



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTALYA İLİ KÖPEKLERİNDE ANAPLASMA
PHAGOCYTOPHILUM VE HEPATOZoon CANIS'İN
YAYGINLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Talha TAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Onur KÖSE

BURDUR-2024

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTALYA İLİ KÖPEKLERİNDE ANAPLASMA
PHAGOCYTOPHILUM VE HEPATOOON CANIS'İN
YAYGINLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Talha TAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Onur KÖSE

Bu Araştırma *Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü* tarafından 0873-YL-23 proje numarası ile
desteklenmiştir.

BURDUR-2024

KABUL ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Talha TAŞ tarafından *Doç. Dr. Onur KÖSE* yönetiminde hazırlanan “*Antalya İli Köpeklerinde Anaplasma phagocytophilum ve Hepatozoon canis Yaygınlığının Araştırılması*” başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Sınavı Tarihi:

09/08/2024

(imza)

Prof. Dr. Ramazan ADANIR
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Başkan

(imza)

Doç. Dr. Onur KÖSE
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Jüri

(imza)

Doç. Dr. Cenk Soner BÖLÜKBAŞ
On Dokuz Mayıs Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Jüri

ONAY

Bu tez, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ... / ... / Tarih ve sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ramazan ADANIR
Müdür
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince beni sürekli yönlendiren, tez konumun oluşturulmasından yazımına kadar her aşamasında bilgi birikimlerini, tecrübe ve görüşlerini esirgemeyen, çalışmalarımda büyük emekleri olan danışman hocam Doç. Dr. Onur KÖSE başta olmak üzere, Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Ramazan ADANIR ve Prof. Dr. Bayram Ali YUKARI ile Araş. Gör. Mustafa Furkan PALA'ya teşekkür ederim. Örneklerin toplanması ve laboratuvar çalışmaları sırasında bana yardımcı olan ve her aşamada destekte bulunan Veteriner Hekim Abdüllatif Emirikci, Veteriner Hekim Ahmet Batuhan Öncel ve Veteriner Hekim Doğuş Özalkan'a teşekkür ederim. Hayatımın her alanında olduğu gibi bu dönemde de desteklerini asla esirgemeyen sevgili aileme, arkadaşım Araş. Gör. Enes Yılmaz'a ve Veteriner Hekim İlayda Melis Baysal'a teşekkürlerimi sunarım.



ETİK BEYAN

“Antalya ili köpeklerinde *Anaplasma phagocytophilum* ve *Hepatozoon canis*’in yaygınlığının araştırılması” başlıklı tez çalışmamdaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Doç. Dr. Onur KÖSE danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

Veteriner Hekim Talha TAŞ

09/08/2024

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL ONAY	ii
TEŞEKKÜRLER	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hepatozoon canis	5
2.1.1. Morfoloji	5
2.1.2. Yaşam Döngüsü	5
2.1.3. Klinik Bulgular	7
2.1.4. Patolojik Bulgular	7
2.1.5. Epidemiyoloji	8
2.1.6. Teşhis	10
2.1.7. Tedavi	10
2.1.8. Halk Sağlığı	11
2.2. Anaplasma phagocytophilum	12
2.2.1. Morfoloji	12
2.2.2. Yaşam Döngüsü	13
2.2.3. Patogenez ve Klinik Belirtiler	14
2.2.4. Epidemiyoloji	15
2.2.5. Tanı	16
2.2.6. Tedavi	17
2.2.7. Halk Sağlığı	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	19
3.1. Gereç	19
3.2. Yöntem	19

3.2.1. Etik Onay ve Hasta Sahiplerinin Bilgilendirilmesi	19
3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması	19
3.2.3. DNA Ekstraksiyonu	20
3.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	21
3.2.5. PCR ürünlerinin jel elektroforez yöntemi ile moleküler ağırlıklarına göre ayrılması ve ultraviyole (UV) ışık altında görüntülenmesi	22
3.2.6. İstatistiksel Analiz	23
4. BULGULAR	23
4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Bulguları	23
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Nötrofil içinde boyanmış <i>H.canis</i> gamontları	5
Şekil 2.2. <i>H.canis</i> 'in yaşam döngüsü	6
Şekil 2.3. <i>A. phagocytophilum</i> ile enfekte köpeğin kan yaymasında nötrofil sitoplazması içerisinde görünen morula	13
Şekil 3.1. PCR agaroz jele yüklenmesi	23
Şekil 4.1. <i>H. canis</i> 18S ssrRNA'sına ait 666 bp (base pair-baz çifti) büyüklüğündeki bölgenin çoğaltıldığı PCR ürünlerine ait agaroz jel elektroforez görüntüsü (M: 100 baz çifti marker, NK: negatif kontrol, PK: pozitif kontrol, 1,2,3,4 zayıf pozitif, 8 güçlü pozitif, 5,6,7 ve 9 negatif örnekler).	24
Şekil 4.2. <i>A. phagocytophilum</i> 16S subunit rRNA geninin 546 bp'lik (base pair-baz çifti) büyüklüğündeki bölgenin çoğaltıldığı nested PCR 2. Basamak PCR ürünlerine ait agaroz jel elektroforez görüntüsü (M: 100 baz çifti marker, NK: negatif kontrol, PK: pozitif kontrol , 1,9 pozitif, 2-8, 10-14 negatif örnekler) (araştırılan örneklerde, muhtemel DNA ekstraksiyon aşamasında gerçekleşmiş olabilecek manüplasyon hatası veya kit kaynaklı olabilecek nonspesifik bağlanma bantları görülmekte).	29

TABLÖLAR

Tablo 3.1. Kan Alınan Köpeklerin Yaş ve Cinsiyet Dağılımı	20
Tablo 3.2. <i>Hepatozoon canis</i> için Polimeraz Zincir Reaksiyonu Isı Döngüsü	22
Tablo 3.3. <i>A. phagocytophilum</i> için Polimeraz Zincir Reaksiyonu Isı Döngüsü	22
Tablo 4.1. <i>H. canis</i> pozitif köpek sayı ve yüzdesi	24
Tablo 4.2. PCR ile <i>H. canis</i> pozitif bulunan köpeklere ait bilgiler	24
Tablo 4.3. <i>H. canis</i> pozitif bulunan hayvanların cinsiyete göre dağılımı	26
Tablo 4.4. <i>H. canis</i> pozitif bulunan hayvanların yaş gruplarına göre dağılımı	26
Tablo 4.5. <i>H. canis</i> pozitif bulunan köpeklerin ırklara göre dağılımı	27
Tablo 4.6. <i>A. phagocytophilum</i> pozitifliği saptanan köpeklerin sayı ve yüzdesi	28
Tablo 4.7. <i>A. phagocytophilum</i> pozitif köpeklere ait bilgiler	30
Tablo 4.8. <i>A. phagocytophilum</i> pozitif köpeklerin cinsiyete göre dağılımı	30
Tablo 4.9. <i>A. phagocytophilum</i> pozitif köpeklerin yaş grubuna göre dağılımı	31
Tablo 4.10. <i>A. phagocytophilum</i> pozitif köpeklerin ırklara göre dağılımı	31

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
µm	Mikrometre
ABB	Antalya Büyükşehir Barınağı
ark	Arkadaşları
bp	Base pair (baz çifti)
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
IFAT	İndirekt Flüoresan Antikor Testi
İHH	İlgi Hayvan Hastanesi
kg	Kilogram
KN	Konyaaltı Barınağı
KP	Kepez Barınağı
mg	Miligram
MgCl₂	Magnezyum klorür
ml	Mililitre
Mm	Mikrometre
NFW	Nuclease Free Water
°C	Santigrat derece
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pmol	Pikomolar
RNA	Ribonükleik asid
rpm	Revolutions Per Minute (dakikadaki devir sayısı)
rRNA	Ribozomal RNA
sn	saniye
spp	species (türleri)

ÖZET

Antalya ili köpeklerinde *Anaplasma phagocytophilum* ve *Hepatozoon canis*'in yaygınlığının araştırılması

Hepatozoon canis köpeklerde ölümle sonuçlanabilen hastalık tablosuna neden olan kene kaynaklı protozoal bir parazittir. *H. canis* ülkemizde bulunduğu kanıtlanmış olan, köpeklerde klinik enfeksiyon oluşturan köpek hepatozoonozisine neden olur ve kozmopolit bir yayılım göstermektedir. *Anaplasma phagocytophilum* kene kaynaklı zoonotik hastalığa neden olan zorunlu intrasellüler bir parazittir ve lökositlere ilgi gösterir. *A. phagocytophilum*'un köpeklerde yaptığı hastalık hakkında ülkemizde yeterli sayıda literatür olmamakla birlikte diğer kan protozonları gibi granülositik anaplasmosis enfeksiyonu oluşturarak hematolojik bozukluklara neden olmaktadır. Ülkemizde köpeklerde hepatozoonosis ve anaplasmosis prevalansı hakkında daha önce yapılan çalışmalar mevcuttur. Bu çalışma ile de köpeklerde hepatozoonosis ve anaplasmosis tanı ve tedavi prosedürlerinin geliştirilmesi açısından katkı sağlanacağı düşünülmektedir. Bu çalışma ile Antalya ilinde sahipli ve sahipsiz rastgele seçilen asemptomatik köpeklerden ve semptom gösteren köpeklerden 120 adet kan örnekleri toplanılarak, bu materyallerde *H. canis* ve *A. phagocytophilum* varlığı PCR ile belirlendi. Bu çalışma sonucunda alınan kan örnekleri PCR ile *H.canis* ve *A. phagocytophilum* yönünden incelenmiş moleküler pozitiflik oranı *H.canis*'te %22.5, *A.phagocytophilum*'da %3,33 olarak bulunmuştur. Cinsiyet, yaş ve ırk ile *H.canis* ve *A.phagocytophilum* pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Elde edilen bu veriler ile Antalya'da köpeklerde ilk defa moleküler tabanlı bir yöntem olan PCR ile *H. canis* ve *A.phagocytophilum* varlığı ve prevalansı bildirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antalya, *Hepatozoon canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, Köpek, PCR

ABSTRACT

Investigation of *Hepatozoon canis* and *Anaplasma phagocytophilum* prevalence in dogs in Antalya province

Hepatozoon canis is a tick-borne protozoal parasite that causes fatal disease in dogs. *H. canis* causes canine hepatozoonosis, which has been proven to be present in our country, causes clinical infection in dogs and has a cosmopolitan distribution. *Anaplasma phagocytophilum* is an obligate intracellular parasite that causes tick-borne zoonotic disease and is attracted to leukocytes. Although there is not enough literature in our country about the disease caused by *A. phagocytophilum* in dogs, it causes hematologic disorders by causing granulocytic anaplosmosis infection like other blood protozoa. There are previous studies on the prevalence of hepatozoonosis and anaplasmosis in dogs in our country. It is thought that this study will contribute to the development of hepatozoonosis and anaplasmosis diagnosis and treatment procedures in dogs. In this study, 120 blood samples were collected from randomly selected asymptomatic dogs and symptomatic dogs in Antalya province and the presence of *H. canis* and *A. phagocytophilum* in these materials were determined by PCR. As a result of this study, blood samples were analyzed by PCR for *H. canis* and *A. phagocytophilum* and the molecular positivity rate was 22.5% for *H. canis* and 3.33% for *A. phagocytophilum*. There was no statistically significant difference between gender, age and race and *H.canis* and *A.phagocytophilum* positivity. These data obtained

Keywords: Antalya, *Hepatozoon canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, Dog, PCR

1. GİRİŞ

Üretim yöntemlerindeki değişiklikler ve insan ilişkilerindeki evrim, iklim kuşaklarının bölgesel değişimine bağlı olarak ortaya çıkan vektör kaynaklı hastalıkların yayılma sürecini daha da hızlandırmıştır. Bu durum, farklı coğrafyalarda gözlemlenen zoonotik hastalıkların, farklı alanlara yayılarak diğer alanlardaki hayvan ve insan sağlığını kötü etkileyebilecek bir durum yaratmaktadır. Küresel ısınmanın etkisiyle artan sıcaklıklar, kene, sinek ve diğer vektörlerin hastalık etkenlerini taşıma kapasitelerini ve yayılım alanlarını genişletmekte; bu da vektör kaynaklı zoonotik hastalıkların ve vektör kaynaklı hastalıkların daha sık görülmesine neden olmaktadır (Kara, 2012).

Dünya genelinde, insan nüfusundan sonra en yaygın canlı türü popülasyonuna sahip olan köpekler, insan nüfusunun %10'unu oluşturarak dünya çapında yayılmıştır. Bugün, koruma, avlanma, arkadaşlık ve rehberlik gibi çeşitli rolleri nedeniyle insan ve köpek ilişkisi hala büyük bir öneme sahiptir. İnsanoğlunun, köpekleriyle bir arada yaşaması zorunlu olan bu hayvanların sağlıkları da büyük bir öneme sahiptir (Dodurga, 2009).

İnsanlar ile olan yakın yaşamsal ilişkisi nedeniyle evcil köpekler başta olmak üzere çeşitli evcil ve yabani kanidlerin (köpekgiller) vektör kaynaklı hastalıkları olarak Türkçe'ye çevrilebilecek olan canine vector -borne diseases (CVBDs); etiyolojisinde kene, sivrisinek, bit, pire ve sinekler gibi omurgasız eklembacaklılar olan artropodlar tarafından bir omurgalı konaktan diğerine bulaştırılan patojenlerin (protozoon, bakteri, riketsiya, virüs, helmint) sorumlu olduğu bir grup bulaşıcı hastalıktır (Dantas-Torres, 2008; Otranto ve ark., 2015). Bunlar arasında; hepatozoonozis ve anaplazmozis oldukça yaygın olarak karşılaşılan ve mücadele edilmeye çalışılan çok önemli hastalıklar olup, hayvan sağlığının yanı sıra, anaplazmozis zoonotik özellikte olduğu için halk sağlığını da tehdit etmektedir (Otranto ve ark., 2009; 2017).

Köpeklerde görülen hepatozoonozis, kenelerin taşıdığı *Hepatozoon* cinsine ait protozoanların sebep olduğu bir hastalıktır. Bu türler, Apicomplexa şubesinde yer alır ve diğer kan paraziti piroplazmalar ile sıtma etkenleriyle benzerlik gösterir (Barta, 2001; Baneth ve ark., 2003).

Türkiye’de *Hepatozoon canis*’in varlığı kanıtlanmış olup, kozmopolit bir yayılıma sahip olan bu protozoa, köpeklerde klinik enfeksiyona neden olan bir hastalık olan köpek hepatozoonozisine yol açar (Ezekoli ve ark., 1983; Elias ve Homans, 1988; Murata ve ark., 1991; Hervas ve ark., 1995; Baneth ve ark., 1995; Güven, 2017). Kanin hepatozoonozisinde klinik belirtiler, etkenin suşuna, konak beslenme durumuna ve bağışıklık gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilir (Little ve ark., 2009).

Hepatozoon canis, dünya genelinde birçok bölgede köpeklerde ve diğer etoburlarda bildirilen, lökositlere ve parankimal dokulara yerleşen önemli bir kene kaynaklı etkidir (Craig, 1990; Baneth, 2001). Köpeklerde görülen enfeksiyonun çoğunlukla asemptomatik olduğu ve hayvanın nötrofillerinin %1-5’ine bulaşmış *H. canis* parazitemisi şeklinde gerçekleştiği sıkça bildirilmiştir (Baneth ve Weigler, 1997; Baneth ve ark., 2003; Little ve ark., 2009; Baneth, 2011)

Anaplasma phagocytophilum, zoonotik bir hastalığa yol açan, zorunlu intrasellüler bir kan parazittir ve özellikle lökositlere ilgi gösterir. Daha önce riketsiyal hastalıklar kategorisinde yer alan *Ehrlichia* ve *Anaplazma* türleri, günümüzde moleküler metodların gelişmesi ve diyagnostik analiz yöntemlerinin ilerlemesiyle birlikte taksonomileri değiştirilerek bakteri olarak yeniden sınıflandırılmıştır.

Anaplasmosis etkenleri, genellikle keneler aracılığıyla hayvanlar arasında dolaşan bir döngüde yer alır. Memeliler, bu parazitlerin doğadaki devamı ve yaşam döngüsünde kritik bir rol oynar. *Anaplasma* türlerinin ana rezervuarları genellikle memelilerdir. Özellikle hayvan kesimiyle uğraşan kasaplar arasında, kene ısırığı öyküsü olmaksızın hastalığın doğrudan inokülasyon yoluyla şekillenebileceği bildirilmiştir (Engvall ve ark., 1996; Liddell ve ark., 2003; Melter ve ark., 2007).

2. GENEL BİLGİLER

Hepatozoon canis, Apicomplexa şubesiinden bir protozoan olup, ilk kez Hindistan'da köpeklerin kanında tespit edilmiş ve *Leukocytozoon canis* olarak tanımlanmıştır (James, 1905; Cristophers, 1907). *Hepatozoon canis*, Adeleorina alt takımının Hepatozoidae (Hemogregarinidae) ailesine aittir. Bu familya sürüngenler, kuşlar ve memelilerde tanımlanmış 300'den fazla türden oluşmaktadır (Smith, 1996). Tüm *Hepatozoon* türleri aynı yaşam döngüsüne sahiptir: son konakta (kan emen bir omurgasız) gametogoni ile sporogoni ve ara konakta (bir omurgalı) gamet oluşumunu takip eden şizogoni görülmektedir. *H. canis*'in kesin konağı kahverengi köpek kenesi *Rhipicephalus sanguineus* (Cristophers, 1907), ara konakları ise köpekler ve yabani karnivorlardır.

Köpeklerde *H. canis*'in neden olduğu *Hepatozoon* enfeksiyonu Güney Avrupa (Kontos ve Koutinas. 1991; Hervas ve ark. 1995), Afrika (Ezekolli ve ark. 1983), Asya (Rajamanickam ve ark. 1985; Murata ve ark. 1991) ve Güney Amerika'da (O'Dwyer ve ark. 2001) yaygın olarak görülmektedir. Enfeksiyon, düşük parazitemi seviyesine sahip köpeklerde asemptomatiktir. Yüksek parazitemi seviyesine sahip köpeklerde ise ateş, letarji, anemi, kaşeksi ile hayatı tehdit eden ciddi bir hastalık olarak ortaya çıkmaktadır (Baneth ve Weigler, 1997).

Bazı yazarların yorumları köpek hepatozoonozisinin biyolojisi, epidemiyolojisi, patogenezi, klinik bulguları, teşhisi ve önlenmesi hakkındaki bilgileri özetlemektedir. Bununla birlikte; bulaşma yolları, dağılımı, önleme ve kontrol yöntemleri ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir (Gevrey, 1993; Craig, 1990; Baneth, 2006).

Anaplasma phagocytophilum, nötrofilleri ve eozinofilleri enfekte ederek kökeni hayvanlardan insanlara bulaşabilen zorunlu bir hücre içi parazittir (Carrade ve ark., 2009). Bu tür, granülositik anaplazmoza neden olan bir patojen olup köpeklerde (Bio'ersdorff ve ark., 1990), atlarda (Passamonti ve ark., 2010), evcil ruminantlarda, köpeklerde (Bjo'ersdorff ve ark., 1990; Jennifer ve ark., 2009), kemirgenlerde (Liz ve ark., 2000; Christova ve Gladnishka, 2005), geyiklerde (Jenkins ve ark., 2001) ve

insanlarda tespit edilmiştir (Petrovec ve ark., 1997). Köpekler, atlar ve insanlar, bu parazitin tesadüfi konakçıları olarak kabul edilmektedir. Köpeklerde granülositik anaplazmoz ilk olarak 1982 yılında Kaliforniya'da rapor edilmiş (Madewell ve Gribble, 1982) ve sonraki yıllarda bu hastalığın varlığı giderek artmıştır.

