyle çalışan ticari test kitleri (Snap 4DX) aracılığıyla muayene edilerek, söz konusu hastalıklar (Ehrlichiosis, Anaplasmosis, Dirofilariosis, Borreliosis) yönünden değerlendirildi. Söz konusu hızlı diyagnostik test kitleriyle in vitro ortamda *D. immitis* e karşı oluşan dolaşımda ki karbonhidrat antijeni ile birlikte *E. canis*' in iki immunodominant proteinine (p30 ve p30-1), *A. phagocytophilum*' un immunodominant proteinine (msp2) ve *B. burgdoferi*' nin C6 peptidine karşı oluşan antikorların (Carrade ve ark 2011) var olup olmadığı belirlendi. Analizler için tüm olgularda EDTA'lı taze tam kan örneği kullanıldı. Test prosedürü gerçekleştirilmeden önce kullanılacak yeter sayıda test kitlerinin oda sıcaklığında beklemesi sağlandı. Alınan örneklerinden pipetle alınan 3 damla bir başka tüp içerisinde 4 damla konjugatla birleştirilerek homojen bir şekilde karışımı sağlandı. Daha sonra bu karışım test kitinin örnekleme çukuruna damlatılarak sonuç penceresinde 30-60 sn içerisinde testin çalıştığını ve yürüdüğünü gösteren aktivasyon dairesinin oluşumu gözlemlendi. Renk oluşumu belirlendikten sonra test kitinin hareketli kısmı aşağı doğru itirilerek düz bir zeminde sabitlenmesi sağlandı. İlk 1 dakika içerisinde aktivasyon dairesinde herhangi bir hareketlilik ve renk değişimi belirlenemeyen test kitleri çalışma kapsamına kesinlikle alınmadı. Yalnızca pozitif kontrol çizgisinin belirmesi testin çalıştığını ve tüm hastalıkların negatif olduğunu belirleyen bir kriter olarak üretici firmanın belirttiği şekilde alındı. Hastalıkların test kiti içerisinde ki pozitif reaksiyon pencereleri aşağıda gösterildi.



Resim 2.2. Snap 4Dx test prosedürü .

Söz konusu test kiti ile yapılan daha önce ki çalışmalarda *D. immitis* antijenlerine karşı spesifite % 97 (Bowman ve ark 2009), sensitivite % 84 (Atkins 2003), *B. burgdorferi* antikorlarına karşı spesifite % 99,5 (Duncan ve ark 2004), sensitivite % 94,4 (O' conner ve ark 2004), *E. canis* antikorlarına karşı spesifite % 100 (O' conner ve ark 2004, O' conner ve ark 2006), sensitivite % 95,7 (O' conner ve ark 2002), *A. phagocytophilum* antikorlarına karşı spesifite % 100 (Chandrashekar ve ark 2007) ve sensitivite % 99,1 (O' conner ve ark 2007) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 2.1. ‘Bilgi Onam Formu’ örneği

Bilgi Onam Formu	
Tarih	
Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda eğitim gören yüksek lisans öğrencisi Vet. Hekim Funda ÖZATA ‘<i>Ehrlichia canis</i> ve <i>Anaplasma phagocytophilum</i> ile infekte köpeklerde trombosit indeksleri; platelekrit, ortalama trombosit hacmi ve trombosit dağılım genişliği’ adlı yüksek lisans tez çalışması için araştırmada yer alacak köpeklerden hematolojik ve serolojik laboratuvar muayeneler amacıyla kan örnekleri alınacağını ve toplanan verilerin bu çalışma dışında başka herhangi bir çalışma için kullanılmayacağını sözlü ve yazılı olarak şahsıma bildirmiştir. Hayvan sahibi olarak, köpeklerde önemli hematolojik hastalıkların belirleneceği yukarıda adı geçen yüksek lisans tez çalışmasında yer almasını ve oluşturulacak gruplarından birine dahil edilerek gerekli uygulamaların yapılmasını kabul ediyorum. ADRES Hasta sahibinin adı soyadı İMZA	

2.2.3 İstatistiksel Analiz

Üzerinde durulan özellikler bakımından elde edilen verilere ait tanımlayıcı istatistikler hesaplanarak Çizelge 10 ve 11’ da verilmiştir. Yine tanıtıcı bu özelliklerin arasında ki doğrusal ilişkinin varlığı korelasyon katsayısı (Pearson testi) hesaplanarak incelendi (Çizelge 12).

Burun akıntısı, iştahsızlık, kilo kaybı, kene enfestasyonu, kas zafiyeti, dermal peteşi, epistaksis, poliartiris, lenfadenopati gibi var-yok şeklinde elde edilen olgular ile gruplar (I.,II.,III.,IV.) arasında bağımsızlık kontrolü için tablolarda ki-kare testi hesaplandı.

Üzerinde durulan özellikler bakımından elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi tekniği ile (tek yönlü Anova) incelendi. Böylece grupların ortalamaları arasında ki farklılıklar irdelendi. Varyans analizi sonunda önemli çıkan grup ortalamaları arasında farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi'nden yararlanıldı.

3. BULGULAR

3.1. Laboratuvar Bulgular

Üzerinde durulan hematolojik bulgulara ait değişiklikler Çizelge 3.1 ve 3.7’ de gösterildi. *E. canis* ve *A. phagocytophilum* ile ko-infekte köpeklerin bulunduğu grupta anemi, trombositopeni ve lökositozis daha yaygın olarak belirlenirken bu grupta lökopeni belirlenmemesine karşın ile sadece *E. canis* ile infekte köpeklerde lökopeni diğer gruplara oranla belirgin bir bulgu olarak dikkati çekmekteydi. Ayrıca *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerin yalnızca % 10’ nunda lökopeni belirlendi.

Çizelge 3.1. *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde hematolojik anormallikler

Hematolojik bulgular	<i>A. phagocytophilum</i> (n:10) (%)	<i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (n:13) (%)	<i>E. canis</i> (n:28) (%)
Anemi	6/10 (60)	10/13 (76)	19/28 (67)
Trombositopeni	5/10 (50)	8/13 (76,9)	20/28 (71,4)
Lökositozis	4/10 (40)	5/13 (38)	4/28 (14)
Lökopeni	1/10 (10)	0/13 (0)	6/28 (21)

3.2. Serolojik Bulgular

In vitro diyagnostik amaçla kullanılan hızlı test kitleri (Snap4Dx) ile yaklaşık 200 köpeğin 28’ inde (% 14) *E. canis* antikorı, 10’ nunda (% 5) *A. phagocytophilum* ve 13’ünde (% 6,5) hem *E. canis* hemde *A. phagocytophilum*’ a karşı antikorlar belirlendi (Resim 3.1-3.3).



Resim 3.1. 1, 4, 5, 9, 12, 14 ve 16 numaralı olgu *E. canis*+ *A. phagocytophilum*, 7 numaralı olgu yalnızca *E. canis* ile infekte, 10 numaralı *E. canis*, *A. phagocytophilum* ve *D. immitis* ile ko-infekte ve çalışma kapsamına dahil edilmeyen olgu.

Hayvanın ırkı =
 Anamnez =
 Klinik bulgular (fiziksel muayene sonuçları)
 T =
 P =
 R =

SNAP 4Dx TEST SONUÇLARI:

	EVET	HAYIR
BÜYÜK AKINTI:	☐	☐
İTAR:	☐	☐
KİLO KAYBI:	☒	☐
KİME/DİĞER DİŞ PARAZİTİ ENF.:	☒	☐
KAS ZAAFIYETİ:	☒	☐
DERMAL PÜTEŞİ / EKİMOZ:	☐	☒
EPİSTAKSİS/SPONTAN KANAMA:	☐	☒
POLİAKTİTİTİS:	☐	☒
SANTRAL SİNİR SİSTEMİ BULGUSU:	☒	☐
LENFADENOPATİ:	☐	☐

SNAP 4Dx TEST SONUÇLARI:

	EVET	HAYIR
Drafitariosit:	☐	☐
Ehrlichia:	☒	☐
Borrelia:	☐	☐
Anaplazma:	☒	☐

Eriti (tıbbi) sonuçları:

Resim 3.2. *E. canis* ve *A. phagocytophilum* ile ko-infekte bir köpeğin SNAP 4Dx sonucu.



Resim 3.3. *A. phagocytophilum* ile infekte bir köpeğin Snap 4DX ile tanısı.

3.3. Klinik Bulgular

Burun akıntısı, iştah, kilo kaybı, kene enfestasyonu, kas zafiyeti, dermal peteşi, epistaksis, poliartiris, lenfadenopati gibi var (1)-yok (0) şeklinde elde edilen olgular ile gruplar (I.,II.,III.,IV) arasında bağımsızlık kontrolü için tablolarda ki-kare testi ile hesaplanan veriler grup bazında, Çizelge 3.2-3.6' da gösterildi. Grupların kontrol, *A. phagocytophilum*, *E. canis*+*A. phagocytophilum* veya *E. canis* oluşu burun akıntısının, iştahın, kilo kaybının, kene enfestasyonunun ve lenfadenopatinin olup olmasına bağlı olduğu ve tüm söz konusu klinik bulgular için $p < 0,01$ düzeyinde anlamlılık arz ettiği belirlendi. Buna karşın kas zafiyeti, dermal peteşi/ekimoz ve poliartiritis gibi klinik bulguların infekte gruplar arasında istatistiksel açıdan önem arz etmediği tespit edildi. *Ehrlichia* sınıfında ki mikroorganizmaların bulaşmasında rol oynayan kene enfestasyonu göz önünde bulundurulduğunda *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerin %90' nında, *E. canis* ve *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerin % 53,85' inde ve *E. canis* ile infekte köpeklerin % 71,43' ünde aktif kene enfestasyonu olduğu saptandı (Çizelge 3.5). Bireysel bazda irdelendiğinde *E. canis* ile infekte Boxer ırkı bir köpekte arka bacakta distal ödem ve hematolojik bulguları (Resim 3.4 a-b) dikkat çekiciydi. Yine *A. phagocytophilum* ile infekte bir Rottweiler' da topallık ve santral sinir sistemi bulguları (Resim 3.5), *E. canis* veya *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde kanama eğilimde artış (Resim 3.6-3.8) belirlendi.



Resim 3.4.a. *E. canis* ile infekte Boxer ırkı bir köpekte arka bacakta olası derin ven trombozuna bağlı ödem.

1207 Ehrlichiosis (✓) mikro Hematokrit = 30

ADÜ Veteriner Fakültesi
Analiz İstek Formu

Sahibinin Adı Soyadı: Zeynep A. Yaş: 6 yaş. İrk: Boxer

Biyokimyasal	Birimin	Köpek	Kedi	Hematolojik	Referans
ALT (U/L)	221	6-70	28-76	Hb (g/dl)	30
AST (U/L)	148	10-43	12-40	PCV (%)	
ALP (U/L)	296	8-76	0-62	RBC (x10 ¹² /l)	
GGT (U/L)	11.6	0-8	0-1	WBC (x10 ⁹ /l)	
BUN (mg/dl)		17-193	46-350	MCV (fl)	
CK (U/L)		0-216	50-440	MCH (pg)	
g-Amibaz (U/L)		350-1650	550-1450	MCRC (g/dl)	
Glukoz (mg/dl)	0.950	0-375	0-115	PLT (x10 ⁹ /l)	
T. Bilirubin (mg/dl)	0.0-0.6	0.0-0.4		Band Nütrofil (%)	
T. Protein (g/dl)	5.0-7.2	5.8-8.5		Pargali Nütrofil (%)	
Albumin (g/dl)	3.1-4.5	2.4-4.3		Lorifoll (%)	
Globulin (g/dl)	1.6-4.3	2.3-5.0		Monofoll (%)	
Cholesterol (mg/dl)	60-115	60-130		Eosinofoll (%)	
Triglycerit (mg/dl)	21-87	34-96		Basofoll (%)	
Kolesterol (mg/dl)	112-308	82-218		Retikülofoll (%)	
Ure Nitrojen (mg/dl)	30.1	16-26	15-34		
Kreatinin (mg/dl)	0.820	0.5-1.3	1.0-2.2		
Demir (µg/dl)	54-195	68-215			
Kalsiyum (mg/dl)	9.2-11.2	7.2-11.4			
Phosphor (mg/dl)	1.0-2.0	1.6-2.1			
Klor (mg/dl)	165-117	114-136			
Sodyum (mg/dl)	142-150	142-162			
Potasyum (mg/dl)	4.0-5.4	3.7-5.2			
ACTH (pmol/L)	2-15	1-20			

