



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
VİH-YL-2008-0001

TROMBOSİTOPENİLİ KÖPEKLERDE
Ehrlichia canis ve *Babesia canis*
ENFEKSİYONLARININ PREVALANSI

Veteriner Hekim Gülten Emek TUNA

DANIŞMAN
Doç. Dr. Bülent ULUTAŞ

AYDIN-2008

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
VİH-YL-2008-0001

TROMBOSİTOPENİLİ KÖPEKLERDE
Ehrlichia canis ve *Babesia canis*
ENFEKSİYONLARININ PREVALANSI

Veteriner Hekim Gülten Emek TUNA

DANIŞMAN
Doç. Dr. Bülent ULUTAŞ

AYDIN-2008

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

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Gülten Emek TUNA tarafından hazırlanan ‘‘Trombositopenili Köpeklerde *Ehrlichia canis* ve *Babesia canis* Enfeksiyonlarının Prevalansı’’ başlıklı tez, 31.01.2008 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Unvanı, Adı ve Soyadı :

Üniversitesi :

imzası:

Doç. Dr. Hüseyin VOYVODA

Adnan Menderes Üniversitesi

Doç. Dr. Bülent ULUTAŞ

Adnan Menderes Üniversitesi

Doç. Dr. Tülin KARAGENÇ

Adnan Menderes Üniversitesi

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

ÖNSÖZ

Enfeksiyöz hastalıklar veteriner hekimlikte önemli yer tutmaktadır ve veteriner hekim kliniklerinde sık olarak karşılaşılmaktadır. *Ehrlichia canis* ve *Babesia canis*'de bu enfeksiyöz hastalık etkenlerinin içerisinde yer almaktadır. Köpeklerde *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonları, hematolojik bozukluklarla karakterize sistemik hastalıklardır ve *Ixodidae* ailesine bağlı kenelerinin farklı tür ve cinsleri tarafından nakledilmektedirler. *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarının meydana gelmesinde rol oynayan vektör kene popülasyonu ülkemizde ve bölgemizde oldukça sık görüldüğü bildirilmektedir. Ancak *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarının yaygınlığı açısından maalesef yeterli araştırma bulunmamaktadır. Bu durum sözü edilen hastalıkların yaygınlığı hakkında sınırlı bilgi sahibi olmamıza neden olmaktadır.

Trombositopeni, küçük hayvanlarda yaygın olarak görülen bir bulgudur. Yangısal hastalıklar, tümöral oluşumlar, enfeksiyöz hastalıklar ile birçok ilaç ve kimyasal madde gibi pek çok faktör trombosit üretiminin azalmasına, trombosit dağılımdaki bozukluklara, trombosit kullanımının ve yıkımının artmasına neden olarak trombositopeniyi oluşturmaktadır. Memeli konakçılardaki hemen hemen tüm kene ile nakledilen hastalıklarda, klinik sendromun bir parçası olarak trombositopeni'ye rastlanmaktadır. *E. canis* ve *B. canis*'in prevalansı ile ilgili çok sayıda çalışma olmasına rağmen trombositopenik köpeklerde bu hastalıkların durumu hakkında sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu durum çalışmamıza ayrı bir orijinallik katmaktadır. Aynı zamanda hastalıkların güncel durumlarının belirlenmesi gerek bizim açımızdan gerekse bölgedeki diğer veteriner hekimler açısından tanı ve tedavinin yönlendirilmesine yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Ehrlichia canis ve *Babesia canis* enfeksiyonlarında birçok klinik, hematolojik ve biyokimyasal bulgularla karşılaşılmasına rağmen bu enfeksiyonların tanısını koymak oldukça zordur. Tanı; klinik bulgular, laboratuvarı bulgular, serolojik testler ve moleküler tanı yöntemleri ile koyulabilmektedir. *E. canis* enfeksiyonlarında periferik kan muayenesinde mononükleer hücreler içerisindeki etkenin morulalarına daha çok hastalığın akut fazında rastlanmakta ve pozitif vakaların en çok %4 ünde morula görülebilmektedir. *Babesia* türlerinin kan frotilerinde tespiti, değişken parazitemi nedeniyle zor olduğu ve parazitemi süresince özellikle ateşli köpeklerde etkenlerin intra-eritrostik inkluzyonları kolayca bulunabildiği bildirilmektedir. *Ehrlichia canis* ve *B. canis* enfeksiyonları için kullanılan serolojik ve moleküler testlerin ise deneyimli personele ihtiyaç duyulması, laboratuvar ekipmanı gerektirmesi ve fazla zaman alması gibi dezavantajları vardır. *Ehrlichia canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarında trombositopeni, en yaygın görülen hematolojik bulgudur. Ancak trombositopeninin derecesinin hastalığın dönemlerine göre değiştiği bilinmektedir. Trombositopeninin derecesi ile bu hastalıkların prevalansları arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesi, bu hastalıklarda trombositopeninin tanı amaçlı kullanımını sağlayacağını düşündürmektedir.

Proje, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: VTF-07016)

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	01
1.1. Köpeklerde <i>Ehrlichia canis</i> Enfeksiyonu.....	01
1.1.1. Prevalans.....	01
1.1.2. Klinik Bulgular.....	04
1.1.3. Laboratuvar Bulgular.....	06
1.1.4. Tanı.....	07
1.2. Köpeklerde <i>Babesia canis</i> Enfeksiyonu.....	09
1.2.1. Prevalans.....	10
1.2.2. Klinik Bulgular.....	12
1.2.3. Laboratuvar Bulgular.....	14
1.2.4. Tanı.....	15
1.3. Trombositopeni.....	18
1.3.1. Trombosit Fizyolojisi	19
1.3.2. Trombositopeninin Nedenleri.....	20
1.3.3. Kene ile Nakledilen Hastalıklarda Trombositopeni.....	22
1.3.3.1. Trombosit üretimindeki azalma.....	22
1.3.3.2. Splenomegali.....	23
1.3.3.3. İmmun kökenli olmayan trombosit tüketimi.....	23
1.3.3.4. İmmun mekanizmalı trombosit yıkımlanması.....	24
1.3.3.5. Trombositlerin direkt enfeksiyonu.....	24
1.3.3.6. Trombotik trombositopenik purpura.....	25

2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	27
2.1. Hayvan Materyali.....	27
2.2. Laboratuar Muayeneleri.....	27
2.2.1. PCR Uygulaması.....	28
2.2.1.1. DNA ekstraksiyonu.....	28
2.2.1.2. Testin uygulanması.....	29
2.2.2. İFAT Yöntemi Uygulanması.....	30
2.2.2.1. Tampon ve solüsyonlar.....	30
2.2.2.2. Testin uygulanması.....	30
2.2.2.3. İFAT sonuçlarının yorumlanması.....	31
2.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	31
3. BULGULAR.....	32
3.1. <i>Ehrlichia canis</i> Enfeksiyonunun Bulguları.....	32
3.2. <i>Babesia canis</i> Enfeksiyonunun Bulguları.....	34
4. TARTIŞMA.....	36
5. SONUÇ.....	40
ÖZET.....	41
SUMMARY.....	43
KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin difosfat
ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
aPTT	: Aktive parsiyel protrombin zamanı
DİC	: Diffüz intravasküler koagülopati
ELİSA	: Enzim-linked immunosorbent assay
GP	: Glikoprotein
İFAT	: İmmunofloresans antikor testi
K ₂ HPO ₄	: Potasyum dibazik fosfat
KCl	: Potasyum klorid
KME	: Köpek monositik ehrlichiosis
NaCl	: Sodyum klorid
NaH ₂ PO ₄	: Sodyum dihidrojen fosfat
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyon
PT	: Protrombin zamanı
RES	: Retikülo-endotelyal sistem
RLB	: Reverse line blot hibridizasyon
TTP	: Trombotik trombositopenik purpura
vWF	: von Willebrand faktör

Abecesel sırayla

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. <i>Ehrlichia canis</i> enfeksiyonunun bazı ülkelerdeki prevalansı	03
Çizelge 1.2. <i>Ehrlichia canis</i> enfeksiyonunun Türkiye'deki prevalansı	02
Çizelge 1.3. <i>Babesia canis</i> enfeksiyonunun bazı ülkelerdeki prevalansı	11
Çizelge 1.4. <i>Babesia canis</i> enfeksiyonunun Türkiye'deki prevalansı.....	11
Çizelge 1.5. Trombositopeninin patofizyolojik olarak sınıflandırılması.....	21
Çizelge 3.1 Hasta ve sağlıklı hayvanlarda <i>E. canis</i> ve <i>B. canis</i> enfeksiyonlarının dağılımı	32
Çizelge 3.2. Trombositopenik köpeklerde <i>E. canis</i> enfeksiyonunun prevalansı.....	33
Çizelge 3.3. Trombositopeninin derecesi ile <i>E. canis</i> enfeksiyonu arasındaki ilişki.....	33
Çizelge 3.4. Trombositopenik köpeklerde <i>B. canis</i> enfeksiyonunun prevalansı.....	35
Çizelge 3.5. Trombositopeninin derecesi ile <i>B. canis</i> enfeksiyonu arasındaki ilişki.....	35

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.1. <i>Ehrlichia canis</i> morulasınının monosit içerisindeki görünümü.....	08
Resim 1.2. <i>Babesia canis</i> trofozoitlerinin eritrosit içerisindeki görünümü	17
Resim 3.1. <i>Ehrlichia canis</i> 'in IFAT ile pozitif bulunan örneklerinin florasan mikroskoptaki görüntüsü.....	32
Resim 3.2. <i>Babesia canis</i> yönünden pozitif örneklerin agoroz jel elektroferez görüntüsü..	34

1. GİRİŞ

1.1. Köpeklerde *Ehrlichia canis* Enfeksiyonu

Ehrlichia canis zorunlu hücre içi, gram negatif, bir bakteri olup keneler ile nakledilen, hematolojik bozukluklarla karakterize ateşli, sistemik, öldürücü bir hastalık olan “Köpek Monositik Ehrlichiosis (KME)’ in etkenidir (Harrus ve ark 1997, Waner ve Harrus 2000). Hastalık aynı zamanda köpek rickettsiosisi, köpeklerin hemorajik ateşi, köpeklerin kene tifosu, Nairobi kanama bozukluğu ve tropikal pansitopeni olarak da bilinmektedir (Waner ve Harrus 2000). İlk kez 1935 yılında Cezayir’de tanımlandıktan sonra, dünya üzerindeki evcil ve diğer köpekgillerde yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olduğu bildirilmektedir (Ristic ve ark 1993).

Ehrlichia canis kahverengi köpek kenesi olarak bilinen *Rhipicephalus sanguineus* tarafından bulaştırılmaktadır. Johnson ve ark (1998) *E. canis*’in *Dermacentor variabilis* kenesi ile de deneysel olarak bulaşabildiğini rapor etmektedirler. *Rhipicephalus sanguineus* kenesi ile bulaşma transstadial olarak meydana gelmekte, transovarial bulaşma söz konusu olmamaktadır. Larva ve nimfler hasta köpekler üzerinde beslenme esnasında enfekte duruma gelmektedirler. Hastalıkta bulaşma mekanik yolla olduğundan dolayı enfekte hayvanlardan yapılan kan transfüzyonları da *E. canis*’in bulaşmasına neden olmaktadır. Enfeksiyonu atlatan köpeklerin kanı beş yıla kadar enfektif özelliğini korumaktadır. Bundan dolayı endemik bölgelerdeki köpeklerin donör olarak kullanılması uygun değildir (Breitschwerdt 2000).

1.1.1. Prevalans

Ehrlichia canis’in yaygınlığı direkt olarak vektörün yaygınlığıyla ilgilidir ve vakaların çoğu kenelerin aktif olduğu yaz aylarında ortaya çıkmaktadır (Harrus ve ark 1997, Leib ve Monrea 1997). Hastalık tropikal ve subtropikal bölgelerde daha sık olmak

üzere dünyada geniş bir yayılım göstermektedir (Wanner ve ark 1996, Wanner ve ark 2001, Ünver ve ark. 2001, Suto ve ark 2001). Bazı çalışmalar, endemik alanlarda sağlıklı görülen köpeklerin büyük bir yüzdesinin, *E. canis* antikorları için seropozitif olduğunu göstermektedir (Botros ve ark 1995, Baneth ve ark 1996).

Hastalığın varlığı Asya, Afrika, Avrupa ve Amerika kıtalarındaki pek çok ülkede rapor edilmektedir (Tsachev ve ark 2006). Prevalansın Asya'da %18 ile %30, Afrika'da %3,1 ile %67,8, Avrupa'da %2,2 ile %50; Amerika'da %15,4 ile %44,7 arasında olduğu bildirilmektedir. (Çizelge 1.1).

Türkiye'de Ünver ve ark (2005) Ankara ilindeki 12 köpeğin 3'ünde PCR ile *E. canis*'in pozitif olduğunu bildirerek moleküler olarak ilk bildirimini gerçekleştirmişlerdir. Ülkemizde *E. canis*'in epidemiyolojisi üzerine sınırlı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmaların ülke prevalansı hakkında bilgi vermek için yetersiz olduğu düşünülmektedir. Bursa, Balıkesir, İzmir, Şanlıurfa, Adana ve Antalya illerini kapsayan, bölgesel alanda en kapsamlı araştırmayı gerçekleştiren Batmaz ve ark (2001), *E. canis*'in prevalansını %20,8 (59/284) olarak rapor etmekte ve en yüksek prevalansa sahip illerin Adana (%65,3) ve İzmir (%40,6) olduğu bildirilmektedirler. Erdeğer ve ark (2002), Ankara, Aydın ve Muğla illerindeki köpeklerden topladıkları kan örneklerinin %67,8'inin (162/239) *E. canis* yönünden pozitif bulunduğunu ortaya koymaktadırlar. Karagenç ve ark (2005) Manisa, Marmaris, Muğla, Selçuk, Aydın, Bodrum gibi Ege Bölgesinin çeşitli yerlerinde, değişik yaş ve ırktaki 371 köpekte Nested PCR ile yapılan bir çalışmada köpeklerin 154'ünde (% 41, 5) *E. canis*'in pozitif olduğunu bildirmektedirler. (Çizelge 1.2)

Çizelge 1.2 Ehrlichia canis enfeksiyonunun Türkiye'deki prevalansı

Bölge	Hayvan Sayısı	Yöntem	Prevalans	Kaynak
Ege Bölgesi (İzmir) Akdeniz (Adana, Antalya) Marmara (Bursa, Balıkesir) Güneydoğu Anadolu Bölgesi (Şanlıurfa)	284	İFAT	%20,8	Batmaz ve ark. 2001
İç Anadolu Bölgesi (Ankara) Ege Bölgesi (Muğla, Aydın)	239	İFAT	%67,8	Erdeğer ve ark 2002
Ege Bölgesi (Aydın, Muğla, İzmir, Manisa)	371	PCR	%41,5	Karagenç ve ark 2005

Çizelge 1.1. *Ehrlichia canis* enfeksiyonunun bazı ülkelerdeki prevalansı

Kıta	Ülke	Hayvan sayısı	Yöntem	Prevalans	Kaynak
Asya	Japonya	150	İFAT	%18	Watanabea ve ark 2004
	İsrail	410	İFAT	%30	Baneth ve ark 1996
Afrika	Mısır	374	İFAT	%33	Botros ve ark 1995
	Gabon	253	İFAT	%3,1	Davoust ve ark 2006
	Fildişi sahilleri	137	İFAT	%67,8	Davoust ve ark 2006
	Kamerun	104	İFAT	%32	Ndip ve ark 2005
	Zimbabwe	93	İFAT	%42	Matthewman ve ark 1993
	Namibya	600	ELİSA	%10,2	Stüben 2004
	Tunus	180	İFAT	42,8%	Ghorbel ve ark 2001
Avrupa	İtalya	601 1000	PCR İFAT	%2,9-%9,7 %50	Solano-Gallego ve ark. 2006 Cocco ve 2003
	İsviçre	996	İFAT	%2,2	Pusterla ve ark 1998
	Polonya	200	İFAT	%8	Ploneczka ve Śmiełowska 2003
	Portekiz	104	İFAT	%50	Bacellar ve ark 1995
	İspanya	466	İFAT	%16,7	Letková ve ark 2004
	Bulgaristan	100	İFAT	%50	Tsachev ve ark 2006
	Slovakya	78	İFAT	%29,2	Laia Solano-Gallego ve ark 2006
Amerika	Brezilya	226	İFAT	%44,7	Costa ve ark 2007
	Brezilya	153	İFAT	%37,9	Aguiar ve ark 2007
	ABD	65 48	PCR İFAT	%15,4 %21	George ve ark 1998 Suksawat ve ark 2000
	Meksika	120	ELİSA	%44,1	Rodriguez-Vivas ve ark 2005

1.1.2. Klinik Bulgular

Doğal KME'in klinik bulguları geniş bir dağılım göstermektedir. Klinik bulgulardaki bu geniş dağılım, *E. canis*'in patojenitesi, köpeğin ırkı, birlikte seyreden hastalıklar ve köpeğin immun sisteminin durumu gibi bir dizi faktöre bağlı olduğu bildirilmektedir (Waner ve Harrus 2000). *Ehrlichia canis* enfeksiyonlarının yaş veya cinsiyetle bir ilişkisinin olmadığı, tüm ırklar enfeksiyona duyarlı olmakla birlikte Alman Çoban Köpeklerinin KME'e predispozisyonu vurgulanmaktadır (Batmaz ve ark 2001).

Hastalık klinik açıdan akut, subklinik ve kronik olmak üzere üç dönem göstermektedir (Breitschwerdt 2000, Waner ve Harrus 2000) . Akut faz, enfekte kenelerle temastan 8–20 gün sonra başlar ve 2–4 hafta devam eder. Bu fazda klinik bulgular hafif olabileceği gibi bazı durumlarda ciddi ve yaşamı tehdit edici nitelikte de olabilmektedir. Akut fazda kilo kaybı, ateş, depresyon, letarji anoreksi, durgunluk, göz-burun akıntısı, dispne, lenfadenopati, lenfadenomegali, splenomegali, ekstiremiteler ve skrotumda ödem, kanama eğiliminin artması, deri ve mukozal membranlarda peteşi, ekimoz ve nadiren de epistaksis görülebilir (Castro ve ark 2004). Aşırı duyarlılık ve tiklerin yanı sıra kraniyal sinir hasarını içeren merkezi sinir sistemi bulgularının da ortaya çıktığı belirtilmektedir (Codner ve ark 1985, Anderson ve ark 1991, Neer 1995, Batmaz ve ark 2001). Oküler bulguların yaygın olmadığı, ancak anterior üveitis ve/veya corneal opasite, hifema, retinal damarlaşma ve fokal korioretinal lezyonların görülebildiği rapor edilmektedir (Pancieria ve ark 2001). Diğer klinik bulgular; kusma, serözden purulente kadar değişen okulonasal akıntı, topallık, ataksi ve dispne'dir. Birçok olguda klinik belirtiler tedavi yapılmaksızın kaybolmakta ve subklinik döneme girilmektedir (Codner ve Farris-Smith 1986, Waner ve ark 1997).

Subklinik dönem etkenin alınmasından 6–9 hafta sonra oluşmaktadır. Subklinik dönem 40–120 gün sürebilmekte bazende 5 yıla kadar uzayabilmektedir. Klinik bulgular normale dönmeye başlarken, iştah azalması ve değişken bir ateş gibi belirleyici olmayan bulgulara rastlanabilmektedir. Enfeksiyondan sonraki 7–21. günler arasında kandaki antikor düzeyinin yükselmesi tespit edilebilir seviyede iken, subklinik dönemde bu artışın devam ettiği bildirilmektedir (Rikihisa ve ark 1992, Rand 1996). Yeterli immun yanıt

oluşturan köpeklerde subklinik formda etken elimine edilebilmektedir (Waner ve ark 1997).