Etkeni taşıyan vektör, Avrupa'da *Ixodes ricinus*, Asya'da *Ixodes persulcatus* ve Kuzey Amerika'da *Ixodes pacificus* ile *Ixodes scapularis* keneleridir (Woldehiwet, 2010). Hastalığın yaygın olduğu bölgelerde %60'lık bir oranla seropozitif olduğu belirlenen birçok köpekte genellikle klinik belirtilere rastlanmamıştır. Ancak, enfekte köpeklerde uyuşukluk, iştahsızlık ve ateş gözlemlenir (Beall ve ark., 2008; Eberts ve ark., 2011). Anaplazmoz vakalarında splenomegali ve lenfadenopati rapor edilmiştir, bunların genellikle lenfoid hiperplaziye bağlı olduğu sonucuna varılmıştır. Anaplazmoz vakalarının büyük bir çoğunluğunda (%90), *A. phagocytophilum*'un trombositlerin yıkımına bağlı olarak trombositopeni gelişir (Eberts ve ark., 2011).

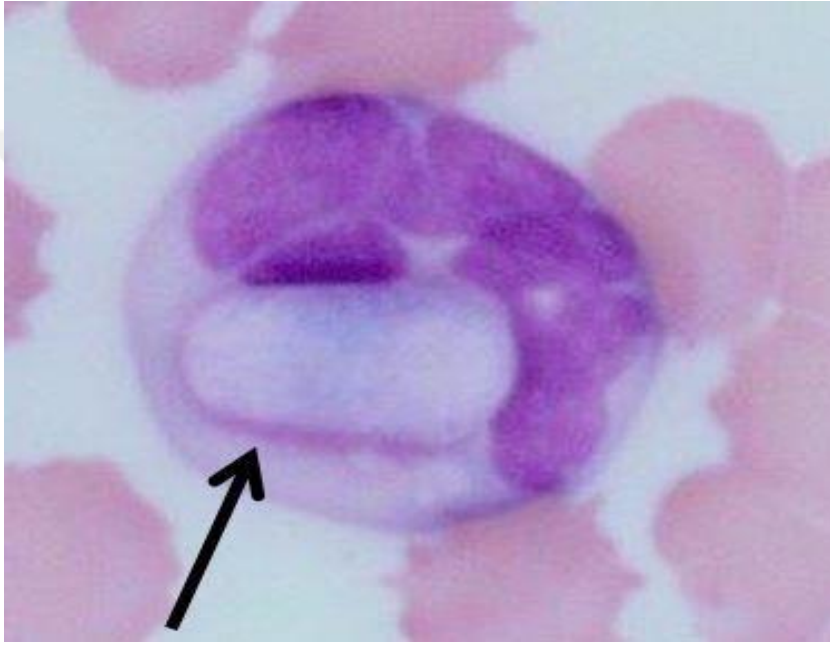
Köpeklerde *A. phagocytophilum* enfeksiyonlarının teşhisi genellikle immünfloresan antikor tekniği (IFAT) ve hızlı tanısal ELISA gibi serolojik yöntemlerle yapılır (Carrade ve ark., 2009). Son yıllarda mikroskopik ve serolojik teşhis yöntemlerine kıyasla daha yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip olan PCR yöntemi, köpeklerde anaplazmoz teşhisi için tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir. Bu teknik, parazitemisi çok düşük olan hayvanlarda bile enfeksiyonun tespit edilmesine olanak tanır ve böylece rezervuar hayvanları belirlemede yardımcı olur (Massung ve Slater, 2003; Santos ve ark., 2011; Ebani ve ark., 2013; Vargas-Hernandez ve ark., 2013; Huber ve ark., 2017).

Türkiye'de köpeklerde *Anaplasma* türleri üzerine yapılan çalışma sayısı sınırlıdır. Ege Bölgesi'nde bulunan 371 köpeğin kan örnekleri, *A. platys* ve *A. phagocytophilum* açısından Nested PCR ile incelenmiş, bu çalışmada 146'sında (%39,4) *A. platys* ve 193'ünde (%52) *A. phagocytophilum* tespit edilmiştir (Karagenç ve diğerleri, 2005). Ayrıca, *A. platys* ile ilişkili bir vaka da rapor edilmiştir (Ulutaş ve ark., 2007). Ancak, *A. phagocytophilum*'un varlığı hem potansiyel vektörlerde hem de sığır, koyun ve yabani farelerde serolojik ve moleküler yöntemlerle gösterilmiştir (Aktaş ve ark., 2010, 2011; Sen ve ark., 2011).

2.1. Hepatozoon canis

2.1.1. Morfoloji

Dolaşımdaki nötrofillerde bulunan gamontlar elips biçiminde, yaklaşık 11×4 µm büyüklüğünde ve kalın bir membran ile çevrilidir (şekil 2.1.). Merontlar genelde yuvarlak-oval, yaklaşık 30 µm çapındadır, içinde çekirdekli uzun bir mikromerozoit taşır, bunun kesiti ‘Wheel spoke’ görünümündedir (Taylor ve ark., 2007).

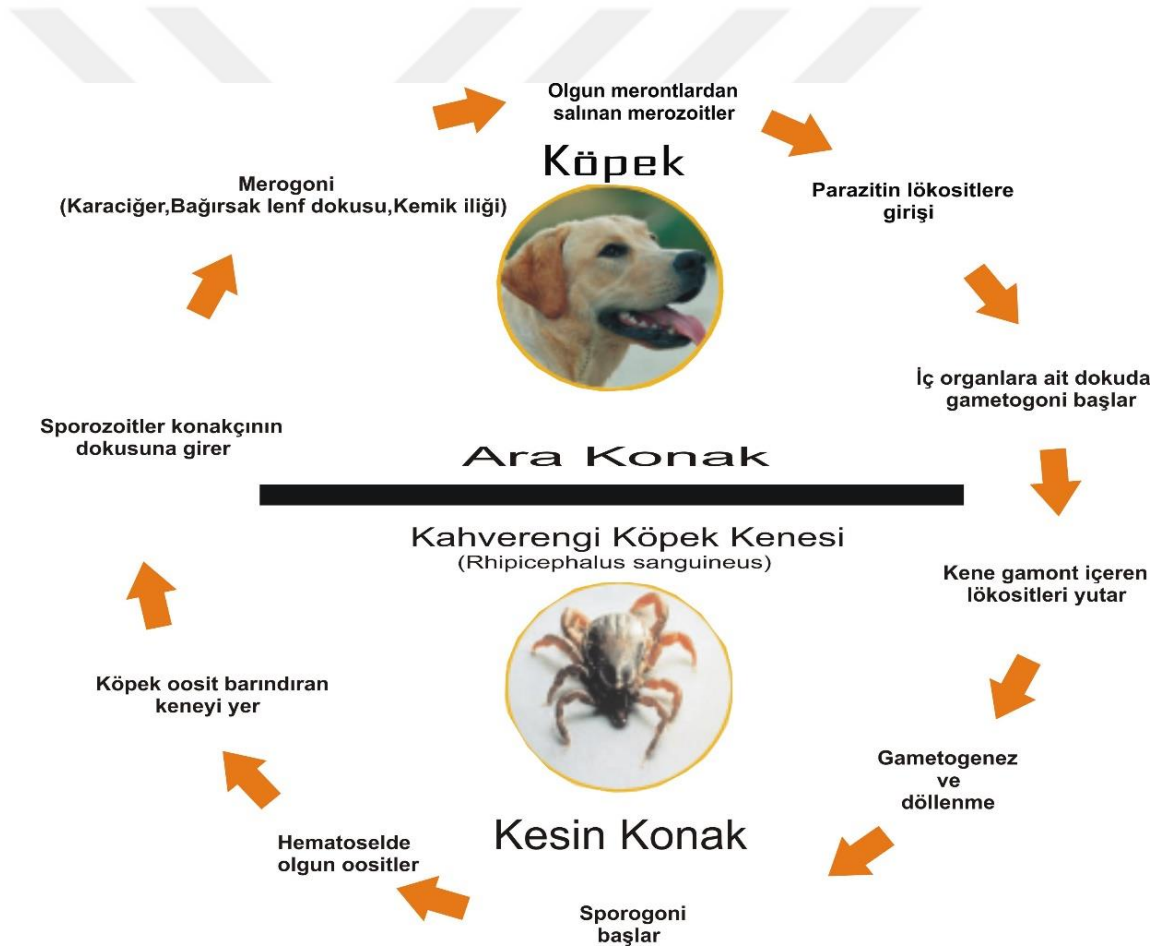


Şekil 2.1. Nötrofil içinde boyanmış *H.canis* gamontları (Barker, 2021)

2.1.2. Yaşam Döngüsü

Bu parazit, iki ayrı konakta yaşamını sürdürür. Kene, son konak olarak hizmet ederken, ara konak olan köpekte eşeysiz üreme gerçekleşir. Kene nimf evresinde, enfekte konaktan kan emerken lökositler içinde bulunan gamontları alır. Sindirim sonrasında serbest kalan gamontlar, erkek ve dişi gametlere dönüşerek zigot ve oosit oluşturur. Olgun bir oosit, içinde 10-26 sporozoit bulunan birçok sporocyst taşır. Kene, derisini değiştirdikten sonra oocystler kan dolaşımında bulunur ve her bir kene yüzlerce enfekte sporozoit taşır. Sporozoitler, vücut boşluğunda kaldıkları için köpek, keneyi yiyerek enfekte olur.

Yutulduktan sonra, serbest kalan sporozoitler oositlerden barsak duvarına girer ve hedef olan kan ve lenf dokularına ulaşır. Öncelikle dalak, lenf düğümleri ve kemik iliği enfekte olur. Meragoni, makrofaj ve endotel hücrelerinde meydana gelir. Enfekte dokularda iki tip meront bulunur; birinci tipte 2-4 makromerozoit, ikinci tipte ise 20 uzun mikromerozoit bulunur. Merontlar olgunlaşıp patladığında serbest kalan merozoitler dolaşımdaki nötrofillerin içine girer ve dolaşımdaki gamontlara dönüşür. Kene, enfekte bir konaktan kan emdiğinde yaşam döngüsü tamamlanmış olur. Köpekte enfeksiyonun gelişme süresi, gamontlar gelişene kadar yaklaşık 28 gündür (Taylor ve ark., 2007).



Şekil 2.2. *H. canis*'in yaşam döngüsü (Demirbilek, 2019)

2.1.3. Klinik Bulgular

Köpeklerde *Hepatozoon canis* enfeksiyonları üç şekilde ortaya çıkabilir: subklinik - muhtemelen en yaygın olanı; akut - ölümden yaklaşık bir hafta önce gelişen ve kronik (Barton ve ark,1985; Beaufils ve Martin-Granel, 1988). Belirtiler çok çeşitlidir ancak spesifik değildir.

Hepatozoon canis ile deneysel ve doğal olarak enfekte olan köpeklerde yapılan çeşitli çalışmalarda, en sık gözlenen klinik belirtiler anemi, zayıflama ve aralıklı ateş olmuştur (Gevrey, 1993; Craig, 1990). Birçok vakada kaşeksi, depresyon, kas hiperestezisi, pürülan konjonktivit ve rinit bildirilmiştir. Daha seyrek olarak ishal (genellikle kanlı), anoreksi, paraparezi ve paraparalizi gözlenmiştir. Nötrofillerin %5'inden daha azında gamontların bulunduğu düşük parazitemi, enfeksiyonun en sık karşılaşılan boyutudur. Genellikle asemptomatik veya hafif hastalıkla ilişkilidir. Ciddi klinik belirtiler %100'e ulaşan yüksek parazitemi için karakteristiktir ve sıklıkla belirgin lökositoz (150.000 / μ l'ye kadar) ile ilişkilidir (Baneth, 2006).

Genç hayvanlarda az gelişmiş bağışıklık sistemi, enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan ajanların neden olduğu immünosupresyon veya immün yetmezlik durumları, yeni veya kalıcı bir *Hepatozoon canis* enfeksiyonunun patogenezi üzerinde etkilidir (Hervas ve ark. 1995; Baneth ve ark. 1997; Baneth, 2001; Mylonakis ve ark. 2004). *Hepatozoon canis* ile deneysel olarak enfekte edilen köpeklerde prednizolon gibi immünosupresif ajanlarla yapılan tedavileri parazitemi takip etmektedir. Literatürde *Hepatozoon canis*'in diğer patojenlerle ciddi ko-enfeksiyonları bildirilmiştir olup bunlardan en önemlileri; parvovirüs (Hervas ve ark., 1995), *Ehrlichia canis* (Baneth ve Weigler, 1997), *Toxoplasma gondii* (Harmelin ve ark. 1992) ve *Leishmania infantum*'dur (Rioux ve ark., 1964).

2.1.4. Patolojik Bulgular

Hepatozoon canis ile enfekte köpeklerde gözlenen temel patolojik belirtiler arasında kaşeksi öne çıkar. Kas atrofisi genellikle temporal bölgede en sık ve belirgin olarak görülür. Ayrıca, anemi, hafif ikterik mukoza tabakası, hafifçe büyümüş dalak ve karaciğer de gözlemlenir. Akciğerlerde ve mide mukozasında konjestif

değişiklikler, lenfadenopati ve soluk böbrekler de rapor edilmiştir (Craig, 1984).

Histolojik olarak, şizontlar iskelet ve kalp kaslarında, lenf düğümlerinde, dalakta, karaciğerde, böbreklerde vb. bulunur (Craig, 1984). İki tip şizont tespit edilir: daha büyük mikromerozoitleri içeren mikroşizontlar ve makromerozoitlerle dolu makroşizontlar. Mikroşizontlar çeşitli organlarda daha sık ve daha yüksek oranda bulunur. Ancak merozoitler salındığında, eşit miktarda makrofaj ve nötrofil içeren yoğun bir hücre tepkisi ortaya çıkar.

İskelet kasında, gelişmekte olan mikroşizontlar olarak tanımlanan 250 µm çapında kistler ve mikroşizontlar olarak tanımlanan yaklaşık 10 µm çapında daha küçük hücreler bulunabilir. Kaslarda, muhtemelen ağrı, ateş ve periosteal proliferasyonlara neden olan nötrofil kümeleri oluşturabilirler. Bu proliferasyonlar, kemik lezyonlarını etkilenen tüm hayvanlarda göstermese de genç köpeklerde (1 yaşından küçük) daha yaygın olarak görülür (Craig, 1990).

2.1.5. Epidemiyoloji

Hepatozoon canis enfeksiyonu köpekler arasında yaygın olarak görülmektedir. Dağılımı, vektör kene *Rhipicephalus sanguineus*'un dağılımına bağlıdır ve Afrika, Güney Avrupa, Güney Amerika, Orta Doğu, Pasifik ve Hint Okyanusu adaları dahil Asya'da bulunmaktadır (Gevrey, 1993; Craig, 1990; Baneth, 2006; Craig, 1984).

Hepatozoonozis, enzootik bir hastalık olarak değişken prevalansa sahiptir. Köpeklerde *Hepatozoon canis* seroprevalansına dair ilk çalışmalar, farklı bölgelerde çeşitli yüzdeler göstermiştir: Portekiz'de %36, Nijerya'da %17,6, Hindistan'da %2,5, İsrail'de %2,3, Tayland'da %2,1 (Gevrey, 1993). Genellikle asemptomatik seyrettiği için, *Hepatozoon canis* enfeksiyonunun yaygınlığını ve yoğunluğunu belirlemek için köpeklerde bu parazitle ilgili sistematik, doğrudan ve dolaylı çalışmalar yapılması gereklidir.

Hepatozoon canis enfeksiyonunun prevalansı farklı bölgelerde önemli ölçüde değişmektedir. Brezilya'nın Rio de Janeiro eyaletindeki köpeklerin %39'unda (O'Dwyer ve ark., 2001), Nijerya'nın Zaria şehrindeki köpeklerin %22'sinde (Ezekolli

ve ark., 1983) ve Malezya'daki köpeklerin %1,2'sinde (Rajamanickam ve ark., 1985) *Hepatozoon canis* gamontları tespit edilmiştir. Ehrlichiosis, babesiosis, Lyme hastalığı gibi diğer kene kaynaklı hastalıklar gibi, endemik bölgelerde *Hepatozoon canis* ile temas, hastalığın klinik insidansından çok daha sıktır. *Hepatozoon canis* ile enfekte olan köpeklerin çoğunda muhtemelen subklinik enfeksiyonlar gelişmektedir (Baneth ve ark., 1996).

Hepatozoonozun dağılımı, kesin kene konağı olan *Rhipicephalus sanguineus* ile yakından ilişkilidir (Cristophers, 1907; Wenyon, 1911; Baneth ve ark., 2001). Bu kene üç konaklıdır ve dünya çapında en yaygın türlerden biri olarak kabul edilir (Wenyon, 1931). *Hepatozoon canis*, nimften imagoya transfazik (evreler arası) bir bulaşmaya sahiptir, ancak transovarial bulaşma gözlenmemiştir. Deneysel olarak, keneler gamont içeren kanın perkütan enjeksiyonu ile enfekte olabilir (Baneth ve ark., 2001). Japonya'da potansiyel ve ek kene vektörleri olan *Haemaphysalis longicornum* ve *Haemaphysalis flava* tespit edilmiştir (Murata ve ark., 1993). *Hepatozoon canis* ayrıca *R. turanicus* ve *Amblyomma ovale* türleri tarafından da bulaştırılmaktadır (Baneth ve Vincent-Johnson, 2016; Giannelli ve ark., 2017). Diğer bir kanin hepatozoonozis etkeni olan ve Amerika kıtasında görülen *Hepatozoon americanum* ise ABD'de *A. maculatum* (Körfez Kıyısı kene) tarafından bulaştırılmaktadır (Mathew ve ark., 1998).

Köpeklerin *Hepatozoon canis* enfeksiyonu ile cinsiyet ve yaş arasında anlamlı sonuçlar bulan çeşitli çalışmalar (Aktaş ve ark., 2015b; Pacifico ve ark., 2020) bulunmakla birlikte, yaş ve cinsiyetin kesin bir predispoze faktör olduğunu söylemek çok kolay değildir. Yenidoğandan yetişkin yaşa kadar olan hayvanlar enfekte olabilmektedir (Smith, 1996; Baneth ve Weigler, 1997; Baneth ve ark., 1996).

Hepatozoon canis enfeksiyonu vakalarının çoğu, vektörün aktivitesinin daha yüksek olduğu sıcak mevsimlerde tespit edilmiştir. Ancak muhtemelen devam eden enfeksiyonlar nedeniyle soğuk aylarda da hastalıklar gözlemlenmiştir (Baneth ve Weigler, 1997).

Hepatozoon canis'in etoburlardaki konak aralığı, evcil köpek dışında henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Diğer etoburlarda, morfolojik olarak benzer birçok *Hepatozoon* türü tespit edilmiştir, örneğin tilki- *Vulpes vulpes* gibi (Conceicao-Silva ve ark., 1988; Criado-Fornelio ve ark., 2003; Maede ve Ohsugi, 1982).