RENCUS JAND VET 5

Patient No: 487
Hastanın Adı: Zeynep A.
Yaş: 6 yaş.
İrk: Boxer

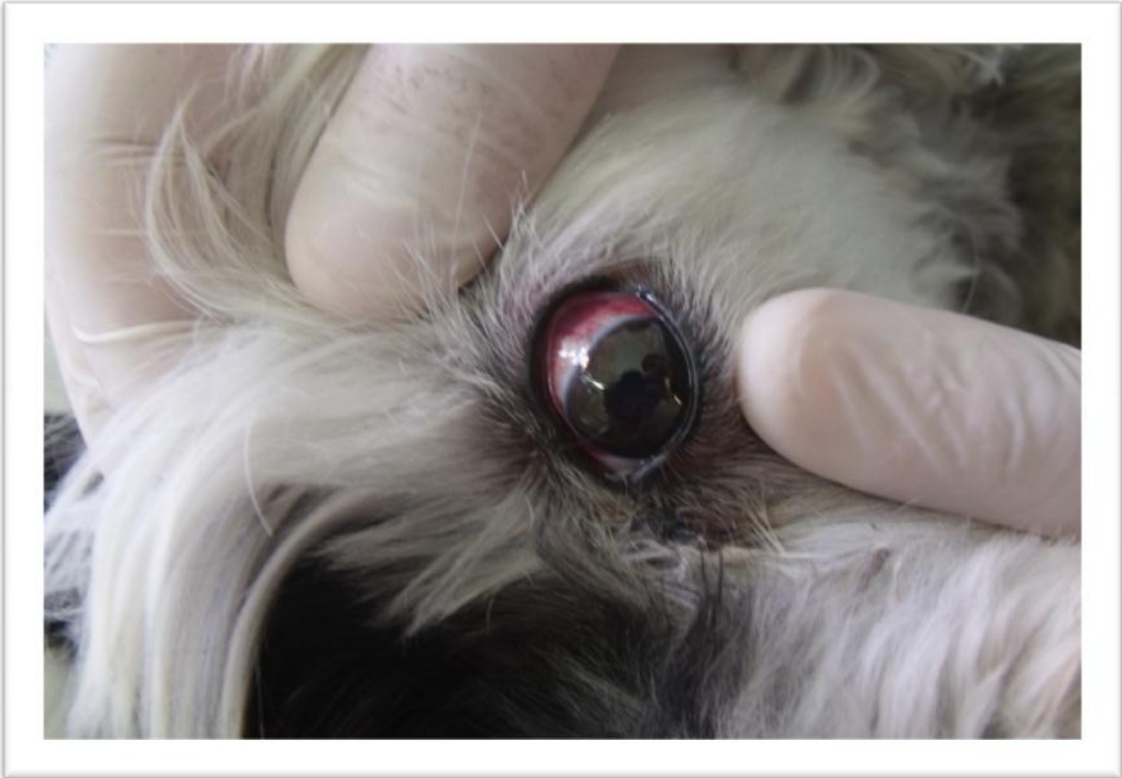
Birth/Sevi: 00.00.0000
Report tarihi: 19.07.2018
Test tarihi: 19.07.2018 11:47
Sample No: 2288

Test	Result	Sample No
WBC	19.24 x 10 ⁹ /l [6.80-17.00]	
LYM	1.52 10 ⁹ /l [1.80-4.00]	
MON	1.31 10 ⁹ /l [0.20-3.50]	
NEU	15.77 x 10 ⁹ /l [10.00-12.00]	
EOS	0.04 10 ⁹ /l [0.10-1.00]	
BAS	0.00 10 ⁹ /l [0.00-0.50]	
LYN	7.8 % [12.8-36.8]	
MON	6.8 % [1.2-4.8]	
NEU	85.1 % [62.8-87.8]	
EOS	0.2 % [1.0-0.8]	
BAS	0.0 % [0.0-0.0]	
RBC	4.15 x 10 ¹² /l [5.50-6.50]	
HGB	9.2 g/dl [12.0-16.0]	
HCT	26.32 % [37.00-50.00]	
PCV	60 % [58-77]	
MCV	23.2 fL [19.5-24.5]	
MCH	22.4 pg [19.0-24.0]	
MCHC	15.9 % [17.0-18.0]	
PLT	0 x 10 ⁹ /l [200-500]	
PCT	0 % [0.1-0.3]	
PPV	0 % [0.1-0.3]	
PONC	0 % [0.1-0.3]	

Resim 3.4.b. Aynı köpeğe ait Snap 4Dx testi ve tam kan sayımı sonucu.



Resim 3.5. Granulositik Anaplasmozisle infekte Rottweiler ırkı bir köpekte, yüksek ateş, topallık ve santral sinir sistemi bulguları.



Resim 3.6. *E. canis* ile infekte Poodle Terrier ırkı bir köpekte korneada hemoraji.



Resim 3.7. *E. canis* ile infekte Samoyed ırkı bir köpekte abdomende dermal peteşi ve ekimoz.



Resim 3.8. *A. phagocytophilum* ile infekte Poodle Terrier bir köpekte abdomende dermal peteşi ve ekimoz.

Çizelge 3.2. Tüm gruplarda burun akıntısına ilişkin tanımlayıcı istatistikler

Gruplar	0	1	Hepsi
I. Kontrol	20	0	20
	100,0	0,00	100,00
	45,45	0,00	28,17
	28,17	0,00	28,17
II. <i>A. phagocytophilum</i>	6	4	10
	60,00	40,00	100,00
	13,64	14,81	14,08
	8,45	5,63	14,08
III. <i>E. canis</i> +<i>A. phagocytophilum</i>	4	9	13
	30,77	69,23	100,00
	9,09	33,33	18,31
	5,63	12,68	18,31
IV. <i>E. canis</i>	14	14	28
	50,00	50,00	100,00
	31,82	51,85	39,44
	19,72	19,72	39,44
V. Hepsi	44	27	71
	61,97	38,03	100,00
	100,00	100,00	100,00
	61,97	38,03	100,00

Hücre içeriği (Hücre sayısı), Satır yüzdesi (%), Sütun yüzdesi (%), Toplam yüzde (%) olarak belirtilmiştir.

Grupların, kontrol, *A. phagocytophilum*, *E. canis*+*A. phagocytophilum* veya *E. canis* oluşu burun akıntısının olup (1) olmamasından (0) bağımsız değildir ($P<0,01$).

Çizelge 3.3. Tüm gruplarda iştaha ilişkin tanımlayıcı istatistikler

	0	1	Hepsi
I. Kontrol	0	20	20
	0,00	100,0	100,00
	0,00	100,00	28,17
	0,00	28,17	28,17
II. <i>A. phagocytophilum</i>	10	0	10
	100,00	0,00	100,00
	19,61	0,00	14,08
	14,08	0,00	14,08
III. <i>E. canis</i> +<i>A. phagocytophilum</i>	13	0	13
	100,0	0,00	100,00
	25,49	0,00	18,31
	18,31	0,00	18,31
IV. <i>E. canis</i>	28	0	28
	100,0	0,00	100,00
	54,90	0,00	39,44
	39,44	0,00	39,44
V. Hepsi	51	20	71
	71,8	28,2	100,0
	100,00	100,00	100,00
	71,83	28,17	100,00

Hücre içeriği (Hücre sayısı), Satır yüzdesi (%), Sütun yüzdesi (%), Toplam yüzde (%) olarak belirtilmiştir.

Grupların kontrol, *A. phagocytophilum*, *E. canis*+*A. phagocytophilum* veya *E. canis* oluşu iştahın mevcut olup (1) olmamasından (0) bağımsız değildir ($P<0,01$).

Çizelge 3.4. Tüm gruplarda kilo kaybına ilişkin tanımlayıcı istatistikler

	0	1	Hepsi
I. Kontrol	20	0	20
	100,0	0,00	100,00
	76,92	0,00	28,17
	28,17	0,00	28,17
II. <i>A. phagocytophilum</i>	1	9	10
	10,0	90,0	100,00
	3,85	20,00	14,08
	1,41	12,68	14,08
III. <i>E. canis</i> +<i>A. phagocytophilum</i>	0	13	13
	0,00	100,0	100,00
	0,00	28,89	18,31
	0,00	18,31	18,31
IV. <i>E. canis</i>	5	23	28
	17,9	82,1	100,0
	19,23	51,11	39,44
	7,04	32,39	39,44
V. Hepsi	26	45	71
	36,6	63,4	100,0
	100,00	100,00	100,00
	36,62	63,38	100,00

Hücre içeriği (Hücre sayısı), Satır yüzdesi (%), Sütun yüzdesi (%), Toplam yüzde (%) olarak belirtilmiştir.

Grupların kontrol, *A. phagocytophilum*, *E. canis*+*A. phagocytophilum* veya *E. canis* oluşu kilo kaybı mevcut olup (1) olmamasından (0) bağımsız değildir ($P<0,01$).

Çizelge 3.5. Tüm gruplarda kene enfestasyonuna ilişkin tanımlayıcı istatistikler

	0	1	Hepsi
I. Kontrol	20	0	20
	100,0	0,00	100,00
	57,14	0,00	28,17
	28,17	0,00	28,17
II. <i>A. phagocytophilum</i>	1	9	10
	10,0	90,0	100,00
	2,86	25,00	14,08
	1,41	12,68	14,08
III. <i>E. canis</i> +<i>A. phagocytophilum</i>	6	7	13
	46,15	53,85	100,00
	17,14	19,44	18,31
	8,45	9,86	18,31
IV. <i>E. canis</i>	8	20	28
	28,57	71,43	100,0
	22,86	55,56	39,44
	11,27	28,17	39,44
V. Hepsi	35	36	71
	49,30	50,70	100,00
	100,00	100,00	100,00
	49,30	50,70	100,00

Hücre içeriği (Hücre sayısı), Satır yüzdesi (%), Sütun yüzdesi (%), Toplam yüzde (%) olarak belirtilmiştir.

Grupların kontrol, *A. phagocytophilum*, *E. canis*+*A. phagocytophilum* veya *E. canis* oluşu kene enfestasyonu mevcut olup (1) olmamasından (0) bağımsız değildir ($P<0,01$).

Çizelge 3.6. Tüm gruplarda lenfadenopatiye ilişkin tanımlayıcı istatistikler

	0	1	Hepsi
I. Kontrol	20	0	20
	100,00	0,00	100,00
	100,00	0,00	28,17
	28,17	0,00	28,17
II. <i>A. phagocytophilum</i>	0	10	10
	0,00	10,00	100,00
	0,00	19,61	14,08
	0,00	14,08	14,08
III. <i>E. canis</i> +<i>A. phagocytophilum</i>	0	13	13
	0,00	100,00	100,00
	0,00	25,49	18,31
	0,00	18,31	18,31
IV. <i>E. canis</i>	0	28	28
	0,00	100,00	100,0
	0,00	54,90	39,44
	0,00	39,44	39,44
V. Hepsi	20	51	71
	28,2	71,8	100,00
	100,00	100,00	100,00
	28,17	71,83	100,00

Hücre içeriği (Hücre sayısı), Satır yüzdesi (%), Sütun yüzdesi (%), Toplam yüzde (%) olarak belirtilmiştir.

Grupların kontrol, *A. phagocytophilum*, *E. canis*+*A. phagocytophilum* veya *E. canis* oluşu lenfadenopati mevcut olup (1) olmamasından (0) bağımsız değildir ($P<0,01$).

3.4. Hematolojik Bulgular

PLT özellikleri bakımından elde edilen verilere yapılan analiz sonucunda grupların ortalamaları arasında ki farklar istatistiksel olarak önemliydi ($p<0,01$). I. grup ile II. , III. ve IV. gruplar arasında istatistiksel olarak belirgin farklar saptandı ($p<0,01$) (Çizelge 3.8).

PCT özelliği bakımından elde edilen verilere yapılan analiz sonucunda grupların ortalamaları arasında ki farklar istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,01$). Kontrol grubu ile II., III. ve IV. gruplar arasında belirgin farklar mevcuttu ($p<0,01$).

MPV ve PDWc özelliği bakımından elde edilen verilere yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasında ki farkların istatistiksel olarak önemli olmadığı görüldü ($p>0,05$) (Çizelge 3.8).

WBC özelliği bakımından yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasında ki farklar istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,05$). II. grup (*A. phagocytophilum*) ile III. grup (*E. canis*+*A. phagocytophilum*) arasında farklılık saptanmazken ($p>0,05$), kontrol grubu ile IV. (*E. canis*) grup arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0,05$) (Çizelge 3.7).

RBC özelliği bakımından elde edilen verilere yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasında ki farklar istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0,01$). Kontrol grubu ile III. ve IV. gruplar arasında belirgin farklar saptandı ($p<0,01$).

Hb özelliği bakımından yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasında ki farklar belirgin derecede önemliydi ($p<0,01$). Kontrol grubu ile III. ve IV. gruplar arasında belirgin farklar saptandı ($p<0,01$).

Ht özelliği bakımından yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasında ki farklar belirgin derecede önemliydi ($p<0,01$). Kontrol grubu ile III. ve IV. gruplar arasında belirgin farklar mevcuttur ($p<0,01$).

MCV özelliği bakımından elde edilen verilere yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasında ki farklar istatistiksel olarak önemli farklar belirlendi ($p<0,05$). Kontrol grubu ile IV. grup arasında belirgin fark saptandı ($p<0,05$).

MCHC özelliği bakımından elde edilen verilere yapılan varyans analizi sonucunda grupların ortalamaları arasında ki farklar istatistiksel olarak önemli değildi ($p>0,05$).