Hastalığın teşhis ve tedavisi yapılmadığında kronik döneme geçip, yıllarca sürebildiği rapor edilmektedir (Breitschwerdt 1995). Bu kronik dönemin bazı köpeklerde klinik bulgu göstermeden seyrederken, bazı köpeklerde ise akut dönemdekinden daha şiddetli klinik bulgular ortaya çıkabildiği, bulguların şiddetinin ırk, yaş ve bağışıklık sistemini etkileyen diğer bir hastalığın varlığına göre değiştiği bildirilmektedir (Rand 1996, Breitschwerdt 1999). Hastalığın kronik dönemi genellikle kemik iliği hipoplazisi ile birlikte bulunmaktadır. Hastalığın kronik dönemindeki yaygın klinik bulgular; güçsüzlük, depresyon, anoreksi, ilerleyen kilo kaybı, solgun mukozal membranlar, ateş ve özellikle arka bacaklar ile skrotumda ödemlerdir. Deri ve mukozal membranlarda trombositopeni ile ilişkili kanamalar ve epistaksis oldukça yaygındır (Huxsoll ve ark 1970, Smith ve ark 1975). Kronik KME ile ilişkili olarak; östrusta uzayan kanamalar, gebe kalamama, abortlar ve neonatal ölümler gibi reproduktif bozukluklar da ortaya çıkabilmektedir (Price ve Sayer 1983, Rikihisa ve ark 1992, Rand 1996, Friedman ve ark 1997, Breitschwerdt 1999). Kronik hastalığın ileri aşamalarında sekonder bakteriyel ve protozoal enfeksiyonlar, intersititial pneumonie, renal yetmezlik, artrit ve polimyozitis gelişebilir (Rikihisa ve ark 1992, Rand 1996, Friedman ve ark 1997, Breitschwerdt 1999). Kronik dönemde sürekli antijenik uyarıma bağlı olarak glomeruluslarda immunkompleks birikimi artmakta ve membranoproliferatif glomerulonefritis görülmektedir (Troy ve ark 1980, Breitschwerdt 1995). *E.canis* ile doğal enfekte 18 köpeğin 12'sinde proteinüri ve membranöz glomerulonefritisin tespit edildiği rapor edilmektedir (Troy ve ark 1980). Hastalığın akut veya kronik döneminde meningoensefalitis (örn: kalkık bir kalça, gergin bir boyun ve ağrı), paraparesis veya tetraparesis, ataksi, kranial sinir bozuklukları ve konvülziyonlar gibi nörolojik bulgular görülebilmektedir. Nörolojik bulgular; hemoraji, yaygın plazma hücresi infiltrasyonu ve beyin zarlarındaki perivasküler kanamalar ile ilişkilendirilebilmektedir. KME'de ölüm hemoraji veya sekonder enfeksiyonlara bağlı gelişmektedir (Greene ve ark 1985, Hibler ve ark 1986, Meinkoth ve ark 1989, Rikihisa ve ark 1992, Rand 1996, Friedman ve ark 1997, Breitschwerdt 1999).

1.1.3. Laboratuvar Bulgular

KME'in laboratuvar anormallikleri hematolojik ve biyokimyasal değişiklikleri kapsamaktadır. Trombositopeni en yaygın hematolojik değişikliktir (Waner ve Harrus 2000, Dagnone ve ark 2003, Castro ve ark 2004). Eş zamanlı olarak ortalama trombosit hacmindeki belirgin artış, genellikle aktif trombopoiesisi işaret etmektedir.

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

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 görülebilmektedir.

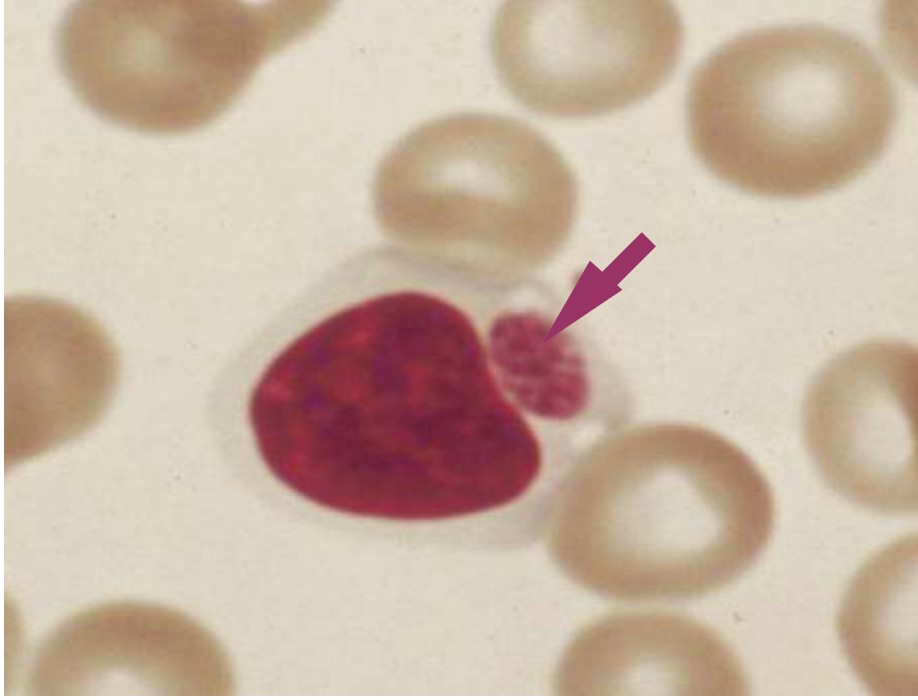
KME ile enfekte köpeklerde temel biyokimyasal anormallikler hipoalbuminemi, hiperglobinemi ve hipergammaglobinemidir. Serum globulin konsantrasyonu hastalığın seyri süresince belirgin olarak artmaktadır. Enfeksiyondan sonraki 1–3. haftalarda bu artış sıklıkla gözlemlenmektedir (Wanner ve Harrus 2000). 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 enfeksiyonlara karşı daha duyarlı olmasının nedenlerinden biri olduğu rapor edilmektedir (Waner ve Harrus 2000).

KME'li köpeklerde özellikle akut dönemde serum alkalen fosfataz (ALP) ve alanin aminotransferaz (ALT) aktivitelerinde geçici süreyle hafif bir artış söz konusu olabilmektedir (Breitschwerdt 2000, Yabsley ve ark 2004). *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 1992a, Codner ve ark 1992b, 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 hemen hemen 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).

1.1.4. Tanı

Tanı; anamnez, klinik bulgular, şüpheli kandan yapılan frotiler, klinik patolojik bulgular ve laboratuvar testleriyle ortaya konmaktadır. Ayrıca ehrlichiosis olgularının endemik alanlarda kene popülasyonlarının en fazla aktif olduğu bahar ve yaz aylarında sık olarak ortaya çıktığı da göz önünde tutulmalıdır. Klinik bulguların tipik olmaması nedeniyle tanı güçtür. Özellikle pansitopeni hastalıktan şüphe uyandırır. Kesin tanı serolojik muayeneler ve direkt etkenin belirlenmesine yönelik testler ile konulmaktadır (Ristic ve ark 1972). Direkt etkenin belirlenmesine yönelik uygulamalar kan ve kemik iliği frotilerinin değerlendirilmesi, etken kültürünün yapılması ve *E. canis* DNA'sı tarafından oluşturulan polimeraz zincir reaksiyonununun (PCR) ortaya konulmasını kapsamaktadır (Mylonakis ve ark 2003).

Monositler içerisindeki tipik *E. canis* morulası mikroskopik olarak görülmesi, hastalığın akut devresinde nadiren görülmektedir (Resim 1.1). Her ne kadar ehrlichiosisli köpeklerin kan frotilerinin %4'ünde tipik *E. canis* morulası görülse de şüpheli köpeklerin kan ve buffy-coat smearleri dikkatlice incelenmelidir.



Resim 1.1. *Ehrlichia canis* morulasınının monosit içerisindeki görünümü

Etkenin erken dönemde belirlenmesi amacıyla IFAT, Western immunoblotting ve ELİSA yöntemlerinden yararlanılmaktadır (Waner ve Harrus, 2000) .*E. canis* antijeni kullanarak hazırlanan IFAT en çok kabul gören serolojik testtir. *E. canis*'in tespiti ve antikor titrelerinin saptanmasında “ altın standart” olarak kabul edilmektedir. Pozitif bir IFAT titresi aktif bir reaksiyonu gösterebildiği gibi geçmiş bir enfeksiyonu da gösterebilir (Baneth ve ark 1999, Harrus ve ark 1999). IFAT ile subklinik ehrlichiosisin erken teşhis edilebildiği, böylece bu köpeklerin kronik döneme girmeden tespit edilebilmesi ile başarılı bir tedavinin gerçekleştirilebildiği rapor edilmektedir (Waner ve ark 1997), Anti-*E. canis* antikor titresinde 1:40'lıktan daha fazla bir dilüsyon hastalığın kanıtı olarak kabul edilmektedir (Waner ve Harrus, 2000). Doğal ve deneysel enfeksiyonlarda hasta köpeklerde akut dönemde antikor titreleri hızlı bir artış göstermektedir. Köpeklerde *E. canis*'in IFAT ile antikor titresini belirlerken tanıyı yapacak kişinin tanıyı karıştırabilecek bir dizi kros-reaksiyonları dikkate alması gerekmektedir. Endemik bölgelerde *E. canis* ile *E. ewingii*, *E. equi*, *E. risticii* ve *Anaplasma phagocytophila*, arasında bir kros-reaksiyon gelişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Yapılan bir çalışma (Rikihsa ve Perry 1985), deneysel *E. canis* enfeksiyonu ile *E. equi* enfeksiyonu arasında enfeksiyondan 4 ay sonra antikor kros-reaksiyonu geliştiğini göstermektedir. Bununla birlikte *E. equi* antikor titresi

E. canis'e oranla önemli düzeyde düşüktür. *E. canis* ile *E. phagocytophila* arasında da bir kros-reaksiyon söz konusudur. *E. canis* ile *E. platys* arasında ise serolojik olarak bir etkileşim yoktur.

PCR, *E. canis* enfeksiyonlarının saptanmasında teşhise yönelik mevcut testlere ilave olarak hızlı ve duyarlı bir alternatif veya bir tamamlayıcı olabilmektedir. Ancak laboratuvar ekipmanın ve donanımlı personel gerektirmektedir. Bu nedenle etken kültürü ve PCR gibi metotlar temelde araştırma amaçlı olarak kullanılmaktadır(Nyindo ve ark 1971, Regnery 1990).

1.2. Köpeklerde *Babesia canis* Enfeksiyonu

Köpeklerde babesiosisin etkenlerinden biri olan *Babesia canis*, keneler ile nakledilen hemaprotozoon apikompleks bir parazittir. Babesiosis; hemolitik anemi, ikterus, hemoglobüri ve ateş gibi klinik semptomlarla karakterizedir. Babesiosis'e neden olan diğer tür ise *Babesia gibsoni*'dir (Macwilliams 1987, Uilenberg ve ark 1989, Hauschild ve ark 1995).

Genişliği 3 mikrondan büyük olan *Babesia* türleri büyük *Babesia*, 3 mikrondan küçük olan *Babesia* türleri ise küçük *Babesia* olarak adlandırılmaktadırlar (Criado-Fornelio ve ark 2003, Birkenheuer ve ark 2004). *Babesia canis*, büyük *Babesia* türü olup, eritrosit içerisinde tek ya da çift armut şeklinde görülmektedir (Quinn ve ark 1997, Uilenberg 2006). *Babesia canis* vektör spesifitesi, antijenik özellikleri, coğrafi dağılımı ve patojenitesine göre, *B. canis canis*, *B. canis vogeli* ve *B. canis rossi* olmak üzere üç alt türe ayrılmaktadır. (Uilenberg ve ark 1989, Hauschild ve ark 1995, Hauschild ve Schein 1996, Lewis ve ark 1996, Caccio ve ark 2002, Birkenheuer ve ark 2003, Matjila ve ark 2004).

Babesia canis enfeksiyonu, *Ixodidae* ailesine bağlı keneler tarafından nakledilmektedir. *Babesia canis canis*'in Avrupa'da *Dermacentor reticulatus*, *B. canis vogeli*'nin Güney Avrupa ve Kuzey Afrika'da *Rhipicephalus sanguineus*, *B. canis rossi*'nin ise Güney Afrika'da *Haemophysalis leachi* tarafından nakledildiği rapor

edilmektedir (Uilenberg ve ark 1989). *Babesia* türleri transstadial ve transovarial olarak bulaşmaktadır. *Babesia* paraziti, kenelerin duyarlı hayvanlardan kan emmeleri sırasında tükrük salgıları ile bulaştırılmaktadır. Regendanz ve Muniz (1936), *Rhipicephalus sanguineus* kenelerinin *B. canis vogeli*'yi doğal olarak enfekte olan bir köpekten enfekte olmayan bir köpeğe naklettiğini göstermişlerdir. Transovarial bulaşma ile de enfeksiyon, enfekte köpek popülasyonunun olmadığı durumlarda da bir sonraki kene jenerasyonuna aktarılabilir (Taboada ve Merchant 1991). Genellikle transovarial nakil tek konakçılı kene türlerinde, transstadial nakil ise iki ve üç konakçılı kenelerde görülmektedir (Soulsby 1982, Yukarı 2000). Bununla birlikte *B. gibsoni*'nin köpek kavgaları sırasında kan kontaminasyonu ile de bulaştırılabileceği rapor edilmektedir (Matsuu ve ark 2004). Ayrıca enfeksiyon tam kan transfüzyonu ile bulaştırılabilir.

1.2.1. Prevalans

Babesiosis, tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerde, özellikle kene popülasyonuna bağlı olarak dağılım göstermektedir (Macwilliams 1987, Quin ve ark 1997). *B. canis* dünyada yaygın olup; Avrupa, Amerika, Asya, Afrika ve Avustralya kıtalarında görülmektedir (Çizelge 1.3). *Babesia canis*'in alt tipi *B. canis canis* daha çok Avrupa'da (Zahler ve ark 1998, Carret ve ark 1999, Caccio ve ark 2002, Criado-Fornelio ve ark 2003, Duh ve ark 2004, Foldvari ve ark 2005, Matjila ve ark 2005), *B. canis rossi*, Güney Afrika'da (Zahler ve ark 1998, Carret ve ark 1999) yaygın olarak bulunmaktadır. *B. canis vogeli*, dünya üzerinde daha yaygın olup, Kuzey Afrika ve Avrupa'da (Zahler ve ark 1998, Carret ve ark 1999, Caccio ve ark 2002, Criado-Fornelio ve ark 2003, Duh ve ark 2004), Kuzey ve Güney Amerika'da (Birkenheuer ve ark 2003, Passos ve ark 2005), Avustralya'da (Jefferies ve ark 2003), Batı ve Güney Afrika'da (Matjila ve ark 2004, Oyamada ve ark 2005) ve Doğu Asya'da (Inokuma ve ark 2004) görülmektedir.

Çizelge 1.3. *Babesia canis* enfeksiyonunun bazı ülkelerdeki prevalansı

Kıta	Ülke	Hayvan sayısı	Yöntem	Prevalans	Kaynak
Asya	Japonya	80	PCR	%6,3	Inokuma ve ark 2004
	Tayland	49	İFAT	%20	Suksawat ve ark 2001
Afrika	Nijerya	400	PCR	%2,0-%0,3	Sasaki ve ark 2007
	Güney Afrika ülkeleri	297	PCR	%10,4- 18,8	Matjila ve ark 2004
	Zimbabve	105	İFAT	%26	Matthewman ve ark 1993
Avrupa	İspanya	250	PCR	%0,01	Criado-Fornelio ve ark 2007
	Slovenya	238	PCR	%5,9	Duh ve ark 2004
Amerika	Brezilya	381	İFAT	%36	Silvia ve ark 2006
	Hint adaları	73	PCR	%7	Yabsley ve ark 2007
Avustralya		215	PCR	%10	Brown ve ark 2006

Ülkemizde de konu ile ilgili 2 prevalans çalışması bulunmaktadır (Çizelge 1.2). Ege bölgesinde 383 köpekte polimeraz zincir reaksiyon (PCR) yöntemi ile yapılan çalışmada köpeklerin 40'ında (%10,44) *B. canis vogeli*'nin saptandığı rapor edilmektedir (Kırlı 2006). İstanbul ilindeki 493 köpekte reverse line blot hibridizasyon (RLB) ve PCR yöntemleriyle yapılan çalışmada RLB ile 19 (%3,9) köpek, PCR ile 11 (%2,2) köpeğin *B. canis vogeli* yönünden pozitif bulunduğu bildirilmektedir (Selek 2006).

Çizelge 1.4. *Babesia canis* enfeksiyonunun Türkiye'deki prevalansı

Bölge	Hayvan Sayısı	Yöntem	Prevalans	Kaynak
Ege Bölgesi (İzmir, Aydın, Muğla, Manisa)	383	PCR	%10.44	Kırlı (2006)
Marmara Bölgesi(İstanbul)	493	RLB PCR	%3.9 %2.2	Selek(2006)

1.2.2. Klinik Bulgular

Klinik bulgular, *Babesia spp.* türüne, hayvanın yaşına ve bireysel özelliklerine, konakçı immunitesine, splenektomi uygulanıp uygulanmamasına, enfeksiyonun safhasına, eş zamanlı hastalıklara ve coğrafi konuma (farklı *babesia* türleri ve/veya serotiplerinin dağılımı) bağlı olarak değişmektedir (Macwilliams 1987, Quinn ve ark 1997). Köpeklerde babesiosis klinik olarak perakut, akut, kronik ve subklinik veya komplike ve komplike olmayan (Jacobson ve Clark 1994, Kraje 2001) olarak sınıflandırılmaktadır (Soulsby 1982, Kraje 2001).

Komplike olmayan babesiosis'te tipik olarak parazitemi ve akut hemoliz ile ilgili bulgular görülmektedir (Jacobson ve Clark 1994). Ateş, anoreksi, depresyon, soluk mukoz membranlar ve splenomegali gibi bulgular gözlemlenmektedir (Malherbe 1956, Hildebrandt 1981, Taboada ve ark 1991, Jacobson ve Clark 1994, Lobetti 1998, Jacobson ve ark 2000). Bu form aneminin şiddetine göre; hafif, orta ve şiddetli olarak ayrılmaktadır (Jacobson ve ark 2000). Komplike olmayan hafif anemili babesiosis olguları komplike olmayan şiddetli anemili olgulara kadar ilerleyebilir (Lobetti 2000).

Babesiosisin komplike formu yalnızca hemolitik süreç ile açıklanamaz. Akut renal yetmezlik, merkezi sinir sistemi bulguları (serebral babesiosisle ilgili olabileceği gibi hipoglisemiden kaynaklanan nörolojik bulgulardan da kaynaklanabilir), akut respiratorik yetmezlik sendromu, hipotansif şok, hemokonsantrasyon, ikterus, hepatopati, rhabdomiyolisis, yaygın intravasküler koagülasyon (DİC), koagülopati ve immün ilişkili hemolitik anemi gibi problemlerle birlikte görülmektedir (Malherbe 1951, Jacobson ve Clark 1994, Lobetti 1998, Lobetti ve ark 2002). Gastrointestinal bulgular, myelji, oküler bozukluklar, üst solunum sistemi bulguları, kardiyak bulgular, ekstremitelerde nekroz asites ve ödem daha az yaygın komplikasyonlardır (Jacobson ve Clark 1994, Lobetti 1998, Lobetti ve ark 2000).