2.1.6. Teşhis

Hepatozoonoz tanısını yapmak için farklı yöntemler bulunmaktadır. Bunlar arasında, kan yaymalarında intrasitoplazmatik elipsoidal şekilli gamontların mikroskopi ile saptanması ve dokulardaki merontların ve/veya monozoik kistlerin histopatolojik olarak görüntülenmesi yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir (Klopfer ve ark.1997). Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar, bu hastalığın tanısında kullanılabilecek serolojik testlerin geliştirildiğini göstermektedir. Örneğin, anti-*H. pylori*'yi tespit etmek için kullanılan dolaylı bakteri antikor testi gibi serolojik testler, *Hepatozoon canis* antikorlarını özellikle kronik enfeksiyonlarda yüksek duyarlılığa sahip olduğunu göstermektedir (Baneth ve Shkap 2003).

Bununla birlikte, son on yılda geliştirilen moleküler teşhis yöntemleri de Hepatozoonoz tanısına önemli katkılar sağlamıştır. Özellikle hem güncel hem de geleneksel hem de gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) dayalı moleküler teşhis yöntemleri, bu protozoanın köpek popülasyonlarındaki dağılımının anlaşılmasına büyük ölçüde katkıda bulunmuştur. Pratik olarak uygulanan bu moleküler teşhis yöntemleri, Hepatozoonozun teşhisinde diğer yöntemlere göre daha duyarlı ve spesifiktir (Baneth ve ark. 1998).

Sonuç olarak hem serolojik testlerin hem de moleküler teşhis yöntemlerinin geliştirilmesi, hepatozoonoz gibi hastalıkların daha etkin bir şekilde tanınmasını ve tedavi edilmesini sağlamıştır. Bu yöntemler hem veterinerler hem de araştırmacılar için değerli araçlar olmaya devam etmektedir (Karagenc ve ark. 2006).

2.1.7. Tedavi

Günümüzde köpeklerde *Hepatozoon canis* enfeksiyonunun tedavisinde temel olarak kullanılan ilaç Imidocarb dipropionate'dir. Gamontların kanda kaybolmasını

sağlamak amacıyla 14 günlük aralıklarla 5-6 mg/kg dozunda, genellikle deri altına veya kas içine enjekte edilir. Bu tedavi genellikle bir veya iki enjeksiyonla sonuçlanır, ancak şiddetli enfeksiyonlarda tedavi süresi 8 haftadan daha uzun olabilir (Baneth ve Weigler, 1997).

Kene vektörü aracılığıyla bulaşan olası ko-enfeksiyonları tedavi etmek için Imidocarb dipropionate genellikle 21 gün boyunca günlük 10 mg/kg oral dozda Doxycycline ile birleştirilir. *Hepatozoon canis* parazitemisi düşük olan köpeklerin iyileşme oranı genellikle yüksektir ve çoğunlukla eşlik eden diğer hastalıklara bağlıdır. Yüksek parazitemi oranına sahip hayvanlarda prognoz genellikle korunmaz. Deneysel çalışmalarda, yüksek parazitemi oranına sahip köpeklerin %48'inin ancak yaklaşık 2 aylık spesifik tedaviden sonra hayatta kaldığı bildirilmiştir (Baneth ve Weigler, 1997).

Hepatozoon canis enfeksiyonunun önlenmesi, köpeklerde ve çevredeki kene popülasyonlarında etkili bir kontrolü gerektirir. Bu amaçla çeşitli akaritlerin kullanılması yaygındır. Bu ilaçlar sadece keneleri öldürerek, hayvanların düzenli temizlenmesi ve taramasıyla kene ısırıklarını engeller. Doğuştan bulaşmayı önlemek adına, enfekte köpeklerin çiftleştirilmeden önce tedavi edilmesi önemlidir. *Hepatozoon canis* enfeksiyonunun bulaşma riski nedeniyle, endemik bölgelerden gelen köpeklerin çiğ etle beslenmemesi önerilir (Baneth, 2006).

2.1.8. Halk Sağlığı

Hepatozoon canis'in doğal konakçı aralığı henüz tam anlamıyla araştırılmamıştır. Filipinler'de sadece bir rapor (Craig, 1984), bir erkekte *Hepatozoon spp.* enfeksiyonuyla ilgili bilgiler içermektedir. Bu raporda, hasta bireyin anemik ve ikterik bir durumda olduğu, kanında *Hepatozoon spp.* gamontları tespit edildiği, ancak karaciğer ve kemik iliğinde parazit bulunmadığı bildirilmiştir.

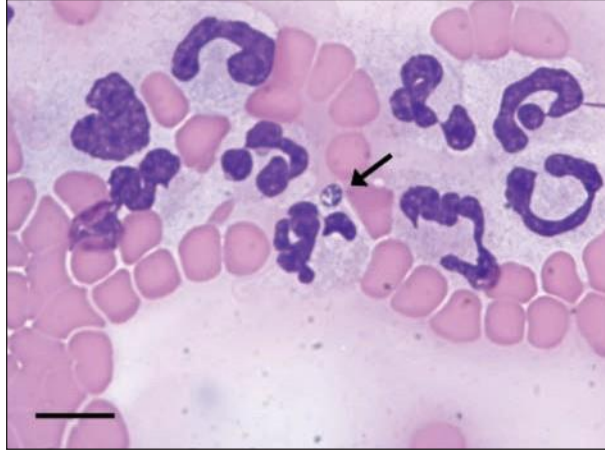
Bugüne kadar elde edilen tüm veriler, *Hepatozoon canis*'in bağışıklık sistemi güçlü insanlar için önemli bir patojen olmadığını göstermektedir. Ancak enfekte köpeklerle çalışırken veya keneleri vücutlarından çıkarırken önlemler almak önemlidir (Craig, 1984).

2.2. *Anaplasma phagocytophilum*

2.2.1. Morfoloji

Anaplasma phagocytophilum, gram-negatif, hareketsiz, kapsülsüz, spor oluşturmeyen, küçük ve zoonotik özellik gösteren, zorunlu hücre içi riketsiyal bir patojendir. Tipik olarak ortalama 0,2–2,0 µm çapında kokoid ila elipsoid şekiller sergiler. Bakteriler miyeloid hücreleri öncelikle nötrofilleri (ve bazen de eozinofilleri) enfekte ederek konakçı hücre zarından türetilen ve "morula" adı verilen 1,5-2,5 µm büyüklüğünde intrasitoplazmik kapanımlar oluştururlar (El Hamiani Khatat ve ark., 2021; Dumić ve ark., 2022). Bu kan parazitleri, membranla çevrili vakuoller içinde (morula olarak adlandırılır) kan hücreleri (nötrofil ve eozinofil) veya kan damarlarındaki endotel hücrelerinde lokalize olmuşlardır (Jensen ve ark., 2007; Kybicova ve ark., 2009). İki farklı morfoloji gözlemlenebilir, bunlar daha büyük retikülat formu ve yoğunlaştırılmış protoplazmayı içeren daha küçük, yoğun çekirdekli formdur. Memeli hücrelerinde, morulaların çapı genellikle 1-6 µm arasında değişir (Popov ve ark., 1998).

Anaplasma phagocytophilum'un nötrofil sitoplazmalarında görülebileceği en erken süre, enfeksiyondan 4 ila 18 gün sonrasında olup, bu temel organların 0-6 µm boyutları ve 4-6 µm'lik morüller içerir. Mikroskopik olarak genellikle 4-8 gün gibi kısa bir sürede tespit edilebilirler (Cockwill ve ark., 2009; Shaw ve ark., 2001; Tsachev, 2009).



Şekil 2.3. *A. phagocytophilum* ile enfekte köpeğin kan yaymasında nötrofil sitoplazması içerisinde görünen morula (Granick ve ark., 2009)

Anaplasma phagocytophilum ile doğal olarak enfekte olmuş seropozitif köpeklerin çoğu genellikle klinik belirti göstermeden sağlıklı kalır (Kohn ve ark., 2011). *A. phagocytophilum*'un dokulara yayılması ve köpeklerde subklinik/kronik hastalık belirtilerine katkı düzeyi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Deneysel olarak *A. phagocytophilum* ile enfekte edilen üç köpek, 4-6 ay boyunca izlenmiş ve çalışma süresi boyunca kan numunelerinde aralıklı olarak rickettsial DNA tespit edilmiştir (Egenval ve ark., 2000).

2.2.2. Yaşam Döngüsü

Anaplasma phagocytophilum, kene aracılığıyla transtadial olarak bulaşır ve bulaşmanın gerçekleşmesi için kenelerin konak üzerinde 36-48 saat boyunca beslenmesi gereklidir (Hodzic ve ark., 1998a; Katavolos ve ark., 1998). Bu mikroorganizma, iki farklı formda çoğalır: ilki, konak hücresel hedeflere bağlanan küçük ve koyu çekirdekli hücre formu; ikincisi ise intrasellüler olarak çoğalan ve daha sonra yoğun çekirdekli olgun hücrelere dönüşen retikülosit tarzı hücrelerdir (Popov ve ark., 2007; Popov ve ark., 1998; Lai ve ark., 2009).

Anaplasma phagocytophilum, hem vektör kene türlerinde hem de son konak olan omurgalılarda çoğalır. Omurgalı konaklarda persistan enfeksiyonlara yol açarak, bu canlıları etkenin rezervuarları haline getirir. Vektör kene türleri, etkenleri transstadial olarak aktarırlar (larva-nimf veya nimf-erişkin). Vektörler, hastalık

etkenini önceki enfekte omurgalılarından kan emerken alır ve ardından gömlek değiştirdikten sonra bir sonraki yaşam dönemlerinde diğer memelilere kan emme yoluyla bulaştırır (Paddock ve Childs, 2003).

Çeşitli gelişme dönemlerindeki vektör keneler, enfekte konaklar üzerinde beslenirken alınan etkenleri öncelikle kene barsak epiteline alır ve burada çoğalır (Ueti ve ark., 2009). Bu etkenler daha sonra, kene tükürük bezine ilerler ve buradaki epitel hücrelerine girer. Tükürük epitel hücrelerinde, etkenler ikinci bir çoğalma aşamasını geçirir. Kan emip doymuş vektör kene, gelişme dönemine göre gömlek değiştirip bir sonraki gelişme dönemine ulaştığında (doymuş larva-aç nimf veya doymuş nimf-erişkin), hastalığa duyarlı diğer omurgalı konaktan kan emerken etkenleri tükürük epitel hücrelerinden tükürük bezine naklederek bu konaktan alınan kan emme sırasında bulaştırır (Ueti ve ark., 2009).

2.2.3. Patogenez ve Klinik Belirtiler

Anaplasma phagocytophilum, ruminantlar, kemirgenler, köpekler, atlar ve insanların dolaşım sistemindeki granülosit hücrelerin sitoplazmasına yerleşir. Ayrıca, etken endotel hücrelerde de yerleşim gösterebilir. Enfeksiyon sonucunda, genellikle 4-11 gün süren inkübasyon döneminden sonra yüksek ateş, abortus (gebelik kaybı), ve kilo kaybı gibi klinik belirtiler ortaya çıkar. *A. phagocytophilum*'un insan ve hayvanlardaki klinik belirtileri genellikle ateşle birlikte lökopeni (düşük beyaz kan hücre sayısı) ve trombositopeni (düşük trombosit sayısı) ile karakterizedir. Köpeklerde ve atlarda depresyon, anoreksi (iştahsızlık), atlarda bacaklarda ödem ve ataksi (koordinasyon kaybı) gibi semptomlar görülebilir.

Enfeksiyon, bağışıklık sistemini baskılayarak sık sık sekonder enfeksiyonlara yol açabilir. Hastalığı atlatan hayvanlar aylarca taşıyıcı olarak kalabilirler. Nekropsi sırasında, dalak ve lenf düğümlerinde hipertrofi (büyüme) gözlemlenebilir (Dumanlı ve Karaer).

2.2.4. Epidemiyoloji

Anaplasma phagocytophilum, dünya genelinde geniş bir coğrafik dağılıma sahiptir ve insanlar, yaban hayvanları (kemirgenler, karnivorlar ve geyik), ve evcil hayvanlar (köpek, kedi, sığır, koyun ve atlar) dahil olmak üzere çeşitli konaklarda bulunabilir (Bakken ve ark., 1996; Dumler ve ark., 2005; Nicholson ve ark., 2010; Zhan ve ark., 2010; Rejmanek ve ark., 2012).

Anaplasma phagocytophilum'un memeli konaklara aktarılmasında en önemli vektörler, *Ixodes persulcatus* kompleksine ait kene türleridir. *Ixodes scapularis*, Kuzey Amerika'da; *Ixodes pacificus*, Amerika'nın batı kıyılarında ve *Ixodes ricinus*, Avrupa'da yaygın olarak bulunan vektörlerdir (Woldehiwet, 2010). *A. phagocytophilum*'a çok sayıda memeli duyarlı olsa da genellikle kemirgenlerin ana rezervuar olduğu kabul edilmektedir (Nicholson ve ark., 1998). Köpekler ve insanların tesadüfi konak olduğu düşünülmektedir. Bakteriyeminin kısa süreli olması nedeniyle (<28 saat), köpek ve insanların diğer önemli rezervuarlar olmadığı kabul edilmektedir (Bakken ve Dumler, 2008).

Köpeklerde *A. phagocytophilum* enfeksiyonu için risk faktörleri arasında mevsim, kene ile bulaşan diğer patojenlerin varlığı ve köpeğin ırkı sayılabilir. Hastalığın mevsimsel dağılımı, kenenin nimf ve erişkin dönemlerinin aktif olduğu sezonlar ve insanların köpekleriyle yaptıkları açık hava aktiviteleri ile yakından ilişkilidir. Köpeklerde pozitiflik oranı yaşa göre değişir ve genellikle yaşlı köpeklerde daha yüksektir. Klinik olarak hasta köpeklerin ortalama 6-8 yaşlarında olduğu belirlenmiştir. Açık hava aktivitelerinin yoğunluğu nedeniyle Golden Retriever cinsi köpeklerin *A. phagocytophilum* enfeksiyonlarına daha duyarlı olabileceği belirlenmiştir, ancak pek çok diğer köpek ırklarında da enfeksiyon bildirilmiştir (Carrade ve ark., 2009).

Farklı veya aynı türe ait kenelerin kan emmesi sırasında kene ile bulaşan diğer patojenler de köpeklere aktarılabilen ve miks enfeksiyonlara neden olabilmektedir. *A. phagocytophilum* enfeksiyonu ile diğer *Ehrlichia spp*, *Babesia spp*, *Rickettsia spp*,

Hepatozoon spp, *Bartonella spp*, *Anaplasma spp*. bulunması klinik tablonun ağırlaşmasına neden olmaktadır (Carrade ve ark., 2009; Little, 2010).

Türkiye'de, serolojik ve moleküler yöntemlerle *A. phagocytophilum*'un varlığı, potansiyel vektör kenelerde ve sığır, koyun, köpek ve yabani farelerde gösterilmiştir (Güner ve ark., 2005; Karagenç ve ark., 2005; Ongut ve ark., 2006; Gökçe ve ark., 2008; Aktas ve ark., 2010, 2011, 2012; Sen ve ark., 2011). Karadeniz bölgesinde 2008 yapılan bir çalışmada, sığırlarda %1 oranında *A. phagocytophilum* tespit edilmiş, aynı bölgede sığırlar üzerinde beslenen kenelerde ise %6,78 oranında *A. phagocytophilum* bulunmuştur (Aktas ve ark., 2011, 2012). Aynı bölgede, insanlardan toplanan kenelerde yapılan bir moleküler çalışmada, erişkin *Ixodes ricinus*'ların %17'sinde, *Ixodes spp.* nimflerinin ise %22,2'sinde *A. phagocytophilum* pozitiflik tespit edilmiştir (Sen ve ark., 2011).

Türkiye'de köpeklerde *Anaplasma* türleri üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ege Bölgesi'nde (Manisa, Marmaris, Muğla, Aydın, Selçuk, Bodrum) 371 köpeğin kan örnekleri, *E. canis*, *A. platys*, ve *A. phagocytophilum*'un varlığı açısından nested PCR yöntemiyle incelenmiştir. Bu çalışmada, 154 köpekte (%41,5) *E. canis* tespit edilmiş, 146 köpekte (%39,4) *A. platys*, ve 193 köpekte (%52,0) *A. phagocytophilum* saptanmıştır (Karagenc ve ark., 2005).

2.2.5. Tanı

Ateşin erken evrelerinde alınan kan yaymaları, ışık mikroskobu altında incelenmesi genellikle tanıyı koymak için yeterlidir. May-Grünwald Giemsa boyasıyla boyanan preparatlar, özellikle nötrofillerde bazen de monositlerde ve lökositlerde mavi sitoplazmik kalıntılar olarak görünür. (Foggie, 1951). Elektron mikroskobu ayrıca, akut *Anaplasma* enfeksiyonunu kanda veya organlarda teşhis etmek için kullanılabilir. Tek veya çoklu organizmalar daha sonra açıkça tanımlanmış sitoplazmik vakuollerle belirlenir (Tuomi ve von Bonsdorff, 1966; Rikihisa, 1991). Teşhisi doğrulamak için doku örnekleri üzerinde immüno-histokimya da gerçekleştirilebilir (Lepidi ve ark., 2000).

Kan ve doku örneklerinde *A. phagocytophilum* enfeksiyonunu tanımlamak için çeşitli PCR teknikleri kullanılmaktadır. Bu teknikler, genellikle 16S rRNA, groEL ve p44 genleri gibi belirli genler üzerinden oluşturulur (Chen ve ark., 1994; Courtney ve ark., 2004; Alberti ve ark., 2005). *A. phagocytophilum*'un farklı genetik varyantları tanımlanmıştır. Filogenetik alt grupların tanımlanması ve sınıflandırılması, hücre kültürü, deneysel enfeksiyonlar, PCR ve sıralama tekniklerine dayanmaktadır (Dumler ve ark., 2007).

2.2.6. Tedavi

Köpeklerde tedavi amacıyla, genellikle Carrade ve ekibinin (2009) belirttiği gibi, doxycycline adlı antibiyotik tercih edilmektedir. Hastalık semptomları köpeklerde birkaç gün içinde iyileşme gösterebilir, ancak tedavi genellikle 3 ila 4 hafta sürer. Hastalığın şiddetine bağlı olarak, bazı köpekler kan transfüzyonu veya intravenöz sıvı tedavisi gerektirebilir. Tedaviye bazen imidocarb dipropionate ilavesi yapılabilmektedir. Rifampin, insanlarda *A. phagocytophilum* enfeksiyonları için etkili olduğu bilinmektedir (Schaefer et al., 2008).

Anaplasma phagocytophilum'a karşı köpeğin gösterdiği immün cevap bazı hasarlara neden olabilir. Bu nedenle, immün cevaba bağlı olarak artrit ve trombosit sayısında azalma tespit edilirse, kortikosteroid kullanılması önerilebilir. Ancak, koruyucu immün cevap gelişmediğinden, tedavi sonrası tekrarlayan enfeksiyonlar oluşabilir. Ayrıca, son zamanlarda elde edilen verilere göre, tedaviyle patojenlerin tamamen temizlenemediği ve tekrarlayan enfeksiyonların meydana gelebileceği görülmektedir. Her iki durumda da, tedavinin tekrarlanması gerekmektedir (Little, 2010).