3.4.1. Hematolojik değerlere ilişkin korelasyon analizi bulguları

Bu çalışmada tüm gruplar için ve ayrıca her bir grup içerisinde karşılaştırmalı olarak trombosit parametreleri ve bunlara paralel eritrosit parametreleri arasında ki

korelasyon test edildi. Tüm gruplar birarada bütün olarak Pearson testiyle değerlendirildiğinde PCT ile HCT arasında ($p<0,01$, korelasyon katsayısı $[r]= 0,383$) ve PLT ile RBC arasında ($p<0,01$, $r = 0,372$) istatistiksel olarak belirgin pozitif bir korelasyon saptanırken, MPV ile MCV arasında ($p>0,05$, $r = 0,220$) istatistiksel olarak önemi olmayan pozitif korelasyon saptandı (Çizelge 3.9).

Ayrıca trombosit sayısı (PLT) ile trombosit belirteçleri arasında yapılan karşılaştırmalı korelasyon da tüm gruplar değerlendirildiğinde PLT ve PCT arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak belirgin bir fark mevcuttu ($p<0,01$, $r= 0,983$). PLT ile MPV arasında ($p>0,05$) ve PLT ile PDWc arasında ($p>0,05$) istatistiksel olarak önemsiz pozitif yönlü korelasyon saptandı (Çizelge 3.9).

Gruplar kendi içerisinde değerlendirildiğinde sağlıklı köpeklerin oluşturduğu kontrol grubunda PCT ile HCT arasında negatif yönlü ($r= -0,512$) istatistiksel olarak belirgin bir ilişki ($p<0,05$) tespit edildi. Ayrıca PLT ile trombosit belirteçleri arasında da karşılaştırmalı korelasyon yapıldığında PLT ile PCT arasında pozitif yönlü ($p<0,01$, $r=0,943$), PLT ile MPV arasında ($p<0,05$, $r= -0,554$) ve PLT ile PDWc arasında ise negatif yönlü ($p<0,05$, $r= -0,548$) korelasyon ilişkisi saptandı (Çizelge 3.10).

İkinci grupta *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde PCT ile HCT ($r= 0,361$), MPV ile MCV ($r= 0,085$), PLT ile RBC ($r= 0,391$) arasında pozitif yönlü ancak istatistiksel önemi bulunmayan korelasyon mevcuttu ($p<0,05$). Bu grupta PLT ile PCT arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak belirgin ($p<0,01$, $r= 0,988$) korelasyon bulundu. Benzer olarak PLT ile PCT arasında 3. grupta ($p<0,01$, $r= 0,990$) ve 4. grupta ($p<0,01$, $r=0,981$) pozitif korelasyon bulunurken, diğer parametreler arasında korelasyon istatistiksel olarak önemli değildi (Çizelge 3.10).

Çizelge 3.7. Tüm gruplarda lökosit ve eritrosit parametrelerine ait tanımlayıcı istatistikler

	Kontrol (n: 20)	<i>A. phagocytophilum</i> (n:10)	<i>E. canis</i> +<i>A. phagocytophilum</i> (n: 13)	<i>E. canis</i> (n: 28)	P
WBC	11,435±0,735 ^a	13,19±2,10 ^{ab}	15,73±1,82 ^{ab}	10,61±1,08 ^b	*
RBC	6,623±0,226 ^a	5,470±0,239 ^{ab}	4,845±0,356 ^b	4,671±0,296 ^b	**
HGB	15,069±0,485 ^a	11,870±0,639 ^{ab}	10,362±0,822 ^b	9,829±0,754 ^b	**
HCT	43,83±1,35 ^a	35,39±1,77 ^{ab}	30,96±2,34 ^b	29,36±1,97 ^b	**
MCV	66,000±0,557 ^a	64,60±1,19 ^{ab}	63,846±0,839 ^{ab}	62,679±0,911 ^b	*
MCHC	34,505±0,386	33,510±0,440	33,385±0,350	32,246±0,738	

Değerler ortalama ± standart hata (mean ± SE mean) şeklinde ifade edilmektedir. a, b: Aynı satırda ki farklı harflerle ifade edilen değerler istatistiksel farklılıkları ifade etmektedir. (* $P<0,05$, ** $P<0,01$)

Çizelge 3.8. Tüm gruplarda trombosit parametrelerine ait tanımlayıcı istatistikler

	Kontrol (n: 20)	<i>A. phagocytophilum</i> (n:10)	<i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (n: 13)	<i>E. canis</i> (n: 28)	P
PLT	370,4±28,6 ^a	159,6±63,5 ^b	142,3±44,3 ^b	148,7±33,5 ^b	**
PCT	0,3695±0,0283 ^a	0,1530±0,590 ^b	0,1531±0,0441 ^b	0,1450±0,314 ^b	**
MPV	9,807±0,232	9,080±0,647	10,123±0,982	8,921±0,578	
PDWc	38,755±0,510	37,84±1,46 ^b	34,40±4,33	36,30±2,02	

Değerler ortalama ± standart hata (mean ± SE mean) şeklinde ifade edilmektedir. a, b: Aynı satırda ki farklı harflerle ifade edilen değerler istatistiksel farklılıkları ifade etmektedir. (* $P<0,05$, ** $P<0,01$).

Çizelge 3.9. Tüm gruplarda trombosit belirteçleri olan PCT, MPV ve PDWc ile paralel eritrosit parametreleri arasında korelasyon katsayıları ve istatistiksel analizleri

	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	MCHC	PLT	PCT	MPV
RBC	0,084								
	0,484								
HGB	0,096	0,966							
	0,426	0,000							
HCT	0,096	0,978	0,991						
	0,427	0,000	0,000						
MCV	0,080	0,234	0,425	0,422					
	0,478	0,050	0,000	0,000					
MCHC	0,167	0,518	0,616	0,549	0,283				
	0,163	0,000	0,000	0,000	0,017				
PLT	0,080	0,372	0,376	0,376	0,134	0,265			
	0,509	0,001	0,001	0,001	0,267	0,026			
PCT	0,061	0,365	0,385	0,383	0,183	0,283	0,983		
	0,611	0,002	0,001	0,001	0,127	0,017	0,000		
MPV	0,043	0,001	0,068	0,044	0,220	0,103	0,162	0,247	
	0,724	0,992	0,572	0,717	0,066	0,391	0,176	0,038	
PDWc	0,071	0,050	0,088	0,066	0,112	0,076	0,229	0,272	0,848
	0,556	0,467	0,467	0,585	0,352	0,527	0,055	0,022	0,000

Hücre içeriği; pearson korelasyon katsayısı (r)

P değeri.

Çizelge 3.10. Trombosit parametreleriyle (PLT, PCT, MPV) anemi testleri (RBC, HCT, MCV) arasındaki korelasyon

	PCT-HCT	MPV-MCV	PLT-RBC	PLT-PCT	PLT-MPV	PLT-PDW _c
I. Kontrol	-0,512 0,021*	0,100 0,676	-0,503 0,024*	0,943 0,000**	-0,554 0,011*	-0,548 0,012*
II. <i>A. phagocytophilum</i>	0,361 0,305	0,085 0,815	0,391 0,264	0,988 0,000**	0,208 0,564	0,178 0,623
III. <i>E. canis</i> +<i>A. phagocytophilum</i>	0,069 0,824	0,514 0,072	0,019 0,951	0,990 0,000**	0,175 0,567	0,361 0,225
IV. <i>E. canis</i>	0,265 0,173	0,134 0,498	0,334 0,082	0,981 0,000**	0,235 0,229	0,221 0,258

Hücre içeriği; Pearson korelasyon katsayısı (r)

P değeri

* p<0,05

** p<0,01

4. TARTIŞMA

Bu çalışmanın kapsamına dâhil edilen köpeklerde trombositopeni en sıklıkla karşılaşılan hematolojik bulgulardan biri olarak *E. canis* ile infekte IV. gruptaki köpeklerin % 71, 4 ‘ ünde, *A. phagocytophilum* ile infekte II. grupta ki köpeklerin % 90’ ında ve *E. canis* ve *A. phagocytophilum* ko-infekte III. grupta ki olguların % 76, 9’ unda tespit edildi. Çalışmadaki toplam populasyonun % 71, 8’ inin *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile infekte olduğu göz önüne alındığında söz konusu infekte 51 hayvandan yalnızca 13’ ünde kanama temayülüne yatkınlık (peteşi/ekimoz) gözlemlendi. Anaplasmatacea ailesinde ki *E. canis* etkenlerinin trombositopeninin oluşumunda ki etkinlikleri kemikiliğini baskılamaları, oluşan antikorların opsonizasyonu nedeniyle dolaşımdaki trombositlerin yarılanma ömürlerini azaltmaları, trombositlerin immun aracılıklı olarak yıkımlanmaları, vasküler endotelyaldeki değişiklikler ve hipersplenizm gibi nedenlerden ötürüdür (Mylonakis ve ark, 2008). *A. phagocytophilum* ise megakaryositik kök hücrelerini etkileyerek trombosit üretim yeteneklerini bozmaktadır (Granick ve ark 2008). Trombositopeninin söz konusu enfeksiyonlarda ki oluşumuyla birlikte vücut sıcaklığında ki artışa katkısı olabilir (Oglsbee ve ark 1999). Benzer olarak çalışmamızda ki trombositopenik köpeklerin büyük çoğunluğunda yüksek ateş dikkat çekici bir bulguydu.

Çalışma kapsamına alınan *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile infekte köpekler bütünüyle değerlendirildiğinde burun akıntısı, iştah, kene enfestasyonu, kas zafiyeti, dermal/peteşi, poliartritis ve lenfadenopati gibi klinik bulgular yönünden kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,01$) farklılık gösterdiği, bunun yanı sıra II., III. ve IV. gruplarda ki olguların yukarıda sözü edilen tüm bulguların var olup olmasına bağlı olduğu belirlendi. Çalışmamızda *E. canis* ile infekte köpeklerin bulunduğu IV. grupta ki köpeklerde ortalama lökosit değerinin kontrol grubuna oranla anlamlı derecede düşük olduğu dikkati çekti. III. ve IV. gruplarda ortalama eritrosit, hemoglobin ve hematokrit değerlerinin, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığı belirlendi ($p<0,01$). KME’ li köpeklerde lökopeni ve nötropeni şekillendiği (Woody ve Hoskins 1991) yine *Ehrlichiosis* ile deneysel infekte Beagle ırkı köpeklerde lökosit değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptanmıştır (Waner ve ark 1997). Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada *E. canis* ile akut infekte köpeklerde miyokardiyal hasara eşlik eden lökopeni (Diniz ve ark 2008), yanı sıra bir başka araştırmada hastalığın akut yada kronik döneminde anemi ve trombositopeniye eşlik eden

lökopeni belirlenmiştir (Nakaghi ve ark 2008). KME ile infekte pansitopenik ve anemik köpeklerin serolojik olarak pozitif ancak PZR yönünden negatif olduğu bildirilmektedir (Nakaghi ve ark 2008). KME nin akut ve kronik fazlarında pansitopeni anemi tespit edilebileceği saptanmıştır (Castro ve ark 2004). Serolojik olarak pozitif ve PZR negatif olguların hastalığın kronik döneminde kemikiliği hasarına bağlı olarak kan hücrelerinde azalma belirlenebileceği ve bu olgularda *E. canis*' in dokulara geri çekilmesi nedeniyle PZR' ın negatif sonuç verebileceği bildirilmektedir. Lökositozisin şekillendiği bütün hayvanlarda PZR pozitivite belirlenebileceği ve bu olguların en az % 50' sinin serolojik olarak pozitif sonuç vereceği düşünülmektedir. Özellikle bu hayvanların infeksiyonun akut döneminde olduğu, bunda infeksiyonun ilk 2-3 haftasında şekillenen kemikiliği hiperplazisi ile ilişkilendirilebileceği saptanmıştır (Nakaghi ve ark 2008). Çalışmamızda *E. canis* ile infekte hayvanların %14' de lökositozis % 21' de lökopeni, *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerin % 40'ında lökositozis yalnızca % 10' nunda lökopeni belirlendi. Söz konusu hematolojik bulgular anılan her iki etkenin oluşturduğu infeksiyonun yukarıda belirtildiği gibi dönemiyle ilişkili olabilir.

E. canis ile infekte köpeklerde inflamatuvar yanıtta (Tajima ve Rikihisa 2005) sorumlu olan interlökin-6'nın kontrollere göre yüksek bulunduğu belirtilmektedir (Biasucci ve ark 1996). Trombosit boyutu öncü hücre (megakaryosit gibi) dönemlerinde belirlenmektedir. İnterlökin-3 veya interlökin-6 gibi sitokinler megakaryositleri etkiler ve daha reaktif, geniş trombositlerin üretimine yol açarlar (Burstein ve ark 1992, Debili ve ark 1993). Özellikle *E. canis* ile infekte köpeklerde proinflamatuvar durum, yüksek MPV ile ilişkili olabilir. Ancak çalışmamızda MPV'nin, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak belirgin artış göstermemesi olgu sayısı ya da infeksiyonun dönemi ile ilişkilendirilebilir. Çalışmamızda PZR analizleri yapılamadığından infeksiyonun hangi safhada olduğu sınıflandırılamamıştır.