Nörolojik bulgular ve babesiosisin aynı anda görülmesi serebral babesiosis olarak tanımlanmaktadır. İnkordinasyon, arka ayaklarda parazi, kas tremorları, nistagmus, anizokori, aralıklı bilinç kaybı, nöbetler, uyuşukluk, koma hali, saldırganlık ve çırpınma gibi klinik işaretler gözlenmektedir (Jacobson ve Clark 1994).

Perakut form, daha çok yavru köpeklerde gözlenmekte ve klinik bulgular 24 saatten daha kısa sürede ortaya çıkmaktadır. Şiddetli intravasküler hemoliz ile birlikte soluk mukoz membranlar, hemoglobinüri, vaskulitis, vasküler durgunluk ve geniş doku hasarı görülmektedir (Taboada 1998). Hızla gelişen dolaşım yetmezliğine bağlı hipotansif şok ve pulmoner ödem sonucu ölüm görülmektedir (Macwilliams 1987, Turgut 2000)

Akut formda, hemolitik anemi ile birlikte depresyon, ateş, iştahsızlık, letarji, dehidrasyon, soluk mukoz membranlar, sarılık, solunum güçlüğü ve hızlı nabız gözlenmektedir. Bu formda hemoglobinemi ve hemoglobinüri görülmekte, splenomegali ve lenfadenopatide tespit edilebilmektedir. Söz konusu bulgularla birlikte, baş ve bacaklarda ödem, peteşiyel kanama, keratit, iritis, stomatit, gastrit, myosit, asites, diyare ya da konstipasyon görülebilmektedir. Ölüm genellikle, kalp yetmezliği ve akut solunum yetmezliği sonucu meydana gelmektedir (Mimoğlu ve ark 1969, Macwilliams 1987, Turgut 2000).

Kronik formda klinik belirtiler belirgin değildir. Aralıklı ateş, iştahsızlık, kondisyon kaybı, hafif derecede anemi ya da sarılık görülebilmektedir. Bu form 1–3 ay sürebilir. Kronik forma yakalanan köpekler ya iyileşme belirtileri gösterir ya da kaşeksi nedeniyle ölür. İyileşen köpekler bağışıklık kazanır. Eğer bu köpekler endemik bölgede bulunuyorlarsa, bağışıklık yaşam boyu devam eder (Mimoğlu ve ark 1969, Macwilliams 1987, Kraje 2001).

Sub klinik form genellikle endemik bölgelerde görülmekte ve konakçı immün sistemi ile parazit arasında hassas bir denge bulunmaktadır. Enfeksiyon eş zamanlı hastalıklar (ör: Ehrlichiosis), immün yetmezlik, stres, immünyüpresif tedavi gibi durumlarda klinik form tekrar ortaya çıkabilmektedir (Macwilliams 1987).

Babesiosis Birçok olguda kan paraziti ya da kene ile nakledilen hastalıklarla birlikte görülmektedir. Özellikle *Ehrlichia canis* ile birlikte enfeksiyona neden olmaktadır ve genç köpeklerde bu iki etken birlikte olduğunda ölümcül enfeksiyonlar gelişebilmektedir (Tüzer ve ark 1999, Kraje 2001). *E. canis* ile birlikte görülen enfeksiyonlarda, *E. canis*

immunsupresyonun önemli derecede kaynağıdır. Bununla birlikte *Hepatazoon spp*, *Hemobartonella spp*, *Leishmania spp*, *Borella spp* ile birlikte de enfeksiyon görülmektedir (Kontos ve ark 1997).

1.2.3. Laboratuvar Bulgular

Hematolojik ve biyokimyasal bulgular; coğrafi dağılım, parazit soyunun virülansı ve konakçı durumuna (konakçının immun yanıtı, yaşına, eş zamanlı enfeksiyonun varlığı, daha önce *Babesia* enfeksiyonunun görülmesi) göre değişmektedir (Boozer ve Macintire 2003).

Babesiosisli köpeklerde anemi ve trombositopeni, başlıca hematolojik anormalliklerdir (Furlanello ve ark 2005). Köpeklerde *Babesia spp*. enfeksiyonları, hemolitik aneminin yaygın bir nedeni olarak düşünülmektedir (Boozer ve Macintire 2003). *B. canis* enfeksiyonlarında hemolizin mekanizması; mekanik, immun ilişkili sitotoksik yıkımlanma ve parazit tarafından üretilen hemolitik faktör ile açıklanmaktadır (Onishi ve ark 1990, Bourdeau ve Guelfi 1995). *Babesia spp*, dolaşımdaki eritrositlerin antikor ilişkili sitotoksik yıkımlanma mekanizmasını başlatmaktadır. Otoantikorlar, direkt olarak enfekte ve enfekte olmayan eritrosit membran bileşenlerine karşı üretilirler. Bu durum anemi ve hemoglobininin görülmesine neden olan intra-vasküler ve ekstra-vasküler hemolize neden olmaktadır (Pedersen 1999, Irwin 2005). *Babesia spp*. enfeksiyonlarında aneminin şiddeti oldukça değişkendir ve en şiddetli anemi *Babesia canis rossi* enfeksiyonu ile birlikte görülmektedir. Anemi ilk başta hafif, normokromik ve normositiktir (Furlanello ve ark 2005). Hastalığın ilerleyişine göre makrositik, hipokromik ve rejeneratif olabilir. Retikulositozis aneminin şiddetiyle orantılıdır. Köpeklerde babesiosisin seyri sırasında hem rejeneratif hem de nonrejeneratif anemi gözlemlenir (Furlanello ve ark 2005).

Köpeklerde babesiosiste orta dereceden şiddetliye kadar değişen trombositopeninin geliştiği belirtilmektedir (Lobetti 2003). Trombositopeninin nedeni tam olarak açıklanamamakla birlikte, immun ilişkili yıkımlanma, trombositlerin dalakta tutulumu (Furlanello ve ark 2005) ve anti-trombosit antikorlar ile ilişkili olabileceği rapor

edilmektedir (Topper ve Welles 2003). *Babesia canis* enfeksiyonlarında klinik bulgular ve azalan hematokrit ile ilişkili olarak fibrinojende yüksek bir artış, aPTT de ise hafif bir artış saptanmıştır (Bourdeau ve Guelfi 1995, Schetters 1997).

Lökosit anormallikleri birçok köpekte dikkati çeker. Lökopeni komplike olmayan babesiosiste yaygın olarak bulunmaktadır (Irwin ve Hutchinson 1991). Nötropeni ve lenfopeni dikkat çeken bulgulardır (Furlanello ve ark 2005). Lökositöz ya da nötrofilik sola kayma ile lökopeni görülebilmektedir (Cipolle ve ark 1993)

Babesia canis enfeksiyonlarında biyokimyasal anormallikler hastalığın şiddetine ve hipoksinin derecesine göre değişmektedir. Hiperbilirubinemi, hipoalbüminemi, elektrolit ve asit-baz anormallikleri (çoğunlukla hipokalemi, hiperkloremi ve metabolik asidoz) yaygın görülen bulgulardır (Page's ve ark 1990, Bourdeau ve Guelfi 1995, Vercammen ve ark 1997a, Lobetti 2000). Bazı babesiosis olgularında, sarılık ve karaciğer hasarının göstergesi olan karaciğer enzimleri ve safra asitlerinde artış meydana gelmektedir (Miller 1999). Akut renal yetmezlik ile birlikte seyreden babesiosis olgularında serum üre ve kreatinin konsantrasyonunda artış gözlemlenebilir.

Babesiosis gibi hipermetabolik hastalıklarda, hipergliseminin şaşırtıcı bir bulgu olmadığı, stres ve glikoz mobilizasyonunda artışa bağlı olduğu bildirilirken; şiddetli komplike babesiosiste hipoglisemi ve hiperlaktatemi rapor edilmektedir (Nel ve ark 2004).

Billirubinüri, hemoglobinüri, proteinüri, kastlar, renal tubulden kaynaklanan epitelyum hücreleri idrar analizinde görülebilir (Macwilliams 1987, Turgut 2000).

1.2.4. Tanı

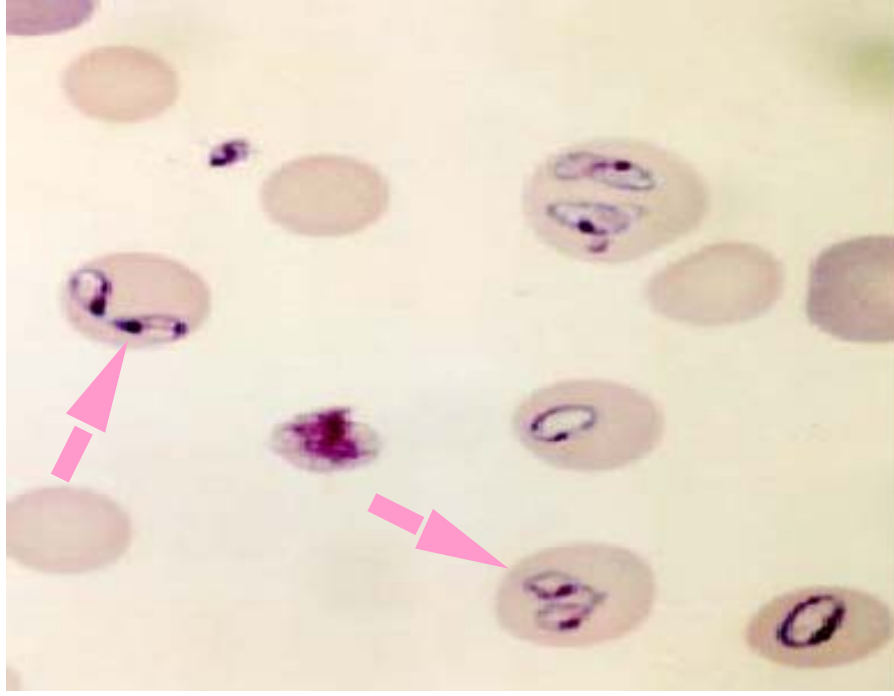
Köpeklerde babesiosisin tanısı anemnez, klinik bulgular, şüpheli kandan yapılan frotiler, splenektomi uygulanmış köpeklere yapılan inokulasyon, serolojik testler ve son

yıllarda geliştirilen PCR ve RLB gibi moleküler yöntemler kullanılarak yapılmaktadır (Quinn ve ark 1997, Cleveland ve ark 2002, Lobetti 2002)

Anemnezde köpeğin genel özellikleri, yaşadığı bölge, üzerinde kene bulunup bulunmadığı, splenektomi uygulanıp uygulanmadığı ve kan transfüzyonu yapıp yapılmadığı önemlidir (Homer ve ark 2000). Ayrıca bulunduğu bölgenin iklim kuşağı, mevsim, kene yoğunluğu, bölgede bulunan kene popülasyonları ve babesiosisin bölgedeki yaygınlığının bilinmesi tanıya yardımcı olmaktadır (Mimoğolu ve ark 1969, Soulsby 1982, Macwilliams 1987). Bununla birlikte klinik muayenede ve hematolojik olarak ateş, hemolitik anemi, ikterus, trombositopeni, hemoglobüri gibi bulguların görülmesi babesiosis şüphesini doğurmaktadır. Kesin tanı, etkenin tespit edilmesine dayanır.

Babesiosisin tanısı klasik olarak, Gimsa, Romanowsky, Field's, Wright's ya da Diff-Quik boyalarından bir tanesi kullanılarak yapılan sürme kan preparatlarında intra-eritrositik trofozoitlerin görülmesiyle konulmaktadır (Resim 1.2). Ancak *Babesia* türlerinin kan frotilerinde tespiti, paraziteminin değişken olması nedeniyle çok zordur. Parazitemi süresince özellikle ateşli köpeklerde *Babesia* türünün intra-eritrositik inklüzyonları kolayca bulunabilmektedir (Guimara'es ve ark 2004). Özellikle kapillar damarlardan alınan kanda ve buffy coat tabakasının altından yapılan frotilerde paraziti saptama oranı daha yüksektir. Bu yöntem veteriner hekimlikte basit ve ucuz olduğu için günlük rutinde oldukça sık kullanılmaktadır. Bazen, özellikle subklinik ve kronik olgularda (Dell'Porto ve ark 1993) parazitolojik kanıt kolay bulunamayabilmektedir. Ayrıca kemik iliği aspiratında yapılan frotilerde de etkene rastlanabilmektedir.

Histolojik kesitlerde, özellikle dalak, karaciğer, meningesler, akciğer, gastrointestinal sistemin kapillar ve küçük venalarında çok sayıda parazite rastlanabilmektedir (Macwilliams 1987)



Resim 1.2. *Babesia canis* trofozoitlerinin eritrosit içerisindeki görünümü

Serolojik testler, parazitemi seviyesi düşük olan, periferik kan boyamalarında saptanamayan, belirti göstermeyen köpeklerin ve kronik seyir gösteren enfeksiyonların tanısında kullanışlıdır. Kemosterilizasyondan sonra bile köpekler uzun süre seropozitif kalabilmektedir. İmmunofloresans antikor testi (IFAT) ve enzim-linked immunosorbent assay (ELISA), köpeklerdeki *Babesia* parazitlerinin antikorlarının saptanmasında yüksek duyarlılığa ve orta derece spesifik yöntemler olarak kabul edilir (Dell'Porto ve ark 1993, Yamane ve ark 1993, Furuta ve ark 2004). Ancak bu testler *Babesia* türleri arasında kros reaksiyon gösterebilirler ve tür ve alt türlerin ayırımında etkin değildirler (Birkenheuer ve ark 2003, Földvari ve ark 2005)

Moleküler temelli metotlar, özellikle de PCR birçok paraziter hastalığın tanısı için umut verici bir yöntemdir. (Gasser 2006). Moleküler yöntemler, *Babesia* alt türlerinin tespitinde ve semptomatik ve mikroskopik olarak tespit edilemeyen etkenlerin identifikasyonunda kullanılan güçlü bir yöntemdir (Birkenheuer ve ark 2003, Földvari ve ark 2005). Ellibeş köpekte PCR'ın %100 duyarlılık ve spesifiteyle köpek kan örneklerindeki (Birkenheuer ve ark 2003, Inokuma ve ark 2005) *Babesia* DNA'sının saptanmasında kullanışlı bir araç olduğu gösterilmektedir (Martin ve ark 2006). PCR'ın dezavantajı ise laboratuvar ekipmanı

ve donanımlı personel gerektirmesidir. RLB farklı tür ve cinslere ait etkenlerin eş zamanlı olarak tanı ve ayrımları için geliştirilen bir tekniktir. Köpeklerde bulunan *Babesia* cinsindeki parazitlerin tür ve alt türlerinin tanısında da duyarlı ve özgün bir metot olarak kullanılmaktadır (Matjila ve ark 2004).

1.3. Trombositopeni

Trombositopeni, küçük hayvanlarda yaygın olarak görülen bir bozukluktur. Genel olarak sağlıklı bir köpekte trombosit sayısı 200 000–500 000 / μ l arasında değişmektedir. Trombosit sayısının 200 000 / μ l den az olması trombositopeni olarak tanımlanmaktadır. Trombositopeni bir hastalık değil semptomdur. Trombosit sayısının 100 000 / μ l'nin altına düşmesi klinik olarak önemli olup değer 30 000 / μ l'den düşük olması durumunda altındaki trombosit sayısında DİC, kemik iliği bozuklukları ve özellikle immun ilişkili problemler düşünülmelidir (Chand 1986, Turgut 2000).

Trombositopeninin varlığı; anemnez, klinik bulgular ve laboratuvar bulgularıyla ortaya konulmaktadır. Anemnez'de trombositopeniye neden olacak bazı hastalıkların bulguları sorgulanmalı ve özellikle trombositopeniye neden olacak ilaçlar göz önünde bulundurulmalıdır. Klinik muayenede alta yatan nedene bağlı bulgular görülebileceği gibi peteşi, ekimoz, mukozal kanamalar (ör: burun kanaması), hematüri, proöstrus kanamalarında artış, beyin kanaması bulguları görülebilmektedir. Trombositopenili hastada bazen kanamanın aksine heparine bağlı trombositopenide veya DİC'te olduğu gibi tromboz bulguları ile de karşılaşılabilir (Chand 1986, Özatlı 2004).

Trombosit sayımı mikroskopla ya da otomatik kan sayım cihazları ile yapılabilir. Trombositopeni saptandığında ilk olarak laboratuvar hataları ve yalancı trombositopeni değerlendirilmelidir (Berkman ve ark 1990). Kan frotisi trombositopenili her hastada yapılması gereken testlerin başında gelen bir uygulamadır. Bu uygulamadan, trombositopeninin gerçekten var olup olmadığı saptandığı gibi alta yatan nedene dair kanıtlarda elde edilebilir. Kanama zamanının belirlenmesi, trombosit agregasyon çalışması, kemik iliği incelemesi, koagülasyon testleri (PT, aPTT), akım sitometrisi gibi yöntemlerde

trombositopeninin varlığını ve nedenini ortaya koymada kullanılan yöntemlerdir (Kaptan 2006).

1.3.1. Trombosit Fizyolojisi

Trombositler megakaryositlerin sitoplazmalarının parçalanmasıyla oluşan, yaklaşık 2–4 µm çapında disk şeklinde hücrelerdir. Megakaryositler kemik iliğinde bulunan, 40–50 µm büyüklüğündeki dev hücrelerdir. Tamamen olgunlaşmamış ve trombosit üreten bir megakaryositin sitoplazması, kemik iliğinin sinüzoidal kılcalarına doğru uzantılar çıkarır. Her bir uzantı trombositlerden oluşmuş bir tesbihe benzetilir. Bu uzantılardan oluşan trombositler kolayca dolaşıma geçerler. Bir megakaryositten ortalama olarak 3000–4000 trombosit oluşmaktadır (Turgut 2000) ve megakaryositler günde ortalama 2×10^{11} trombosit üretmektedirler (Majerus 1994). Megakaryosit ve trombosit üretimi trombopoetin gibi sitokinlerle düzenlenmektedir (Kaushansky 1998). Total trombosit sayısının yaklaşık üçte ikisi dolaşımda ve üçte biri dalakta bulunmaktadır. Trombositlerin yaşam süreleri ortalama 3–5 gündür. Mononükleer fagositer sistemde (MNS) özellikle dalakta parçalanırlar. Trombositler içerisinde %71 protein, %12 lipoid ve %1,7 kolesterol vardır. Ayrıca çok az miktarda kalsiyum bulunmaktadır.

Trombositler'in hemostaziste önemli fonksiyonları vardır. Damar endotel yüzeyinde bir hasar meydana geldiğinde, trombositler yüzeylerinde taşıdıkları glikoprotein (GP) reseptörleri ile endotel alt tabakasındaki kollajen, fibronektin, von Willebrand faktör (vWF), trombospondin ve fibrinojene bağlanırlar. Böylece hasar bölgesinde trombosit adezyonu gerçekleşir. Trombosit reseptörlerinin ilgili bölgelere bağlanması trombositin aktiflenmesine yol açar. Bu aktivasyon, hücre içi kalsiyumuna bağlı olarak hücre iskelet sisteminde oluşan değişikliğin sonucunda meydana gelir. Hücre dışından gelen uyarının içeriye aktarılmasıyla, trombosit α -granülleri içeriklerini salgırlar. Salınan ADP trombosit yüzeyindeki GPIIb/IIIa'da yapısal değişikliğe neden olur. Fibrinojen, yapısal değişikliğe uğrayan GPIIb/IIIa reseptörleri aracılığıyla iki veya daha fazla trombositte bağlanarak trombosit agregasyonunun oluşmasını sağlar. Sonuçta hasar bölgesinde trombosit tıkaçı oluşur. Trombositlerin aktivasyonu yüzeylerindeki fosfolipitlerde değişikliğe yol açar. Bu fosfolipitler de bazı pıhtılaşma faktörlerinin aktifleşmelerini

sağlayarak trombosit prokoagülan aktivitesini yerine getirir. Trombositlerin fonksiyonlarından her hangi birindeki bozukluk, primer hemostatik tıkaçın oluşturulamaması ile kanamaya eğilim oluşturur (Kaptan 2006).