2.2.7. Halk Sağlığı

Hayvan sağlığını tehdit etmesinin yanında, zoonoz özellik göstermesi nedeniyle *A. phagocytophilum* halk sağlığını da ilgilendiren önemli bir patojendir. İnsanlarda görülen anaplazmozis (HGA-Human Granulositic Anaplasmosis), etiyolojisinde *A. phagocytophilum*'un rol oynadığı, yüksek ateş, genel miyalji, baş ağrısı ve halsizlik ile karakterize, akut ateşli bir hastalıktır (Bakken ve Dumler, 2000;

Blanco ve Oteo, 2002). Dünya’da bilinen ilk kayıtlı HGA bildirimi 1994 yılında ABD’den olmuş (Wong ve ark., 1997), Avrupa’da *A. phagocytophilum* antikorlarının bir insanda tespit edildiğine dair ilk serolojik kanıt 1995 yılında İsviçre’den gelmiş (Brouqui ve ark., 1995) ve doğrulanan ilk HGA vakası da 1997 yılında Slovenya’dan bildirilmiştir (Petrovec ve ark., 1997). Takip eden yıllarda da *A. phagocytophilum*’a karşı seropozitif raporlarda önemli bir artış olmuş ve dünyanın çeşitli bölgelerinden pek çok HGA vakası bildirilmiştir (Dumic ve ark., 2022). Türkiye’den de HGA (Ongut ve ark., 2006; Güneş ve ark., 2011b) ve bir de insanlardan toplanan *I. ricinus*’larda *A. phagocytophilum* tespit edildiği bildirimi (Aktaş ve ark., 2010) bulunmaktadır. Dolayısıyla bu patojen sadece hayvan sağlığı değil, toplum sağlığını da ilgilendirmekte olduğundan, alınacak önlemler de bu yönde olmak zorundadır.

Hastalıklara karşı korunma önlemleri alınarak bunların kontrol altına alınabilmesi için epidemiyolojik verilerin elde edilmesi ve yorumlanması son derece önem taşımaktadır. Hastalıkların epidemiyolojilerinin anlaşılması için de hastalık etkenlerinin ve varsa ara konaklarının yaygınlıklarının bilinmesi gereklidir. Bu tez çalışması da bu ihtiyaçtan yola çıkılarak planlanmıştır. Evlerde pet hayvanı olarak ya da sokaklarda sahipsiz olsun, toplumun bir parçası haline gelen köpeklerin sağlığını tehdit eden kanin hepatozoonozisin en önemli etkenlerinden olan *H. canis* ve yine hem köpeklerin önemli bir hastalığı olan kanin granulositik anaplasmosis hem de zoonoz özelliği ile insanlarda görülen human granulositik anaplasmosis etkeni olan *A. phagocytophilum*’um polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için de, daha önce sadece *A. phagocytophilum*’a ait %0,44’lük bir hızlı test kiti pozitiflik oranı bulunan çalışma (Küçük ve Şahinduran, 2018) haricinde her hangi bir veri bulunmayan, hem coğrafi ve iklimsel özellikleri ile kenelere uygun yaşam alanı sunan, hem de özellikle turizm faaliyetleri nedeniyle insan ve hayvan hareketliliğinin çok fazla olduğu ve Burdur’un önemli bir sınır komşusu olan Batı Akdeniz Bölgesi’nin önemli bir kenti olan Antalya ili seçilmiştir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmanın gerecini; yaş, cinsiyet, ırk, barınma koşulları veya sağlık durumu gibi faktörler göz önünde bulundurulmaksızın rastgele seçilmiş 120 köpeğin (Tablo 3.1.) ön kol toplardamarından EDTA'lı tüplere alınmış kan örneklerinden oluşmaktadır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Etik Onay ve Hasta Sahiplerinin Bilgilendirilmesi

Bu tez çalışması kapsamında kan örnekleri alınan köpeklerin sahipleri, yapılan araştırmayla ilgili bilgilendirilmiş ve imzalı 'Bilgilendirilmiş Onam Formu' alınmıştır. Ayrıca bu çalışma için Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na başvurularak Etik Kurul Onayı (05.10.2022 / 953) alınmıştır.

3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması

Bu tez çalışması dahilinde Antalya Merkez ve/veya diğer ilçelerden Fakültemiz Hayvan Hastanesi ile Anabilim Dalımıza ve özel veteriner kliniklerine çeşitli hastalıklar nedeniyle getirilmiş sahipli ve hayvan barınaklarda barındırılan sahipsiz köpeklerden kan örnekleri toplanmıştır. Her bir köpekten yalnızca bir kereye mahsus olmak üzere *vena cephalica antebrachii* (ön bacak toplardamarı)'den, her köpek için yeni ve kullanılmamış bir steril kanül (iğne ucu) kullanılarak 1 tüp kan örneği toplandı. Kan alınan bölgeler batikon veya benzer bir antiseptik emdirilmiş temiz pamuk ile temizlendi. Toplanan kan örnekleri, soğuk zincir ile en hızlı şekilde Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarı'na ulaştırıldı ve laboratuvar analizleri burada yürütüldü. Toplanan kan örneklerinin ticari kit yardımıyla DNA izolasyonları gerçekleştirilmiş ardından tüm DNA'lar Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile *Hepatozoon canis* ve *Anaplasma phagocytophilum* türleri yönünden taranmıştır.

Tablo 3.1. Kan Alınan Köpeklerin Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

Toplam	0-3 Yaş	3-6 Yaş	6-10 Yaş	Erkek	Dişi
120	40	58	22	64	56

3.2.3. DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu, ticari bir kit (Promega Wizard® Genomic DNA Purification Kit) kullanılarak kit içerisindeki protokole göre yapılmıştır. Buna göre; daha önceden izolasyon için 1,5 ml’lik steril ependorf içerisine ayrılmış olan 300 µl kan örneği, -20°C derin dondurucudan çıkarılarak, oda sıcaklığında çözünmesi sağlandı, vorteks yardımıyla homojenize edildi. Üzerine 900 µl Cell Lysis Solution eklenip homojenize edilerek oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 14000 rpm’de 1,5 dk santrifüj edildi. Dipteki çöküntü oynatılmadan üstteki süpernatant pipet yardımıyla uzaklaştırıldı, üzerine yeniden Cell Lysis Solution eklenerek aynı işlem yapıldı. Santrifüjden sonra süpernatant uzaklaştırıldı ve dipteki çöküntü vortekslenerek süspanse olması sağlandı. Üzerine 300 µl Nuclei Lysis Solution eklendi ve sonrasında ısı bloğu üzerinde 37°C sıcaklıkta bir saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrası tüp içerisine 100 µl Protein Precipitation Solution eklenerek yüksek ayar da vortekslendi ve devamında santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant pipet yardımıyla alındı ve içerisinde oda sıcaklığında 300 µl isopropanol bulunan başka bir 1,5 ml’lik ependorf içerisine transfer edildi. Ependorf 8-10 defa alt üst edilerek süpernatant ile isopropanolün karışması sağlandı. Oda sıcaklığında tekrar santrifüj edilerek DNA’nın küçük beyaz bir pelet şeklinde tüpün dibine yapışması sağlandı. Üstte kalan süpernatant uzaklaştırılarak pelet üzerine 300 µl %70 etanol eklendi ve etanol ile yıkanması sağlandı. Yeniden santrifüj edilerek dipteki pelet

oynatılmadan etanol uzaklaştırıldı. Tüp temiz bir kurutma kâğıdı üzerine yan şekilde bırakıldı ve kapağı açık olarak oda sıcaklığında 10-5 dk bekletilerek içerisinde kalmış olan etanolün tamamen uçması sağlandı. Sonrasında tüp içerisine 100 µL DNA Rehydration Solutation eklendi ve ısı bloğu üzerinde 65°C’de bir saat inkube edilerek DNA’nın rehidre olması sağlandı.

İnkubasyon sonrası kısa bir santrifüj ile kapakta toplanan sıvı tüpün dibine toplandı ve +4°C’de bir gece bekletilerek daha iyi bir rehidrasyon sağlandı. Elde edilen DNA hemen kullanılacaksa (birkaç hafta süre için) +4°C’de, daha uzun süre için ise -20°C’de muhafaza edildi.

3.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Hepatozoon canis tanısı için spesifik 18S ssrRNA gen bölgesinin 666 bp büyüklüğündeki korunmuş bölgeyi çoğaltan Hep-F (5’-ATACATGAGCAAAATCTCAAC-3’) ve Hep-R (5’-CTTATTATTCCATGCTGCAG-3’) primerleri kullanılarak PCR yapılmıştır (Inokuma ve ark., 2002). PCR için her bir ependorf tüpünde 2 µl hedef DNA içeren 23 µl reaksiyon karışımı hazırlandı. Bu karışımda 100 µM dNTP (deoksiniükleosidtrifosfat: dATP, dCTP, dGTP, dTTP, dUTP) (Solis BioDyne OÜ Estonia), 25 pmol forward-reverse primerleri (100pmol/µl), 1.25 U Taq DNA Polymerase hot FIRER ol 5U/ µl (Solis BioDyne OÜ Estonia), 25 mM MgCl₂ (Solis BioDyne OÜ Estonia), 10 × PCR buffer (200 mM Tris-HCL, pH 8,3 (25 °C); Nuclease Free Water (NFW) kullanıldı. PCR protokolü Tablo 3.2.’deki gibi hazırlandı ve amplifikasyon Maxilab PCR96(Maxilab Biotechnology, Türkiye) cihazında gerçekleştirildi.

Anaplasma phagocytophilum birinci basamak PCR amplifikasyonu, 16S subunit rRNA geninin 919 bp’lik kısmını çoğaltmak için ge3a - ge10r primer çifti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonu final hacimi 25 µl olacak şekilde 1,5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP’s, 1,5 U Hotstart Taq DNA polimeraz (VitaTaq®, Procomcure Biotech, Salzburg Avusturya), 25 µM ileri ve geri yönlü primerler (ge3a - ge10r) ve 1 µl şablon DNA (10-20ng) kullanılarak yapılmıştır. PCR protokolü Tablo

3.3.'deki gibi hazırlandı ve amplifikasyon otomatik termal ısı döngüleyici (thermalcycler) cihazında (Veriti; Applied Biosystems, Foster City, CA, ABD) gerçekleştirildi. Elde edilen PCR ürünlerinden 1 µl örnek ikinci basamak PCR'da kullanılmıştır. İkinci basamak PCR final hacmi 50 µl olacak şekilde birinci basamak PCR reaksiyonunda kullanılan oranlarda hazırlanmıştır. Türe özgü nested PCR, 16S subunit rRNA geninin 546 bp'lik kısmını çoğaltan ge9F ve ge2 primer çifti kullanılarak birinci basamak PCR koşullarında gerçekleştirilmiştir. Her bir PCR reaksiyonu gerçekleştirilirken pozitif ve negatif kontrol örnekleri kullanılmıştır.

Tablo 3.2. *Hepatozoon canis* için Polimeraz Zincir Reaksiyonu Isı Döngüsü

PCR aşamaları	Ön Denatürasyon	Denatürasyon-Primer Bağlanması- Uzama	Son Uzama
Döngü sayısı, Sıcaklık ve Süreler	1x [95°C'de 12dk]	35x [94°C'de 50sn; 50°C'de 50 sn; 68°C'de 30 sn]	1x [68 °C 10dk]

Tablo 3.3. *A. phagocytophilum* için Polimeraz Zincir Reaksiyonu Isı Döngüsü

PCR aşamaları	Ön Denatürasyon	Denatürasyon-Primer Bağlanması- Uzama	Son Uzama
Döngü sayısı, Sıcaklık ve Süreler	1x [95°C'de 5dk]	35x [94°C'de 50sn; 55°C'de 50 sn; 72°C'de 1dk]	1x [72C 10dk]

3.2.5. PCR ürünlerinin jel elektroforez yöntemi ile moleküler ağırlıklarına göre ayrılması ve ultraviyole (UV) ışık altında görüntülenmesi

Polimeraz Zincir Reaksiyonu ürünlerinin moleküler ağırlıklarına göre ayrılması için %1,5'lik Agaroz jel elektroforezis yöntemi kullanıldı. Agaroz jel, 1x TAE (Tris-asetik asit-EDTA) tamponu ile hazırlandı. PCR ürünlerinden her biri için 25 µl'lik son hacimden 9 µl alındı ve steril parafilm üzerinde bir damla yükleme boyası (6x loading dye) ile karıştırıldı, ardından ilgili kuyucuklara yüklendi. Örneklerin moleküler ağırlıklarını belirlemek için her sıranın başına, ortasına ve sonuna 3 µl hacminde moleküler ağırlık standardı (molecular weight marker) (abm 100bp Plus

Opti-DNA Marker) yüklendi. Ürünler, ortalama yarım saat boyunca 120 voltluk elektroforeze tabi tutuldu ve moleküler ağırlıklarına göre ayrıldı. Ardından jel, ultraviyole ışık altında görüntülendi ve örneklerin pozitiflikleri belirlendi.



Şekil 3.1. PCR agaroz jele yüklenmesi

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistik analizi SPSS 15.00 paket programı yardımıyla yapılmıştır. Yaş, cinsiyet ve ırk parametreleri ile parazit varlığı arasındaki ilişki Chi-Square testi ile karşılaştırılmış, $P < 0,05$ olan değerler istatistik açıdan önemli olarak değerlendirilmiştir

4. BULGULAR

4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Bulguları

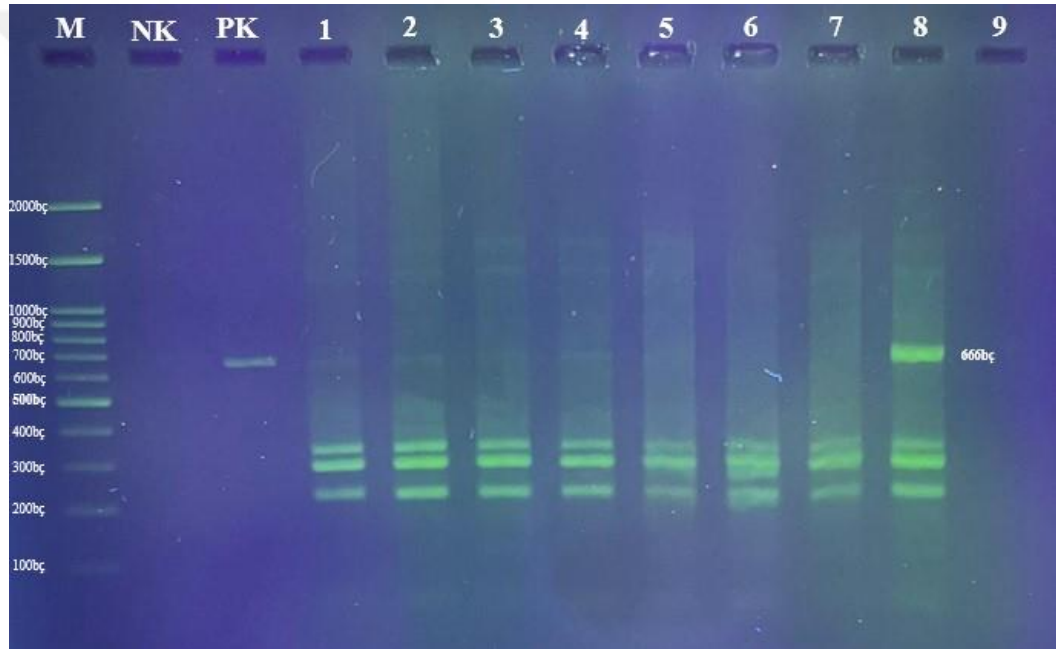
Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile araştırılan 120 köpeğe ait kan örneklerinin 27'sinde *Hepatozoon canis* DNA' sına rastlanılmış, böylece *Hepatozoon canis* tür düzeyinde pozitiflik oranı %22,5 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1.). *H. canis* 18S

ssrRNA'sına ait 666 bp (base pair-baz çifti) büyüklüğündeki bölgenin çoğaltıldığı PCR ürünlerine ait agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 4.1.'de görülmektedir.

Tablo 4.1. *H. canis* pozitif köpek sayısı ve yüzdesi

İncelenen köpek sayısı	<i>H. canis</i> pozitif köpek sayısı ve yüzdesi
120	27 (%22,5)

Hepatozoon canis yönünden pozitif bulunan örneklerle ait bilgiler Tablo 4.2.'de görülmektedir.



Şekil 4.1. *H. canis* 18S ssrRNA'sına ait 666 bp (base pair-baz çifti) büyüklüğündeki bölgenin çoğaltıldığı PCR ürünlerine ait agaroz jel elektroforez görüntüsü (M: 100 baz çifti marker, NK: negatif kontrol, PK: pozitif kontrol, 1,2,3,4 zayıf pozitif, 8 güçlü pozitif, 5,6,7 ve 9 negatif örnekler).

Tablo 4.2. PCR ile *H. canis* pozitif bulunan köpeklerle ait bilgiler

Örnek No	Yaş	Cinsiyet	İrk
KN-1	3	Dişi	Melez
KN-2	9	Dişi	Melez
KN-8	3	Dişi	Melez
KN-12	6	Dişi	Terrier
KN-28	8	Erkek	Melez
ABB-1	5	Erkek	Melez
ABB-3	4	Erkek	Melez
ABB-4	4	Dişi	Melez
ABB-7	2	Erkek	Pointer
ABB-16	4	Erkek	Melez
ABB-17	3	Dişi	Melez
ABB-19	4	Dişi	Çoban Köpeği
ABB-22	10	Erkek	Melez
ABB-25	5	Erkek	Çoban Köpeği
ABB-28	3	Dişi	Melez
ABB-43	8	Erkek	Melez
ABB-46	5	Dişi	Melez
ABB-50	3	Dişi	Çoban Köpeği
İHH-2	5	Erkek	Melez
İHH-14	6	Dişi	Golden
İHH-15	7	Erkek	Melez
KP-1	3	Erkek	Çoban Köpeği
KP-2	1	Erkek	Çoban Köpeği
KP-7	5	Erkek	Çoban Köpeği
KP-10	4	Erkek	Çoban Köpeği
KP-11	8	Erkek	Çoban Köpeği
KP-20	4	Dişi	Labrador

Kan örnekleri incelenen köpeklerin cinsiyet ile *H. canis* PCR pozitifliği arasındaki ilişkiye bakıldığında; dişi köpeklerde % 18,75 (12/64), erkeklerde ise %26,78 (15/56)'lık bir oran tespit edilmiştir (Tablo 4.3). Cinsiyetler arasındaki pozitiflik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (P= 0,293).

Tablo 4.3. *H. canis* pozitif bulunan hayvanların cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	İncelenen köpek sayısı	<i>H. canis</i> pozitif köpek sayısı	<i>H. canis</i> pozitif köpek yüzdesi	P
Dişi	64	12	% 18,75	0,293
Erkek	56	15	% 26,78	

NS: nonsignificant (P > 0.05). *: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001

Yaş gruplarına göre *H. canis* pozitifliğinin dağılımı Tablo 4.4’de görülmektedir. Buna göre 0-3 yaş aralığında sekiz, 3-6 yaş aralığında 13 ve 6-10 yaş aralıklarında altı köpek pozitif bulunmuştur. Yaş grupları arasındaki pozitiflikler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (P değeri; 0-3 ve 3-6 yaş gruplarının karşılaştırılmasında 0,775; 0-3 ve 6-10 yaş gruplarının karşılaştırılmasında 0,512; 3-6 ve 6-10 yaş gruplarının karşılaştırılmasında ise 0,648 bulunmuştur).