Trombosit aktivasyon derecesi trombosit sayısı, MPV ve trombosit büyüklüğünün yüzdesi gibi morfolojik parametreler aracılığı ile indirekt olarak değerlendirilebilir (Bath ve ark 1996, Endler ve ark 2002, Pizzuli ve ark 1998, Senaran ve ark 2001). Septik şoklu insanlarda MPV değerlerinin arttığı (Dastugue ve ark 1982), benzer olarak deneysel endotoksemi oluşturulan köpeklerde MPV değerlerinin yükseldiği buna karşın trombosit sayısının azaldığı tespit edilmiştir (Yılmaz ve ark 2008). Son sözü edilen çalışmada trombositopeninin MPV' deki değişikliklerle ilişkili olduğu ve bunda endotoksemili köpeklerde trombosit üretim ve reaktivasyonu ve yanı sıra trombosit belirteçleriyle

yakından ilişkide olduğu tespit edilmiştir (Yılmaz ve ark 2008). MPV’ deki söz konusu değişikliklerin endotoksemi sonrası, 24 saat içerisinde kemikiliğinin vermiş olduğu cevaba bağlı olduğu öne sürülmektedir (Yılmaz ve ark 2008). Günümüzde yapılan çalışmalarda trombosit beliteçlerinin özellikle MPV ve PDW nin trombositopeninin alta yatan mekanizmasının yorumlanmasında önemli klinik bilgi sağladığı sıklıkla belirtilmektedir (Moritz ve ark 2005, Kaito ve ark 2005, Becchi ve ark 2006, Rafaj ve ark 2005, Sullivan ve ark 1995).

İnsan hekimliğinde sağlıklı olgularda MPV nin referans değerlerinin 6,5 – 9,5 fL arasında (Farias ve Dal Bo 2008), ancak vasküler bozukluğu bulunan olgularda ise bu değer $8,7 \pm 0,5 \mu\text{m}^3$ olduğu tespit edilmiştir (Santos ve ark 2008). Yılmaz ve ark. (2008) sağlıklı köpeklerde MPV değerinin $9,3 \pm 0,5$ olduğunu belirlemesine rağmen daha önce yapılan iki farklı çalışmada bu değer yine sağlıklı köpeklerde sırasıyla 9- 11,1 μ^3 (Waner ve ark, 1997) ve 7,9- 13,5 fL (Zvorc ve ark 2010) aralığında olduğu saptanmıştır. Aydın bölgesinde *B. canis* ile doğal infekte köpeklerde yapılan bir çalışmada infekte olgularda trombosit sayısı ve PCT değerinin sağlıklı hayvanlara göre sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,001$ düzeyinde düşük olduğu saptanmıştır (Ulutaş ve ark 2011). Babesiozisli köpeklerde yapılan iki farklı çalışmada Polonya’ da büyük form *Babesia sp.* ile doğal infekte 248 köpekte MPV değerinin 6,1- 10,1 fL arasında olduğu (Zygner ve ark 2007), buna karşın Hırvatistan’ da *B. canis* ile doğal infekte 29 köpekte bu değer 5- 13,1 fL arasında değiştiği belirlenmiştir (Zvorc ve ark 2010). Sözü edilen her iki çalışmada MPV değerinde saptanan bu artışın Babesiozis ile infeksiyon esnasında cevap olarak meydana gelen trombopoiezis ve buna neden olan kemikiliğinden olgunlaşmamış trombositlerin salınımıyla ya da immün aracılıklı trombositopeniyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Topper ve Welles 2003). Deneysel olarak *E. canis* ile infekte edilen Beagle ırkı köpeklerde pre-infeksiyöz dönemde $9,0 \pm 0,0$ - $10,6 \pm 0,5$ aralığında olan ortalama MPV değerinin $9,8 \pm 0,4$ - $11,3 \pm 0,5$ arasında seyrettiği tespit edilmiştir (Waner ve ark 1997). Çalışmamızda *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde beklenen aksine ortalama MPV değeri kontrol grubuna oranla belirgin bir değişiklik göstermediğinden söz konusu etkenlerle infekte köpeklerde bağımsız bir trombosit belirteci olmadığı kanatine varıldı.

Leishmaniozis ile infekte gerek insan gerekse köpeklerde hemostatik anormalliklerin şekilleneceği bildirilmektedir (Lomtadze ve ark 2005, Moreno 1999, Moreno ve ark 1998). Kanin visceral leishmaniozis ile infekte 54 köpekte yapılan bir

çalışmada (Temizel ve ark 2011) trombositopeniye eşlik eden yüksek MPV değeri 5,6-22 ($\pm 2,2-2,7$) trombosit yaşam döngüsünün hızlanmasıyla ilişkilendirilmektedir (Park ve ark 2002). Yüksek MPV değerleri trombosit aktivasyonu için bir risk faktörü olarak değerlendirilebilir (Park ve ark 2002). Tüm bunların yanı sıra immün aracılıklı trombositopenide MPV değerlerinde artışa neden olabilmektedir (Bessman ve ark 1981, Kaito ve ark 2005). Leishmaniozisli köpeklerde (Temizel ve ark 2011) ve yangısal hastalığı bulunan köpeklerde (Moritz ve ark 2005) yapılan iki farklı çalışmada MPV ve PDW değerlerinde ki artışların trombositlere olan daha büyük miktarda ki ihtiyaca cevaben, kemikiliğinden salınan büyük trombositlerin (megatrombosit) mevcudiyetiyle ilişkilendirilmiştir.

Veteriner hekimlik alanında trombosit belirteçleri oldukça yeni parametreler olmakla birlikte bu konuda ki bilimsel literatür halen tam açıklığa kavuşmamış bunun yanı sıra normal referans değerlerle ilgili standart bir tanımlama tam olarak yapılamamıştır. Örnekler alınırken dikkatli olunmalı ve çok fazla zaman geçirilmemelidir çünkü antikoagulanların hücre popülasyonu üzerine etkileri bulunabilir. PLT, MPV, PCT ve PDW arasında korelasyon bulunabilmekle birlikte bu değişkenler arasında herhangi bir artış diğerlerini de etkileyebilmektedir (Ferreria ve ark 2009).

Total kan hacmindeki trombosit yüzdesini ifade eden PCT değeri (Moraes 2001, Bommer ve ark, 2008), trombositlerin vücuttaki durumunun en belirgin ve önemli fizyolojik parametrelerinden biridir (Bommer ve ark 2008, Zvorc ve ark 2010). PCT terimi trombositler tarafından kaplanan kan hacminin yüzdesini belirtmektedir. Günümüzde pıhtılaşma reaksiyonlarının şekillenebilmesi için hücrelerin yüzeylerinin tespit edilmesi (Khandekar ve ark 2006) ve bu amaçlarda PCT değerinin saptanması gerekmektedir. Babesiozis’li köpeklerde, sağlıklı olanlara oranla gerek öncesi gerekse sağaltım sonrası PCT değerinde anlamlı bir azalma ($p < 0,05$) belirlenmiştir (Zvorck ve ark 2010). Söz konusu parametre ile trombosit bozuklukları ile seyreden birçok hastalığın intravital diyagnozu ve patogenezi aydınlatılmaktadır. PCT için sağlıklı köpeklerde belirlenen referans aralığı % 0,33-0,39 ($0,36 \pm 0,16$) (Ferreria ve ark 2009), Yılmaz ve ark. (2008) tarafından % $0,33 \pm 0,01$ olarak tespit edilmiştir. Babesiozisli 29 köpekte PCT değerinin % 0,01 ile 0,08 arasında değiştiği saptanırken (Zvorc ve ark 2010), leishmaniozisle infekte 22 semptomatik köpekte ortalama PCT’ nin $0,31 \pm 0,02$ olduğu tespit edilmiştir (Temizel ve ark 2011). Çalışmamızda sağlıklı köpeklerin ortalama PCT

değerinin $0,3695 \pm 0,0283$ olarak belirlenirken, infekte köpeklerin bulunduğu her 3 grupta söz konusu parametrelerin anlamlı olarak düştüğü/azaldığı dikkat çekti.

Çalışmamızda *E.canis* veya *A.phagocytophilum* ile infekte köpeklerde (II., IV. gruplarda) MPV azalırken, ortalama PCT değerinde de azalma saptanmıştır. Buna karşın MPV ve PDWc değerlerinde değişimlerin kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak önem arz etmediği gözlemlenmiştir. Ek olarak trombositopeninin istatistiksel olarak belirgin derecede PCT’ deki değişikliklerle ilişkili olduğu saptandı. Bu bulgular trombosit üretimi ve reaktivasyonunda ki değişiklikleri gösterebilir ve bu sebeple trombosit belirteçlerinden PCT’ nin *E. canis* ve/ veya *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde potansiyel olarak tanı ve muhtemelen prognoz ile monitorizasyon amacıyla kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Daha öncede sözü edildiği üzere trombosit belirteçlerinin veteriner literatüründe çok sınırlı sayıda çalışmada yerini aldığı görülmektedir. MPV bu parametreler içinde en iyi bilinenlerden bir tanesidir. Trombosit hacmi platelet fonksiyonlarının ve aktivasyonunu çok önemli bir belirteçidir (Threatte 1993, Bath ve Butterworth 1996). Çalışmamızda gruplar arasında istatistiksel açıdan hiçbir farklılık gözlemlenmediği dikkat çekti. Bunun yanı sıra hiçbir grupta MPV ile paralel eritrosit belirteci olan MCV arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı. Genel olarak MPV’ deki artış rejeneratif trombositopeniyi (periferik kayıptaki artış, trombositlerde yıkımlanma veya trombositlerin kullanımının artışı, kemikiliği tarafından trombosit üretimin artışı gibi nedenlerle) göstermektedir (Threatte 1993, Bath ve Butterworth 1996). Çalışmamızda II. III. ve IV. gruplarda ki infekte köpeklerin kontrol grubuna oranla MPV değerlerinin belirgin derecede değişmemiş olması rejeneratif trombositopeninin olmayışı ya da hastalığın dönemi ile ilişkilendirilebilir. Bu çalışmada yalnızca *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* karşı şekillenen antikorlar saptanmış olup antijenik yoklama yapılamamıştır. Dolayısıyla özellikle *E. canis*’e ait dolaşımda ki antijen varlığı belirlenemediğinden infeksiyonun aktif ya da akut dönemde olup olmadığı saptanmamış dolayısıyla da kemikiliğindeki megakaryositik değişiklikler tam olarak yorumlanamamıştır.

Bu çalışmada trombosit belirteçleri olan PCT, MPV, PDWc’ yi in vitro diyagnostik amaçla kullanılan otomatik hücre sayısı (Coulter metodu) ile ölçüldü. Klinik olarak trombosit sayımı ve trombosit belirteçleri son yıllarda araştırmacıların trombosit üretimine ilginin artmasıyla birlikte daha ilgi çekici hale gelmiştir.

Bu çalışmada tüm gruplar için ve ayrıca her bir grup içerisinde karşılaştırmalı olarak trombosit parametreleri ve bunlara paralel eritrosit parametreleri arasında ki korelasyon da test edildi. Tüm gruplar birarada Pearson testiyle değerlendirildiğinde PCT ile HCT arasında pozitif yönlü (korelasyon katsayısı= 0,383) istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,01$) fark saptandı. PLT ile RBC arasında da pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon mevcuttu ($p<0,01$, $r= 0,372$).

Ayrıca trombosit sayısı (PLT) ile trombosit belirteçleri arasında da karşılaştırmalı olarak korelasyon test edildi. Tüm gruplar birarada değerlendirildiğinde PLT ve PCT arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon belirlendi ($p<0,01$, $r= 0,983$). Gruplar kendi içerisinde değerlendirildiğinde sağlıklı köpeklerin oluşturduğu kontrol grubunda PCT ile HCT arasında negatif yönlü anlamlı bir ilişki bulundu ($p<0,05$). Ayrıca PLT ile PCT arasında pozitif yönlü ($p<0,01$), ancak PLT ile MPV arasında ($p<0,05$) ve PLT ile PDWc arasında negatif yönde anlamlı ilişki vardı ($p<0,05$). II., III. ve IV. gruplarda benzer olarak PLT ile PCT arasında pozitif korelasyon ($p<0,01$) saptanırken diğer parametreler arasında korelasyon istatistiksel olarak önemli değildi ($p>0,05$).

Antikoagülan olarak EDTA kullanıldığında trombosit şişkinliğinden dolayı ortalama trombosit hacmi artar (Smyth ve ark 1993, Bath 1993). Bununla beraber kan alımından sonra 1 saat içinde analiz yapıldığında trombosit büyüklüğündeki bu artışı yaklaşık <0.5 fL'dir (Butterworth ve ark 1998). Sözü edilen trombosit şişkinliği kan tüplerinde EDTA'nın farklı miktarlarına bağlı olabileceği göz önüne alındığından, çalışmamızda tüm kan örnekleri alınırken standart kan tüpleri (2 ml) kullanıldı ve tüm kan örnekleri alındıktan sonra ilk 1 saat içinde analiz edildi.

Trombosit büyüklüğüne değişik ilaçların etkileri bilinmektedir. Bu nedenle çalışma kapsamına alınan tüm olgularda en az bir hafta öncesinden trombosit aktivasyonunu etkileme olasılığı bulunan herhangi bir ilaç kullanımı olup olmadığı araştırılarak, yalnızca herhangi bir ilaç kullanımı öyküsü bulunmayanlar olgular dahil edildi.