Pıhtı yıkımlanması da kısmen trombosit varlığına ve etkisine bağlıdır. Pıhtı yıkımlanması için gerekli trombosit maddesi, kontraktıl bir protein olan tromboestenindir. Trombositler, hücreler arası etkileşim ve çözülebilir mediyatörlerin uzaklaştırılması gibi yangısal olaylarda temel rol oynamaktadır. Trombositler, hemostazı sağlama yanında fagositoz özelliğine de sahip hücreler olarak tanımlanmaktadır (Chang ve Hamilton 1979). Trombositler, serotonin gibi vasoaktif maddelerin uzaklaştırılmasında da görev alırlar.

1.3.2. Trombositopeninin Nedenleri

Trombositopeniler, patofizyolojik olarak; trombosit üretiminin azalması, trombosit kullanımının artması, trombosit yıkımının artması ve trombosit dağılımdaki bozukluklar olarak sınıflandırılmaktadır (Turgut 2000) (Çizelge 1.5).

Yangısal hastalıklar, tümöral oluşumlar, enfeksiyöz hastalıklar, birçok ilaç ve kimyasal madde gibi pek çok faktör trombosit üretiminin azalmasına, trombosit dağılımdaki bozukluklara, trombosit kullanımının ve yıkımının artmasına neden olarak trombositopeniyi oluşturmaktadır. Dokuzyüzseksen yedi trombositopenik köpekte yapılan epidemiyolojik bir çalışmada köpeklerin %5'inde immün kökenli trombositopeni (Bu grupta sistemik lupus eritromatozis, pemfigus ve romoit arthritisli köpekler dikkate alınmıştır.) %13'ünde neoplazi ilişkili, %23'ünde yangısal veya enfeksiyöz ilişkili trombositopeni %59'unda mix form ortaya koyulmuştur (Grindem ve ark 1991).

Çizelge 1.5. Trombositopeninin patofizyolojik olarak sınıflandırılması

Trombosit üretiminin azalması	Trombosit kullanımının artması	Trombosit yıkımının artması	Trombosit dağılımındaki bozukluklar
<p>Toksik ilaçlar ve Kimyasal maddeler</p> <p>Ösrojen</p> <p>Fenobarbitan</p> <p>Sefhalosporin,</p> <p>Sülfanomidler</p> <p>Myeloproletif bozukluklar</p> <p>Üremi, septisemi, endotoksemi</p> <p>Viral, bakteriyel, riketsiyel,</p> <p>Protozoal ve fungal enfeksiyonlar</p> <p>Ehrlichiosis</p> <p>Babesiosis</p> <p>Radyasyon</p> <p>Kemik iliği infiltrasyonu</p> <p>Trombopoetin üretiminde bozukluk</p> <p>Şiddetli demir eksikliği</p> <p>Siklik trombositopeni</p> <p>Kemik iliği neoplazileri</p>	<p>DIC</p> <p>Hemangiosarkom</p> <p>Vaskülitis</p> <p>Enfeksiyonlar (<i>Leptospira</i> türleri, Babesiosis, Ehrlichiosis)</p> <p>Neoplazi</p> <p>İnflamasyon</p> <p>İmmun nedenler</p> <p>İlaç reaksiyonu</p> <p>Hemolitik-Üremik Sendrom</p>	<p>Primer İmmun ilişkili trombositopeni</p> <p>Sekonder İmmun ilişkili trombositopeni.</p> <p>Neoplazi,</p> <p>Enfeksiyöz Hastalıklar (Ehrlichiosis, Rocky Mountain Spotted Fever, Histoplasma. vb)</p> <p>İlaçlar (methimazole, quinidine, vb)</p> <p>Mikroanjyopati</p>	<p>Splenomegali</p> <p>Sepsis</p> <p>Splenik torsiyon</p> <p>Hipotermi</p>

1.3.3. Kene İle Nakledilen Hastalıklarda Trombositopeni

Keneler dünya çapında yayılım gösteren hematofagous parazitlerdir. Viral, bakteriyel, riketsiyel ve protozoal patojenlerin iletilmesinde etkilidirler. Memeli konakçılardaki hemen hemen tüm kene ile nakledilen hastalıklarda, klinik sendromun bir parçası olarak trombositopeni'ye rastlanmaktadır. Trombositopeni genellikle kanama ile birlikte gözlemlenmektedir. Bu durum deride ekimoz ve peteşi olarak açıkça görülebilmektedir. Babesiosis olgularında bazen hipovolemik şok ile birlikte şiddetli kanama ve yaygın ekimozlar bulunabilmektedir (Mintz ve ark 1991). Kene ile nakledilen hastalıkların birçoğunda trombositopeninin patogenezi tam olarak anlaşılammıştır. Ancak genel olarak trombosit sayısındaki nicel değişimlerin;

- Trombosit üretiminde azalma,
- Splenomegali,
- İmmun kökenli olmayan trombosit tüketimi,
- İmmun kökenli trombosit tüketimi,
- Trombositlerin direkt enfeksiyonu,
- Trombotik trombositopeni ile ilişkili olabildiği rapor edilmektedir (Pantanowitz 2003).

1.3.3.1. Trombosit üretimindeki azalma

Kronik dönem *E. canis* enfeksiyonları ve riketsiyel hastalıklarda sekonder kemik iliği hipoplasisi nedeniyle trombosit sayısı azalmaktadır. Ehrlichiosisli pansitopenik hastaların kemik iliğinde moruxla ve granuloamlar bulunabilmektedir (Dumler ve ark 1993, Marty 1995). Genel olarak, kemik iliğindeki trombosit üretimi, azalan megakaryosit sayısı ya da trombositlerin gelişimlerinin tamamlanamaması nedeniyle azalmaktadır. Pansitopeni genellikle önemli nötropeni ve anemiyle birlikte. *Ehrlichia* türleri de benzer hematolojik düzensizliğe neden olmaktadır (Pierce ve ark 1977, Bakken ve ark 1996). Ehrlichiosisli hastalardaki kemik iliği hipoplazisi nedeniyle oluşan pansitopeni ölümcül kanamalara ve sekonder enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Marty ve ark 1995). Köpeklerde babesiosis olgularında da azalan trombosit üretimi bildirilmektedir (Mintz ve ark 1991).

1.3.3.2. Splenomegali

Dalak, mikroorganizmaların ve antikor kaplı hücrelerin temizlenmesinde konakçı savunmasında kilit rol oynaması yanında antikor sentezi içinde önemlidir. Ayrıca trombositler için rezervuar görevi yapar. Kene ile nakledilen bazı hastalıklarla birlikte gelişen splenomegali, splenik makrofajlar tarafından artan trombosit tutulumu ve yıkımı nedeni ile oluşmaktadır. *E. canis*'le enfekte köpeklerde vücut taramalarında, radyoizotop ile işaretlenen trombositlerin, öncelikle dalakta yok edildiği gösterilmektedir (Smith ve ark 1975). Dalak babesiosis olgularından genellikle şiddetli olarak etkilenmekte ve normal boyutuna göre daha büyük ve geniş olabilmektedir (Hildebrandt 1981). Kronik *Babesia* spp. enfeksiyonlarında ekstramedullar hematopoesis de splenomegaliye katkıda bulunmaktadır (Hildebrandt 1981). Dalağın genişlemesi trombosit havuzunun artmasının bir sonucudur. Bu durum dolaşımdaki trombosit sayısını düşürmektedir. Sağlıklı insan dalağı tüm dolaşımdaki trombositlerin yaklaşık üçte birini depolarken, splenomegalili hastalarda %90 gibi büyük oranlarda trombositler bu organda tutulur.

1.3.3.3. İmmun kökenli olmayan trombosit tüketimi

Damarlardaki hasara bağlı endotelial yüzeyde trombositlerin yaygın tutulumu sonucu trombositopeninin olduğu rapor edilmektedir (Silverman 1986, Elghetany ve Walker 1999). Bu durumun endotel hasarına bağlı olarak trombojenik subendotelium açığa çıkması sonucu olduğu bildirilmektedir (Pantanowitz 2003). Riketsiyal enfeksiyonlarda da endotelial hücrelerin ilk hedef olduğu vurgulanmaktadır (Pantanowitz 2003). Rao ve ark (1988), spotted fever grubu hastalıklarda trombositopeninin önemli mekanizmasının, hasarlı endoteliuma trombosit yapışmasının olduğunu bildirmektedir.

Bazı enfeksiyonlarda pıhtılaşma sistemi aktif hale geçirilerek hiperkoagübilite durumu uyarılmaktadır. Bu durum gerçekleştiğinde, mikrosirkulasyonda trombus şekillenmekte ve faktörleri ile trombositlerin tüketimi ortaya çıkmaktadır. Bu klinik durum DIC'in oluşumuna neden olmaktadır. Eş zamanlı ve sekonder olarak pıhtılaşma yoğunluğunun artması fibrinolitik sistemi aktif hale getirilir. DIC'in klinik belirtileri bu

yüzden diffuz hemoraji ve/veya işemik doku hasarıdır. Tüketim koagulopatisi, kene ile nakledilen viral hemorajik ateşte görülen klinik özelliklerin bir kısmını açıklar. *Babesia* enfeksiyonlarını takiben DİC kaynaklı ölümcül olgular rapor edilmektedir (Marcus ve ark 1982). Hemofagositozis, trombositopeni için nadiren de olsa sorumlu olabilmektedir. *Ehrlichia* (Abbott ve ark 1991) ve *Babesia*'lı (Auerbach ve ark 1986) hastalarda şiddetli fakat dönüşümlü hemafagositoz rapor edilmektedir.

1.3.3.4. İmmun mekanizmalı trombosit yıkımlanması

Otoimmunité kene ile nakledilen hastaların çoğunda gözlenen bir fenomendir ve trombositopeniye neden olmaktadır. Trombositlere bağlanan otoreaktif antikolar nedeniyle bu trombositler MNS'de yıkımı artarak ömürleri kısalmaktadır. Q ateşi olan hastaların otoimmün bozukluğu (Levy ve ark 1989; Krutitskaya ve ark 1996) tahmin edildiğinden daha yüksektir. Antitrombosit antikolarının köpeklerde doğal olarak oluştuğu bildirilmektedir (Grindem ve ark 1999). Trombosit sayısının normale dönmesinden sonra bile antikoların aylarca kanda bulunduğu rapor edilmektedir (Grindem ve ark 1999). Trombosit antikoları Akdeniz Ateşli trombositopenik hastalarda da bulunmuştur (Raoult ve ark 1985). Fosfotidil-serine karşı oluşan antikoların *Babesia bovis* enfeksiyonunda görülen trombositopeniye katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Orinda ve ark 1994). *E. canis* enfeksiyonlu köpek serumlarında antitrombosit antikolarının varlığına ait kanıtlar ortaya konulmaktadır (Waner ve ark 1995, Lewis ve ark 1995, Harrus ve ark 1996, Waner ve ark 2000). İnsan granülositik ehrlichiosisinde de benzer antitrombosit antikolarının bulunduğu bildirilmektedir (Wong ve Thomas 1998).

1.3.3.5. Trombositlerin direkt enfeksiyonu

Trombositlerin direkt enfeksiyonu *Anaplasma platys* enfeksiyonlarında gözlenmektedir (Simpson ve Gaunt 1991, Arraga- Alvarado ve ark 1999). Bunun dışında, Lyme hastalığında spiroketlerin in vitro olarak insan trombositlerinde integrin IIb3

(glikoprotein IIb-IIIa)'e bağlandığı gösterilmektedir (Coburn ve ark 1994). Glikoprotein IIb-IIIa; hemostazis ve tromboziste kritik rol oynayan fibronejen ve von Willebrand faktör (vWF) gibi adhezyon moleküllerini bağlar. Bu reseptörün fonksiyonel ekspresyonu trombosit aktivasyonunu gerektirir. Bu, *Borrelia burgdorferi* spiroketlerinin neden sadece aktif trombositlere tutunduğunu açıklamaktadır (Coburn ve ark 1993). *Borrelia burgdorferi* spiroketlerinin trombositlere bağlanması, etkenin çeşitli dokulara hematojen yayılımını uyarabilmektedir. (Coburn ve ark 1994). Ek olarak trombositlere bağlanma spiroketlere bulaşma sonrası güvenli bir ortam sağlamaktadır. Trombositopeniye katkıda bulunan, trombositlerin içine invazyonun ve üzerine yapışmanın derecesi veya trombosit defektlerinin durumu henüz bilinmemektedir.

1.3.3.6. Trombotik trombositopenik purpura

Trombotik trombositopenik purpura (TTP), mikrosirkülasyonda geniş trombuslarla karakterize potansiyel öldürücü bir hastalıktır. TTP'nin genel bulguları; trombositopeni, mikroangiopatik hemolitik anemi (periferik yaymada fragmente eritrositlerle karakterize), nörolojik anormallikler, ateş ve böbrek hastalığıdır. TTP'nin patolojik karakteristik özelliği trombosit ve fibrinlerden oluşmuş mikrotrombusun birçok organ arteriol ve kapillerlerini tıkamasıdır. DIC'ten ayrılan noktası mikrotrombuslarla tıkalı damarlarda fibrinolitik aktivitenin olmaması ve koagülasyon parametrelerinin nadiren değişmesidir. TTP genellikle zarar görmüş sistemik endotelial hücrelerden, vWF'ün normalden fazla salınmasına yol açmaktadır. Rocky Mountain spotted fever (Turner ve ark 1986) ehrlichiosis (Marty ve ark 1995, Modi ve ark 1999) gibi kene ile nakledilen hastalarda TTP'ye benzer bulgular görüldüğü rapor edilmektedir. Ehrlichiosisli iki hastada klinik bulguların TTP ile karıştığı, doğru tanının postmortem koyulabildiği bildirilmektedir (Marty ve ark 1995, Modi ve ark 1999). Endotelyal hücrelerde riketsiyal yaralanma Willebrand faktörünün plazma konsantrasyonunda artış oluşturmaktadır (Elghetany ve Walker 1999). TTP ile bartonella organizmaları arasında etiyolojik ilişki rapor edilmektedir (Metler 1969, Tarantolo ve ark 1997).

Trombositopeni, küçük hayvanlarda yaygın olarak görülen bir semptomdur. Yangısal hastalıklar, tümöral oluşumlar, enfeksiyöz hastalıklar, birçok ilaç ve kimyasal madde gibi pek çok faktör trombosit üretiminin azalmasına, trombosit dağılımındaki bozukluklara, trombosit kullanımının ve yıkımının artmasına neden olarak trombositopeniyi oluşturmaktadır. Memeli konakçılardaki hemen hemen tüm kene ile nakledilen hastalıklarda, klinik sendromun bir parçası olarak trombositopeniye rastlanmaktadır. *Babesia canis* ve *E. canis*'in prevalansı ile ilgili çalışmaların olmasına rağmen trombositopenik köpeklerde hastalığın durumu hakkında sınırlı çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada trombositopenik köpeklerde *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarının prevalansı, trombositopeninin derecesi ile bu iki hastalığın prevalansı arasındaki ilişkinin belirlenmesi ve buna bağlı olarak trombositopeninin *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarının tanısındaki rolünün ortaya çıkarılması amaçlandı.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Hayvan Materyali

Araştırmanın hayvan materyalini Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Küçük Hayvan Kliniğine ve İzmir ilindeki Terapi Hayvan Hastanesine aşı, muayene ve tedavi nedeniyle getirilen farklı ırk ve cinsiyette 224 adet köpek oluşturdu.

2.2. Laboratuvar Muayeneleri

Kliniğe getirilen köpeklerden alınan kan örneklerinden aşağıdaki yöntemlere göre analizler yapıldı.

Köpeklerden, *Vena cephalica antebrachii*'den antikoagulanlı tüplere (EDTA ve Heparin) ve düz kan tüplerine kan örnekleri alındı. Antikoagulanlı tüplere alınan kan örneklerinde Abacus Junior Vet hematoloji cihazı ile tam kan sayımları yapılarak trombosit sayıları belirlendi. Trombosit sayılarına göre örnekler 3 gruba ayrıldı. Trombosit sayısı 201.000 / μ l'den yüksek olanlar (non-trombositopenik grup), 101.000–200.000 / μ l arasında olanlar (Trombositopenik grup A) ve 100.000 / μ l'den küçük olanlar (Trombositopenik grup B) olarak ayrıldı (Bulla ve ark 2004). Kalan antikoagulanlı kan örnekleri DNA ekstraksiyonunda kullanılmak üzere -20 °C'ye ve -40 °C'de saklandı. Serum tüplerine alınan kan örnekleri, 3000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve serolojik çalışma yapılana kadar -20 °C' ve 40 °C'de saklandı.

Alınan antikoagulansız kan örneklerinden elde edilen serumlardan *Ehrlichia canis*, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalında İFAT ile belirlendi (Karagenç ve ark 2005).

Alınan antikoagulanlı kan örneklerinden *Babesia canis*, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında PCR metodu ile belirlendi (Kırlı 2006).

2.2.1. PCR Uygulaması

2.2.1.1. DNA ekstraksiyonu

DNA, her bir EDTA'lı kan örneğinin 200µl'sinden Wizard® Genomik DNA Purifikasyon Kiti (Promega Corporation, Madison, USA) kullanılarak, protokole uygun olarak hazırlandı. Bu kite dayanarak tam kandan genomik DNA izolasyonu aşağıda belirtildiği gibi yapıldı.

Her bir kan örneğinden 200 µl steril 1,5 ml'lik ependorf tüplerine kondu. Üzerlerine 600 µl Cell Lysis solüsyonu eklenip, 10 dk oda sıcaklığında inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon süresince tüpler 2-3 kez alt-üst edildi. 10 dk sonunda örnekler 13 000–16 000 × g'de 20 s santrifüj edildi. Santrifüj sonunda dipteki pelete dokunulmadan süpernatant atıldı. Kan örnekleri -40 ° C'de dondurulduğu için yukarıda anlatılan basamaklar iki kez tekrarlandı. Dipte kalan beyaz kan hücreleri süspansiyon haline gelene kadar 10–15 s. hafifçe karıştırıldı. Üzerine 200 µl Nuclei Lysis Solüsyonu eklendi ve beyaz kan hücrelerinin parçalanması için 5–6 kez pipete edildi. Daha sonra 37 °C'de 1 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda üzerlerine 1 µl RNase Solüsyonu eklenerek tüpler 2–5 kez alt-üst edildi. 37 °C'de 15 dk inkubasyona bırakıldı. 15 dk sonunda 70 µl Protein Presipitasyon Solüsyonu eklendi ve 10–20 s. vortekslendi. Daha sonra 13 000–16 000 × g'de 3 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonunda dipte kalan koyu kahverengi protein peletine dokunulmadan süpernatant alındı. İçerisine 200µl isopropanol eklendi. Tüplerde isopropanol içerisinde yüzen beyaz küçük DNA bulutu görülünceye kadar hafifçe sallandı ve sonra 13 000–16 000 × g 'de 1dk santrifüj edildi. Santrifüj sonunda isopropanol, dipteki DNA rahatsız edilmeden döküldü. DNA peletinin etanolde yıkanması sağlandıktan sonra 13 000–16 000 × g'de 1 dk santrifüj edildi. Daha sonra etanol dikkatli bir şekilde dipteki DNA peletine dokunulmadan pipetle çekilerek atıldı. Tüpler temiz kurutma kağıdı üzerine ters çevrilerek kapatıldı ve 10–15 dk kuruması beklendi. 10–15 dk sonunda tüplere 70µl

DNA Rehidrasyon Solüsyonu eklenerek 65 °C'de 1 saat inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda rehidrasyon solüsyonu içerisindeki DNA kullanım aşamasına kadar +4 °C'de saklandı.