Tablo 4.4. *H. canis* pozitif bulunan hayvanların yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Aralığı (Yıl)	İncelenen Köpek Sayısı	<i>Hepatozoon canis</i> pozitif Köpek Sayısı	<i>Hepatozoon canis</i> pozitif Köpek Yüzdesi
0-3	40	8	%20
3-6	58	13	%22,41
6-10	22	6	%27,27
P			> 0,05

NS: nonsignificant (P > 0.05). *: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001

Köpek ırkları ile *H. canis* pozitifliği arasındaki ilişkinin verildiği Tablo 4.5.’de görüldüğü üzere melez köpeklerde %21,62 (16/74), çoban köpeklerinde %33,33 (7/21), pointer ırk köpeklerde %16,66 (1/6), golden retriever ırkı köpeklerde %20 (1/5), terrier ırkı köpeklerde %33,33 (1/3), labrador ırkı köpeklerde yine %33,33 (1/3) pozitiflik oranları bulunmuştur. Pointer ve alman kurdunda pozitifliğe rastlanmamıştır. Melez ırk ve çoban köpeği ırklarında pozitif bulunan hayvan sayılarının istatistiksel analizinde herhangi bir anlamlı farklılığa rastlanmazken, örneklem sayıları melez ve

çoban köpeği harici ırklarda istatistiksel analiz için yetersiz olduğu için ki-kare testi ile P değeri elde edilememiştir.

Tablo 4.5. *H. canis* pozitif bulunan köpeklerin ırklara göre dağılımı

İrk	İncelenen köpek sayısı	<i>H. canis</i> pozitif köpek sayısı	<i>H. canis</i> pozitif köpek yüzdesi	P
Melez	74	16	%21,62	0,269
Çoban Köpeği	21	7	%33,33	
Pointer	6	1	%16,66	
Pitbull	5	0	0	
Golden Retriever	5	1	%20	
Terrier	3	1	%33,33	
Labrador	3	1	%33,33	
Alman Kurdu	3	0	0	

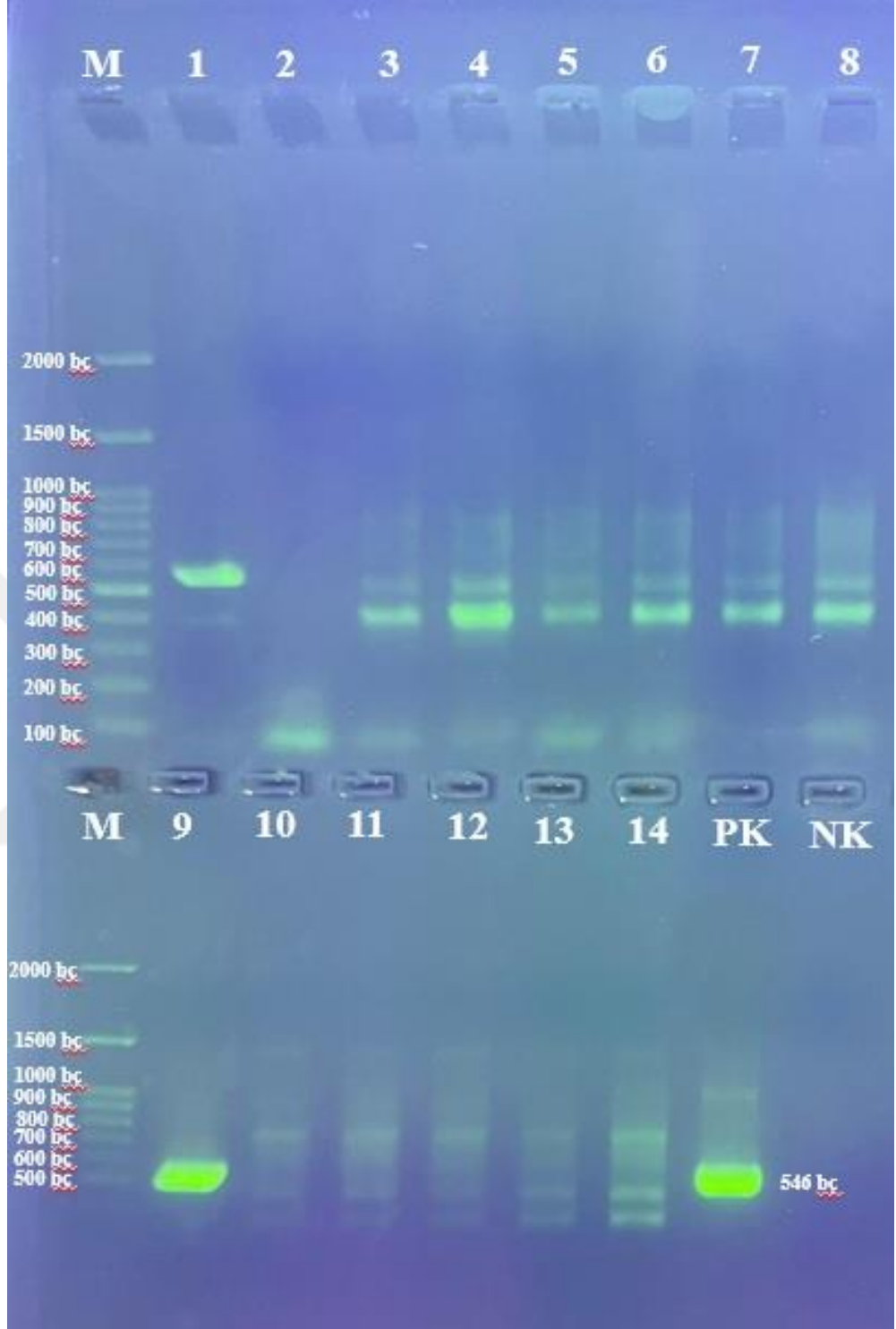
NS: nonsignificant ($P > 0.05$). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile incelenen 120 köpeğe ait kan örneklerinin dördünde *A. phagocytophilum* DNA'sına rastlanılmıştır. Böylece *A. phagocytophilum* tür düzeyinde pozitiflik oranı %3,33 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.6.). *A. phagocytophilum* 16S subunit rRNA geninin 546 bp'lik (base pair-baz çifti) büyüklüğündeki bölgenin çoğaltıldığı nested PCR 2. Basamak PCR ürünlerine ait agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 4.2.'de görülmektedir. Nested-PCR 1. Basamakta bant görülemediği için ona ait jel görüntüsü eklenmemiştir.

Tablo 4.6. *A. phagocytophilum* pozitifliği saptanan köpeklerin sayı ve yüzdesi

İncelenen köpek Sayısı	Pozitif köpek sayı ve yüzdesi
120	4 (%3,33)





Şekil 4.2. *A. phagocytophilum* 16S subunit rRNA geninin 546 bp'lik (base pair-baz çifti) büyüklüğündeki bölgenin çoğaltıldığı nested PCR 2. Basamak PCR ürünlerine ait agaroz jel elektroforez görüntüsü (M: 100 baz çifti marker, NK: negatif kontrol, PK: pozitif kontrol , 1,9 pozitif, 2-8, 10-14 negatif örnekler) (araştırılan örneklerde, muhtemel DNA ekstraksiyon aşamasında gerçekleşmiş olabilecek manüplasyon hatası veya kit kaynaklı olabilecek nonspesifik bağlanma bantları görülmekte).

Tablo 4.7.'de görüldüğü gibi ABB-8, ABB-10, KP-5 ve KP-13 nolu köpekler *Anaplasma phagocytophilum* yönünden pozitif bulunmuştur.

Tablo 4.7. *A. phagocytophilum* pozitif köpeklere ait bilgiler

Örnek No	Yaş	Cinsiyet	İrk
ABB-8	4	Erkek	Melez
ABB-10	2	Erkek	Melez
KP-5	5	Dişi	Çoban
KP-13	4	Dişi	Çoban

Kan örnekleri incelenen köpeklerin cinsiyet ile *A. phagocytophilum* PCR pozitifliği arasındaki ilişkiye bakıldığında; dişi köpeklerde %3,12 (2/64), erkeklerde ise %3,57 (2/56)'lık bir oran tespit edilmiştir (Tablo 4.8.). Cinsiyetler arasındaki pozitiflik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (P=0,920).

Tablo 4.8. *A. phagocytophilum* pozitif köpeklerin cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	İncelenen Köpek Sayısı	Pozitif köpek sayısı	Pozitif köpek yüzdesi	P
Dişi	64	2	%3,12	0,920
Erkek	56	2	%3,57	

NS: nonsignificant (P > 0.05). *: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001

Yaş gruplarına göre *A. phagocytophilum* pozitifliğinin dağılımı Tablo 4.9.'da görülmektedir. Buna göre 0-3 yaş aralığında bir, 3-6 yaş aralığında üç köpekte pozitiflik saptanırken 6 yaş ve üstü hiçbir köpekte pozitifliğe rastlanılmamıştır. Yaş grupları arasındaki pozitifliklerde 0-3 ve 3-6 yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken (P=0,511), 6 yaş üstü köpeklerde pozitiflik görülmediği için istatistiksel analiz yapılamamıştır.

Tablo 4.9. *A. phagocytophilum* pozitif köpeklerin yaş grubuna göre dağılımı

Yaş Aralığı (Yıl)	İncelenen Köpek Sayısı	Pozitif köpek sayısı	Pozitif köpek yüzdesi	P
0-3	40	1	%2,5	0,511
3-6	58	3	%5,17	
>6	22	0	0	

NS: nonsignificant ($P > 0.05$). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

Köpek ırkları ile *A.phagocytophilum* pozitifliği arasındaki ilişkinin verildiği Tablo 4.10.'da görüldüğü üzere melez köpeklerde %2,70, çoban köpeklerinde %9,52 pozitiflik oranları bulunurken diğer ırk köpeklerde pozitifliğe rastlanılmamıştır. ırklara göre pozitif bulunan köpek sayısı istatistiksel analiz yapmak için yetersiz olduğu için ki-kare testi ile P değeri elde edilememiştir.

Tablo 4.10. *A. phagocytophilum* pozitif köpeklerin ırklara göre dağılımı

İrk	İncelenen köpek sayısı	Pozitif köpek sayısı	Pozitif köpek yüzdesi
Melez	74	2	%2,70
Çoban Köpeği	21	2	%9,52
Pointer	6	0	0
Pitbull	5	0	0
Golden Retriever	5	0	0
Terrier	3	0	0
Labrador	3	0	0
Alman Kurdu	3	0	0

5. TARTIŞMA

Türkiye, önemli derecede sokak köpeği nüfusuna sahip bir ülkedir ve bu sokak köpeklerine yönelik antiparaziter uygulamalar, aşılama ve kısırlaştırma gibi veteriner hekimlik hizmetleri belediye geçici hayvan bakım birimleri tarafından yürütülmektedir. Ancak, bu hayvan bakım birimlerinin, bazı şehirlerdeki yoğun popülasyon nedeniyle tüm sokak köpeklerine yeterli bakım sağlayamadığı da bir gerçektir. Özellikle son yıllarda bu sahipsiz ve sokakta yaşayan köpeklerin hem kendi sağlık ve refahları hem de toplum sağlığına etkileri konusunda oldukça yoğun tartışmalar yaşanmaktadır. Bu hayvanlar hem sağlıksız ve zor koşullarda yaşamakta, hem zaman zaman insanlara karşı saldırgan tavırlar göstermekte hem de zoonoz patojenlere rezervuarlık yapmaktadırlar. Çeşitli artropod enfestasyonlarına maruz kalan özellikle sokak köpekleri, CVBD'lerden muzdarip olup, bu patojenlerin köpek ve insan konakçıları ve vektörler için rezervuarı olarak hizmet etmekte ve ayrıca enfekte vektörlerin mekanik taşıyıcılığını da yapmaktadırlar (Khatat ve ark., 2021). CVBD'ler, özellikle tropikal iklimlere sahip ülkelerde köpek ve insan sağlığı ve refahı için önemlidir. CVBD'ler üzerine yapılan çalışmalar son birkaç on yılda çeşitli ülkelerde (Dantas-Torres 2008; Bowman ve ark., 2009; Little ve ark., 2021; Qurollo ve ark., 2014; Traversa ve ark., 2017; Manoj ve ark., 2020; Diaz-Reganon ve ark., 2020) ve Türkiye'de (Karagenç ve ark., 2006; Paşa ve ark., 2009; Düzlü ve ark., 2014; Aktaş ve ark., 2015ab; Çetinkaya ve ark., 2016; Guo ve ark., 2017) artış göstermiştir.

Köpeklerin en önemli kan hastalıklarından biri olan hepatozoonozise; bir apikompleksan protozoon olan *Hepatozoon* türleri sebep olurken, bu cins içerisinde en sık karşılaşılan tür ise *Hepatozoon canis*'dir. Keneler yoluyla bulaşan bu protozoonlar omurgalı konağının lökosit, hemolenfatik dokular, kas ve parankimal organlarını enfekte ederler (Baneth ve ark., 1996; 2003; Baneth ve Weigler, 1997). *H. canis*'in gametogoni (eşey hücrelerinin farklılaşmaya başlaması) ve sporogoni aşamaları son konak olarak kabul edilen *Rhipicephalus sanguineus*'da (kahverengi köpek kenesi), singami (fertilizasyon) ve merogoni aşamaları ise ara konak köpeklerde veya diğer kanidlerde gerçekleşir. *H. canis* yaşam döngüsünün en ilginç ve benzersiz özelliği, parazitin köpeklere bulaşmasının, parazitin olgun ookistlerini (enfektif sporozoitler içeren) içeren bütün veya parçalanmış bir kenenin yutulmasıyla gerçekleşmesidir

(Baneth ve ark., 2001; 2007). Hastalığın klinik belirtileri düşük parazitemi ile asemptomatik olabilirken, yüksek parazitemili ağır vakalarda, ateş, halsizlik, anemi ve zayıflama gibi bulgularla seyrederek ölümcül de olabilir (Baneth ve Weigler, 1997).

Hastalıklardan popülasyon düzeyinde korunabilmek için öncelikle hastalığın etiyolojisi iyi tanımlanmalı ve hastalıkla ilgili epidemiyolojik veriler elde edilmelidir. Bu çalışmanın konusunu oluşturan *H. canis* ve *A. phagocytophilum* omurgasız konak olan keneler ile omurgalı konaklar arasında geçiş yaparak yaşam döngüsünü tamamlayan parazitler oldukları için bunların hem omurgalı hem de omurgasız konaklardaki yayılışlarının araştırılması daha doğru epidemiyolojik bilgiye ulaşmak açısından uygun olacaktır.

Yapılan literatür taraması sonucunda Türkiye’de *H. canis* varlığı ve köpek ve kene popülasyonlarının *H. canis* ile enfekte olma yüzdelerine ilişkin veri sunan çalışmalar olduğu görülmüştür. Türkiye’den köpeklerde *H. canis* bildirimleri bulunan çeşitli çalışmalar (Tüzdil, 1933; Voyvoda ve ark., 2004; Kırıl ve ark., 2005; Paşa ve ark., 2009) bulunmasının yanı sıra çeşitli tanı yöntemleri kullanılarak saptanan *H. canis* prevalans bildirimleri de bulunmaktadır. Köpek kanlarından hazırlanan frotilerin mikroskopik bakı yöntemi ile incelenmesi yardımıyla; Karagenç ve ark., (2006) Ege Bölgesi’nde %10,6, Aktaş ve ark., (2015b) dokuz farklı ili kapsayan çalışmalarında %1, Orkun ve ark., (2017) Ankara’da %3,8 oranlarında *Hepatozoon* spp. prevalansı bildirmiş, Bölükbaş ve ark., (2016) Samsun’da incelenen 200 köpek kan örneğinde mikroskopik olarak *Hepatozoon* spp. gamontlarına rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Moleküler tanı yöntemlerinden yararlanılan çalışma sonuçlarına bakıldığında; Ege Bölgesi’nden (Aydın Merkez, Kuşadası, Selçuk, Manisa Merkez, Bodrum ve Marmaris) PCR yöntemi ile köpek kanlarında %25,6 (Karagenç ve ark, 2006), Kayseri yöresinden köpeklerden real-time PCR yöntemi ile %5,4’lük (Düzlü ve ark, 2014) *H. canis* prevalansları bildirilmiştir. Diyarbakır’da sokak köpeklerinden toplanan kan örneklerinin PCR ile taranması sonucunda %15,87’lik bir *H. canis* yayılımı bildirilmiştir (Aktaş ve ark., 2013). Yine Diyarbakır’da yürütülmüş bir diğer çalışma sonucunda Reverse Line Blot (RLB) Hybridisation yöntemi kullanılarak sokak

köpeklerinde %54,3'lük bir başka yayılım bildirimi daha bulunmaktadır (Aktaş ve Özübek, 2017). Sakarya, Kocaeli, Mersin, Giresun, İzmir, Elazığ, Erzurum, Ankara, ve Nevşehir illerini kapsayan bir başka çalışmanın sonuçlarına göre PCR ile incelenen köpek kanlarında %22,3 *H. canis* DNA'sına rastlandığı bildirilmiştir (Aktaş ve ark., 2015b). Konya ve Karaman illerinden toplanan köpek kanlarının cins düzeyinde PCR ile incelenmesi sonucunda %3,61 oranında *Hepatozoon* spp. yayılımı bildirilmiştir (Aydın ve ark, 2015). Bir diğer çalışma sonucunda Samsun'dan toplanan 200 köpek kan örneğinin yalnızca birinde (%0,5) PCR ile *H. canis* pozitifliği saptanmıştır (Bölükbaş ve ark., 2016). Konya'da yürütülmüş bir çalışmaya göre köpeklerden %4,2 oranında *Hepatozoon* spp. bildirimi yapılmıştır (Guo ve ark., 2017). Erzurum'da yapılan bir başka çalışma sonucunda PCR ile sırasıyla %27,1 (36/133) ve %5,3 (7/133) oranlarında *Hepatozoon* spp. ve *H. canis* pozitifliği tespit edilmiştir (Güven ve ark., 2017). Ankara'dan toplanan köpek kan örneklerindeki *H. canis* pozitifliği PCR yöntemi ile %49,5 olarak saptanmıştır (Orkun ve ark, 2018). Mersin, Adana, Hatay, Gaziantep ve Batman illerinden toplanan köpek kan örneklerinin çeşitli kan parazitleri yönünden moleküler olarak araştırıldığı bir çalışma sonucuna göre yalnızca bir köpekte (%0,5) *H. canis* DNA'sı tespit edilmiştir (Aslantaş ve ark., 2020). Sivas'tan toplanan sahipli 150 köpek kan örneğinin PCR ile araştırıldığı bir çalışmada %44,67 oranında *Hepatozoon* spp. pozitifliği saptanmıştır (Erol ve ark., 2021). Siirt'te toplanan 75 köpek kan örneğinin PCR taramasında %9,33'lük bir *H. canis* prevalansı bulunduğu bildirilmiştir (Çelik ve ark, 2022). Bir başka çalışmada ise Batman ve Van'dan toplanan 197 sokak köpeği kan örneklerinin hiçbirinde (%0) geleneksel PCR yöntemi ile *H. canis* pozitifliği tespit edilemediği bildirilmiştir (Oğuz ve ark, 2022). Literatür araştırması sonucunda, bu çalışmanın yürütüldüğü Antalya ilinde kanin hepatozoonozis epidemiyolojisine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamış, dolayısıyla bu çalışma Antalya'da yürütülen ilk kanin hepatozoonozis prevalans ve epidemiyoloji çalışması ve Antalya'da köpeklerden ilk *H. canis* bildirimi olmuştur. Bu çalışma sonucunda Antalya'da incelenen köpeklerin %22,5 gibi yüksek bir yüzdesinde *H. canis* pozitifliği bulunmuştur. Bu çalışma ile elde edilen *H. canis* veya *Hepatozoon* spp. moleküler prevalansının (%22,5), Türkiye'de yapılan diğer çalışma sonuçlarından bazıları ile (Karagenç ve ark., 2006; Aktaş ve ark., 2015b; Güven ve ark., 2017) oldukça benzerlik gösterdiği, önemli bir bölümünden (Düzlü ve ark, 2014;

Aktaş ve ark., 2013; Aydın ve ark, 2015; Bölükbaş ve ark., 2016; Guo ve ark., 2017; Güven ve ark., 2017; Aslantaş ve ark., 2020; Çelik ve ark, 2022; Oğuz ve ark, 2022) daha yüksek olduğu, bazı sonuçlara (Aktaş ve Özübek, 2017; Orkun ve ark, 2018; Erol ve ark., 2021) göre ise düşük kaldığı görülmektedir. Farklı bölgelerden farklı sonuçların elde edilmiş olmasında; hastalık etkeninin ve etkenin yaşam döngüsünde rolü bulunan ara ve son konak popülasyonlarının bölgedeki yayılışı, insan ve hayvan hareketleri, vektör artropod mücadelesinin sürdürülebilir şekilde yapılması veya yapılmaması, hava sıcaklığı ve iklim değişikliği, örneklem sayısı, örnek toplanan mevsim, araştırma yöntemi gibi faktörlerin rolü çok önemlidir. Bu çalışmada da subtropik iklim kuşağında yer alan ve sıcak bir iklime sahip olması nedeniyle vektör artropodlar için uygun bir yaşam alanı olan, aynı zamanda kalabalık nüfusu ve hareketli yaşamı ile sokak köpeklerinin de yoğun olduğu Antalya ilinde yürütüldüğü, örneklenen hayvanların önemli bir bölümünün belediye hayvan barınaklarında geçici olarak barındırılan sahihsiz sokak köpekleri olduğu için yüksek bir prevalans değeri ile karşılaşıldığı düşünülmektedir. Kene mücadelesi amacıyla çevre ilaçlamasının; kenelerin yaşam alanları, beslenme alışkanlıkları ve biyolojileri nedeniyle etkili olmaması, çevre kirliliğine ve ekolojik dengenin bozulmasına sebep olabilmesi, gereksiz maliyet gibi sebeplerle tavsiye edilmemektedir (Aktaş, 2015). Bu nedenle, kenelerin beslenebilme olanağını artıran sahihsiz sokak hayvanı popülasyonlarını etik ve ahlaki ilkelere uygun yöntemlerle (yoğun kısırlaştırma, korunma ve tedavi amaçlı antiparaziter ilaç ve aşı uygulamaları, sahiplendirme gibi) mümkünse sıfırlamak veya kontrol edilebilir seviyelere indirmek, sahipli hayvanların da antiparaziter uygulamaları ve düzenli kontrolleri yapılarak ektoparaziter enfestasyonların önlenmesi, bu patojenlerle mücadele için hala en önemli seçenekler olarak karşımızda durmaktadır.