Günümüzde infeksiyöz hastalıkların hızlı tanısında otomasyon teknolojilerinden yararlanılan alternatif analizler (alternative site testing) veya nokta analizleri (point of- care testing- POCT) uygulanmaktadır. Çalışmamızda *E. canis* ve/veya *A. phagocytophylum* karşı şekillenen antikorların belirlenmesi amacıyla nokta ELİSA analizi (Snap4Dx test kiti) kullanılarak, *D. immitis* 'e bağlı dolaşımda ki karbonhidrat antijeni ile birlikte *E. canis* ' in

iki immunodominant proteinine (p30 ve p30-1), *A. phagocytophilum*' un immunodominant proteinine (msp2) ve *B. burgdoferi*' nin C6 peptidine karşı oluşan antikorların (Carrade ve ark 2011) var olup olmadığı belirlendi. Adı geçen her 4 etkene ait test kitinin spesifitesi mükemmel [özellikle *E. canis* antikorlarına karşı % 100 (O' conner ve ark 2004, O' conner ve ark 2006), *A. phagocytophilum* antikorlarına karşı % 100 (Chandrashekar ve ark 2007)] olmakla birlikte anılan hastalıkların nadiren görüldüğü bölgelerde pozitif prediktif değerler düşük olabilmektedir (bazı test sonuçları yanlış pozitif sonuç verebilir). Ancak sensitivitenin *E. canis* antikorlarına karşı % 95,7 (O' conner ve ark 2002), *A. phagocytophilum* antikorlarına karşı % 99,1 (O' conner ve ark 2007) olduğu göz önünde bulundurulduğunda çalışmamızda ki gibi test sonuçları klinik bulgularla birleştirildiğinde hastalığın daha iyi yorumlanabileceği açıktır. Bunun yanısıra son yıllarda *E. canis* veya *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde söz konusu Snap4Dx test kitlerinin tek tanı yöntemi olarak kullanıldığı çokça çalışmaya rastlanılmaktadır (Bowman ve ark 2009, Carrade ve ark 2011, Kohn ve ark 2011). Pozitif serolojik test sonuçları her zaman hastalık tablosunu göstermeyeceği gibi olgunun daha önceden söz konusu etkene maruz kaldığının göstergesidir. Söz konusu bulgular altta yatan ve tedavi gerektiren subklinik hastalık tablosunun klinik ve diyagnostik olarak daha detaylı incelenmesi yönünde klinisyenlere bilgi sağlamaktadır. Serolojik test ile aynı zamanda bölge spesifik hastalık prevalansı konusunda da gerek insan hekimliği gerekse veteriner hekimlik açısından yararlı bilgiler sağlamaktadır. Bu bilgilerin elde edilmesiyle geleceğe yönelik hipotezlerle diğer bölgeler arasında karşılaştırmalar sağlanacaktır. Diyagnostik testlerin geliştirilmesi ve daha iyi anlaşılmasıyla vektör kaynaklı bu hastalıkların daha efektif bir şekilde ilaçla sağaltımı sağlanacaktır.

5. SONUÇ

Bu çalışma *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile doğal infekte 51 ve 20 sağlıklı köpekte gerçekleştirildi. Snap 4Dx hızlı diagnostik test kitleri ile *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* antikorları belirlenen olgularda tam kan sayımları ve trombosit belirteçleri saptandı.

Trombosit aktivasyon derecesi PLT, PCT, MPV ve PDWc gibi morfolojik parametreler aracılığı ile indirekt olarak değerlendirilebilir. Trombosit belirteçlerinin özellikle de MPV ve PDW nin trombositopeninin altta yatan mekanizmasının yorumlanmasında önemli klinik bilgi sağladığı bilinmektedir. Bu çalışmanın kapsamına dâhil edilen infekte köpeklerde en sıklıkla karşılaşılan hematolojik bulgulardan biri olan trombositopeni infekte köpeklerin çoğunda tespit edildi.

Babesiozisli ve Leishmaniozisli köpeklerde yapılan çalışmalarda ortalama MPV değerinde meydana gelen artışın infeksiyon esnasında şekillenen trombopoiezis ve buna neden olan kemikiliğinden olgunlaşmamış trombositlerin salınımıyla ya da immun aracılıklı trombositopeniyle ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Çalışmamızda *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde beklenenin aksine ortalama MPV değeri kontrol grubuna oranla belirgin bir değişiklik göstermediğinden söz konusu etkenlerle infekte köpeklerde bağımsız bir trombosit belirteci olmadığı kanısına varıldı. Benzer olarak ortalama PDWc değerinin infekte köpeklerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermediği dikkati çekti.

Total kan hacmindeki trombosit yüzdesini ifade eden PCT değeri, trombositlerin vücuttaki durumunun en belirgin ve en önemli fizyolojik parametrelerinden biridir. PCT terimi trombositler tarafından kaplanan kan hacminin yüzdesini gösterir. Babesiozisli köpeklerde, PCT değerinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Söz konusu parametre ile trombosit bozuklukları ile seyreden birçok hastalığın intravital diyagnozu ve patogenezi aydınlatılmaktadır. Çalışmamızda ortalama PCT değerinin infekte köpeklerin bulunduğu her 3 grupta da sağlıklı köpeklere oranla azaldığı belirlendi. Trombosit belirteçleri arasında yapılan korelasyonda II., III. ve IV. gruplarda PLT ile PCT arasında pozitif yönde istatistiksel olarak belirgin ($p<0,01$) korelasyon saptandı.

Trombosit belirteçlerinin trombositlerin vücutta ki durumları ve fonksiyonları konusunda çok değerli bilgileri vermesine karşın çalışmamızda *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile infekte trombositopenik köpeklerde MPV ve PDWc nin trombositopeninin değerlendirilmesinde altta yatan patolojik mekanizmalar açısından yararlı bilgiler sağlamadığı, buna karşın PCT nin PLT ile birlikte gerek *E. canis* gerekse *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde önemli bir parametre olarak göz önünde bulundurulabileceği kanatine varıldı.

ÖZET

Bu çalışmada *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile doğal infekte 51 köpekte trombosit sayısında ki değişiklikler ve trombosit belirteçleri araştırıldı. Elde edilen sonuçlar kontrol grubunda ki 20 sağlıklı köpeğe ait verilerle karşılaştırıldı. Tam kan sayımı ve trombosit belirteçleri Abacus Junior kan sayım cihazında ölçüldü.

E. canis ve/veya *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde burun akıntısı, iştahta azalma, kilo kaybı, kene enfestasyonu ve lenfadenopatinin baskın klinik bulgular olduğu ve sağlıklı köpeklerin bulunduğu kontrol grubuna oranla $p<0,01$ düzeyinde anlamlılık arz ettiği tespit edildi.

II. (*A. phagocytophilum*), III. (*E. canis*+ *A. phagocytophilum*) ve IV. (*E.canis*) gruplarda ortalama PLT değerleri (sırasıyla $159,6\pm63,5$, $142,3\pm44,3$, $148,7\pm33,5$) kontrol grubuna ($370,4\pm28,6$) göre anlamlı derecede daha düşüktü ($p<0,01$).

II., III. ve IV. gruplarda ortalama PCT (sırasıyla $0,1530\pm0,590$, $0,1531\pm0,0441$, $0,1450\pm0,314$) kontrol grubuna ($0,3695\pm0,0283$) göre kıyasla anlamlı derecede azalmıştı ($p<0,01$).

PLT ile PCT arasında II., III. ve IV. gruplarda pozitif yönde istatistiksel olarak belirgin ($p<0,01$), (sırasıyla $r= 0,988$, $0,990$ ve $0,981$) korelasyon bulundu.

Sonuç olarak çalışmamızdan elde edilen verilere bakıldığında *E. canis* ve/veya *A. phagocytophilum* ile infekte köpeklerde anemi ve/veya trombositopeninin irdelenmesinde RBC ve PLT belirteçlerinin birlikte ele alınmasının faydalı olabileceği söylenebilir. İnfekte köpeklerde ortalama PLT ve PCT' nin kontrol grubuna göre anlamlı derecede ($p<0,01$) değişiklik gösterdiği ve anılan her 2 parametre arasında pozitif yönlü anlamlı bir korelasyon ($p<0,01$) olduğu, MPV ve PDWc'deki değişikliklerin önem arz etmediği görüldü. Bu bulgular ışığında söz konusu etkenlerle infekte köpeklerde PLT ve PCT değerlerinin diyagnoz ve muhtemelen monitorizasyon ile prognoz açısından elverişli parametreler olarak kullanılabileceği kanısına varıldı.

SUMMARY

In the present study alterations in trombocyte numbers and trombocyte indices were investigated in 51 dogs naturally infected with *E. canis* and/or *A. phagocytophilum*. Achieved results were compared to those of 20 healthy dogs comprising control group. Complete blood count and trombocyte indices were analyzed in Abacus Junior cell counter.

The predominant findings in dogs infected with *E. canis* and/or *A. phagocytophilum* were nasal discharge, decreased appetite, weight loss, tick infestation and lymphadenopathy and those aforementioned signs showed statistical differences ($p<0,01$) in contrast to healthy dogs involved in control group.

Mean PLT counts were significantly decreased in II. (*A. phagocytophilum*), III. (*E. canis*+ *A. phagocytophilum*) and IV. (*E. canis*) groups ($159,6\pm63,5$, $142,3\pm44,3$, $148,7\pm33,5$, respectively) in comparison to control group ($370,4\pm28,6$) ($p<0,01$).

Mean PCT values in groups II., III. and IV. ($0,1530\pm0,590$, $0,1531\pm0,0441$, $0,1450\pm0,314$, respectively) were significantly decreased in contrast to control group ($0,3695\pm0,0283$) ($p<0,01$).

Between PLT and PCT values, statistically significant positive correlation ($p<0,01$) ($r=0,988$, $0,990$ ve $0,981$, respectively) was evident among groups II., III. and IV.

In conclusion, regarding to the data achieved from the present study, it may be suggested that in dogs infected with *E. canis* and/or *A. phagocytophilum*, RBC and PLT indices should be interpreted along, in an attempt to scrutinize anemia and/or thrombocytopenia. Infected dogs showed significant alterations ($p<0,01$) among mean PLT and PCT values and a positive correlation was evident between those 2 parameters ($p<0,01$), whereas alterations on mean MPV and PDWc were not statistically significant.

Finally it was suggested that according to the aforementioned results, PLT and PCT values may be used as valuable parameters for diagnosis and probably for monitoring and prognosis in infected dogs with mentioned agents.

KAYNAKLAR

- Abrams-Ogg A. Neutropenia. In: Day, M, Mackin, A, Littlewood, J. (Eds): Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. BSAVA, Hampshire, 2000; 117-129.
- Akkoyunlu M, Malawista SE, Anguita J. Exploitation of interleukin-8-induced neutrophil chemotaxis by the agent of human granulocytic ehrlichiosis. Infection and Immunity; 2001; 69: 5577–5588.
- Alberti A, Addis MF, Sparagano O, Zobba R, Chessa B, Cubeddu T, Parpaglia MLP, Ardu M, Pittau M. *Anaplasma phagocytophilum*, Sardinia, Italy. Emerging Infectious Diseases 2005; 11: 1322–1323.
- Alekseev A, Dubinina HV, Schouls L. First detection of Ehrlichia infected ticks among the primary vectors of the tick-borne encephalitis and borreliosis in the Russian Baltic region. Bulletin of the Scandinavian Society for Parasitology, 1998;8: 88–91.
- Alekseev AN, Dubinina HV, van de Pol I Schouls LM. Identification of Ehrlichia and *Borrelia burgdorferi* species in *Ixodes* ticks in the Baltic regions of Russia. Journal of Clinical Microbiology 2001;39: 2237–2242.
- Aroch I, Harrus S. The use of recombinant human granulocyte colony stimulating factor and recombinant human erythropoietin in the treatment of severe pancytopenia due to canine monocytic ehrlichiosis. Israel Journal Veterinary Medicine 2001;56: 65-69,
- Assarasakorn S, Kaewthamasorn M, Manachai N. A retrospective study of clinical use of recombinant human erythropoietin for treatment in anemic dogs with canine monocytic ehrlichiosis from an animal hospital in Bangkok, Thailand. Comparative Clinical Pathology 2008;17: 237-243.
- Atkins CE. Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. Journal of American Veterinary Medical Association 2003;222, 1221–1223.

Bakken JS, Dumler S. Human granulocytic anaplasmosis. *Infectious Disease Clinics of North America* 2008;22: 443–448.

Baneth G. Ehrlichia and Anaplasma Infections. 35th World Small Animal Veterinary Association. 2010 World Small Animal Veterinary Association Congress.

Bartsch RC, Greene RT. Post-therapy antibody titers in dogs with ehrlichiosis: follow-up study on 68 patients treated primarily with tetracycline and/or doxycycline. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1996;10: 271–274.

Bath PM. The routine measurement of platelet size using sodium citrate alone as the anticoagulant. *Thrombosis and Haemostasis* 1993; 70: 687–690.

Bath PMW, Butterworth RJ. Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 1996; 7: 157-161.

Batmaz H, Nevo E, Waner T, Senturk S, Yilmaz Z, Harri S. Seroprevalence of Ehrlichia canis antibodies among dogs in Turkey. *Veterinary Record* 2001; 148: 665–666.