2.2.1.2. Testin uygulanması

Bu çalışmada 18S ssrRNA gen dizilimine dayanarak hazırlanmış türe spesifik, genin 455 bp amplifiye eden iki adet PCR primeri seçilerek kullanıldı (Inokuma ve ark 2004). *B. canis* spesifik primerleri (Thermo electron, GmnH, Germany): Can 172F (5'-GTT TAT TAG TTT GAA ACC CGC_3') forwad, Can 626R (5' GAA CTC GAA AAA GCC AAA CGA_3') reverse olarak kullanıldı PCR için her bir ependorf tüpünde 5 µl hedef DNA içeren 40 µl reaksiyon karışımı hazırlandı. Bu karışımda 100 µM dNTP (deoksinükleosid trifosfat: dATP, dCTP, dGTP, dTTP, dUTP) (Fermantas Life Sciences, Germany), 25 pmol forward-reverse primerleri (100pmol/µl), 1.25 U Hot Start Taq DNA Polymerase (Fermantas Life Sciences Taq DNA Polymerase, Germany), 1.50 mM MgCl₂ (Promega, Madison, WI, USA), 10 × PCR buffer (200 mM Tris-HCL, pH 8,3 (25 °C); 200mM KCl; 50mM (NH₄)₂SO₄) (Fermantas Life Sciences, Germany) kullanıldı. Amplifikasyon aşamasında GeneAmp PCR sistem 2400 Thermal Cycler cihazı kullanıldı (Perkin Emler, Foster City, California). PCR şartlarında ise;

95 °C 5 dk başlangıç denaturasyon aşaması 1 siklus;

94 °C 30 s denaturasyon,

55 °C 30 s primer annealing,

72 °C 90 s ekstensiyon aşamaları 40 siklus;

72 °C 10 dk final ekstensiyon aşaması 1 siklus uygulandı.

Her PCR reaksiyonu pozitif ve negatif kontrol DNA örnekleri içerdi. Pozitif DNA örneği ADÜ. Vet. Fak. İç Hastalıkları kliniğine getirilen mikroskopik olarak *B canis* teşhisi konulan bir köpekten elde edildi. Elde edilen PCR ürünleri ethidium bromide içeren % 2'lik agaroz jelde elektroforez yöntemiyle koşturuldu. Jel ultra viyole (UV) ışık altında

incelendi jelin en başına konan DNA belirleyicisi yardımıyla gözlenen bantların baz çifti belirlenerek pozitif örnekler tespit edildi

2.2.2. İFAT Yöntemi Uygulanması:

2.2.2.1. Tampon ve solüsyonlar

PBS (Fosfat Tampon Solüsyonu)

K_2HPO_4 : 0.24 g

NaH_2PO_4 : 1.44 g

NaCl : 8 g

KCl : 0.2 g

Distile su : 1000 ml karıştırılıp Ph 7,4'e ayarlandı.

Kapatma Solüsyonu

PBS : 1ml

Gliserin : 1 ml karıştırıldı.

2.2.2.2. Testin uygulanması

a- Köpeklerden alınan serumlar Doç. Dr. Tülin Karagenç tarafından hazırlanan ve 80°Cde saklanmakta olan antijen preparatlar kullanılarak test edildi. Antijen preparatları silica jel içeren torbaların içine alınarak 1 saat +4°C de çözdürüldü. Daha sonra oda derecesinde 30 dakika tutuldu. Antijen preparatları 3 kez 5 dakika PBS ile yıkandı.

b- Köpek serumları sulandırma plaklarında PBS ile 1/160 oranlarında sulandırıldı ve her bir sulandırmadan 10 µl antijen kaplı kuyucukların üzerine aktarıldı.

c- Lamlar oda ısısında nemli kapalı kutularda 30 dakika tutuldu ve süre sonunda PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkanıp oda ısısında kurutuldu.

d- FITC işaretli tavşan anti-dog IgG (Sigma, E0133) 1:100 oranında %0.01 oranında Evans Blue (Sigma E0133) içeren PBS ile sulandırılarak kullanıldı ve her kuyucuğa bir damla konuldu.

e- Lamlar oda ısısında nemli kapalı kutularda 30 dakika karanlık bir ortamda tutuldu. PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkandı.

f- Lamlar kurumadan kapatma solüsyonu damlatıldı ve lamel kapatıldı.

g- Lamlar, Floresan mikroskopunda (Olympus BX51) X 40 objektifte ışık kaynağı olarak cıva buharlı ampul ve mavi bant filtre seti kullanılarak (Uyarma Filtre Seti 460–495 engelleme filtresi 510 nm dalga boyunda) değerlendirildi.

2.2.2.3. İFAT sonuçların yorumlanması

Parlak sarı yeşil floresans pozitif, soluk veya hiç sarı yeşil floresans görülmemesi negatif olarak değerlendirildi.

2.3. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler SPSS paket programında Ki-kare (χ^2) testi kullanılarak analiz edildi. Ki-kare tablosunda gözlerden herhangi birisinde beklenen frekans 5'ten küçük olduğu durumlarda Fisher's Kesin Ki-kare testi uygulandı (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu 1993).

3. BULGULAR

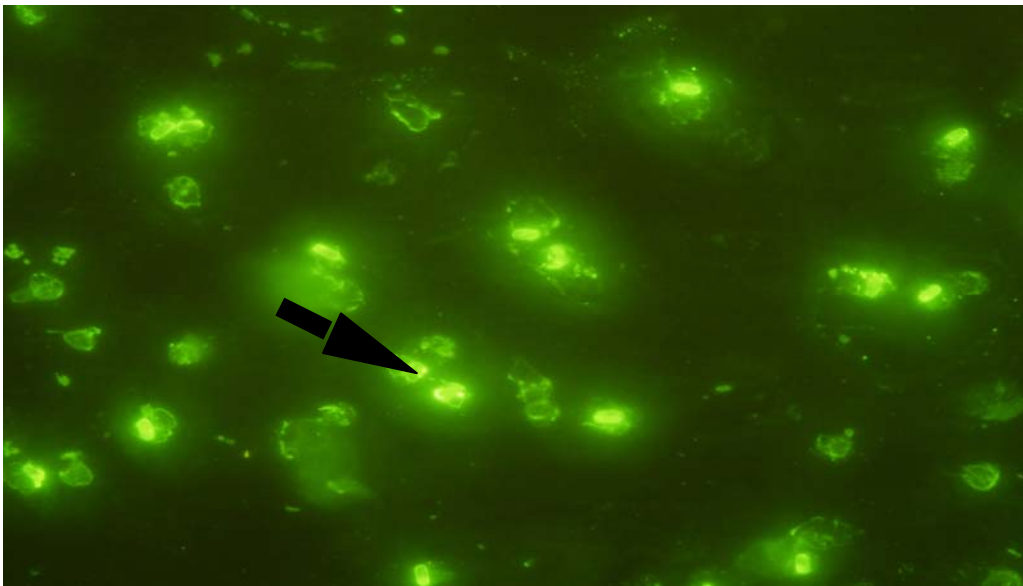
Hasta ve sağlıklı köpeklerde *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarının dağılımı Tablo 3.1 de gösterildi.

Çizelge 3.1. Hasta ve sağlıklı hayvanlarda *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarının dağılımı

	N	E. canis (+)		B. canis (+)	
		N	%	n	%
Sağlıklı	61	14	23	2	3,3
Hasta	163	67	41,1	2	1,2
Toplam	224	81	36,2	4	1,8

3.1. *Ehrlichia canis* Enfeksiyonunun Bulguları

Ehrlichia canis'in İFAT ile pozitif bulunan örneklerinin fluoresan mikroskoptaki görüntüsü Resim 3.1'de gösterildi.



Resim 3.1. *Ehrlichia canis*'in İFAT ile pozitif bulunan örneklerinin fluoresan mikroskoptaki görüntüsü

Trombositopenik ve nontrombositopenik köpeklerde *E. canis*'in prevalansı çizelge 3.1'de, trombositopeninin derecesi ile *E. canis* arasındaki ilişki çizelge 3.2. te gösterildi.

Çizelge 3.2. Trombositopenik köpeklerde *E. canis* enfeksiyonunun prevalansı

	N	Pozitif		Negatif	
		n	%	n	%
Trombositopenik (0–200 000/ μ l)	143	69	48,3	74	51,7
Nontrombositopenik (201 000/ μ l ve üzeri)	81	12	14,8	69	85,2
Toplam	224	81	36,2	143	63,8

$$\chi^2 = 25,044^{***}$$

*** = p<0,001

Toplam 224 köpekte *E. canis* enfeksiyonunun görülme oranı %36,2 (81/224) olarak bulundu. Trombositopenik 143 köpeğin 69 tanesi (%48,3) *E. canis* yönünden pozitifken, nontrombositopenik 81 köpeğin 12 tanesi (%14,8) pozitif olarak belirlendi. Trombositopenik köpeklerde *E. canis*'in görülme oranının önemli (p<0,001) düzeyde yüksek olduğu belirlendi.

Çizelge 3.3. Trombositopeninin derecesi ile *E. canis* enfeksiyonu arasındaki ilişki

	N	Pozitif		Negatif	
		n	%	n	%
0–100 000 / μ l	93	51	54,8	42	45,2
101 000- 200 000 / μ l	50	18	36,0	32	64,0
201 000 / μ l ve üzeri (Nontrombositopenik)	81	12	14,8	69	85,2
Toplam	224	81	36,2	143	63,8

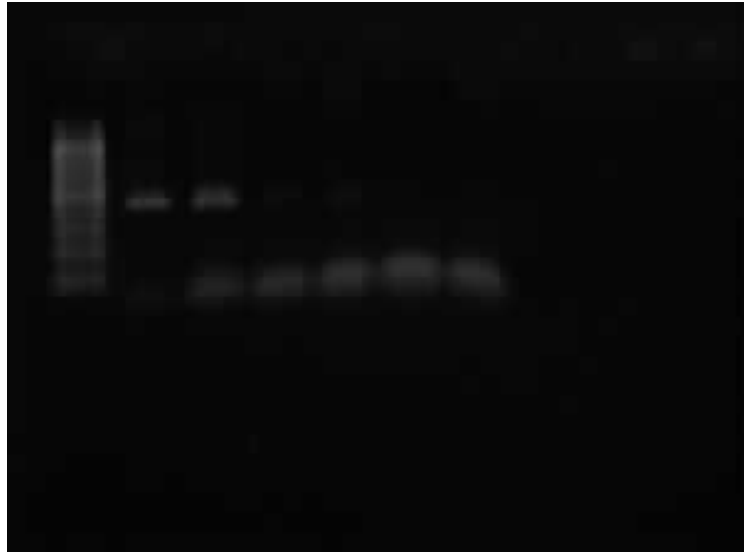
$$\chi^2 = 30,043^{***}$$

*** = p<0,001

Trombositopeninin derecesi ile *E. canis* enfeksiyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; 0–100 000 / μ l trombosit sayısındaki 93 köpeğin 51 inde (%54,8), trombosit sayısı 101 000–200 000 / μ l arısındaki 50 köpeğin 18'inde (%36) e trombosit sayısı 201 000 / μ l üzerindeki 81 köpeğin 12 sinde (%14,8) *E. canis* enfeksiyonu pozitif olarak bulundu. Bu durum trombositopeninin derecesinin artmasıyla *E. canis* enfeksiyonunun görülme sıklığının önemli ($p<0,001$) düzeyde arttığını göstermektedir.

3.2. *Babesia canis* Enfeksiyonunun Bulguları

Babesia canis'in spesifik primerler ile pozitif bulunan örneklerinin agoroz jel elektrofarez görüntüsü Resim 3.2'de gösterildi.



Resim 3.2. *Babesia canis* yönünden pozitif örneklerin agoroz jel elektrofarez görüntüsü

Trombositopenik köpeklerde *B. canis* enfeksiyonunun prevalansı çizelge 3.3'de, trombositopeninin derecesi ile *B. canis* enfeksiyonu arasındaki ilişki çizelge 3.4'de gösterildi.

Çizelge 3.4. Trombositopenik köpeklerde *B. canis* enfeksiyonunun prevalansı

	N	Pozitif		Negatif	
		n	%	n	%
Trombositopenik (0–200 000/μl)	143	3	2,1	140	97,9
Nontrombositopenik (201 000/μl ve üzeri)	81	1	1,25	80	98,8
Toplam	224	4	1,8	220	98,2

$\chi^2 = 0,0220^{\text{ÖD}}$
ÖD= Önemli değil

Toplam 224 köpekte *B. canis* enfeksiyonunun görülme oranı %1,8 (4/224) olarak bulundu. *B. canis* yönünden pozitif 4 köpekten 3(%2,1)'ü trombositopenik grupta (143 köpek), 1(%1,25)'i de nontrombositopenik grupta (81 köpek) yer aldı

Çizelge 3.5. Trombositopeninin derecesi ile *B. canis* enfeksiyonu arasındaki ilişki

	N	Pozitif		Negatif	
		n	%	n	%
0–100 000 /μl	93	1	1,1	92	98,9
101 000- 200 000 /μl	50	2	4,0	48	96,0
201 000 /μl ve üzeri (Nontrombositopenik)	81	1	1,2	80	98,8
Toplam	224	4	1,8	220	98,2

$\chi^2 = 1,806^{\text{ÖD}}$
ÖD= Önemli değil

Trombositopeninin derecesi ile *B. canis* enfeksiyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; trombosit sayısı 0–100 000 /μl arasında bulunan 93 köpeğin 1'inde (%1,1), 101 000–200 000 /μl arasındaki 50 köpeğin 2'sinde (%4,0), 201 000 /μl üzerindeki 81 köpeğin 1'inde (%1,2) *B. canis* enfeksiyonu pozitif olarak bulundu. Trombositopeninin derecesinin artmasıyla *B. canis* enfeksiyonunun görülme oranı arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı.

4. TARTIŞMA

Köpeklerde *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarının prevalansının belirlenmesi amacıyla değişik ülkelerde yapılmış birçok serolojik ve moleküler çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar araştırmacılara ve uygulanan testlere göre farklılık göstermektedir. *Ehrlichia canis* enfeksiyonlarında prevalansın Asya'da %18 ile %30 (Baneth ve ark. 1996, Watanabe ve ark 2004), Afrika'da %3,1 ile %67,8 (Davoust ve ark 2006), Avrupa'da %2,2 ile %50 (Bacellar ve ark 1995, Pusterla ve ark 1998, Cocco ve ark 2003, Tsachev ve ark 2006); Amerika'da %15,4 ile %44,7 (George ve ark 1998, Rodriguez-Vivas ve ark 2005) arasında olduğu bildirilmektedir. Baneth ve ark (1996) sağlıklı görülen köpeklerin seroprevalansları ile hasta köpeklerin seroprevalansları arasında önemli bir fark olmadığını bildirmektedirler. Ülkemizde *E. canis*'in prevalansı üzerine sınırlı çalışma bulunmaktadır (çizelge 1.4.). Bölgesel alanda en kapsamlı araştırmayı gerçekleştiren Batmaz ve ark (2001), *E. canis*'in prevalansını %20,8 (59/284) olarak rapor etmekte ve en yüksek prevalansa sahip illerin Adana (%65,3) ve İzmir (%40,6) olduğunu bildirmektedirler. Erdeğer ve ark (2002), Ankara, Aydın ve Muğla illerindeki köpeklerden topladıkları kan örneklerinin %67,8'inin (162/239) *E. canis* yönünden pozitif bulunduğunu ortaya koymaktadırlar. Karagenç ve ark (2005) Manisa, Marmaris, Muğla ve Aydın gibi Ege Bölgesinin çeşitli yerlerinde, değişik yaş ve ırktaki 371 köpekte Nested PCR ile yaptıkları çalışmada 154 (%41,5) köpekte *E. canis*'in pozitif olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada, Aydın ve İzmir illerinden sağlanan sağlıklı ve hasta toplam 224 köpeğin serum örneğinde İFAT ile *E. canis*'e karşı seropozitiflik %36,2 olarak bulundu. Bu çalışma genelinde %36,2 olan *E. canis* seropozitiflik oranı ile Türkiye'deki köpeklerde yapılan çalışmaların farklılıkları *E. canis* pozitifliği üzerine etkili olduğu bildirilen coğrafi farklılık, vektör kene popülasyonu ile mücadeleden kaynaklandığı düşünülebilir (Macieira ve ark 2005)

Birçok hastalık sonucunda trombositopeni şekillenebilmektedir. Yangısal hastalıklar, tümöral oluşumlar, enfeksiyöz hastalıklar ve immün kökenli trombositopeni bu hastalıklar arasında sayılabilir (Grindem ve ark 2002). Bulla ve ark (2004), endemik bir alanda bu

hastalıkların ayrımının kolay olmadığını, *E. canis* enfeksiyonunun ayırıcı tanısında trombositopeninin kullanılabileceğini bildirmektedirler. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan retrospektif serolojik bir çalışmada da, ehrlichiosisli köpeklerin %77 sinde trombositopeninin bulunduğu bildirilmektedir (Frank ve Breitschwerdt 1999) İsrail'de, Amerika Birleşik Devletlerinden daha yaygın ehrlichiosis bulunmasına rağmen bir serolojik çalışmadaki köpeklerin %27 sinde trombositopeninin bulunduğu bildirilmektedir (Baneth ve ark 1996). Prevalanstaki değişiklik, Dagnone ve ark (2003)'nın rapor ettiği gibi etkenin patojenitesinin farklılığına veya örnekleme çeşitliliğiyle ilişkili olabilir. *Ehrlichia canis* ile deneysel enfeksiyonlarda her zaman trombositopeni oluşmamaktadır. Almosly (1998), *E. canis* inoküle edilen 9 köpeğin hiçbirinde 14 hafta boyunca trombositopeni gelişmediğini bildirirken; Castro ve ark (2004) *E. canis* inoküle edilen 4 köpekte 4 hafta içinde trombositopeninin geliştiğini bildirmektedirler. Ehrlichiosisli köpeklerde trombositopeninin prevalansını incelendiği birçok çalışma bulunmasına rağmen; trombositopenili köpeklerde ehrlichiosisin prevalansı ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada trombositopenili köpeklerde *E. canis* enfeksiyonlarının prevalansı (%48,3) non-trombositopenik köpeklerde bulunan değerden (%14,8) önemli ($p<0.001$) düzeyde yüksekti. Trombositopenili köpeklerdeki bu oranın bazı araştırmacıların (Macieira ve ark 2005, Santos ve ark 2007) bulduğu değerlerden düşük iken, Dagnone ve ark (2003)'nin bulduğu değerden yüksek olduğu görüldü. Bu durumun çalışmada *E. canis* seropozitif bulunan köpeklerin enfeksiyonun farklı dönemlerinde olmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Macieira ve ark (2005) köpeklerde *E. canis* enfeksiyonlarının prevalansı ile trombositopenin derecesi arasında ilişkinin olmadığını rapor ederken, Bulla ve ark (2004) trombositopeninin derecesi ile *E. canis* enfeksiyonunun prevalansı arasında önemli bir ilişkinin olduğunu bildirmektedir. Bu farklılığın etkenin patojenitesinden kaynaklandığı rapor edilmektedir (Macieira ve ark 2005). Bulla ve ark (2004)'nin yaptığı çalışmada trombosit sayısı 100 000 / μ l den az olan köpeklerin %63 (53/84)'ü ve trombosit sayısı 100 000 / μ l - 200 000 / μ l arası köpeklerinde %21 (13/62)' i ve 200 000 / μ l üzeri köpeklerde % 1,4 *E. canis* yönünden pozitif olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada da trombosit sayısı 100 000 / μ l den düşük köpeklerde *E. canis*'in görülme oranı %54,8 (51/93) ve trombosit sayısı 101 000 / μ l - 200 000 / μ l olan köpeklerde *E. canis*'in görülme oranı %36 (18/50), 201 000 / μ l ve üzeri köpeklerde %14,8 olarak belirlendi. Bu durum, trombositopeninin

derecesi arttıkça *E. canis* enfeksiyonunun görülme oranında yükseldiğini rapor eden Bulla ve ark (2004)'nin yaptığı çalışmayı desteklediği görülmektedir.