Kanın hepatozoonozis epidemiyolojisinde en önemli faktörlerden biri de vektör kene yaygınlığıdır. Yapılan bazı çalışmalarda köpeklerin yanı sıra bu köpekleri enfeste etmiş olan kene türlerinin de tanımlanarak, *Hepatozoon* spp. veya *H. canis* ile enfekte olma durumlarının araştırıldığı görülmektedir. Örneğin; Kırıl ve ark., (2005) yaptıkları çalışmanın materyalini oluşturan *H. canis* ile enfekte köpeklerin üzerinden *Rhipicephalus sanguineus* topladıklarını ancak enfekte olmayan sağlıklı köpeklerin

üzerinde keneye rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Aktaş ve ark., (2013); köpeklerin üzerinden topladıkları farklı gelişim aşamalarındaki toplam 328 *R. sanguineus*'u cinsiyet ve gelişim aşamalarına göre havuzlara ayırarak *Hepatozoon* spp. yönünden PCR ile araştırdıklarını, sonuç olarak test edilen 68 kene havuzundan 14'ünün (%20,58) *Hepatozoon* spp. ile enfekte bulunduğunu ve yaygınlık oranının 100 kene başına %4,9 olduğunu bildirmişlerdir. Bir diğer benzer çalışmada 2014 yılında iki farklı iklim kuşağından toplanan *R. sanguineus*'larda *H. canis* yaygınlığı %7,10 oranında bulunmuştur (Aktaş, 2014). Bölükbaş ve ark., (2016), PCR ile %0,5'lik *Hepatozoon* spp. pozitifliği tespit ettikleri 200 köpeği kene enfestasyonu yönünden muayene ettiklerini, ancak hiçbir köpeğin üzerinde keneye rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Kene türlerinin yayılışına ilişkin çalışmalar da bulunmaktadır. Aydın ve Bakırcı (2007)'nin Türkiye'de bulunan kene türlerinin yayılışı üzerine hazırladıkları derlemede, Antalya'nın güney batı kıyılarını oluşturduğu Akdeniz Bölgesi'nde *H. canis* vektörlerinden *R. sanguineus* ve *R. turanicus*'un bulunduğu görülmektedir. Daha spesifik ve önemli bir başka veri olarak ise, bu çalışmanın yürütüldüğü Antalya ilindeki kene türlerinin çeşitliliği ve mevsimsel aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmanın (Koç ve ark., 2015) sonuçlarına göre, *R. sanguineus* ($n = 619$, 45.01 %) ve *R. turanicus* ($n = 521$, 37.89 %) 2010-2013 yılları arasında örneklem yapılan beş bölgenin (Aksu, Döşemealtı, Konyaaltı, Kepez, Muratpaşa) tamamında tespit edilirken, hem çalışmada tanımlanan kene türleri içerisinde, hem de köpekleri enfeste eden kene türleri içerisindeki en sık karşılaşılan türler olarak bildirilmişlerdir. Her ne kadar yaklaşık 10 yıl öncesine ait bir veri olsa da, Koç ve ark., (2015)'nin Antalya'da köpekler üzerinden toplayarak tanımladıkları ve en yaygın türler olarak saptadıkları *R. sanguineus* ve *R. turanicus* yayılışı, çalışmamızda tespit ettiğimiz köpeklerdeki %22,5 gibi önemli bir prevalansı destekler nitelikte olduğu görülmektedir. Bu çalışmada ise kan örneği toplanan köpeklerin bazıları kene enfestasyonu yönünden inspeksiyon yoluyla hızlıca gözden geçirilmiş olsa da, zaman kısıtlaması nedeniyle hem bunların detaylı muayeneleri yapılamamış, hem de köpeklerin bir kısmından kan örneği alma işi, barınak ve özel klinik çalışanları tarafından yapıldığı için etkenin kenelerdeki yayılışına ilişkin veri elde edilememiştir. Ancak tabii ki daha anlamlı epidemiyolojik sonuçlar için kene enfestasyonu ve etkenin kenelerdeki yayılışının da mutlaka saptanması gerektiği unutulmamalıdır.

Çalışmanın bulgularına bakıldığında; erkek köpeklerin (%26,78) dişilere (%18,75) göre, 6-10 yaş grubu köpeklerin (%27,27), 0-3 (%20) ve 3-6 (%22,41) yaş gruplarına göre daha yüksek yüzdeyle enfekte oldukları görülmektedir. Irklara göre ise en fazla pozitifliğin melez ırk (16/74) ve çoban köpeği (7/21) ırklarında tespit edildiği görülmekte ise de örneklem sayılarının değişkenlik göstermesinin pozitiflik yüzdeleri üzerinde büyük etkisi olduğu anlaşılmaktadır. Örneğin terrier ve labrador ırkı köpeklerde de çoban köpeği ırkında olduğu gibi %33,33 oranında pozitiflik yüzdesi olduğu görülmekte ise de terrier ve labrador ırklarına ait örneklem sayıları her ikisi için de oldukça yetersiz olduğu görülmektedir. Sonuçta erkek ve dişi köpekler arasında, farklı yaş grupları ve farklı köpek ırkları arasında *H. canis* pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı anlaşılmaktadır. Yalnızca bu verilere bakarak *H. canis* enfeksiyonunda omurgalı konaklardan biri olan köpeğin cinsiyet, yaş veya ırkının predispoze faktör olma bakımından önemi olmadığı düşünülebilse de bunu etkileyen daha pek çok başka faktörün de (vektör kene yoğunluğu, vektör kenelerin patojeni bulundurma yüzdeleri, kene enfestasyonuna maruz kalma durumu, gebelik, laktasyon gibi fizyolojik durumlar, steroid ilaç kullanımı gibi) önemi göz ardı edilmemelidir. Benzer çalışma sonuçlarına bakıldığında; Aktaş ve ark., (2013) cinsiyet ve yaş grupları arasında PCR ile belirledikleri *H. canis* pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını, buna karşın kene enfestasyonu ile anlamlı bir ilişkiye sahip olduğunu ($p<0,01$) bildirmişlerdir. Diğer bir çalışmada (Aktaş ve ark., 2015b) erkek köpeklerde (%24,5) dişilere (%20,8) oranla daha yüksek yüzdeli pozitiflik saptanmış ancak fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamış, yetişkin köpeklerdeki (1-7 yaş) pozitifliğin ise (%26,2) genç köpeklere (6 ay-1 yaş) göre (%16,4) istatistiki olarak anlamlı şekilde yüksek bulunduğu bildirilmiş, bunun yaş nedeniyle vektör kene maruziyetinin daha uzun süreli olmasıyla ilişkili olabileceği yorumunda bulunulmuştur. Pacifico ve ark., (2020), da cinsiyetle ilgili olarak; serbest dolaşma davranışına yatkınlıkları nedeniyle, erkek köpeklerin kenelerle bulaşan hastalıklara karşı daha yüksek çevresel maruziyet yaşayabilecekleri ve bu nedenle bazı çalışmalarda erkelerde daha yüksek yüzdeli pozitiflik bulunmuş olabileceğini belirtmişlerdir. Aktaş ve ark., (2015b) sahipli köpeklerdeki yüzdeyi (%10,4), sokak (%26,3) ve barınak köpeklerine (%25,7) göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulmuşlardır (Aktaş ve ark., 2015b).

Guo ve ark., (2017) da *H. canis* sıklığını çoban köpeklerinde (%11,1), ev köpekleri (%3,6) ve bekçi köpeklerine (%1,4) göre anlamlı şekilde daha yüksek bulduklarını ancak ev ve bekçi köpekleri arasında pozitiflik bakımından anlamlı bir fark görülmediğini bildirmişlerdir. Yine Pacifico ve ark., (2020) kendi çalışmalarında, av köpeği popülasyonunda, ırk faktörünün *H. canis* ile enfekte olmak için önemli bir parametre olduğunu, özellikle kuş avında kullanılan işaret köpekleriyle karşılaştırıldığında, tazıların, avlanan vahşi memelilerle sıkı temasları nedeniyle daha fazla enfekte keneye maruz kalabileceklerini ve diğer bazı yazarlara da (Ebani ve ark., 2015; Piantedosi ve ark., 2017) ithafen bu tür avcılık gereği vahşi memeliler veya çalı/ormanlık alanlarla yakın temasın, av köpeklerinin çeşitli kene kaynaklı hastalık etkenlerine daha sık maruz kalmasına neden olduğunu vurgulamışlardır. Baneth (2011) *H. americanum* enfeksiyonunun karnivorizm yoluyla kazanıldığını, ancak Pacifico ve ark., (2020) bu bulaşma yolunun henüz *H. canis* için kanıtlanmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda örneklenen 120 köpeğin sadece ikisi sahipli ev köpeği iken, diğer 118 köpek ise sahipsiz ve korunma ve tedavi uygulamaları için geçici olarak barınakta bulunan hayvanlardan oluşmakta ve enfekte bulunan köpeklerin tamamı da bu sahipsiz köpekler arasında idi. Sahipli (n=2) ve sahipsiz (n=118) hayvan sayıları arasındaki uçurum istatistiksel bir karşılaştırma imkanı vermemekle birlikte, sahipli ve evde yaşayan köpeklerin korunma ve tedavi amaçlı antiparaziter uygulamalarının daha düzenli yapılıyor olma ihtimali daha yüksek ve keneye maruz kalma ihtimallerinin de sokakta yaşayan ve düzenli bir bakım olanağından mahrum olan sokak ve barınak köpeklerine göre daha düşük olması nedeniyle enfeksiyon oranının sahipsiz sokak köpeklerinde ve/veya ev dışı ortamda yaşayan köpeklerde daha yüksek olması beklenen bir durum olarak düşünülebilmektedir. Yine kene kaynaklı bazı kan parazitlerinin (*Babesia* spp, *Hepatozoon* spp. ve *Theileria* spp.) yayılışının araştırıldığı ve en yaygın olarak *H. canis*'in (%54,3) tespit edildiği bir başka çalışma sonucunda kene kaynaklı patojenler ile enfekte olma bakımından farklı cinsiyet ve yaş grupları arasında anlamlı bir farklılık görülmediği bildirilmiştir (Aktaş ve Özübek, 2017). Güven ve ark., (2017) da *H. canis* ve diğer bazı kan parazitleri ile yaş ve cinsiyet arasında anlamlı bir korelasyon tespit etmediklerini bildirmişlerdir. Benzer diğer iki çalışmada; Erol ve ark., (2021) erkek ve dişi köpekler ile yaş grupları arasında *Hepatozoon* spp. pozitifliği

açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını, yine Çelik ve ark., (2022) da *H. canis* pozitifliği ile yaş, cinsiyet ve kene enfestasyonuna maruz kalma durumları arasında istatistiksel bir anlamlı fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Türkiye’de yürütülmüş olan bu çalışma sonuçlarına göre cinsiyet ve yaşın kanin hepatozoonozis bakımından predispoze faktör olmayabileceğini konusunda çoğu çalışma (Aktaş ve ark., 2013; Aktaş ve ark., 2015b; Aktaş ve Özübek, 2017; Güven ve ark., 2017; Erol ve ark., 2021; Çelik ve ark., 2022) benzer sonuçlara ulaşırken, yalnızca bir çalışmada (Aktaş ve ark., 2015b) yaşın ve sahipli ya da sahipsiz olma durumunun *H. canis* pozitifliğini anlamlı şekilde etkilediği, diğer bir çalışmada da (Guo ve ark., 2017) ırk ve kene maruziyetinin predispoze faktörler olabileceği yönünde sonuca ulaşılmıştır. Bu son çalışmayı destekler nitelikte bir başka çalışmada Pacifico ve ark., (2020) orta ve uzun tüylü köpeklerde önemli ölçüde daha yüksek bir prevalans tespit ettiklerini, bunun daha önceki başka bir çalışmada da (Hornok ve ark., 2006) belirtildiği üzere sert kenelerin bu tüy özelliğine sahip hayvanlara daha kolay tutunabilme ve fark edilmeden kalabilmeleri ile açıklanabileceği yorumunda bulunmuşlardır. Yine de bu faktörlerin *H. canis* enfeksiyonu ve epidemiyolojisi açısından direkt olarak predispoze faktör olup olmadıklarını söyleyebilmek çok kolay değildir ve bu konuda daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu söylenebilir. Dünya’da da yapılan bazı benzer çalışmaların sonuçları da bu yorumu destekler niteliktedir. Örneğin; Chisu ve ark., (2023), yaptıkları çalışma sonucunda *Hepatozoon* prevalansının dişilerde (%23) erkek köpeklerde (%10) göre daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlar, bu sonucun, enfekte köpeklerde hepatozoonoza karşı cinsiyet yatkınlığı bulunmadığını bildiren bir başka yayının (Lauzi ve ark., 2016) sonuçları ile çelişmekte olduğunu, ancak bu farklılığın köpeklerin kene maruziyetindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği yorumunda bulunmuşlardır. Aynı çalışmada (Chisu ve ark., 2023) *H. canis* prevalansının 5-10 yaş arasındaki köpeklerde (%14), 1-5 yaş aralığına (%20) ve on yaşın üzerindekiilere (%29) nazaran daha düşük bulunduğu, analiz edilen örnek sayısı oldukça az olduğundan ve sadece tanımlayıcı bir istatistiksel analiz yapıldığından, bu sonuçları daha büyük örnek sayısının kullanıldığı diğer raporlarla karşılaştırılamayacağı vurgulanmış, bununla birlikte, literatürde köpek popülasyonunda *H. canis* prevalansı konusunda çelişkili veriler bulunduğu, önceki çalışmalardan bazılarının (Pacifico ve ark., 2020; Rojas ve ark., 2014; Lauzi ve ark., 2016) *H. canis* prevalansının yaşla

anlamli bir Şekilde ilişkili olmadığı, aksine, diğer bazı araŐtırmaların (Gomes ve ark., 2010; Aktaş ve ark., 2015b), enfeksiyonun yetişkin köpeklerde gençlere göre anlamli Şekilde daha yüksek prevalansa sahip olduğu belirtilmiŐtir. Pacifico ve ark., (2020), *H. canis*'in Avrupa çapında köpekler üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalara (Baneth 2011; Otranto ve ark. 2011; Dantas Torres ve ark., 2012) dayanarak, enfeksiyonun yaygınlığının genellikle mevsimsellik ve Őüpheli vektör kene dağılımlı ile ilişkili olduğunu, gerçekten de, yerel vakaların *R. sanguineus*'un endemik olduğu bölgelerde yaygın olarak bildirildiğini (Baneth 2011; Aktaş ve ark., 2015b; Ebani ve ark., 2015; Attipa ve ark., 2017), ancak, son yıllarda, köpeklerde *H. canis*'in *R. sanguineus*'un bulunmadığı bölgelerde de ortaya çıktığını (Hornok ve ark., 2013; Mitkova ve ark., 2016) ve genellikle *H. canis*'in tilkiler ve diğer vahşi etoburlarda bulunması ile de ilişkili olduğunu belirten çalışmalardan (Miterpakova ve ark., 2017; Hodzic ve ark., 2018) bahsetmiŐlerdir. Kanin hepatozoonozis epidemiyolojisi üzerine yapılmış çalışmalar incelendiğinde yayılışı etkileyen pek çok faktör (coğrafya ve iklim özellikleri, vektör yoğunluğu, köpeklerin kene enfestasyonuna maruz kalma durumları vb) bulunduğu ve sağlıklı veri elde edebilmek için farklı mevsimlerde evcil ve vahşi kanideler ile bunlar üzerinden toplanacak kenelerin olabildiğince fazla  rneklem Şeklinde mümkün olduğunca farklı tanı yöntemi kullanılarak araştırılması ve çevresel faktörler ile hayvan hareketlerinin de hep birlikte değerlendirilmesi gerektiği unutulmamalıdır.

Diğer önemli bir kan hastalığı olan köpek granülositik anaplazmoz (CGA) da, dünya çapında köpeklerde yaygın olarak görülen vektör kaynaklı bir hastalıktır. Hastalığa Rickettsiales takımında Anaplasmataceae ailesine ait gram-negatif bir alfa-proteobakteri olan *Anaplasma phagocytophilum* neden olunur (Carrade ve ark., 2009). Zorunlu hücre içi bir patojen olarak *A. phagocytophilum*, insan dahil çeşitli memelilerin baŐlıca n trofillerini ve eozinofillerini enfekte eder. Bulaşma, ağırlıklı olarak *Ixodes* türleri olmak üzere keneler aracılığıyla gerçekleşir (Beugnet ve Marie, 2009). *Anaplasma phagocytophilum* adı; ortak genetik, antijenik ve biyolojik özelliklere sahip olmaları nedeniyle daha önce ayrı olan üç patojeni, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila* ve isimsiz insan granülositik ehrlichiosis (HGE) etkenini bir araya getirmekte ve her   n n birleŐimi olan bir türü ifade etmektedir (Dumler ve

ark., 2001). Köpek granülositik anaplazmozun klinik belirtileri genellikle halsizlik, ateş ve iştahsızlık olarak gözlenebilir (Poitout ve ark., 2005), daha nadiren kusma, ishal, peteşi, burun kanaması ve topallık da görülebilir (Kohn ve ark., 2008).