Becchi C, Al Malyan M, Fabbri LP, Marsili M, Boddi V, Boncinelli S. Mean platelet volume trend in sepsis: is it a useful parameters: is it a useful parametres?. *Minerva Anestesiologica* 2006; 72: 749–756.

Behl R, Klein MB, Dandele L. Induction of tissue factor procoagulant activity in myelomonocytic cells inoculated by the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *Thrombosis and Haemostasis* 2000; 83: 114–118.

Bellström L. Fästingburna rickettsioser (In Swedish). *Svensk Veterinär-tidning*, 1989; 41: 549–553

Bessman JD. The relation of megakaryocyte ploidy to platelet volume. *American Journal of Hematology*. February 1984;16(2):161-70.

Bessman JD, Williams LJ, Gilmer PR. Mean platelet volume. The inverse relation of platelet size and count in normal subjects, and an artifact of MPV particles. *American Journal of Clinical Pathology* 1981; 76: 289–293.

Bexfield H, Villiers J, Hertage E. Immunemediated haemolytic anemia and thrombocytopenia associated with *Anaplasma phagocytophilum* in a dog. *Journal of Small Animal Practice* 2005;46:543-48.

Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation* 1996; 94:874-877.

Bjöersdorff A, Svendenius L, Owens JH, Massung RF. Feline granulocytic ehrlichiosis – a report of a new clinical entity and characterisation of the infectious agent. *Journal of Small Animal Practice* 1999; 40: 20–24.

Bjöersdorff A, Bergström S, Massung RF, Haemig PD, Olsen B. Ehrlichia-infected ticks on migrating birds. *Emerging Infectious Diseases* 2001; 7: 877–879.

Bjöersdorff A, Christenson D, Johnsson A, Sjöström AC, Madigan JE. Ehrlichia equi-infektion diagnostiserat hos häst (In Swedish). *Svensk Veterinärtidning* 1990; 42: 357–360.

Bommer NX, Shaw DJ, Milne EM, Ridyad AE. Platelet distribution width and mean platelet volume in the interpretation of thrombocytopenia in dogs. *Journal of Small Animal Practice* 2008;49:518-524.

Borjesson DL, Simon SI, Tablin F. Thrombocytopenia in a mouse model of human granulocytic ehrlichiosis. *Journal of Infectious Disease* 2001; 184:1475–1479.

Boudreaux MK, Ebbe S. Comparison of platelet number, mean platelet volume and platelet mass in five mammalian species. *Comparative Haematology International* 1998;8:16-20.

Bowman D, Little S E. , Lorentzen L, Shields J, Sullivan M P, Carlin Ellen P. Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: Results of a national clinic-based serologic survey. *Veterinary Parasitology* 2009;160(1-2):138–148.

Bown KJ, Lambin X, Telford GR. Relative importance of *Ixodes ricinus* and *Ixodes trianguliceps* as vectors for *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in field vole (*Microtus agrestis*) populations. *Applied and Environmental Microbiology* 2008;74: 7118–7125.

Börkür MK, Güzel M, Cıngı CC, Ural K, Karakurum MC. Kronik Ehrlichiozisli bir köpekte renal yetmezlik olgusu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2003;14(2):94-96.

Brayton KA, Knowles DP, McGuire TC, Palmer GH. Efficient use of a small genome to generate antigenic diversity in tick-borne ehrlichial pathogens. Proceedings of the National Academy of Science USA 2001;98:4130–4135

Buhles WC, Ruxsoll DL, Ristic M. Tropical canine pancytopenia: clinical, haematologic and serologic response of dogs to E. canis infection, tetracycline therapy and challenge inoculation. Journal of Infectious Disease 1974;130:358-367.

Burstein SA, Downs T, Friese P, Lynam S, Anderson S, Henthorn J, Epstein RB, Savage K. Thrombocytopoiesis in normal and sublethally irradiated dogs: response to human interleukin-6. The American Society of Hematology 1992;80:420–428.

Butterworth RJ, Bath PM. The relationship between mean platelet volume, stroke subtype and clinical outcome. Platelets 1998; 9(6):359–364.

Carlyon JA, Fikrig E. Mechanism of evasion of neutrophil killing by *Anaplasma phagocytophilum*. Current Opinion in Hematology 2006; 13: 28–33.

Carrade D, Foley JE, Borjesson DL, Sykes JE. Canine Granulocytic Anaplasmosis: A Review. Journal of Veterinary Internal Medicine 2009;23(6):1129-1141.

Carrade D, Foley JE, Michael S, Foley WC, Sykes EJ. Spatial distribution on seroprevalance for *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* and *Dirofilaria immitis* in dogs in Washington, Oregon and California. Veterinary Clinical Pathology 2011;40(3):293-302.

Castro MB, Machado RZ, de Aquino LP, Alessi AC, Costa MT. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. Department of Veterinary Pathology 2004; 119(1):73-86.

Chandrashekar R, Mainville C, Daniluk D. Performance of an in-clinic test snap 4dx for the detection of antibodies to canine granulocytic infection, *Anaplasma phagocytophilum*. Journal of Veterinary Internal Medicine 2007; 21: 626.

Christova I, 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. *Annales of Agricultural and Environmental Medicine*, 2005;12: 149–152.

Codner EC, Farri-Smith LL. Characterization of the subclinical phase of Ehrlichiosis in dogs, *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 1986; 189(1): 47–50.

Codner EC, Maslin WR. Investigation of renal protein loss in dogs with acute experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. *American Journal of Veterinary Research* 1992; 53(3): 294–299.

Codner EC, Maslin WR, Caceci T, Saunders GK, Smith CA, Robertson LL, Martin RA, Troy GC. Investigation of glomerular lesion in dogs with acute experimentally induced *Ehrlichia canis* infection, *American Journal of Veterinary Research* 1992; 53(12): 2286–2291.

Corash L, Chen HY, Levin J, Baker G, Lu H, Mok Y. Regulation of thrombopoiesis: effects of the degree of thrombocytopenia on megakaryocyte ploidy and platelet volume. *Blood* 1987;70(1): 177-185.

Dastugue N, Picheloup F, Sie P, Genestal M, Cathala B, Boneu B. Increase in mean platelet volume in shock-related thrombocytopenia. *La Nouvelle Presse Médicale* 1982; 11(39):2899-901.

Davis WP, Graham P. The effect of hypotonicity on the mean platelet volume of patients with thrombo-embolism. *Clinical Laboratory Haematology* 1992; 14(4):307-14.

De la Fuente J, Massung RF, Wong SJ. Sequence analysis of the msp4 gene of *Anaplasma phagocytophilum* strains. *Journal of Clinical Microbiology* 2005; 43: 1309–1317.

De la Fuente J, Naranjo V, Ruiz-Fons F, Hoffle U, Fernandez de Mera I.G, Villanua D, Almaza'n C, Torina A, Caracappa S, Kocan K.M. and Gorta'zar C. Potential vertebrate reservoir hosts and invertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *A phagocytophilum* in central Spain. *Vector-borne and Zoonotic Diseases* 2005;5:390–401.

De la Fuente J, Torina A, Naranjo V. Infection with *Anaplasma phagocytophilum* in a seronegative patient in Sicily, Italy: case report. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobiology* 2005; 4: 15.

Debili N, Masse JM, Katz A, Guichard J, Breton-Gorius J, Vainchenker W. Effects of the recombinant hematopoietic growth factors interleukin-3, interleukin-6, stem cell factor, and leukemia inhibitory factor on the megakaryocytic differentiation of CD34+ cells. *Blood* 1993;82: 84–95.

Diniz PP, de Moraes HS, Bretschwerdt EB, Schwartz DS. Serum cardiac troponin I concentration in dogs with ehrlichiosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008 22: 1136-1143.

Donatien A, Lestoquard F. State of the present knowledge concerning rickettsiosis of animals. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie Institut Pasteur d'Algérie* 1937;15, 142–187.

Dumler JS, Triggiani ER, Bakken JS, Aguero-Rosenfeld ME, Wormser GP. Serum cytokine responses during acute human granulocytic ehrlichiosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2000;7(1):6-8.

Dumler JS, Barbet AF, Bekker CPJ. 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*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2001;51: 2145–2165.

Dumler JS, Barat NC, Barat CE. Human granulocytic anaplasmosis and macrophage activation. *Clinical Infectious Diseases* 2007;45:199–204.

Duncan, A.W, Correa, M.T, Levine, JF, Breitschwerdt EB. The dog as a sentinel for human infection: prevalence of *Borrelia burgdorferi* C6 antibodies in dogs from southeastern and mid-Atlantic states. *Vector-Borne Zoonotic Disease* 2004;4:221–229.

Ebbe S, Boudreaux MK. Relationship of megakaryocyte ploidy with platelet number and size in cats, dogs, rabbits, and mice. *Comparative Haematology International* 1998;8(1):21-25.

Eberts MD, Diniz PPVD, Beall MJ, Stillman BA, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB. Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* in dogs. *Journal of American Animal Hospital Association* 2011;47(6): 86-84.

Eddlestone SM, Neer TM, Gaunt, SD, Corstvet R, Gill A, Hosgood G, Hegarty B, Breitschwerdt EB. Failure of imidocarb dipropionate to clear experimentally induced *E. canis* infection in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2006;20:840-844.

Egenvall AE, Hedhammar AA, Björnsdóttir AI. Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden. *Veterinary Record* 1997;140:222–226.

Egenvall A, Björnsdóttir A, Lilliehöök I. Early manifestations of granulocytic ehrlichiosis in dogs inoculated experimentally with a Swedish *Ehrlichia* species isolate. *Veterinary Record* 1998;143:412–417.

Egenvall A, Lilliehöök I, Björnsdóttir A, Engvall EO, Karlstam E, Artursson K, Heldtander M, Gunnarsson A. Detection of granulocytic *Ehrlichia* species DNA by PZR in persistently infected dogs. *Veterinary Record* 2000;146:186–190.

Eldor A, Avitzour M, Or R, Hanna R, Penchas S. Prediction of haemorrhagic diathesis in thrombocytopenia by mean platelet volume. *British Medical Journal* 1982;285:397-400.

Endler G, Klimesch A, Sunder-Plassmann H, Schillinger M, Exner M, Mannhalter C, Jordanova N, Christ G, Thalhammer R, Huber K, Sunder-Plassmann R. Mean platelet volume is an independent risk factor for myocardial infarction but not for coronary artery disease. *British Journal of Haematology* 2002;117:399–404.

Engvall EO, Petterson B, Person M, Artursson K, Johansson KE. A 16S rRNA-based PZR assay for detection and identification of granulocytic *Ehrlichia* species in dogs, horses, and cattle. *Journal of Clinical Microbiology* 1996;34:2170–2174.

Erdeğer J, Sancak A, Ataseven L. Köpeklerde *E.canis*'in indirekt Floresan Antikor (IFA) Testi ve Dot-ELISA ile Saptanması. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science 2002;27: 767–773.

Faria JLM, Munhoz TD, Joao CF, Vargas-Hernandez G, Andre MR, Pereira AB, Machado RZ, Tinucci-Costa ME. *Ehrlichia canis* (Jaboticabal strain) induces the expression of TNF- α in leukocytes and splenocytes of experimentally infected dogs. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria 2010;20(1);71-74.

Farias MG, Dal Bó S. Determinação do intervalo de referência para o volume plaquetário médio (VPM) utilizando o analisador hematológico Pentra 120 ABX. Revista Brasileira de Análises Clínicas Porto Alegre 2008;40(1):39-41.

Feldman BF, Zinkl JG, Jain CN. Schalm's Veterinary Hematology. Philadelphia: Lippincott Wilkins 2000;5:1344.

Ferreira GS, Masson GCIH, Costa EDCP, Lima DJS, Oliveira GS, Soares FN, Meneses AMC, Souza NF, Azuma MR, Souza AMA. Plateletcrit, Mean Platelet Volume and Platelet Distribution Width: Its Expected Values and Correlation Parameters in Dogs From Northern Region of Brazil. World Small Animal Veterinary Association 2009;21-24.

Foley J, Drazenovich N, Leutenegger C. Association between polyarthritis and thrombocytopenia and increased prevalence of vectorborne pathogens in Californian dogs. Veterinary Record 2007;160:159–162.

Foley JE, Foley P, Brown RN. Ecology of granulocytic ehrlichiosis and Lyme disease in the western United States. Journal of Vector Ecology 2004;29: 41–50

Foley JE, Kramer VL, Weber D. Experimental ehrlichiosis in dusky footed woodrats (*Neotoma fuscipes*). Journal of Wildlife Disease 2002; 38:194–198.

Foley JE, Nieto NC, Adjemian J. *Anaplasma phagocytophilum* infection in small mammal hosts of Ixodes ticks, western United States. Emerging Infectious Disease 2008;14: 1147–1150.

Franzen P, Berg AL, Aspan A. Death of a horse infected experimentally with *Anaplasma phagocytophilum*. Veterinary Record 2007;160:122–125.

Franzen P, Aspan A, Egenvall A, Gunnarsson A, Aberg L, Pringle J. Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected with a European strain of *Anaplasma phagocytophilum*. Journal of Veterinary Internal Medicine 1999; 19:232–239.

Garyu JWA, Choi KS, Grab DJ. Defective phagocytosis in *Anaplasma Phagocytophilum*-infected neutrophils. Infection and Immunity 2005;73:1187–1190.