Köpeklerde *B. canis* enfeksiyonu üzerine yapılan birçok araştırma prevalansın %0,01 ile %36 arasında değiştiğini göstermektedir (çizelge 1.1.). Ülkemizde, Ege bölgesinde 383 köpekte PCR yöntemi ile yapılan çalışmada 383 köpeğin 40'ında (%10,44) *B. canis vogeli*'nin saptandığı rapor edilmektedir (Kırlı 2006). İstanbul ilindeki 493 köpekte PCR yöntemi ile yapılan çalışmada 11 (%2,2) köpeğin *B. canis vogeli* yönünden pozitif bulunduğu bildirilmektedir (Selek 2006). Bu çalışmada toplam 224 köpekte *B. canis*' in prevalansı %1,8 olarak bulundu. Bu prevalansın aynı bölgeleri kapsayan Kırlı (2006)'nin belirlediği %10⁴ prevalans değerinden düşük olması Kırlı (2006)'nin çalışmasında değerlendirilen kanların barınaklarda bulunan sokak köpeklerinden elde edilmesi, barınaklara devamlı köpek giriş çıkışının olması ve vektör kene mücadelesinin yeterli düzeyde yapılamaması ile ilişkilendirilebilir.

Babesia canis enfeksiyonlarında *E. canis* enfeksiyonlarında olduğu gibi trombositopeninin önemli bir bulgu olduğu bildirilmektedir (Lobetti 2003). Trombositopeninin yaygın olmakla birlikte derecesinin genellikle ciddi olmadığı rapor edilmektedir (Vercammen ve ark 1997b). Köpeklerde trombositopeninin yaygın olmasına rağmen trombositopenili köpeklerde *B. canis*'in prevalansı ile ilgili bir yayına rastlanmamaktadır. Bu çalışmada trombositopenili köpeklerde (%2,1) *B. canis*'in prevalansı ile nontrombositopenili köpekler (%1,25) arasında istatistiksel bir önem bulunmadı. Trombositopeninin derecesi ile *B. canis* prevalansı arasında ilişki incelendiğinde 100 000 / μ l altında trombosit sayısı olan köpeklerde prevalans % 1,1, 101 000–200 000 / μ l arasında %4, 201 000 / μ l üstü köpeklerde %1,2 olarak belirlendi. Bu durum babesiosisin prevalansı ile trombositopeninin derecesinin arasında ilişkinin olmadığını ve babesiosisli köpeklerde görülen trombositopenin hafif veya orta şiddette olduğunu bildiren araştırmacıların (Vercammen ve ark 1997b) bulgularını desteklemektedir. Ancak, bu çalışmada *B. canis* pozitif köpek sayısının (n=4) az olması sağlıklı bir değerlendirilme yapılmasını kısıtlamaktadır.

Ehrlichia canis ve *Babesia canis* enfeksiyonlarının tanısını koymak oldukça zordur. *Ehrlichia canis* enfeksiyonlarında periferik kan muayenesinde mononükleer hücreler

içerisindeki *E. canis* morulalarının görülmesi tanıda çok önemlidir. Pozitif vakaların yaklaşık %4'ünde morula görüldüğü (Elias 1991) ve daha çok hastalığın akut fazında rastlandığı (Beaufils ve ark 1995) rapor edilmektedir. *Babesia* türlerinin kan frotilerinde görülmesinin, değişken parazitemi nedeniyle zor olduğu ve parazitemi süresince özellikle ateşli köpeklerde *Babesia* türünün intra-eritrostik inklüzyonlarının kolayca bulunabildiği bildirilmektedir (Guimara'es ve ark 2004). *Ehrlichia canis* ve *Babesia canis* enfeksiyonlarının tanısında İFAT kullanılan önemli yöntemlerden birisidir. *Ehrlichia canis*'in tespiti ve antikor titrelerinin saptanmasında " altın standart" olarak kabul edilmektedir (Waner ve ark 2001). Bununla birlikte her iki enfeksiyonda da etkenlerin vücuttan eliminizasyonundan sonra bile vücuttaki antikor seviyesinin belli bir süre daha sabit kalması nedeniyle aktif ve geçirilmiş olan enfeksiyonların varlığını ayırt etmek zordur. *Ehrlichia canis* enfeksiyonlarında, enfeksiyondan sonraki 7. günde serumda antikorlar saptanmakta ve tedavi edilmeyen köpeklerde 80. günde pik seviyeye çıkmaktadır. Tedaviyi takiben antikor titresi hızla düşmekte ve 15- 31. aylarda negatif duruma gelebilmektedir (Perille 1991). İFAT ile *babesia* türlerinin arasında ve *E. canis* ile *A. phagocytophila* ve *E. equi* arasında çapraz reaksiyon bulunmaktadır (Suksawat ve ark 2000). *Babesia canis* ve *E. canis* enfeksiyonlarının tanısında kullanılan bir diğer yöntemde PCR'dır. PCR ile enfeksiyon etkenleri direkt olarak belirlenmektedir. Ancak bu test için deneyimli personele ihtiyaç duyulması, laboratuvar ekipmanı gerektirmesi ve fazla zaman alması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu çalışmada *E. canis* enfeksiyonunun prevalansı ile trombositopeninin derecesi arasında önemli bir ilişkinin olduğu belirlenirken, *B. canis* için bir ilişki saptanamadı. Bu durum trombosit sayımının *E. canis*'in tanısı için faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada;

1. Trombositopenik köpeklerde *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarının prevalansları,
2. Trombositopeninin derecesinin artması ile *E. canis* görülme sıklığının arttığı,
3. Trombosit sayımının *E. canis* enfeksiyonu için spesifik bir test olamayacağı ileri diagnostik testlere geçiş amacıyla bir tarama testi olarak kullanılabileceği ortaya kondu.

Bu verilerin gelecekte köpeklerde yapılacak çalışmalarda bir referans olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Trombositopenili Köpeklerde *Ehrlichia canis* ve *Babesia canis* Enfeksiyonlarının Prevalansı

Bu çalışmada trombositopenili köpeklerde *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarının prevalansı, trombositopeninin derecesi ile bu iki hastalığın prevalansı arasındaki ilişkinin belirlenmesi ve buna bağlı olarak trombositopeninin *E. canis* ve *B. canis* enfeksiyonlarının tanısındaki rolünün ortaya çıkarılması amaçlandı.

farklı ırk ve cinsiyetteki toplam 224 köpekten kan örnekleri toplandı. Kan örnekleri trombosit sayılarına göre (Trombosit sayısı 201.000 / μ l'den yüksek olanlar, 101.000–200.000 / μ l arasında olanlar ve 100.000 / μ l'den küçük olanlar olmak üzere) 3 gruba ayrıldı. Kan örneklerine *E. canis* için İFAT serolojik tanı yöntemi ve *B. canis* için PCR moleküler tanı yöntemi uygulandı. Köpeklerden elde edilen sonuçlar SPSS paket programında χ^2 testi kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi.

Toplam 224 hayvanın 81 tanesi (%36,2) *E. canis* yönünden pozitif, 4 tanesi (%1,8) *B. canis* yönünden pozitif bulundu. Trombositopenik 143 köpeğin 69 tanesi (%48,3) *E. canis* yönünde pozitifken nontrombositopenik 81 köpeğin 12 tanesi (%14,8) pozitif olarak bulundu. Trombositopeninin derecesinin artması ile *E. canis* görülme sıklığı arasında istatistiksel önem bulunurken trombositopeninin derecesi ile *B. canis* enfeksiyonu arasındaki istatistiksel bir önem bulunamadı.

Sonuç olarak, bu çalışmada trombositopeninin derecesinin artması ile *E. canis* enfeksiyonunun görülme sıklığının arttığı ve trombosit sayısının *E. canis* enfeksiyon için spesifik bir test olamayacağı, ileri diagnostik testlere geçiş amacıyla bir tarama testi olarak kullanılabileceği ortaya kondu.

Anahtar kelimeler: *Ehrlichia canis*, *Babesia canis*, köpek, trombositopeni,

SUMMARY

Prevalence of *Ehrlichia canis* and *Babesia canis* Infections in Thrombocytopenic Dogs

In the present study the aim was to investigate the prevalence of *Ehrlichia canis* and *Babesia canis* infections in thrombocytopenic dogs, and to determine the relation among those aforementioned diseases, and diagnostic role of thrombocytopenia in the latter infections.

Blood samples were collected from 224 dog of different ages and of both sexes. Samples were separated to three groups according to their thrombocyte counts (thrombocyte counts higher than 201.000 μ /L; thrombocyte counts between 101.000–200.000 μ /L, thrombocyte counts below 101.000). In blood samples, *E. canis* was determined using IFAT and *B. canis* was detected using a molecular diagnostic method, PCR. Data gathered from the dogs were examined using SPSS software program using Chi-Square test

Eighty one (36,2%) of 224 dogs were positive to *E. canis* and 4 (1,8%) were *B. canis* positive. Sixty nine of 143 trombocytopenic dogs (48,3%) and 12 of 81 non-trombocytopenic dogs (14,8%) were *E. canis* positive, respectively. A statistically significant difference was found among the degree of thrombocytopenia and *E. canis* prevalence, however there was insignificant importance between the severity of thrombocytopenia and *B canis* infection.

In conclusion, it was suggested that as the degree of thrombocytopenia elevates the incidence of *E. canis* infection increases and thrombocyte counts could not be evaluated specifically for *E canis* infection, therefore could be used for sureveillance test for experiencing forward diagnostic applications. Increase in the degree of thrombocytopenia

causes increase the coincidence of *E. canis* infection and determination of the thrombocyte numbers could not be a specific test for the possible diagnosis of *E. canis* infection but could be referred a transition for these tests.

Key words: *Ehrlichia canis*, *Babesia canis*, dog, thrombocytopenia

KAYNAKLAR

Abbott KC, Vukelja SJ, Smith CE, McAllister CK, Konkol KA, O'rourke TJ, Holland CJ, Ristik M (1991) *Hemophagocytic syndrome: a cause of pancytopenia in human ehrlichiosis*, *Am J Hematol*, 38: 230–234.

Abeygunawardena IS, Kakoma I, Ristic M, Smith RD (1990) *In vivo and in vitro studies on platelet migration inhibition factor (PMIF) in canine ehrlichiosis*, *Sri Lanka Vet. J.*, 37:33–34.

Abeygunawardena IS, Kakoma I, Smith RD (1990) *Pathophysiology of canine ehrlichiosis*, In J. C. Williams and I. Kakoma (ed.), *Ehrlichiosis: a vector-borne disease of animals and humans*. p.p. 78–92. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.

Aguiar DM, Cavalcante GT, Pinter A, Gennari SM, Camargo LM, Labruna MB (2007) *Prevalence of Ehrlichia canis (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil*, *J Med Entomol.*, 44(1): 126–132.

Almosny NRP (1998) *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard, 1935): *Avaliação Parasitológica, Hematológica e Bioquímica Sérica da Fase Aguda de Cães e Gatos Experimentalmente Infectados*. Ph.D.Thesis. Faculdade de Medicina Veterinária, Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brazil.

Anderson BE, Dawson JE, Jones DC, Wilson KH (1991) *Ehrlichia chaffeensis, a new species associated with human ehrlichiosis*, *J Clin Microbiol*, 29: 2838–2842.

Arraga-Alvarado C, Palmar M, Parra O, Salas P (1999) *Fine structural characterization of a Rickettsia-like organism in human platelets from patients with symptoms of ehrlichiosis*, *J Med Microbiol*, 48: 991–997.

Auerbach M, Haubenstock A, Soloman G (1986) *Systemic babesiosis. Another cause of the hemophagocytic syndrome*, *Am J Med* 80: 301–303.

Bacellar F, Dawson JE, Silveira CA, Filipe AR (1995) *Antibodies against Rickettsiaceae in dogs of Setúbal, Portugal*, *Cent Eur J Public Health*, 3(2): 100–102.

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

Baneth G, Waner T, Koplak A, Weinstain S, Keysary A (1996) *Survey of Ehrlichia canis Antibodies among Dogs in Israel*, Vet. Rec, 138: 257–259.

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

Beaufils JP, Martin-Granel J, Jumelle P (1995) *Intérêt des corps d'inclusion dans le diagnostic cytologique de l'ehrlichiose canine*, Bull Acad. Vét. Fr. 68: 57–62.

Berkman N, Michaeli Y, Or R, Eldor A (1990) *Edta-dependent pseudothrombocytopenia: A clinical study of 18 patients*, Am. J. Hematol. 36(3): 195 – 201.

Birkenheuer AJ, Levy MG, Breitschwerdt EB (2003) *Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of Babesia gibsoni (Asian genotype) and B. canis DNA in canine blood samples*, J. Clin. Microbiol, 41: 4172–4177.

Birkenheuer AJ, Neel J, Ruslander D, Levy MG, Breitschwerdt E.B. (2004) *Breitschwerdt, Detection and molecular characterization of a novel large Babesia species in a dog*, Vet. Parasitol. 124: 151–160.

Bohai W, Wuchun C, Hua P (2003) *Ehrlichiae and Ehrlichial Diseases in China* Annals of the New York Academy of Sciences, 990: 45–53.

Botros BA, Elmolla MS, Salib AW, Calamaio CA, Dasch GA, Arthur RR (1995) *Canine ehrlichiosis in Egypt: seroepidemiological survey*, Onderstepoort J. Vet. Res. 62: 41–43.

Bourdeau P, Guelfi JF (1995) *La babésiose canine à Babesia canis*, Point Vét. 27: 11–24.

Bourdoiseau G (2006) *Canine babesiosis in France*, Vet Parasitol 31(138): 118–125.

Boozer Al, Macintire DK (2003) *Canine babesiosis*. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 33: 885–904.

Breitschwerdt EB (1995) *The Rickettsioses In: Text Book of Veterinary Internal Medicine*, 4th Edition, Chapter 67 WB Saunders Comp, p:376–384, Philadelphia. .

Breitschwerdt EB (1999) *Rickettsial Disease in Dogs*. [[Http://nbb.embory.edu/saint/Rickettsial Disease.html](http://nbb.embory.edu/saint/Rickettsial%20Disease.html).]

Breitschwerdt EB (2000) *The Rickettsioses, Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the Dog and Cat* WB Saunders, p: 400–408, Philadelphia.

Brown GK, Canfield PJ, Dunstan RH, Roberts TK, Martin AR, Brown CS, Irving R (2006) *Detection of Anaplasma platys And Babesia canis vogeli and their impact on platelet numbers in free-roaming dogs associated with remote Aboriginal communities in Australia*, Aust Vet J. 84: 9.

Bulla C, Takahira RK, Araújo JP, Trinca LA, Lopes RS, Wiedmeyer CE (2004) *The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with Ehrlichia canis in an endemic area* Vet. Res. 35: 141–146.

Caccio SM, Antunovic B, Moretti A, Mangili V, Marinculic A, Baric RR, Slemenda SB, Pieniazek NJ (2002) *Molecular characterisation of Babesia canis canis and Babesia canis vogeli from naturally infected European dogs*, Vet Parasitol, 106: 285–292.

Carret C, Walas F, Carcy B, Grande N, Precigout E, Moubri K, Schetters TP, Gorenflot A (1999) *Babesia canis canis, Babesia canis vogeli, Babesia canis rossi: Differentiation of the three subspecies by a restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes*, J Eukaryot Microbiol, 46: 298–303.

Castro MB, Machado RZ, Aquino LPCT, Alessi AC (2004) *Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings*. Vet Parasitol, 119: 73–86.

Chand JN (1986) *Shalm's Veterinary Hematology* Fourth edition Lea & Febiger p: 466–484 Philadelphia.

Chang CF, Hamilton PB (1979) *The thrombocyte as the primary circulating phagocyte in chickens*. J Reticuloendothel Soc. 25(6): 585–590.

Cipolle MD, Pasquale MD, Cerra FB (1993) *Secondary organ dysfunction: from clinical perspectives to molecular mediators*, Critical Care Clinics 9: 261–298.

Cleveland CW, Peterson DS, Latimer KS (2002) *An Overview of Canine Babesiosis* Erişim: [<http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Cleveland>] Erişim Tarihi: 17.12.2005.

Coburn J, Barthold SW, Leong JM (1994) *Diverse Lyme disease spirochetes bind integrin IIb 3 on human platelets*, Infect Immun 62: 5559–5567.

Coburn J, Leong JM, Erban JK (1993) *Integrin alpha IIb beta 3 mediates binding of the Lyme disease agent Borrelia burgdorferi to human platelets*. Proc Natl Acad Sci USA, 90: 7059–7063.

Cocco R, Sanna G, Cillara MG, Tola S, Ximenes L, Pinnarpagha ML, Masala G (2003) *Ehrlichiosis and Rickettsiosis in a Canine Population of Northern Sardinia* Ann. N.Y Acad Sci 990: 126–130.

Codner EC, Roberts RE, Ainsworth AG (1985) *Atypical findings in 16 cases of canine ehrlichiosis*, J Am Vet Med Assoc, 186:166–169.

Codner EC, Farri-Smith LL (1986): *Characterization of the subclinical phase of Ehrlichiosis in dogs*, J. Am. Vet. Med. Assoc, 189(1): 47–50.

Codner EC, Maslin WR (1992) *Investigation of renal protein loss in dogs with acute experimentally induced Ehrlichia canis infection*. Am J Vet Res., 53(3): 294–299.

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

Criado-Fornelio A, Martinez-Marcos A, Bul-Ing-Sarana A, Barba-Carretero JC (2003) *Molecular studies on Babesia, Theileria and Hepatozoon in southern Europe. Part II. Phylogenetic analysis and evolutionary history*, Vet Parasitol 114: 173–194.

Criado-Fornelio A, Rey-Valeiron C, Buling A, Barba-Carretero JC, Jefferies R, Irwin P (2007) *New advances in molecular epizootiology of canine hematic protozoa from Venezuela, Thailand and Spain* Vet Parasitol, 144: 261–269.

Dagnone SA, Morais HSA, Vidotto MC et al (2003) *Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in South Brazil*, Vet Parasitol, 117(4): 285–290.

Davoust B, Bourry O, Gomez J, Lafay L, Casali F, Leroy E (2006) *Daniel Parzy Surveys on Seroprevalence of Canine Monocytic Ehrlichiosis among Dogs Living in the Ivory Coast and Gabon and Evaluation of a Quick Commercial Test Kit Dot-ELISA*, Ann. N.Y. Acad. Sci. 1078: 464–469

Dell'Porto A, Oliveira MR, Miguel O (1993), *Babesia canis in stray dogs from the city of São Paulo Comparative studies between the clinical and hematological aspects and the indirect fluorescence antibody test*, Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2: 37–40.

Duh D, Tozon N, Petrovec M, Strašek K, Avšič-Županc T (2004) *Canine babesiosis in Slovenia: Molecular evidence of Babesia canis canis and Babesia canis vogeli* Vet. Res., 363(35): 368 -363.

Duh D, Tozon N, Petrovec M, Strasek K, Avsic-Zupanc T (2004) *Canine babesiosis in Slovenia: molecular evidence of Babesia canis canis and Babesia canis vogeli*, Vet. Res. 35: 363–368.