Hastalığın epidemiyolojisinin anlaşılabilmesi için etkenin yayılışına ilişkin Türkiye’de ve dünyada çeşitli tarama çalışmaları yapıldığı görülmektedir. Örneğin Ege Bölgesi’nde (Manisa, Marmaris, Muğla, Aydın, Selçuk, Bodrum) 371 köpeğin kan örnekleri, *E. canis*, *A. platys*, ve *A. phagocytophilum*’un varlığı açısından nested PCR yöntemiyle incelenmiş, 154 köpekte (%41,5) *E. canis*, 146 köpekte (%39,4) *A. platys*, ve 193 köpekte (%52,0) *A. phagocytophilum* saptanmıştır (Karagenc ve ark., 2005). Yine Ege Bölgesi’nde konvansiyonel PCR kullanılarak yapılan bir çalışmada Paşa ve ark., (2009) 10 köpekten 4’ünün (%40) *A. phagocytophilum* ile enfekte olduğunu bildirmişlerdir. Sinop’ta serolojik olarak incelenen 93 köpeğin 28’inde (%30,1) *A. phagocytophilum* antikorlarına rastlanmıştır (Güneş ve ark., 2011). Kayseri yöresinde yürütülmüş olan bir çalışma sonucunda bu bölgedeki köpeklerden real-time PCR ile %7,8’lük bir *A. phagocytophilum* moleküler prevalansı bildirilmiştir (Düzlü ve ark, 2014). Trakya Bölgesi’nde İstanbul, Edirne, Tekirdağ ve Kırklareli illerini kapsayan bir çalışmada (Çetinkaya ve ark, 2016) köpeklerde nested PCR ile %4 oranında *A. phagocytophilum* moleküler prevalansı saptandığı görülmektedir. Bir başka çalışma (Oğuz ve Değer, 2019) sonucuna göre Batman ili sokak köpeklerinde PCR ile %3,1 oranında *A. phagocytophilum* prevalansı bildirilmiştir. Yine Trakya Bölgesi’nde yürütülmüş bir çalışmanın (Altuğ ve ark, 2022) sonucuna göre; köpeklerde PCR ile %21,6’lık bir kanin anaplasmosis (*Anaplasma* spp.) yayılışı bildirilmiştir. Afyon’da yürütülmüş bir çalışmada ise, Afyon Kocatepe Hastanesi’ne çeşitli hastalıklar ve veteriner hekimlik hizmetleri için sevk edilen ve bazı kan parazitleri yönünden incelenen 400 köpekte SNAP 4Dx (Idexx) hızlı test kiti ile *A. phagocytophilum* yaygınlığının %1,25 şeklinde bulunduğu anlaşılmaktadır (Başer ve ark., 2023). Bu çalışmanın yürütüldüğü Antalya ilinde daha önce yürütülmüş bir çalışmanın (Küçüker ve Şahinduran, 2018) sonuçlarına göre köpeklerde hızlı test kiti ile %0,44 oranında bir *A. phagocytophilum* prevalansı bildirilmiştir. Bu çalışmada ise nested-PCR ile tespit edilen *A. phagocytophilum* moleküler prevalansı %3,33 olarak tespit edilmiştir. Bulunan bu moleküler prevalansın; Düzlü ve ark., (2014) (%7,8),

Çetinkaya ve ark., (2016) (%4), Oğuz ve Değer, (2019) (%3,1)'in sonuçları ile oldukça benzerlik gösterdiği, Ege Bölgesi'nden Karagenç ve ark., (2005) (%52) ve Paşa ve ark., (2009) (%40) ile Trakya Bölgesi'nden Altuğ ve ark., (2022) (%21,6)'nın bildirimlerindeki yayılışların oldukça altında kaldığı görülmektedir. Literatür taraması sonucu Türkiye'de vektör kenelerdeki patojen varlığının araştırıldığı çalışmalarla karşılaşılmaktadır. Örneğin 2008 yılında İstanbul'un Asya ve Avrupa yakasındaki rekreasyon parklarından ve Trakya bölgesinde yer alan Kırklareli kırsal ormanlarından toplam 241 *Ixodes ricinus* toplanarak PCR ve DNA dizileme analizi yapılmış olan çalışma sonucunda kenelerdeki *A. phagocytophilum* prevalansı; İstanbul'da %2,7, Kırklareli bölgesinde ise %17,5 şeklinde bulunurken, 241 keneden 3'ünün ise *A. phagocytophilum* ve *B. burgdorferi* sensu lato ile koenfekte bulundukları bildirilmiştir (Şen ve ark., 2011). Yine Trakya Bölgesi'nde yürütülmüş olan bir başka çalışmada köpekler üzerinden toplanarak PCR ile incelenen *I. ricinus* havuzunda %3,93 oranında *A. phagocytophilum* saptandığı bildirilmiştir (Çetinkaya ve ark, 2016). Bu çalışmanın yürütüldüğü Antalya'da ise, kırsal kesimde halkın temas halinde olduğu keçi ve koyunlardan toplanan keneler tiplendirilerek %80,4'ünün *A. phagocytophilum*'un ana vektörü olan *Ixodes ricinus* olduğu saptanmış (Tuncer ve ark., 1999), yine Antalya'dan başka bir çalışma kapsamında keçiler üzerinden toplanan kene türleri incelenmiş, *Ixodes ricinus* %29,3 ve *A. phagocytophilum*'un diğer vektörleri olan *Rhipicephalus bursa* %46,0 ve *Haemaphysalis parva* %6 oranlarında tespit edilmiştir (Tuncer ve ark., 2004). Antalya'da köpekler üzerinden toplanan kene türlerinin araştırıldığı bir diğer çalışmanın (Koç ve ark., 2015) sonuçlarına göre ise; *I. ricinus*'a rastlanmamış, ancak *A. phagocytophilum*'un bir diğer vektörü olan *Haemaphysalis parva* (%0,8) ile *A. platys*'in vektörü olan *R. sanguineus* (%45,01) ve *R. turanicus* (%37,89) oldukça yoğun oranda bildirilmişlerdir. Bu çalışmada zaman ve maddi kısıtlamalar nedeniyle örneklenen köpeklerin üzerinden kene toplanması ve kenelerde etkenin araştırılması yapılamamıştır. Diğer CVBD etkenlerinde olduğu gibi anaplasmosis epidemiyolojisinde de coğrafi ve iklimsel özellikler, vektör artropodların yayılışı ve etkeni taşıyıp taşıyamama durumları, omurgalı konakların popülasyonu ve kontrolsüz insan ve hayvan hareketleri gibi çok çeşitli faktörün rolü vardır ve bunlar etkenin yayılışını önemli ölçüde etkilemektedir. Farklı bölgelerden bildirilen farklı sonuçların

bu etmenlerden etkilendiği açıktır. Daha sağlıklı epidemiyolojik çıkarımlar yapabilmek için bu etmenlerin olabildiğince hesaba katılması gerekmektedir. Bu nedenle bu bölgede yürütülecek ileriki çalışmalarda kene türlerinin yaygınlıkları ve taşıdıkları patojenlerin araştırılması planlanmaktadır.

Kanin anaplasmosis epidemiyolojisinde de diğer pek çok hastalıkta olduğu gibi predispoze faktörlerin ve bunların ne derece etkili olduklarının bilinmesi, mücadele için önem taşımaktadır. Bu çalışma sonucunda yaş ve cinsiyet ile *A. phagocytophilum* pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiş, ırklar arasında ise veri yetersizliği nedeniyle analiz yapılamamıştır. Türkiye’de yürütülmüş benzer çalışmalar içerisinde yalnızca Altuğ ve ark., (2022) *A. phagocytophilum* pozitifliği ile cinsiyet ve yaş arasındaki ilişkiyi incelemiş ve *Borrelia burgdorferi*, *Babesia* spp., ve *Anaplasma* spp. moleküler prevalansını araştırdıkları çalışmalarında bu enfeksiyonlar ile cinsiyet ve yaş arasında korelasyon bulamamışlardır. Dünya’da yapılmış çalışmalardan; Ebani ve ark., (2013), inceledikleri İtalyan av köpeklerinde, *A. phagocytophilum* pozitifliği ile cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulmazken, istatistiksel olarak anlamlı şekilde 6-10 yaş aralığındaki köpeklerde daha yoğun bir seropozitiflik bulduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bunun muhtemel sebebini değerlendirirken bu yaş grubunun *A. phagocytophilum* ile enfekte kenelerin istila ettiği bir ortama genç hayvanlara kıyasla daha uzun süre maruz kalmış olabilecekleri, 10 yaş üzeri yaşlı köpeklerde gözlenen düşük prevalansın ise, (yaşlı köpeklerin av köpeği olarak daha az tercih edilmesi nedeniyle) örneklem sayısının az olmasıyla da ilişkili olabileceği yorumunda bulunmuşlardır (Ebani ve ark., 2013). İran’da yürütülmüş olan bir çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde yaş ve cinsiyetler ile *A. phagocytophilum* pozitifliği arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (Hamidinejat ve ark., 2019). *A. phagocytophilum* enfeksiyonu ve epidemiyolojisi açısından yaş, cinsiyet ve ırkın direkt olarak predispoze faktör olup olmadıklarını söyleyebilmek kolay değildir ve bu konuda daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu anlaşılmaktadır. Ancak, yukarıda *H. canis* bölümünde de tartışıldığı üzere; serbest dolaşma davranışına yatkınlıkları nedeniyle, erkek köpeklerin kenelerle bulaşan hastalıklara karşı daha yüksek çevresel maruziyet yaşayabilecekleri (Pacifico ve ark., 2020), sert kenelerin orta ve uzun tüy

özelliğine sahip hayvanlara daha kolay tutunabilme ve fark edilmeden kalabilmeleri (Hornok ve ark., 2006), yine ileri yaştaki hayvanlarda vektör kene maruziyetinin daha uzun süreli olma ihtimalinin yüksek olması (Aktaş ve ark., 2015b) gibi kene maruziyetini etkileyen faktörlerin göz ardı edilmemesi gerektiği düşünülmektedir. Yine yukarıda *H. canis* bahsinde tartışıldığı üzere; çalışmamızda örneklenen 120 köpeğin sadece ikisi sahipli ev köpeği iken, diğer 118 köpek ise sahipsiz hayvanlardan oluşmaktadır. PCR ile *A. phagocytophilum* pozitifliği saptanan köpeklerin tamamı da bu sahipsiz köpekler arasındadır. Sahipli (n=2) ve sahipsiz (n=118) hayvan sayıları arasındaki uçurum istatistiksel bir karşılaştırma imkanı vermemektedir. Sahipli ve evde yaşayan köpeklerin korunma ve tedavi amaçlı antiparaziter uygulamalarının daha düzenli yapılıyor olma ihtimali daha yüksektir. Benzer şekilde bu köpeklerin keneye maruz kalma ihtimalleri de sokakta yaşayan ve düzenli bir bakım olanağından mahrum olan sokak ve barınak köpeklerine göre daha düşüktür. Dolayısıyla enfeksiyon oranının sahipsiz sokak köpeklerinde ve/veya ev dışı ortamda yaşayan köpeklerde daha yüksek olması beklenen bir durum olarak düşünülebilmektedir.

Zoonoz özellik göstermesi, *A. phagocytophilum*'u hayvan sağlığının yanında halk sağlığı açısından da önemli kılmaktadır. İnsanlarda görülen anaplazmozis (HGA-Human Granulositic Anaplasmosis), etiyolojisinde *A. phagocytophilum*'un rol oynadığı, yüksek ateş, genel miyalji, baş ağrısı ve halsizlik ile karakterize, akut ateşli bir hastalıktır (Bakken ve Dumler, 2000; Blanco ve Oteo, 2002). Dünya'nın çeşitli bölgelerinden pek çok HGA vakası bildirilmiştir (Dumic ve ark., 2022). Türkiye'den de HGA (Ongut ve ark., 2006; Güneş ve ark., 2011b) ve bir de insanlardan toplanan *I. ricinus*'larda *A. phagocytophilum* tespit edildiği bildirimi (Aktaş ve ark., 2010) bulunmaktadır. Güneş ve ark., (2011b), insan serum örneklerini inceledikleri çalışmalarında Sinop'ta %10,62 ve Tokat'ta %5,77 oranında *A. phagocytophilum* seropozitifliği belirlemiş, *A. phagocytophilum* ve *B. burgdorferi*'nin birlikte seroprevalansını ise Sinop'ta %3,30, ve Tokat'ta %0,55 olarak bulmuşlardır. Doğu Karadeniz Bölgesi illerinden Giresun, Trabzon ve Rize'de insanlar üzerinden toplanan 1097 sert kenenin *A. phagocytophilum* DNA'sı yönünden incelendiği bir başka çalışmada (Aktaş ve ark., 2010); test edilen 95 kene havuzundan 11'inde nested-PCR ile *A. phagocytophilum* DNA'sı çoğaltılmış, erişkin *I. ricinus* (%17,0) ve *Ixodes* spp.

nimflerinin (%22,2) *A. phagocytophilum* ile enfekte bulunduğu diğer kene türlerinin ise hiçbirinin patojen varlığı açısından olumlu sonuç vermediğı bildirilmiştir. Yine bu çalışmanın yürütüldüğü Antalya ilinde insanlardaki *A. phagocytophilum* seroprevalansının araştırıldığı bir çalışmanın (Ongut ve ark., 2006) sonuçlarına göre; pozitiflik oranı IFA (İndirek Floresan Antikor) testinde %8 (16/201) olarak bulunurken, kadınlarda %7,8 (10/124), erkeklerde ise %8,1 (6/77) şeklinde pozitiflik oranları tespit edilmiş, cinsiyetler ve farklı yaş grupları arasındaki pozitiflik farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı bildirilmiştir. Çalışmamızda Antalya’da köpeklerde tespit ettiğimiz %3,33 oranındaki moleküler prevalans bu şehirdeki köpeklerde *A. phagocytophilum* DNA’sının ilk tespiti olmasının yanında yukarıda bahsedilen Türkiye ve Antalya’daki HGA ve vektör kene yaygınlığına ilişkin veriler birlikte değerlendirildiğinde *A. phagocytophilum*’un hayvan sağlığının yanı sıra halk sağlığını da tehdit ettiği ve etkenin Antalya’da köpek, kene ve insan dolaşımının bulunduğu anlaşılmaktadır. Daha sağlıklı epidemiyolojik çıkarımlar için aynı çalışma dahilinde insan, köpek ve vektör kenelerdeki *A. phagocytophilum* yayılışının daha fazla örneklem ile araştırılması faydalı olacaktır. Hem CGA hem de HGA etkeni olan *A. phagocytophilum*’dan köpekleri ve toplumu koruyabilmek için enfekte hayvanların tespit edilerek tedavi edilmesi yoluyla taşıyıcı özelliklerinin ortadan kaldırılması, kenelerin aktif oldukları dönemlerde senkronize şekilde kene mücadelesinin yürütülmesi, kene enfestasyon riski yüksek toplum kesimleri ile meslek gruplarının kene yönünden kendilerini her gün muayene etmeleri, sahipsiz sokak hayvanı popülasyonunun doğru kararlar ve kararlı politikalarla kabul edilebilir seviyelere indirilmesi, insan ve hayvan hareketlerinin kontrollü olması ve gerekli durumlarda karantina uygulamalarının yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma ile köpeklerin vektör kaynaklı hastalıkları arasında önemli yer tutan kanin hepatozoonozis ile hem kanin granülositik anaplazmosis hem de human granülositik anaplazmosis etkenleri olan *Hepatozoon canis* ve *Anaplasma phagocytophilum* Antalya ili köpeklerinde ilk defa moleküler olarak tespit edilmiş ve prevalans oranları sırasıyla %22,5 ve %3,33 şeklinde bulunmuştur. Her iki patojen için de örneklenen köpeklerin yaş ve cinsiyetleri ile istatistiksel bir korelasyon saptanmamış, yine *H. canis* için ırklar arasında bir korelasyon saptanamazken, *A. phagocytophilum* için veri yetersizliği nedeniyle istatistiksel analiz yapılamamıştır. Bu sonuçların, hem ülkemiz parazit faunasının saptanması açısından, hem de hastalıklarla mücadele için gerekli epidemiyolojik bilginin sağlanması için önemli bir veri olduğuna inanmaktayız. Aynı zamanda bölgede daha sonra yürütülecek olan benzer epidemiyolojik çalışmalar ve korunma-kontrol stratejilerinin oluşturulması için önemli bir altyapı çalışması olduğunu düşünmekteyiz. Bir hastalığın epidemiyolojisine ilişkin tüm bileşenleri içerecek şekilde daha kapsamlı ve istatistiksel olarak daha az hata payı barındıran sonuçlara ulaşabilmek için üniversiteler ve araştırma enstitüleri tarafından yürütülen bilimsel araştırma çalışmalarına ayrılan bütçe ve diğer kaynakların da ihtiyaçlar ölçüsünde artırılması ve çevre, toplum ve hayvan sağlığının tesisi için eğitimle birlikte öncelikli kaynak aktarılması gerekli alanlar arasında olması gerektiği unutulmamalıdır.

İnsan ve hayvanlarda ortak seyreden (zoonoz) ve vektör kaynaklı olan diğer hastalıklarla olduğu gibi CGA ve HGA ile de mücadele için, omurgalı konak, vektör artropod ve patojen döngüsünün en uygun ve sürdürülebilir şekilde kırılması gerekmektedir. Bunun sağlanması için yapılacakları bazı başlıklar altında toplamak mümkündür. Öncelikle sahipsiz sokak hayvanı popülasyonunu, bugünlerde gündemde olduğu gibi itlaf yasası ile değil; izinsiz ve kontrolsüz pet hayvanı üretimi ve satışını kesin ve koşulsuz şekilde önleyerek, belediye hayvan bakım ünitelerinin bütçe ve personeli başta olmak üzere tüm imkanlarını artırmak ve gerekirse veteriner fakülteleri, tarım il ve ilçe müdürlükleri ve özel veteriner kliniği ve hayvan hastaneleri ile ortak çalışmak suretiyle kısa zaman içerisinde ve tüm ülkede senkronize şekilde kısırlaştırma, koruyucu ve tedavi amaçlı antiparaziter ilaç ve aşı uygulamalarının oranını artırarak ve bu şekilde bakımları yapılmış

hayvanları sahiplendirilmesi yolu ile belirli bir periyotta kontrol altına alınabilir seviyeye indirmek gerekmektedir. Sahiplendirilemeyen hayvanların da kısırlaştırma ve diğer bakımları yapıldıktan sonra kendi yaşam alanlarına bırakılmaları sonrasında zaman zaman toplanarak düzenli şekilde antiparaziter uygulamalarının tekrarlanması önemlidir. Bu uygulamaların doğru zaman ve periyotlarda uygulanması özellikle önem taşımaktadır. Örneğin kene mücadelesi, çevre ilaçlaması şeklinde değil, kenelerin aktif oldukları mart-ekim ayları arasında hayvanlar üzerinde ve o bölgede senkronize şekilde yapılmalı, yine sivrisinek ve diğer sineklerle yapılacak olan mücadele çevreye ilaç sıkarak değil, bunların yaşam alanlarının ortadan kaldırılması şeklinde yapılmalıdır. Sahipli ya da sahihsiz olsun, hiçbir hayvanın çığ veya az pişmiş hayvansal ürünleri tüketmemesi ve bu hayvanların gaitalarının toplumsal yaşam alanlarına saçılımının önlenmesi için toplum bilinçlendirilmeli bu alışkanlık içselleştirilmelidir. İnsan ve hayvan hareketlerinin Yine kırsal bölgeler başta olmak üzere, kene ve diğer vektör artropodların enfestasyonuna maruz kalma ihtimali yüksek toplum kesimleri ve meslek mensuplarının her gün düzenli olarak kendilerini bu enfestasyonlar yönünden muayene etme alışkanlığı kazanmaları da önemlidir. Bunlar başta olmak üzere daha pek çok temizlik, hijyen, hayvan bakımı gibi alışkanlığın toplum tarafından kazanılması ve ilgili kamu kurumları tarafından öncelikle iyi niyetli şekilde, bu hastalıklardan hem hayvanlarımızı hem de toplum sağlığını korumaya yönelik olarak konunun uzmanı olan akademisyenler, veteriner ve beşeri hekimlerin tavsiye ve önerilerini dikkate alıp, bilimsel çalışmaların sonuçları ve tartışmalarından yararlanarak, bunlar çerçevesinde uzun dönemli ve sürdürülebilir politikaların geliştirmesi ve bunların denetlenerek uygulanabilirliklerinin sağlanması gerekmektedir. Bir süredir tüm dünyanın özellikle de sağlık alanında faaliyet gösteren meslek gruplarının gündeminde olan tek sağlık konseptinin de bu şekilde çevre, hayvan ve insan sağlığına ilişkin öncelikle epidemiyolojik verilerin hep birlikte değerlendirilmesi ve bu değerlendirme sonucu ulaşılabilecek korunma-kontrol fikirlerinin uygulanması ile hayata geçirilebileceği inancındayız.