Giudice E, Giannetto C, Ganesella M. Effect of desmopressin on immune-mediated haemorrhagic disorders due to canine monocytic ehrlichiosis: a preliminary study. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 2010;33(6):610-4.

Goodman JL, Nelson CM, Klein MB. Leukocyte infection by the granulocytic ehrlichiosis agent is linked to expression of a selectin ligand. Journal of Clinical Investigation 1999;103:407–412.

Granick JL, Reneer DV, Carlyon JA. *Anaplasma phagocytophilum* infects cells of the megakaryocyte lineage through sialylated ligands but fails to alter platelet production. Journal of Medical Microbiology 2008;57:416–423.

Greig B, Armstrong PJ. Canine granulocytotropic anaplasmosis (*A. phagocytophilum* infection). In: Infectious diseases of dog and cat 2006:219-224.

Greig B, Asanovich KM, Armstrong PJ. Geographic, clinical, serologic, and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis, a likely zoonotic disease, in Minnesota and Wisconsin dogs. Journal of Clinical Microbiology 1996;34:44–48.

Groves MG, Dennis GL, Amyx HL, Huxsoll DL. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). American Journal of Veterinary Research 1975;36:937-940.

Guyton AC. Textbook of medical physiology eighth edition. W. B. Saunders company Philadelphia, USA Ch 36 Hemostasis and Blood Coagulation 1991 p,390-397.

Harrus S. Amplification of ehrlichial DNA from dogs 34 months after infection with *Ehrlichia canis*. Journal of Clinical Microbiology 1997;36(1):73-76.

Harrus S, Waner T, Bark H, Jongejan F, Cornelissen AWCA. Minireview. Recent Advances in Determining the Pathogenesis of Canine Monocytic Ehrlichiosis. *Journal of Clinical Microbiology* 1999;37: 2745-2749.

Harrus S, Kass PH, Klement E, Waner T. Canine monocytic ehrlichiosis: A retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. *Veterinary Record* 1997;141:360-363.

Hegarty BC, de Paiva DPP, Bradley JM, Lorentzen L, Breitschwerdt E. Clinical relevance of annual screening using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (SNAP 3Dx) for canine ehrlichiosis. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2009;45:118–124.

Herron MJ, Nelson CM, Larson J. Intracellular parasitism by the human granulocytic ehrlichiosis bacterium through the P-selectin ligand, PSGL-1. *Science* 2000;288:1653–1656.

Hodzic E, Fish D, Maretzki CM. Acquisition and transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis by *Ixodes scapularis* ticks. *Journal of Clinical Microbiology* 1998a;36:3574–3578.

Hodzic E, Ijdo JW, Feng S. Granulocytic ehrlichiosis in the laboratory mouse. *Journal of Infectious Disease* 1998b;177:737–745.

Iqbal Z, Chaichanasiriwithaya W, Rikihisa Y. Comparison of PZR immunosorbent assay (SNAP 3Dx) for canine ehrlichiosis. *Journal of the Clinical Microbiology* 1994;32: 1658–1662.

Ja derlund KH, Egenvall A, Bergstro m K. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs with neurological signs. *The Veterinary Record* 2007;160:825–831.

Jain NC. *Essentials of Veterinary Hematology*. 1993 Philadelphia: Lea&Febiger.

Jennifer L Granick, P Jane Armstrong, Jeff BB. *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs: 34 cases (2000-2007). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2009;234(12): 1559-1565.

Kaito K, Otsubo H, Usui N, Yoshida M, Tanno J, Kurihara E, Matsumoto K, Hirota R, Domitsu K. Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia. *British Journal of Haematology* 2005;128, 698-702.

Karagenç T, Hoşgör M, Bilgiç HB, Paşa S, Kırılı G, Eren H. Ege Bölgesinde Köpeklerde *E. canis*, *A. phagocytophilum* ve *A. platys*' in Prevalansının Nested-PCR ile Tespiti 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi 18-25 Eylül 2005, İzmir.

Katavolos P, Armstrong PM, Dawson JE. Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis. *The Journal of Infectious Disease* 1998;177:1422–1425.

Kerr MG. Exames laboratoriais em medicina veterinaria-bioquimica clinica hematologia. 2 nd. Ed- Roco: Sao Paulo,2003: 436.

Khandekar MM, Khurana AS, Deshmukh SD, Kakrani AL, Katdare AD, Inamdar AK. Platelet volume indices in patients with coronary artery disease and acute myocardial infarction: an Indian scenario. *Journal of Clinical Pathology* 2006;59:146-149.

Kirtz G, Meli M, Leidinger E, Ludwig P, Thum D, Czettel B, Kolbl S, Lutz H. *Anaplasma phagocytophilum* infection in a dog: identifying the causative agent using PC. *Journal of Small Animal Practice* 2005;46:300-303.

Klein MB, Miller JS, Nelson CM. Primary bone marrow progenitors of bMPV granulocytic and monocytic lineages are susceptible to infection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *The Journal of Infectious Disease* 1997;176:1405–1409.

Kohn B, Galke D, Beelitz P. Clinical features of canine granulocytic ehrlichiosis in 18 naturally infected dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008;22: 1289–1295.

Kohn B, Silaghi C, Galke D, Pfister K. Infections with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. *Research in Veterinary Science* 2011;91:71-76.

Kommenou AA, Mylonakis ME, Kouti V, Tendoma L, Leontides L, Skountzou E, Dessiris A, Koutinas AF, Ofri R. Ocular manifestations of natural canine monocytic ehrlichiosis (*E. canis*): a retrospective study of 90 cases. *Veterinary Ophthalmology* 2007;10(3)137–142.

Kristensen SD. The platelet-vessel wall interaction in experimental atherosclerosis and ischaemic heart disease with special reference to thrombopoiesis. *Danish Medical Journal* 1992;39(2):110-27.

Kuehn NF, Gaunt SD. Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. *Journal of the American Veterinary Association* 1985;186(4):355-8.

Kuter DJ, Rosenberg RD. The reciprocal relationship of thrombopoietin (c-Mpl Ligand) to changes in the platelet mass during busulfan-induced thrombocytopenia in the rabbit. *Blood* 1995;85:2720-2730.

Labarthe N, de Campos Pereria M, Barbarini O, McKee W, Coimbra CA, Hoskins J. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. *Veterinary Therapeutics* 2003;4:67-75.

Lai TH, Kamagai Y, Hayakawa Y. The *Anaplasma phagocytophilum* PleC histidine kinase and PleD diguanylate cyclase two-component system and role of cyclic Di-GMP in host cell infection. *Journal of Bacteriology* 2009;191:693–700.

Larsson LG, Aspan A, Bergström K. Persistence of *Anaplasma phagocytophilum* in naturally infected Swedish cattle (in Swedish). *Svensk Veterinär Tidning* 2006;8–9, 13–19.

Lee HC, Kioi M, Han J. *Anaplasma phagocytophilum* induced gene expression in bMPV human neutrophils and HL-60 cells. *Genomics* 2008;92:144–151.

Lepidi H, Bunnell JE, Martin ME. Comparative pathology and immunohistology associated with clinical illness after Ehrlichia phagocytophila-group infections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2000;62:29–37.

Lester SJ, Breitschwerdt EB, Collis CD, Hegarty BC. *Anaplasma phagocytophilum* infection (granulocytic anaplasmosis) in a dog from Vancouver Island. *The Canadian Veterinary Journal* 2005;46(9):825-827.

Levin J, Bessman JD. The inverse relation between platelet volume and platelet number. Abnormalities in hematologic disease and evidence that platelet size does not correlate with platelet age. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1983;101:295–307.

Lewis DC. Disorders of platelet number. In: Day, M., Mackin, A., Littlewood J. Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. The British Small Animal Veterinary Association Hampshire 2000;183-195.

Liddell A, Stockham SL, Scott MA, Sumer JW, Paddock CD, Gaudreault-Keener M, Arens MQ, Storch GA. Predominance of *Ehrlichia ewingii* in Missouri dog. Journal of Clinical Microbiology 2003;41, 4617–4622.

Lilliehöök I, Egenvall A, Tvedten H. Hematopathology in dogs experimentally infected with a Swedish Granulocytic Ehrlichia species. Veterinary Clinical Pathology 1998;27(4):116-122.

Liz JS, Anderes L, Sumner JW, Massung RF, Gern L, Rutti B, Brossard M. PZR detection of granulocytic ehrlichiae in Ixodes ricinus ticks and wild small mammals in western Switzerland. Journal of Clinical Microbiology 2000;39(2):828.

Lomtadze ML, Khochava MA, Shalamberidze IA, Shilakadze MA, Dzhokhtaberidze TG. Functional status of haemostasis system in patients with visceral leishmaniasis. Georgian Medical News 2005;128, 59-62.

MacLeod J. Ticks and disease in domestic stocks in Great Britain. Symposium of the Zoological Society of London 1962;6, 29–50.

Martin ME, Caspersen K, Dumler JS. Immunopathology and ehrlichial propagation are regulated by interferon-gamma and interleukin-10 in a murine model of human granulocytic ehrlichiosis. American Journal of Pathology 2001;158:1881–1888.

Mavromatis K, Doyle CK, Lykidis A, Ivanova N, Francino MP, Chain P, Shin M, Malfatti S, Larimer F, Copeland A, Detter JC, Land M, Richardson PM, Yu XJ, Walker DH, McBride JW, Kyrpides NC. The genome of the obligately intracellular bacterium *Ehrlichia canis* reveals themes of complex membrane structure and immune evasion strategies. Journal of Bacteriology 2006;188, 4015–4023.

Mazepa AW, Kidd LB, Young KM, Trepanier LA. Clinical presentation of 26 *Anaplasma phagocytophilum*-seropositive dogs residing in an endemic area. Journal of the American Animal Hospital Association 2010;46(6):405-12.

McQuiston JH, Paddock CD, Holman RC. Human ehrlichioses in the United States. *Emerging Infectious Disease* 1999; 5: 635–642.

Melter O, Stehlik I, Kinska H, Volfova I, Ticha V, Hulinska D. Infection with *Anaplasma phagocytophilum* in a young dog: a case report. *Veterinarni Medicina* 2007;52:207-212.

Moraes MS. Ministerio da saude Fundaçao Oswaldo Cruz. Escola Nacional de Saude Publica. Tese de mestrado Proposta para o monitoramento de aeronautas por meio de marcadores bioquimicos e hematologicos 2001;180.

Moreno P. Evaluation of secondary haemostasis in canine leishmaniasis. *Veterinary Record* 1999;144:169–171.

Moreno P, Lucena R, Ginel PJ. Evaluation of primary haemostasis in canine leishmaniasis. *Veterinary Record* 1998;142:81-83.

Moritz A, Walcheck BK, Weiss DJ. Evaluation of flow cytometric and automated methods for detection of activated platelets in dogs with inflammatory disease. *The American Journal of Veterinary Research* 2005;66:325–329

Munderloh UG, Lynch MJ, Herron MJ. Infection of endometrial cells with *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum*. *Veterinary Microbiology* 2004;101:53–64.

Mylonakis ME, Day MJ, Siarkou V, Vernau W, Koutinas AF. Absence of myelofibrosis in dogs with *Ehrlichia canis*-induced myelosuppression. *Journal of Comparative Pathology* 2010;142:328- 331.

Mylonakis ME, Siarkou VI, Koutinas AF. Myelosuppressive canine monocytic ehrlichiosis (*E. canis*): an update on the pathogenesis, diagnosis and management. *Companion Animal Clinic and Laboratory of Microbiology and Infectious Diseases* 2010;65(4).

Mylonakis ME, Koutinas AF, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Billinis CD, Leontides LS, Kontos VS. Chronic canine ehrlichiosis (*E. canis*): a retrospective study of 19 natural cases. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2004;40(3):174–184.

Nakaghi HCA, Machado ZR, Costa TM, Andre RM, Baldani DC. Canine ehrlichiosis: clinical, hematological, serological and molecular aspects. *Ciencia Rural Santa Maria* 38(3):776-770.

Neer MT, Harrus S. Ehrlichiosis, Neorickettiosis, Anaplasmosis and wolbachia infection. In: Greene, C.E. Infectious diseases of the dog and cat 2006;203-216.

Neer TM, Breitschwerdt EB, Green RT, Lappin MR. Consensus statement on ehrlichial diseases of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. The Journal of Veterinary Internal Medicine 2002;16:309-315.

Nyarko E, Grab DJ, Dumler JS. *Anaplasma phagocytophilum*- infected neutrophils enhance transmigration of *Borrelia burgdorferi* across the human blood brain barrier in vitro. International Journal of Parasitology 2006;36:601–605.

Nyindo M, Huxsoll DL, Ristic M, Kakoma I, Brown JL, Carson CA, Stephenson EH. Cell-mediated and humoral immune responses of German Shepherd Dogs and Beagles to experimental infection with *E. canis*. American Journal of Veterinary Research 1980;41: 250–254.

O'Connor TP, Esty KJ, Machenry P, Hanscom JL, Bartol BA, Lawton T. Performance evaluation of *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* peptides in a new *Dirofilaria immitis* combination assay. In: American Heartworm Society Triannual Symposium 2002;77–84.