Dumler JS, Dawson JE, Walker DH (1993) *Human ehrlichiosis: hematopathology and immunohistologic detection of Ehrlichia chaffeensis*. Hum Pathol, 24: 391–396.

Elghetany MT, Walker DH (1999) *Hemostatic changes in Rocky Mountain spotted fever and Mediterranean spotted fever*. Am J Clin Pathol, 112:159–168.

Elias E (1991) *Diagnosis of ehrlichiosis from the presence of inclusion bodies of morulae of E. canis*, J. Small. Anim. Pract. 33: 540–543.

Erdeğer J, Sancak A, Ataseven L (2003) *Köpeklerde Ehrlichia canis'in indirekt Fluoresan Antikor (IFA) Testi ve Dot-ELISA ile Saptanması*, Turk J Vet Anim Sci 27: 767–773.

Foldvari G, Hell E, Farkas R (2005) *Babesia canis canis in dogs from Hungary: detection by PCR and sequencing*, Vet. Parasitol. 127: 221–226.

Frank JR, Breitschwerdt EB (1999) *A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia* J. Vet. Intern. Med. 13, 194–201.

Friedman AD, Daniel GK, Qureshi WA(1997) *Sistemic Ehrlichiosis presenting as progressive hepatosplenomegaly*. Erişim: [<http://www.sma.org.htm>]. Erişim tarihi: 18.07.1997.

Furlanello T, Fiorio F, Caldin M, Lubas G, Solano-Gallego L (2005) *Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form Babesia from dogs of northeastern Italy*. Vet. Parasitol. 134: 77–85.

Furuta PI, Machado RZ, Oliveira TMFS, Rocha AG, Tinucci-Costa M (2004) *Padronização do ensaio imunoenzimático indireto (ELISA-teste) para a detecção de anticorpos da classe IgG em cães naturalmente infectados com Babesia canis*, Rev. Bras. Parasitol. Vet., 13 (1): 231.

Garcia AT (2006), *Piroplasma infection in dogs in northern Spain*, Vet. Parasitol, 138: 97–102.

Gasser RB (2006) *Molecular tools—advances, opportunities and prospects*, Vet. Parasitol. 136: 69–89.

George L. Murphya, S.A. Ewingb, Lisa C. Whitwortha, J. Carl Foxb, A. Alan Kocanb(1998) *A molecular and serologic survey of Ehrlichia canis, E. chaffeensis, and E. ewingii in dogs and ticks from Oklahoma*, Veterinary Parasitology, 79: 325–339.

Ghorbel A, Ben Ayed M, Diwani E, Ghram A, Landolsi F, Messaadi L, Zrelli S, Chabchoub A (2001) *Incidence and seroprevalence of canine Ehrlichiosis in the Medjez El Bab region northwestern Tunisia during 1994, 1995 and 1996*, Arch Inst Pasteur Tunis, 78(1–4): 41–47.

Goth R (1998) *Ehrlichia canis infections of dogs in Germany. Epidemiology, diagnosis, therapy and prophylaxis* Tierarztl Prax Ausg K Klientiere Heimtiere, 26(6): 396–401.

Gould DJ, Murphy K, Rudolf H, Crispin SM (2000) *Canine monocytic Ehrlichiosis presenting as acute blindness 36 months after importation into the UK*, J Small Animal Practice, 41(6): 263–265.

Greene CE, Burgdorfer W, Cavagnolo R, Philip RN, Peakock MG (1985) *Rocky mountain spotted fever and its differentiation from canine ehrlichiosis*, J. Am. Vet. Med. Assoc. 186: 465–472.

Greene (1990) *Infectious Diseases of The Dog and Cat* 1st Ed, WB Saunders. p: 404–414, Philadelphia.

Grindem CB, Breitschwerdt EB, Corbett WT, Jans HE (1991) *Epidemiologic survey of thrombocytopenia in dogs: a report on 987 cases*. Vet Clin Pathol. 20(2):38–43.

Grindem CB, Breitschwerdt EB, Perkins PC, Cullins LD, Thomas TJ, Hegarty BC (1999) *Platelet-associated immunoglobulin (antiplatelet antibody) in canine Rocky Mountain spotted fever and ehrlichiosis*. J Am Anim Hosp Assoc, 35: 56–61.

Grindem CB, Breitschwerdt EB, Corbett WT, Jans HE (2002) *Epidemiologic Survey of Thrombocytopenia in Dogs: A Report on 987 Cases*, Vet. Clin. Pathol. 20: 38–43.

Guimarães JC, Albernaz AP, Machado JA, Junior OAM, Garcia LNN (2004) *Aspectos clínico-laboratoriais da babesiose canina na cidade de Campos do Goytacazes*, RJ, Rev. Bras. Parasitol. Vet. 13(1): 229.

Harrus S, Waner T, Weiss DJ, Keysary A, Bark H (1996) *Kinetics of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis*, Vet Immunol Immunopathol, 51: 13–20.

Harrus S, Bark H, Waner T (1997) *Canine Monocytic Ehrlichiosis: An Update*, Compend, Contin. Educ. Pract. Vet., 19: 431–441.

Harrus S, Kass PH, Klement E, Waner T (1997) *Canine Monocytic Ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease*, Vet Rec, 141: 360–363.

Harrus S, Waner T, Aroch I, Voet H, Keysary A, Bark H (1998) *Investigation of splenic functions in canine monocytic Ehrlichiosis*. Vet. Immunol. Immunopath., 62: 15–27.

Harrus S, Waner T, Aizenberg I, Jongegejan F, Cornelissen AWCA (1999) *Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic Ehrlichiosis*, J. Clin. Microbiol, 37: 2745–2749.

Hauschild S, Shayan P, Schein E (1995) *Characterization and comparison of merozoite antigens of different Babesia canis isolates by serological and immunological investigations*. Parasitol Res, 81: 638–642.

Hauschild S, Schein E (1996) *The subspecies specificity of Babesia canis*, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr, 109: 216–219.

Hibler SC, Hoskins JD, Grene CE (1986) *Rickettsial Infections in Dogs. Part II. Ehrlichiosis & Infectious Cyclic Thrombocytopenia*. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 8: 106–113.

Hildebrandt PK (1981) *The organ and vascular pathology of babesiosis*. Ristic M, Kreier JP (eds): Academic Press, pp: 459–473, New York.

Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford III SR, Krause PJ, Persing DH (2000) *Babesiosis*. Clin Microbiol Rev, 13: 451–469.

Huxsoll DL, Hildebrandt PK, Nims RM, Walker JS (1970) *Tropical canine pancytopenia*, J. Am. Vet. Med. Assoc., 157: 1627-1632.

Inokuma H, Yoshizaki Y, Matsumoto K, Okuda M, Onishi T, Nakagome K, Kosugi R, Hirakawa M (2004) *Molecular survey of Babesia infection in dogs in Okinawa*, Japan Vet Parasitol, 121: 341–346.

Inokuma H, Okuda M, Yoshizaki Y, Hiraoka H, Miyama T, Itamoto K, Une S, Nakaichi M, Taura Y (2005) *Clinical observations of Babesia gibsoni infection with low parasitaemia confirmed by PCR in dogs*, Vet Rec. 156: 116–118.

Iqbal Z, Rikihisa Y (1994) *Application of the polymerase chain reaction for the detection of Ehrlichia canis in tissues of dogs*, Vet. Microbiol, 42(4): 281–287.

Iqbal, Z., W. Chaichanasiriwithaya, and Y. Rikihisa (1994). Comparison of PCR with other tests for early diagnosis of canine ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 32: 1658–1662.

Irwin PJ, Hutchinson GW (1991) *Clinical and pathological findings of Babesia infections in dogs*, Aust. Vet. J. 68 (6): 204–209.

Irwin P (2005) Babesiosis and cytauxzoonosis. In: S.E. Shaw and M.J. Day, Editors, *Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*, Manson Publishing, pp. 63–77. Barcelona

Jacobson LS, Clark IA (1994) *The pathophysiology of canine babesiosis: new approaches to an old puzzle*, J. S. Afr. Vet. Assoc. 65: 134–145.

Jacobson LS, Lobetti RG, Vaughan-Scott T (2000) *Blood pressure changes in dogs with babesiosis*, J. S. Afr. Vet. Assoc., 71: 14–20.

Jacobson LS (2006), *The South African form of severe and complicated canine babesiosis: clinical advances 1994–2004*, Vet. Parasitol. 138: 126–139.

Jefferies R, Ryan UM, Muhlneckel CJ, Irwin PJ (2003) *Two species of canine Babesia in Australia: detection and characterization by PCR*, J Parasitol, 89: 409–412.

Johnson, EM, Ewing SA, Barker RW, Fox JC, Crow DW and Kocan K 1998. *Experimental transmission of Ehrlichia canis (Rickettsiales: Ehrlichieae) by Dermacentor variabilis (Acari: Ixodidae)*. Vet. Parasitol. 74: 277–288.

Joubert JR, King JB, Rossouw DJ, Cooper RA (1985) *Nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital, Part III. Clinical pathology and pathogenesis*, S Afr Med J, 68: 722–728.

Kakoma I, Carson CA, Ristic M, Stephenson EM, Hildebrandt PK, Huxsoll DL (1978) *Platelet migration inhibition as an indicator of immunologically mediated target cell injury in canine ehrlichiosis*, Infect Immunol, 20: 242–247.

Kaptan K (2006) *Trombosit Hastalıklarında Temel Tanısal Yaklaşım*, 5. İlk Basamak Kursu. Ankara.

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

Karagenc TI, Pasa S, Kirli G, Hosgor M, Bilgic HB, Ozon YH, Atasoy A, Eren H (2006) *Parasitological, molecular and serological survey of Hepatozoon canis infection in dogs around the Aegean coast of Turkey* Vet Parasitol 135: 113–119.

Kaushansky K, (1998) *Thrombopoietin* Engl J Med, 339:746–754.

Kırılı G (2006) *Ege Bölgesi'ndeki Köpeklerde Babesiosis'in Yaygınlığı*. Yüksek lisans Tezi Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

Kjemtrup AM, Conrad PA (2006) *A review of the small canine piroplasms from California: Babesia conradae in the literature*, Vet. Parasitol, 138: 112–117.

Klein MB, Miller JS, Nelson CM, Goodman JL (1997) *Primary bone marrow progenitors of both granulocytic and monocytic lineages are susceptible to infection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis*. J Infect Dis, 176: 1405–1409.

Kontos VJ, Kautinas AF (1997) *Clinical observations in 15 spontaneous cases of canine babesiosis*, Canine practice 22(5–6): 30–34.

Kraje AC (2001) *Canine haemobartonellosis and babesiosis*, *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 23: 310–319.

Krutitskaya L, Tokarevich N, Zhebrun A, Kartseva N, Tarasevich I, Yablonskaya V, Ataliev S, Misnikov OP, Vasilenko AZ (1996) *Autoimmune component in individuals during immune response to inactivated combined vaccine against Q fever*, *Acta Virol*, 40: 173–177.

Kuehn NF, Gaunt SD (1985) *Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis* *J. Am. Vet. Med. Assoc.* Vol. 186(4): 355–358.

Laia S, Joan L, Montsant O, Barbara H, Edward B (2006) *A serological study of exposure to arthropod-borne pathogens in dogs from northeastern, Spain* *Vet. Res.*, 37 :231-244.

Leib MS, Monroe WE (1997) *Ehrlichiosis*, *Practical Small Animal Internal Medicine*. W.B. Saunders, p: 864–869, Philadelphia.

Letková V, Mojžišová J, Winkler R, Čurlík J, Letko M, Bajová V (2004) *The seroprevalence of Ehrlichia canis in dogs in East Slovakia*, *Veterinaria* 48 (3): 135–138.

Levy P, Raoult D, Razongles JJ (1989) *Q-fever and autoimmunity*, *Eur J Epidemiol*, 5: 447–453.

Lewis DC, Meyers KM, Callan MB, Bucheler J, Giger U (1995) *Detection of platelet-bound and serum platelet-bindable antibodies for diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura in dogs*, *J Am Vet Med Assoc*, 206: 47–52.

Lewis BD, Penzhorn BL, Lopez-Rebollar LM, De Waal DT (1996) *Isolation of a South African vector-specific strain of Babesia canis*, *Vet. Parasitol*, 63: 9–16.

Livio Martins Costa Jr, Karin Rembeck, Mu'cio Fla'vio Barbosa Ribeiro, Pamela Beelitz, Kurt Pfister, Lygia Maria Friche Passos (2007) *Sero-prevalence and risk indicators for canine Ehrlichiosis in three rural areas of Brazil*, *Vet J.* 174: 673–676.

Lobetti RG (1998) *Canine babesiosis*, *Compend Contin Educ Pract Vet*, 20: 418–430.

Lobetti RG (2000) *Canine babesiosis*, Day MJ, Mackin A, Littlewood JD(eds), *BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*, Gloucester, pp. 85–91. BSAVA.

Lobetti RG, Mohr AJ, Dippenaar T, Myburgh E (2000) *A preliminary study on the serum protein response in canine babesiosis*, *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 71: 38–42.

Lobetti R, Dvir E, Pearson J (2002) *Cardiac troponins in canine babesiosis*, J. Vet. Intern. Med., 16: 63–68.

Lobetti RG (2003) Hematological changes in TBDs, *Proceedings of the 21st American College of Veterinary Internal Medicine forum* Charlotte, pp. 554–556.

Lovering SL, Pierce KR, Adams LG (1980) *Serum complement and blood platelet adhesiveness in acute canine ehrlichiosis*, Am J Vet Res, 41: 1266–1271.

MacWilliams PS (1987) *Erythrocytic rickettsia and protozoa of the dog and cat*. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 17: 1443–1461.

Majerus PW (1994) *Platelets*. Stamatoyannopoulos, Wienhuis, Majerus, Varmus, (eds) The molecular basis of blood diseases, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company.

Malaika Watanabea, Masaru Okudaa, Masayoshi Tsujib, Hisashi Inokumaa (2004) *Seroepidemiological study of canine ehrlichial infections in Yamaguchi prefecture and surrounding areas of Japan*, Vet Parasitol 124: 101–107.

Malherbe WD, Parkin BS (1951) *Atypical symptomatology in Babesia canis infection*, J. S. Afr. Vet. Assoc. 22: 25–61.

Malherbe WD (1956) *The manifestations and diagnosis of babesia infections*, Ann. N.Y. Acad. Sci. 64: 128–146.

Macieira DB, Messick JB, Cerqueira AMF, Freire IMA, Linhares GFC, Almeida NKO, NRP Almosny (2005) *Prevalence of Ehrlichia canis infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brazil* Vet Clin Path 34(1): 44.

Marcus LC, Valigorsky JM, Fanning WL, Joseph T, Glick B (1982) *A case of transfusion-induced babesiosis*, J Am Med Assoc, 248: 465–467.

Martin AR, Dunstan RH, Roberts TK, Brown GK (2006) *Babesia canis vogeli: a novel PCR for its detection in dogs in Australia*, Vet. Parasitol. 112: 63–65.

Martinod S, Laurent N, Moreau Y (1986) *Resistance and immunity of dogs against Babesia canis in an endemic area*, Vet. Parasitol. 19: 245–254.

Marty AM, Dumler JS, Imes G, Brusman HP, Smrikovski LL, Frisman DM (1995) *Ehrlichiosis mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura. Case report and pathological correlation*, Hum Pathol 26: 920–925.

Matjila PT, Penzhorn BL, Becker CPJ, Nijhof AM, Jongejan F (2004) *Confirmation of occurrence of Babesia canis vogeli in domestic dogs in South Africa*, Vet. Parasitol, 122: 119–125.

Matjila PT, Nijhof AM, Taoufik A, Houwers D, Teske E, Penzhorn BL, Lange T, Jongejan F (2005) *Autochthonous canine babesiosis in the Netherlands*, Vet. Parasitol, 131: 23–29.

Matsuu A, Koshida Y, Kawahara M, Inoue K, Ikadai H, Hikasa Y, Okano S, Higuchi S (2004) *Efficacy of atovaquone against Babesia gibsoni in vivo and in vitro*, Vet Parasitol 124: 9–18.

Matthewman LA, Kelly PJ, Bobade PA, Tagwira M, Mason PR, Majok A, Brouqui P and Raoult D (1993) *Infections with Babesia canis and Ehrlichia canis in dogs in Zimbabwe* Vet Rec, 133(14): 344–346.

Matthewman LA, Kelly PJ, Mahan SM, Semu D, Tagwira M, Bobade PA, Brouqui P, Mason PR, Raoult D (1993) *Western blot and indirect fluorescent antibody testing for antibodies reactive with Ehrlichia canis in sera from apparently healthy dogs in Zimbabwe*, J S Afr Vet Assoc. 64(3):111-115

McBride JW, Corstvet RE, Gaunt SD, Chinsangaram J, Akita GY, Osburn BI (1996) *PCR detection of acute Ehrlichia canis infection in dogs*, J Vet Diagn Invest, 8:441–447.

Meinkoth JH, Hoover JP, Cowell RL, Tyler RD, Link J (1989) *Ehrlichiosis in a dog with seizures and non regenerative anemia*. J Am Vet Med Assoc, 195(12): 1754–1755.

Mettler NE (1969) *Isolation of a microtato biote from patients with hemolytic-uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and from mites in the United States*. New Eng J Med, 281:1023–1027.

Miller D (1999) *The yellow patient*. Lobetti RG (eds), Proceedings of the Canine Babesiosis and Ehrlichiosis Symposium Onderstepoort, pp: 95–97, South Africa.

Mimoğlu M, Göksu K, Sayın F (1969) veteriner ve tıbbi parazitoloji II. Ankara üniversitesi Basımevi 880–959.

Mintz ED, Anderson JF, Cable RG, Hadler JL (1991) *Transfusion-transmitted babesiosis: a case report from a new endemic area*, Transfusion, 31: 365–368.

Miyama T, Sakata Y, Shimada Y, Ogino S, Watanabe M, Itamoto K, Okuda M, Verdidá RA, Xuan X, Nagasawa H, Inokuma H (2005) *Epidemiological survey of Babesia gibsoni infection in dogs in eastern Japan*, J. Vet. Med. Sci. 67: 467–471.

Modi KS, Dahl DC, Berkseth RO, Schut R, Greeno E (1999) *Human granulocytic ehrlichiosis presenting with acute renal failure and mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura*, Am J Nephrol 19: 677–681.

Mylonakis ME, Koutinas AF, Billinis C, Leontides LS, Kontos V, Papadopoulos O, Rallis T, Fytianou A (2003) *Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic ehrlichiosis (Ehrlichia canis): a comparison between five methods* Veterinary Microbiology 91 197–204

Mylonakis ME, Koutinas AF, Baneth G, Polizopoulou Z, Fytianou A (2004) *Mixed Ehrlichia canis, Hepatozoon canis, and presumptive Anaplasma phagocytophilum infection in a dog* Vet Clin Path 33 (4): 249.

Ndip LM, Ndip RN, Esemu SN, Dickmu VL, Fokam EB, Walker DH, McBrid JW (2005) *Ehrlichial infection in Cameroonian canines by Ehrlichia canis and Ehrlichia ewingii*, Vet Microbiol, 111: 59–66.

Neer TM (1995) *Ehrlichiosis update. Proceedings of the 13th Annual Congress of the American College of Veterinary Internal Medicine*. San Diego, California, Proceedings, pp: 822–826. United States of America.

Nel M, Lobetti RG, Keller N, Thompson PN (2004) *Prognostic value of blood lactate, blood glucose and hematocrit in canine babesiosis*, J. Vet. Intern. Med., 18: 471–476.

Nyindo MBA, Ristic M, Huxsoll DL, Smith AR (1971) *Tropical canine pancytopenia: in-vitro cultivation of the causative agent-Ehrlichia canis*, Am. J. Vet. Res. 32: 1651–1658.

Onishi T, Ueda K, Horie M, Kajikawa T, Ohishi I (1990) *Serum Hemolytic Activity in Dogs Infected with Babesia gibsoni* J Parasitol 76(4): 564–567.

Orinda GO, Commins MA, Waltisbuhl DJ, Goodger BV, Wright IG (1994) *A study of autoantibodies to phosphatidyl-serine in Babesia bovis and Babesia bigemina infections in cattle*, Vet Immun Immunopathol, 40: 275–281.

Oshiro LS, Dondero DV, Emmons RW, Lennette EH (1978) *The development of Colorado tick fever virus within cells of the hemopoietic system*, J Gen Virol, 39: 73–79.

Oyamada M, Davoust B, Boni M, Dereure J, Bucheton B, Hammad A, Itamoto K, Okuda M, Inokuma H (2005) *Detection of Babesia canis rossi, B. canis vogeli, and Hepatozoon canis in dogs in a village of eastern Sudan by using a screening PCR and sequencing methodologies*, Clin. Diagn. Lab. Immunol, 12: 1343–1346.

Özatlı D (2004) *Trombositopeni: Ne Çok Nedeni Var!* XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu.

Pagès JP, Vidor E, Trouillet JL, Bissuel G, Lecointre O, Moreau Y (1990) *Description clinique, hématologique et sérologique de 133 cas de babésiose canine*, Prat. Méd. Chir. Anim. Comp. 25: 89–97.

Pantanowitz L, Cannon ME, De Girolami P, Telford SR (2001) *Relationship between ehrlichia infection and thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome (TTP/HUS)*, *Transfusion*, 41: 60.

Pantanowitz L (2003) *Mechanisms of Thrombocytopenia in Tick-Borne Diseases*, *Journal of Infectious Diseases* [Electronic Journal], <http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijid/vol2n2/tick.xml>, 2 (2).

Passos LM, Geiger SM, Ribeiro MF, Pfister K, Zahler-Rinder M (2005) *First molecular detection of Babesia vogeli in dogs from Brazil*, *Vet. Parasitol*, 127: 81–85.

Pedersen NC (1999) A review of immunologic diseases of the dog, *Vet. Immunol. Immunopathol.* 69: 251–342.

Perille AL, Matus RE (1991) *Canine ehrlichiosis in six dogs with persistently increased antibody titers*, *J. Vet. Intern. Med.* 5: 195–198.

Philipp CS, Callaway C, Chu MC, Huang GH, Monath TP, Trent D, Evatt BL (1993) *Replication of Colorado tick fever virus within human hematopoietic progenitor cells*, *J Virol*, 67: 2389–2395.

Pierce KR, Marrs GE, Hightower D (1977) *Acute canine ehrlichiosis: platelet survival and factor 3 assay*, *Am J Vet Res*, 38: 1821–1825.

Ploneczka K, Śmiełowska-Łoś E (2003) *Występowanie przeciwciał swoistych dla Ehrlichia canis u psów z terenu południowo-zachodniej Polski*. *Med Wet*, 59(11): 1005–1008.

Plotnick A 1999- 2003; *Babesiosis*, Erişim [<http://PetPlace.com>]

Price JE, Sayer PD (1983) *Canine ehrlichiosis*. Kirk RW (Ed): *Current Veterinary Therapy VIII*. WB Saunders Co, pp: 1197–1202, Philadelphia.

Pusterla N, Pusterla JB, Deplazes P, Wolfensberger C, Ller WM, Rauf AH, Reusch C and Lutz H (1998) Seroprevalence of *Ehrlichia canis* and of Canine Granulocytic *Ehrlichia* Infection in Dogs in Switzerland *J Clin Microbiol*, 36(12): 3460–3462.

Quinn PJ, Donnelly WJC, Carter ME, Markey BKJ, Torgerson PR, Breathnach RMS (1997) *Microbial and parasitic disease of the dog and cat*, Saunders. 23: 245.

Rajamanickam C, Wiesenhutter E, Zin FM, Hamid J (1985) *The incidence of canine haematozoa in Peninsular Malaysia*, *Vet Parasitol.* 17(2):151–157.

Rand MS (1996) *Infectious Disease of Cats and Dogs*. University of Arizona, Erişim: [[Http://Microvet.arizona.edu...s/MIC443/notes/rand/cat_dog.htm](http://Microvet.arizona.edu...s/MIC443/notes/rand/cat_dog.htm)]. p:20–21.

Rao AK, Schapira M, Clements ML, Niewiarowski S, Budzynski AZ, Schmaier AH, Harpel PC, Blackwelder WC, Scherrer JR, Sobel E (1988) *A prospective study of platelets and plasma proteolytic systems during the early stages of Rocky Mountain spotted fever*, N Engl J Med, 318:1201–1208.

Raoult DAP, Weiller PJ, Juhan-Vague I, Finaud M, Mongun M (1985) *Platelet antibodies in Mediterranean tick typhus*, Trans R Soc Trop Med Hyg, 79: 699.

Regendanz P, Muniz J (1936) *O Rhipicephalus sanguineus como transmissor da piroplasmose canina no Brasil*, Mem. Inst. Oswaldo Cruz 31: 81–84.

Regnery R (1990) *Use of DNA probes for differentiation of spotted fever group and other rickettsiae*. Ann N Y Acad Sci, 590: 422–429.

Rikihisa Y, Perry BD (1985) *Causative ehrlichial organisms in Potomac horse fever*, Infect Immun, 49(3):513–517.

Rikihisa Y, Ewing SA, Fox JC, Siregar, Pasaribu FH, Malole BM (1992): *Analyses of Ehrlichia canis and Canine Granulotic Ehrlichia infection*, J. Clin. Microbiol, 30: 143–149.

Ristic M, Huxsoll DL, Weisiger RM, Hildebrandt PK and Nyindo MBA (1972) *Serological diagnosis of tropical canine pancytopenia by indirect immunofluorescenc*, Infect. Immun. 6: 226–231.

Ristic M (1993) Woldehiwet Z (eds) *Rickettsial and Chlamydial diseases of domestic animals*, Oxford: Pergamon p: 169.

Rodriguez-Vivas RI, Alborno REF, Bolio GME (2005) *Ehrlichia canis in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors*, Vet Parasitol 127: 75–79.

Rosner F, Zarrabi MH, Benach JL, Habicht GS (1984) *Babesiosis in splenectomized adults. Review of 22 reported cases*, Am J Med, 76: 696–701.

Santos F, Coppede JS, Pereira ALA, Oliveira LP, Roberto PG, Benedetti RBR, Zucoloto LB, Lucas F, Sobreira L, Marins M (2007) *Molecular evaluation of the incidence of Ehrlichia canis, Anaplasma platys and Babesia spp. in dogs from Ribeirão Preto, Brazil* Vet J doi:10.1016

Sasaki M, Omobowale O, Tozuka M, Ohta K, Matsuu A, Nottidge HO, Hirata H, Ikadai H, Oyamada T (2007) *Molecular Survey of Babesia canis in Dogs in Nigeria*, Journal of Veterinary Medical Science, 69(11): 1191–1193.

Schettters TPM, Moubri K, Precigout E, Kleuskens J, Scholtes NC, Gorenflot A (1997) *Different Babesia canis isolates, different diseases*, Parasitology 115: 485–493.

Selek NA (2006) *İstanbul ili köpeklerinde bulunan babesia türlerinin teşhisinde mikroskopik ve PCR-RLB bulgularının karşılaştırılması* Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul

Silverman DJ (1986) *Adherence of platelets to human endothelial cells infected by Rickettsia rickettsii*. J Infect Dis, 153: 694–700.

Silvia MT., Dagnone AS, Vidotto O, Freire RL, Amude AM and Morais HSA (2006) Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population Vet Parasitol 140(3–4): 223–230.

Simpson RM, Gaunt SD (1991) *Immunocytochemical detection of Ehrlichia platys antigens in canine blood platelets*, J Vet Diagn Invest, 3: 228–231.

Smith RD, Hooks JE, Huxsoll DL, Ristic M (1974) *Canine ehrlichiosis (tropical canine pancytopenia): survival of phosphorus-32-labeled blood platelets in normal and infected dogs*, Am. J. Vet. Res. 35: 269–273.

Smith RD, Ristic M, Huxsoll DL, Baylor RA (1975) *Platelet kinetics in canine ehrlichiosis: evidence for increased platelet destruction as the cause of thrombocytopenia*, Infect Immunol, 11: 1216–1221.

Solano-Gallego L, Trotta M, Razia L, Furlanello T, Caldin (2006) *Molecular Survey of Ehrlichia canis and Anaplasma phagocytophilum from Blood of Dogs in Italy* Ann. N.Y. Acad. Sci., 1078: 515–518.

Soulsby EJJ (1982) Helminths, Arthropods and Protozoa of domesticated animals. 7th ed: English Language Book Society; Bailliere Tindall, p: 464. . London.

Stüben J (2004) *Investigations on the prevalence of Ehrlichiosis and babesiosis in dogs in Namibia with special consideration of the housing conditions*, Dissertation Freie Universität Institut für Parasitologie und Internationale Tiergesundheit des Fachbereiches Veterinärmedizin, Berlin, Germany.

Suksawat J, Hegarty BC, Breitschwerdt EB (2000) *Seroprevalence of Ehrlichia canis, Ehrlichia equi, and Ehrlichia risticii in sick dogs from North Carolina and Virginia* J. Vet Intern Med., 14(1): 50–55.

Suksawat J, Xuejie Y, Hancock SI, Hegarty BC, Nilkumhang P, Breitschwerdt EB (2001) *Serologic and molecular evidence of coinfection with multiple vector-borne pathogens in dogs from Thailand*, J Vet Intern Med. 15(5): 453–462.

Suto Y, Suto A, Inokuma H, Obayashhi H, Hayashi T (2001) *First confirmed canine Ehrlichia canis infection in Japan*, Vet. Rec., 148: 809-811.

Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V (1993) *Biyoistatistik 4.baskı*, Özdemir Yayıncılık LTD. ŞTİ. Ankara.

Swango LJ, Bankemper KW, Kong LI (1989) *Bacterial, rickettsial, protozoal, and miscellaneous infections*. In: Ettinger, S.J. (Ed.): *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. WB Saunders Co., Philadelphia, pp. 265–297.

Taboada J, Merchant SR (1991) *Babesiosis of companion animal and man*. *Vet. Clin, N. Am. Small Anim. Pract.* 21: 103–123.

Taboada J (1998) *Babesiosis*, Greene CG (eds) *Infectious Diseases of the Dog and Cat, 2nd edn*, WB Saunders pp: 473–481., Philadelphia.

Tarantolo SR, Landmark JD, Iwen PC, Kessinger A, Chan WC, Hinrichs SH (1997) *Bartonella-like erythrocyte inclusions in thrombotic thrombocytopenic purpura*. *Lancet*, 350:1602.

Thilagar S, Basheer AM, Dhanapalan P (1990) *An unusual case of Ehrlichiosis associated with polyarthritis in a dog*, *Ind. Vet. J.* 67: 267–268.

Topper MJ, Welles EG (2003) *Hemostasis*. Latimer KS, Mahaffey EA, Prasse KW(eds), *Clinical Pathology* (fourth ed.), Blackwell Publishing Company, pp: 99–135. Ames.

Trapp SM, Dagnone AS, Vidotto O, Freire RL, Amude AM, Morais HSA (2006) *Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital populations*, *Vet Parasitol* 140: 223–230.

Troy GC, Vulgamott JC, Turnwald GH (1980) *Canine ehrlichiosis: a retrospective study of 30 naturally occurring cases*, *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 16: 181-187.

Troy GC, Forrester SD (1984) *Canine ehrlichiosis*. Greene CE (ed). *Clinical Microbiology and infectious diseases of dogs and cats*. W.B. Saunders pp: 404–418. Philadelphia.

Tsachev I (2006) *Detection of Antibodies Reactive with Ehrlichia canis in a Kennel in Bulgaria Turk*, *J. Vet. Anim. Sci.*, 30: 425-426.

Tsachev I, Kontos V, Zarkov I, Krastev (2006) *Survey of antibodies reactive with Ehrlichia canis among dogs in South Bulgaria* *Revue Méd. Vét.*, 157 (10): 481-485.

Turgut K (2000) *Veteriner Klinik Laboratuar Teşhis 2*. Baskı Bahçıvanlar Basım Sanayi, Konya.

Turner RC, Chaplinski TJ, Adams HG (1986) *Rocky mountain spotted fever presenting as thrombotic thrombocytopenic purpura*, *Am J Med* 81: 153–157.

Tüzer E, Toparlak M (1999) *Veteriner Protozooloji*, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı N0:105.

Uilenberg GF, Franssen FF, Perie NM, Spanjer AA (1989) *Three groups of Babesia canis distinguished and proposal for nomenclature*, Vet Q, 11: 33–40.

Uilenberg G (2006) *Babesia—A historical overview*, Vet Parasitol 138: 3–10.

Unver A, Ohashi N, Tajima T, Stich R, Grover D, Rikihisa Y (2001) *Transcriptional analysis of p30 major outer membrane multigene family of Ehrlichia canis in dogs, ticks, and cell at different temperatures*, Infect Immun, 69: 6172–6178.

Unver A, Rikihisa Y, Borku K, Ozkanlar Y, Hanedan B (2005) *Molecular detection and characterization of Ehrlichia canis from dogs in Turkey* Berl.Münch.Tierärztl.Wochenschr. 118(7/8): 300–304.

Van Eeden PJ, Joubert JR, Van de Wal BW, King JB, Kock A, Groenewald JH (1985) *A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital, Part I. Clinical features*. S Afr Med J, 68: 711–717.

Vercammen F, Deken R, Maes L, Deken RD (1997a): *Haematological and biochemical profile in experimental canine babesiosis (Babesia canis)*. Vlaams Dierg. Tijdschr, 66: 174–178.

Vercammen F, Deken R, Maes L (1997b) *Duration of protective immunity in experimental canine babesiosis after homologous and heterologous challenge*. Vet. Parasitol. 68: 51–55.

Walker DH, Dumler JS (1997) *Human monocytic and granulocytic ehrlichiosis - discovery and diagnosis of emerging tick-borne infections and the critical role of the pathologist*, Arch Pathol Lab Med, 121: 785–791.

Waner T, Harrus S, Weiss DJ, Bark H, Keysary A (1995) *Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis*. Vet Immunol Immunopathol, 48: 177–182.

Waner T, Rosner M, Harrus S, Naveh A, Zass R, Keysar A (1996) *Detection of ehrlichial antigen in plasma of beagle dogs with experimental acute Ehrlichia canis infection*, Vet Parasitol, 63: 331–335.

Waner T, Harrus S, Bark H (1997). *Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs*, Vet. Parasitol, 69: 307–317.

Waner T, Harrus S, Bark H, Bogin E, Avidar Y, Keysary A (1997) *Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs*, Vet. Parasitol, 69: 307–317.

Waner T, Strenger C, Keysary A, Harrus S (1998) *Kinetics of serologic cross-reactions between Ehrlichia canis and the Ehrlichia phagocytophila genogroups in experimental E. canis infection in dogs*, Vet Immunol Immunopathol 66: 237–243.

Waner T, Harrus S (2000) *Anemia of inflammatory disease*, Feldman Bf, Zinkl Jg, Jain Nc (eds) Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed., Lippincott Williams & Wilkins, pp: 205-209, Baltimore.

Waner T, Leykin I, Shinitzky M, Sharabani E, Buch H, Keysary A, Bark H, Harrus S (2000) *Detection of platelet-bound antibodies in beagle dogs after artificial infection with Ehrlichia canis*. Vet Immunol Immunopathol, 77: 145–150.

Waner T, Harrus S, Jongejan F, Bark H, Keysary A (2001) *Cornelissen AW: Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis of canine monocytic ehrlichiosis caused by Ehrlichia canis*, Vet Parasitol, 95: 1–15.

Watanabe M, Okuda M, Tsuji M and Inokuma H (2004) *Seroepidemiological study of canine ehrlichial infections in Yamaguchi prefecture and surrounding areas of Japan*, Vet. Parasitol. 124: 101–107.

Wong SJ, Thomas JA (1998) *Cytoplasmic, nuclear, and platelet autoantibodies in human granulocytic ehrlichiosis patients*, J Clin Microbiol, 36: 1959–1963.

Woody BJ, Hoskins JD (1991) *Ehrlichial diseases in dogs*. Vet Clin North Am, 21: 75-98.

Yabsley MJ, McKibben J, Macpherson CN, Cattan PF, Cherry NA, Hegarty BC, Breitschwerdt EB, O'Connor T, Chandrashekar R, Paterson T, Perea ML, Ball G, Friesen S, Goedde J, Henderson B, Sylvester W (2007) *Prevalence of Ehrlichia canis, Anaplasma platys, Babesia canis vogeli, Hepatozoon canis, Bartonella vinsonii berkhoffii, and Rickettsia spp. in dogs from Grenada*, Vet. Parasitol. 10: 1016.

Yabsley MJ, Norton TM, Powell MR, Davidson WR (2004) *Molecular and serologic evidence of tick-borne Ehrlichieae in three species of lemurs from St. Catherines Island, Georgia, USA*, J Zoo Wildl Med 35(4): 503–509.

Yamane I, Thomford JW, Gardner IA, Dubey JP, Levy M, Conrad PA (1993) *Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for diagnosis of Babesia gibsoni infections in dogs*, Am. J. Vet. Res. 54: 1579–1584.

Yukarı BA (2000) *Protozooloji*, Akdeniz Üniversitesi Burdur Veteriner Fakültesi yayını 9: 132–133.

Zahler M, Schein E, Rinder H, Gothe R (1998) *Characteristic genotypes discriminate between Babesia canis isolates of different vector specificity and pathogenicity to dogs*, Parasitol Res, 84: 544–548.

Zaki SR, Peters CJ (1997) *Viral hemorrhagic fevers*, Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA, Manz HJ (eds) Pathology of infectious diseases, Volume 1.: Appleton and Lange;; 37:347-364, Stamford.

Zandvliet MM, Teske E, Piek CJ (2004) *Ehrlichia and Babesia infections in dogs in The Netherlands Tijdschr Diergeneeskd.* 15;129(22): 740–745.

Zuckerman A (1964) *Autoimmunization and other types of indirect damage to host cells as factors in certain protozoan diseases*, Exp Parasitol_15: 138–83.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında İzmir’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini İzmir’de tamamladı. 1997 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nde eğitim görmeye hak kazandı ve 2002 yılında mezun oldu ve İzmir’de Terapi Hayvan Hastanesi’nde veteriner hekim olarak göreve başladı. 2005 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Programına girdi. Halen Terapi Hayvan Hastanesi’nde veteriner hekim olarak görev yapmaktadır.

TEŐEKKÜR

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

Laboratuvarını bize açarak tanı yöntemlerinin uygulanmasının her aşamasında emeği geçen Doç. Dr. Tülin KARAGENÇ'e ve laboratuvar aşamasındaki yardımlarından dolayı Araç. Gör. Serkan BAKIRCI ve Gülcan KIRLI'ya,

Çalışmada elde edilen verilerin istatistik analizlerinin yapılmasındaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Erbay BARDAKÇIOĐLU'na,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Hüseyin VOYVODA ve Doç. Dr. Serdar PAŞA'ya,

Yüksek lisans ve tez aşamam boyunca destek ve yardımlarından dolayı Araç. Gör. Göksel BAYRAMLI ve Ođuz ELMASOĐLU 'na

Mezun olmamdan itibaren her konuda bana destek olan ve her zaman yanımda olan Veteriner Hekim Burhan YILMAZ'a,

Desteklerinden dolayı Terapi Hayvan Hastanesi çalışanlarına,

Her zaman yanımda olan ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.