O'Connor TP, Esty KJ, Hanscom JL, Shields P, Philipp MT. Dogs vaccinated with common Lyme disease vaccines do not respond to IR6, the conserved immunodominant region of the VlsE surface protein of *Borrelia burgdorferi*. Clinic and Diagnostic Laboratory Immunology 2004;11:458–462.

O'Connor TP, Hanscom JL, Hegarty BC, Groat RG, Breitschwerdt EB. Comparison of an indirect immunofluorescence assay, western blot analysis, and a commercially available ELISA for detection of *Ehrlichia canis* antibodies in canine sera. American Journal of Veterinary Research 2006;67:206–210.

O'Malley T, Langhorne P, Elton RA, Stewart C. Platelet size in stroke patients. Stroke 1995;26: 995–999.

Ogden NH, Bown K, Horrocks BK, Woldehiwet Z, Bennett M. Granulocytic Ehrlichia infection in ixodid ticks and mammals in woodlands and uplands of the UK. Medical and Veterinary Entomology 1998;12, 423–429

Oglsbee MJ, Diehle K, Crawford R, Kearns R, Krakowka S. Whole body hyperthermia: effects upon canine immune and hemostatic function. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1999; 69, 185- 199.

Osselaer JC, Jamart J, Scheiff JM. Platelet distribution width for differential diagnosis of thrombocytosis. *Clinical Chemistry* 1997;43(6-1):1072-6.

Paddock CD, Childs JE. *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. *Clinical Microbiology Review* 2003;16:37- 64.

Park Y, Schoene N, Harris W. Mean platelet volume as an indicator of platelet activation: methodological issues. *Platelets* 2002;13:301-306.

Pizzuli L, Yang A, Martin JF, Luderitz B. Changes in platelet size and count in unstable angina compared to stable angina or non –cardiac chest pain. *European Heart Journal* 1998;19(1):80-4.

Plier ML, Breitschwerdt EB, Hegarty BC. Lack of evidence for perinatal transmission of canine granulocytic anaplasmosis from a bitch to her offspring. *Journal of American Animal Hospital Association* 2009;45(5):232-8.

Poitout FM, Shinozaki JK, Stockwell PJ. Genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* infecting dogs in western Washington State. *Journal of Clinical Microbiology* 2005;43:796–801.

Popov VL, Han VC, Chen SM. Ultrastructural differentiation of the genogroups in the genus *Ehrlichia*. *Journal of Medicine Microbiology* 1998;47:235–251.

Popov VL, Korenberg EI, Nefedova VV. Ultrastructural evidence of the ehrlichial developmental cycle in naturally infected *Ixodes persulcatus* ticks in the course of coinfection with *Rickettsia*, *Borrelia*, and a flavivirus. *Vector-Borne and Zoonotic Disease* 2007;7:699–716.

Rafaj RB, Mrljak V, Guelfi JF. Number of thrombocytes and mean platelet volume in canine babesiosis. *Review Medical Veterinary* 2005;156:95–98.

Richter PJ, Kimsey RB, Madigan JE. *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) as a vector of *Ehrlichia equi* (Rickettsiales: Ehrlichieae). *Journal of Medical Entomology* 1996;33:1–5.

Rikihisa Y. Mechanisms to create a safe haven by members of the family Anaplasmataceae. *Annals of the Newyork Academy of Science* 2003;990:548-55.

Rikihisa Y. New findings on members of the family Anaplasmataceae of veterinary importance. *Annals of the Newyork Academy of Science* 2006;1078:438-45.

Santos ME, Galvão T, Oliveira ALM. Tamanho de Plaquetas e Doença Vascular Laboratório de Hemostasia/HEMOPE Secretaria Estadual de Saúde. *NewsLab* 2008;87:70-76.

Schaefer JJ, Kahn J, Needham GR, Rikihisa Y, Ewing SA, Stich RW. Antibiotic clearance of *Ehrlichia canis* from dogs infected by intravenous inoculation of carrier blood. *Annals of New York Academy of Science* 2008;1149:263-269.

Scorpio DG, Akkoyunlu M, Fikrig E. CXCR2 blockade influences *Anaplasma phagocytophilum* propagation but not histopathology in the mouse model of human granulocytic ehrlichiosis. *Clinical Diagnostic Laboratory and Immunology* 2004;11: 963–968.

Sehayek E, Ben-Yosef N, Modan M, Chetrit A, Meytes D. Platelet parameters and aggregation in essential and reactive thrombocytosis. *American Journal of Clinical Pathology* 1998;90(4):431-6.

Senaran H, İleri M, Altinbas A, Yetkin E, Ozturk M, Karaaslan Y, Kirazlı S. Thrombopoietin and mean platelet volume in coronary artery disease. *Clinical Cardiology* 2001;24(5):405-8.

Shipov A, Klement, E, Reuveni-Tager, L, Waner T, Harrus S. Prognostic indicators for canine monocytic ehrlichiosis. *Veterinary Parasitology* 2008;153:131-138.

Skoracki M, Michalik J, Skotarczak B, Rymaszewska A, Sikora B, Hofman T, Wodecka B, Sawczuk M. First detection of *Anaplasma phagocytophilum* in quill mites (Acari: Symbiophilidae) parasitizing passerine birds. *Microbes and Infection* 2006;8:303–307.

Skotarczak B, Adamska M, Rymaszewska A. *Anaplasma phagocytophila* and protozoans of Babesia genus in dogs from endemic areas of Lyme disease in north-western Poland. *Wiadomosci Parazytologiczne* 2004;50:555–561.

Smith R, Ristic M, Huxsoll D, Baylor R. Platelet kinetics in canine Ehrlichiosis: Evidence for increased platelet destruction as the cause of thrombocytopenia. *Infection and Immunity* 1975;12:16-1221.

Smyth DW, Martin JF, Michalis L, Bucknall CA, Jewitt DE. Influence of platelet size before coronary angioplasty on subsequent restenosis. *European Journal of Clinical Investigation* 1993;23: 361–367.

Stokol T. Disorders of platelet function. In: Day, M., Mackin, A., Littlewood, J. (Eds): *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. BSAVA, Hampshire, 2000;197-208.

Strle F. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *International Journal of Medical Microbiology* 2004;293, S37, 27–35

Stuen S, Olsson Engvall E. and Artursson K. Persistence of *Ehrlichia phagocytophila* infection in lambs in relation to clinical parameters and antibody responses. *Veterinary Record* 1998;143, 553–555

Stuen S, Handeland K, Frammarsvik T, Bergström K. Experimental *Ehrlichia phagocytophila* infection in red deer (*Cervus elaphus*). *Veterinary Record*, 2001;149:390–392.

Sullivan PS, Manning KL, McDonald TP. Association of mean platelet volume and bone marrow megakaryocytopoiesis in thrombocytopenic dogs: 60 cases (1984–1993). *Journal of American Veterinary Medical Association* 1995;206(3):332–334.

Sun W, Ijdo JW, Telford SR. Immunization against the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a murine model. *The Journal of Clinical Investigation* 1997;100:3014–3018.

Tajima T, Rikihisa Y. Cytokine responses in dogs infected with *E. canis* Oklahoma strain. *Annals of the New York Academy of Science* 2005;1063:429-432.

Temizel EM, Hüseyin C, Zeki Y, Nilüfer A. Evaluation of erythrocyte and platelet indices in canine visceral leishmaniasis *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2011;58,185-188.

Threatte GA. Usefulness of the mean platelet volume. Clinical Laboratory Medicine 1993;13(4):937-50.

Tohgi H, Suzuki H, Tamura K, Kimura B. Platelet volume, aggregation, and adenosine triphosphate release in cerebral thrombosis. Stroke 1991;22(1):1721.

Topper MJ, Welles EG. Hemostasis. In: Latimer, K.S, Mahaffey, E.A., Prasse, K.W. (Eds.), Clinical Pathology. Fourth ed. Blackwell Publishing Company, Ames, 2003; 99–135.

Torina A, Vicente J, Alongi A. Observed prevalence of tick-borne pathogens in domestic animals in Sicily, Italy during 2003–2005. Zoonoses Public Health.2007;54: 8–15.

Tvedten H, Lilliehöök I, Hillstrom A, Haggström J. Plateletcrit is superior to platelet count for assessing platelet status in Cavalier King Charles Spaniels. Veterinary Clinical Pathology 2008; 37 (3): 0275-638.

Tuna GE. Trombositopenili köpeklerde *Ehrlichia canis* ve *Babesia canis* enfeksiyonlarının prevalansı. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye. 2008.

Turgut K. Klinik Laboratuvar Teşhis. Konya: Bahçivanlar Basım Sanayi; 2000. p.123-165.

Ulutaş B, Voyvoda H, Ural K, Tuna GE, Aysul N, Atasoy A, Gültekin M, Özata F, Toros G. *Babesia canis* ile doğal infekte köpeklerde trombosit sayısı ve indeksleri. IX. Ulusal Veteriner İç hastalıkları Kongresi 5-8 Mayıs 2011 Antalya (poster sunum).

Ural K, Ulutaş B, Atasoy A, Gültekin M. Aydın bölgesinde ki köpeklerde Dirofilaria, Borellia, Ehrlichia ve Anaplasma enfeksiyonlarının birlikte görülebileme sıklığının araştırılması. ADÜ Bilimsel Araştırma Projesi 2010 VTF-10004.

Unver A, Huang H, Rikihisa Y. Cytokine gene expression by peripheral blood leukocytes in dogs experimentally infected with a new virulent strain of *E. canis*. Annals of the New York Academy of Science 2006;1078:482-486.

Valkila EH, Salenius JP, Koivula TA. Platelet indices in patients with occlusive carotid artery disease. Angiology 1994;45(5):361-5.

Von Behrens WE. Evidence of phylogenetic canalisation of the circulating platelet mass in man. *Thrombosis and Diathesis Haemorrhagica* 1972; 27:159-172.

Walker AR, Alberdi MP, Urquhart KA, Rose H. Risk factors in habitats of the tick *Ixodes ricinus* influencing human exposure to *Ehrlichia phagocytophila* bacteria. *Medical and Veterinary Entomology* 2001;15:40–49.

Waner T, S Harrus DJ, Weiss H, A Keysary. Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1995;48:177–182.

Waner T, Harrus S, Bark H, Bogin E, Avidor Y, Keysary A. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. *Veterinary Parasitology* 1997;69:307-317.

Waner T. Hematological changes in dogs infected with *Ehrlichia canis*. *Israel Journal of Veterinary Medicine*.2008;63:1.

Weiss DJ. New insights into the physiology and treatment of acquired myelodysplastic syndromes and aplastic pancytopenia. *Veterinary Clinical of North America: Small Animal Practice* 2003;33:1317-1334.

Wen B, Rikihisa Y, Mott JM, Greene R, Kim HY, Zhi N, Couto GC, Unver A, Bartsch R. Comparison of nested PZR with immunofluorescent-antibody assay for detection of *Ehrlichia canis* infection in dogs treated with doxycycline. *Journal of Clinical Microbiology* 1997;35:1852-1855.

Winslow GM, Bitsaktsis C. Immunity to the ehrlichiae: New tools and recent developments. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2005;18:217–221.

Woody BJ, Hoskins JD. Ehrlichial diseases in dogs. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 21:75-98.

Wong SJ, Thomas JA. Cytoplasmic, nuclear, and platelet autoantibodies in human granulocytic anaplasmosis patients. *Journal of Clinical Microbiology* 1998;36:1959–1963.

Yılmaz Z, Eralp O, Ilcol Y. Evaluation of platelet count and its association with plateletcrit, mean platelet volume and platelet size distribution width in a canine model of endotoxemia. *Veterinary of Clinical Pathology* 2008;159-163.

Zvorc Z, Rafaj R B, Mrljak V. Erythrocyte and platelet indices in babesiosis of dogs. *Veterinarski Arhiv* 2010;80(2):259-267.

Zygner W, Gojska O, Rapacka G, Jaros D, Wedrychowicz H. Hematological changes during the course of canine babesiosis caused by large *Babesia* in domestic dogs in Warsaw (Poland). *Veterinary Parasitology* 2007;145,146-15.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Ankara’da doğdum. İlk ve orta öğrenimi İzmir’ de tamamladım. 2001 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ nde eğitim görmeye hak kazandım ve 2007 yılında mezun oldum. Aynı yıl İzmir’ de Terapi Veteriner Kliniği’ nde veteriner hekim olarak göreve başladım. 2009 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı’ ında Yüksek Lisans Programına katıldım. 2011 yılında Bluepetcity Veteriner Polikliniğini açtım. Halen Bluepetcity Veteriner Polikliniği’ nde sorumlu veteriner hekim olarak görev yapmaktayım.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince bilgi, ilgi ve yardımlarını hiçbir zaman eksik etmeyen danışmanım Doç. Dr. Kerem URAL'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA'ya, Prof. Dr. Serdar PAŞA, Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ'a,

Özellikle tez yazım aşamasında göstermiş oldukları yardım ve sabırdan dolayı İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı araştırma görevlileri, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma,

Desteklerinden ve her konuda yardımlarından dolayı Veteriner Hekim Burhan YILMAZ'a,

Beni bugünlere getiren ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sabır ve özverilerinden dolayı teşekkür ederim.