KAYNAKLAR

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

Aktas M, Altay K, Dumanli N (2011). Molecular detection and identification of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in cattle from Turkey. *Ticks Tick Borne Dis*, **2**, 62-65.

Aktaş M, Özübek S, İpek DN (2013). Molecular investigations of *Hepatozoon* species in dogs and developmental stages of *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasitol Res.*, **112(6)**, 2381-2385.

Aktaş M (2014). A survey of ixodid tick species and molecular identification of tick-borne pathogens. *Veterinary Parasitology*, **200**, 276-283.

Aktaş M (2015). Ixodida (Keneler). In: *Arthropodoloji*, Birinci basım, Karaer KZ, Dumanlı N (eds), Medisan yayın serisi 81, s: 67-82, Ankara.

Aktas M, Ozubek S, Altay K, Ipek ND, Balkaya I, Utuk AE, Kirbas A, Simsek S, Dumanli N (2015a). Molecular detection of tick-borne rickettsial and protozoan pathogens in domestic dogs from Turkey. *Parasites and Vectors*, **8**, 157.

Aktas M, Özübek S, Altay K, Balkaya İ, Utuk AE, Kırbas A, Şimsek S, Dumanlı N (2015b). A molecular and parasitological survey of *Hepatozoon canis* in domestic dogs in Turkey. *Vet Parasitol.*, **209(3-4)**, 264-267.

Aktaş M, Özübek S (2017). A survey of canine haemoprotozoan parasites from Turkey, including molecular evidence of an unnamed *Babesia*. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, **52**, 36-42.

Alberti A, Zobba R, Chessa B, Addis, MF, Sparagano O, Pinna Parpagliam ML (2005). Equine and canine *Anaplasma phagocytophilum* strains isolated on the island of Sardinia (Italy) are phylogenetically related to pathogenic strains from the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, p: 6418–6422.

Altuğ N, Muz MN, Muz D, Altınok Yipel F (2022). The molecular prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Babesia* spp., and *Anaplasma* spp. in shelter dogs of the Thrace Region in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **46(3)**, 483-493.

Aslantaş Ö, Çelebi B, Usluca S (2020). Investigation of vector-borne diseases in dogs. *Harran Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **9(2)**, 154-160.

Attipa C, Hicks CAE, Barker EN, Christodoulou V, Neofytou K, Mylonakis ME, Siarkou VI, Vingopoulou EI, Soutter F, Chochlakis D, Psaroulaki A, Papasouliotis K, Tasker S (2017). Canine tick-borne pathogens in Cyprus and a unique canine case of multiple co-infections. *Ticks Tick Borne Dis* **8**, 341-346.

Aydin L, Bakirci S (2007). Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitol Res*, **101 (2)**, 163-166.

Aydin MF, Sevinç F, Sevinç M (2015). Molecular detection and characterization of *Hepatozoon* spp. in dogs from the central part of Turkey. *Ticks Tick Borne Dis.*, **6(3)**, 388-392.

Bakken JS, Dumler JS (2000). Human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Infect Dis.*, **31**, 554-560.

Baneth G (2006) *Hepatozoonosis*. In: *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd ed., C. E. Greene (ed.) W. B. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, p: 698-705.

Baneth G and B Weigler (1997). Retrospective case-control study of hepatozoonosis in dogs in Israel. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **11**, p: 365-370.

Baneth G, Shkap V (2003). *Monozoic cysts of Hepatozoon canis*. *J Parasitol* , **89**, p: 379-381.

Baneth G, Shkap V, Samish M, Pipano E, Savitsky I (1998). Antibody response to *Hepatozoon canis* in experimentally infected dogs. *Vet Parasitol*, **74**, p: 299-305.

Baneth G (2011). Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. *Vet Parasitol*, **181(1)**, 3-11.

Baneth G, Vincent-Johnson N (2016). Hepatozoonosis. In: Day MJ (Ed.): *Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat*. CRC Press, New York, pp. 121-136.

Barton CL, EA Russo, TM Craig and RW Green (1985). Canine hepatozoonosis: a retrospective study of 15 naturally occurring cases. *Journal of the American Animal Association*, **21**, p: 125-134.

Başer DF, Civelek T, Tunç AC, Acar A (2023). Prevalence of Dirofilariasis, Lyme, Anaplasmosis, and Ehrlichiosis in Dogs in Afyonkarahisar Province. *Kocatepe Veterinary Journal*, **16(3)**, 393-400.

Beall MJ, Chandrashekar R, Eberts MD, Cyr KE, Diniz PP, Mainville C, Hegarty BC, Crawford JM, Breitschwerdt EB (2008). Serological and molecular prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Ehrlichia* species in dogs from Minnesota. *Vector Borne Zoonotic Dis*, **8**, 455-464.

Beaufils JP et J Martin-Granel (1988). *L'hepatozoonose canine*. Première partie: Etude bibliographique. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, **23**, 2, p: 127-137.

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

Blanco JR, Oteo JA (2002). Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Clin Microbiol Infect.*, **8(12)**, 763-372.

Bölükbaş CS, Pekmezci D, Gürler AT, Pekmezci GZ, Güzel M, Açıcı M, Umur Ş (2016). Molecular survey of *Hepatozoon canis* in dogs from Samsun Province of Northern part of Turkey. *J Etlik Vet Microbiol.*, **27**, 104-107.

Brouqui P, Dumler JS, Lienhard R, Brossard M, Raoult D (1995). Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Lancet*, 346, 782-783.

Carrade D, Foley JE, Borjesson DL, Sykes JE (2009). Canine Granulocytic Anaplasmosis: A Review. *J Vet Intern Med*, 23(6), 1129-1141.

Carrade DD, Foley JE, Borjesson DL, Sykes JE (2009). Canine granulocytic anaplasmosis: a review. *J Vet Intern Med*, 23, p: 1129-1141

Chen SM, Dumler JS, Bakken JS, Walker DH (1994). Identification of a granulocytic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease. *J. Clin. Microbiol.* 32, p: 589–595.

Chisu V, Giua L, Bianco P, Masala G, Sechi S, Cocco R, Piredda I (2023). Molecular Survey of *Hepatozoon canis* Infection in Domestic Dogs from Sardinia, Italy. *Veterinary Sciences*. 10(11), 640.

Christophers SR (1907). *The sexual life cycle of Leucocytozoon canis in the tick. Scientific Memoirs by the Officers of the Medical and Sanitary Departments of the Government of India.* 28, p: 1-11.

Christova I, Gladnishka T (2005). Prevalence of infection with Francisella tularensis, Borrelia burgdorferi sensulato and Anaplasma phagocytophilum in rodenst from an endemic focus of tularaemia in Bulgaria. *Ann Agric Environ Med*, 12, 149-152.

Cockwill KR, Taylor SM, Snead EC, Dickinson R, Cosford K, Malek S, Lindsay LR, Diniz PP (2009). Granulocytic anaplasmosis in three dogs from Saskatoon, Saskatchewan. *Can. Vet. J.*, 50, 835-840.

Conceicao-Silva, FM, P Abranches, M, C Silva-Pereira and JG Janz. (1998). Hepatozoonosis in foxes from Portugal. *Journal of Wildlife Diseases*, 24, p: 344-347.

Courtney JW, Kostelnik LM, Zeidner NS, Massung RF (2004). Multiplex realtime PCR for detection of Anaplasma phagocytophilum and Borrelia burgdorferi. *J. Clin. Microbiol.* 42, p: 3164–3168

Craig TM (1984). *Hepatozoonosis. In: Infectious diseases of the dog and cat.* 2 nd ed., C.E. Greene (ed.) W. B. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, p: 458-465.

Craig TM (1990). *Hepatozoonosis. In: Infectious diseases of the dog and cat.* first ed., C. E. Greene (ed.) W. B.Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, p: 778-785.

Criado-Fornelio, A, A Martinez-Marcos, Buling-Sarana and JC Barba-Carretero (2003). *Molecular studies on Babesia, Theileria and Hepatozoon in southern Europe.* Part I. Epizootiological aspects. *Veterinary Parasitology*, **113**, p: 189-201.

Çelik B, Çelik Ö, Ayan A, Yılmaz A, Kılınç Ö, Ayan Ö (2022). A molecular survey of *Hepatozoon canis* in dogs in the Siirt province of Turkey. *Acta Veterinaria Brno.*, **91(3)**, 277-283.

Çetinkaya H, Matur E, Akyazi I, Ekiz EE, Aydın L, Toparlak M (2016). Serological and molecular investigation of *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma* spp. in ticks and blood of dogs, in the Thrace Region of Turkey. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, **7(5)**, 706-714.

Dantas-Torres F, Latrofa MS, Weigl S, Tarallo VD, Lia RP, Otranto D (2012). *Hepatozoon canis* infection in ticks during spring and summer in Italy. *Parasitol Res*, **110(2)**, 695-698.

Demirbilek MV (2019). *Aydın ili köpeklerinde bulunan Hepatozoon canis'in teşhisinde mikroskopik ve PCR bulgularının karşılaştırılması.* Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Veteriner) Programı, Aydın.

Dumic I, Jevtic D, Veselinovic M, Nordstrom CW, Jovanovic M, Mogulla V, Veselinovic EM, Hudson A, Simeunovic G, Petcu E, Ramanan P (2022). *Human Granulocytic Anaplasmosis- A Systematic Review of Published Cases.* *Microorganisms*, **10(7)**, 1433.

Dumler JS, Madigan JE, Pusterla N, Bakken, JS (2007). Ehrlichiosis in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Clin. Infect. Dis.* **15**, **45(Suppl. 1)**, p: 45-51.

Düzlü Ö, İnci A, Yıldırım A, Önder Z, Çiloğlu A (2014). Köpeklerde kene kaynaklı bazı protozoon ve rickettsial enfeksiyonların Real Time PCR ile araştırılması ve saptanan izolatların moleküler karakterizasyonları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **61(4)**, 275-282.

Ebani VV, Bertelloni F, Turchi B, Cerri D (2013). Serological and molecular survey of *Anaplasma phagocytophilum* in Italian hunting dogs. *Ann Agric Environ Med*, **20(2)**, 289-292.

Ebani VV, Nardoni S, Fognani G, Mugnaini L, Bertelloni F, Rocchigiani G, Papini RA, Stefani F, Mancianti F (2015). Molecular detection of vector-borne bacteria and protozoa in healthy hunting dogs from Central Italy. *Asian Pac J Trop Biomed*, **5(2)**, 108-112.

Eberts MD, Diniz PP, Beall MJ, Stillman BA, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB (2011). Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, **47**, 88-94.

Egenvall A, Bonnett BN, Gunnarsson A, Hedhammar Å, Shoukri M, Bornstein S, Artursson K (2000). Sero-prevalence of granulocytic Ehrlichia spp. and Borrelia burgdorferi sensu lato in Swedish dogs 1991-94. *Scand. J. Infect. Dis.* **32**, 19-25.

El Hamiani Khatat S, Daminet S, Duchateau L, Elhachimi L, Kachani M, Sahibi H (2021). Epidemiological and Clinicopathological Features of *Anaplasma phagocytophilum* Infection in Dogs: A Systematic Review. *Front Vet Sci.*, **8**, 686644.

Erol U, Altay K, Ataş AD, Özkan E, Şahin ÖF (2021). Molecular prevalence of canine hepatozoonosis in owned-dogs in central part of Turkey. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, **76(2)**, 71-76.

Ezekolli CD, AB Ogunkoya, R Abdullahi, LB Tekedec, A Sannusi and AA Ilemobade (1983). Clinical and epidemiological studies on canine hepatozoonosis in Zaria, Nigeria. *Journal of Small Animal Practice*, **24**, p: 455-460.

Foggie, A (1951). Studies on the infectious agent of tick-borne fever in sheep. *J. Pathol. Bacteriol.* **63**, 1–15.

Gevrey J (1993) *Hepatozoonose canine. Recueil de Medecine Veterinaire.* **169**, 5/6, p: 451- 455.

Giannelli A, Lia RP, Annoscia G, Buonavoglia C, Lorusso E, Dantas-Torres F, Baneth G, Otranto D (2017). *Rhipicephalus turanicus*, a new vector of *Hepatozoon canis*. *Parasitology*, **144**, 730.

Gomes PV, Mundim MJ, Mundim AV, de Ávila DF, Guimarães EC, Cury MC (2010). Occurrence of *Hepatozoon* sp. in dogs in the urban area originating from a municipality in southeastern Brazil. *Vet Parasitol.* **174**(1-2), 155-61.

Guo H, Sevinc F, Ceylan O, Sevinc M, Ince E, Gao Y, Moumouni PFA, Liu M, Efstratiou A, Wang G, Cao S, Zhou M, Jirapattharasate C, Ringo AE, Zheng W, Xuan X (2017). A PCR survey of vector-borne pathogens in different dog populations from Turkey. *Acta Parasitologica*, **62**(3), 533-540. doi: 10.1515/ap-2017-0064.

Guven E, Avcioglu H, Cengiz S, Hayirli A (2017). *Vector-Borne Pathogens in Stray Dogs in Northeastern Turkey. Vector Borne Zoonotic Dis.* **17**(8):610-617.

Güneş T, Poyraz Ö, Babacan A (2011). The seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in clinically healthy dogs from Sinop region of Turkey. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, **33**, 396-401.

Gunes T, Poyraz O, Atas M, Turgut NH (2011b). The seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in humans from two different climatic regions of Turkey and its co-seroprevalence rate with *Borrelia burgdorferi*. *Turk J Med Sci.*, **41**, 903-908.

Hamidinejat H, Bahrami S, Mosalanejad B, Pahlavan S (2019). First Molecular Survey on *Anaplasma phagocytophilum* Revealed High Prevalence in Rural Dogs from Khuzestan Province, Iran. *Iran J Parasitol*, **14**(2), 297-302.

Harmelin A, JP Dubey, B Yakobson, A Nyska and U Orgad (1992). *Concurrent Hepatozoon canis and Toxoplasma gondii infections in a dog. Veterinary Parasitology*, **43**, p: 131-136.

Hervas J, L Carrasco, JC Gomez- Villamandos, A Mendez and AM Sierra (1995). Acute fatal hepatozoonosis in a puppy: histopathological and ultrastructural study. *Veterinary record*, **137**, p: 518-519.

Hodžić A, Mrowietz N, Cézanne R, Bruckschwaiger P, Punz S, Habler VE, Tomsik V, Lazar J, Duscher GG, Glawischnig W, Fuehrer HP (2018). Occurrence and diversity of arthropod-transmitted pathogens in red foxes (*Vulpes vulpes*) in western Austria and possible vertical (transplacental) transmission of *Hepatozoon canis*. *Parasitology*, **145(3)**, 335-344.

Hornok S, Edelhofer R, Farkas R (2006). Seroprevalence of canine babesiosis in Hungary suggesting breed predisposition. *Parasitol Res*, **99(6)**, 638-642.

Hornok S, Tánczos B, Fernández de Mera IG, de la Fuente J, HofmannLehmann R, Farkas R (2013). High prevalence of *Hepatozoon*-infection among shepherd dogs in a region considered to be free of *Rhipicephalus sanguineus*. *Vet Parasitol*, **196(12)**, 189-193.

Huber D, Rei I, Duvnjank S, Jurković D, Lukačević D, Pilat M, Beck A, Mihaljević Z, Vojta L, Polkinghorne A, Beck R (2017). Molecular detection of *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Wolbachia* sp. but not *Ehrlichia canis* in Croatian dogs. *Parasitol Res*, **116**, 3019-3026

James SP (1905) *On parasite found in the white corpuscles of the blood of dogs. Scientific Memoirs by the Officers of the Medical and Sanitary Departments of the Government of India.* **14**, 1-12, 1905.

Jenkins A, Kristiansen BE, Allum AG, Aakre RK, Strand L, Kleveland EJ, et al. (2001). *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia* spp. in Ixodes ticks from southern Norway. *J Clin Microbiol* **39**, 3666-3671.

Jennifer L Granick, P Jane Armstrong, Jeff BB (2009). *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs: 34 cases (2000-2007). *J Am Vet Med Assoc*, **234**(12), 1559-1565.

Jensen J, Simon D, Escobar HM, Soller JT, Bullerdiek J, Beelitz P, Nolte I (2007). *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. *Zoonoses Public Health.*, **54**, 94-101.

Karagenc T, Hosgor M, Bilgic HB, Pasa S, Kirli G, Eren H (2005). The determination of the prevalence of *E. canis*, *A. phagocytophila*, *A. platys* with nested PCR in dogs in the Aegean Region. İzmir, Turkey: 14th National Parasitology Congress, p. 18–25.

Karagenc TI, Pasa S, Kirli G, Hosgor M, Bilgic HB, Ozon YH, Atasoy A, Eren H (2006). A parasitological, molecular and serological survey of *Hepatozoon canis* infection in dogs around the Aegean coast of Turkey. *Veterinary Parasitology*, **135**(2), 113-119.

Kıral F, Karagenc T, Paşa S, Yenisey C, Seyrek K (2005). Dogs with *Hepatozoon canis* respond to the oxidative stress by increased production of glutathione and nitric oxide. *Vet Parasitol*, **131**, 15-21.

Klopfer U, Neuman F, Nobel TA (1973). *Hepatozoon canis* infection in dogs in Israel. *Refu Vet* , **30** , p: 116-120.

Koc S, Aydın L, Cetin H (2015). Tick species (Acari: Ixodida) in Antalya City, Turkey: species diversity and seasonal activity. *Parasitol Res*, **114**, 2581-2586.

Kohn B, Silaghi C, Galke D, Arndt G, Pfister K (2011). Infections with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. *Res. Vet. Sci.*, **91**, 71-76

Kontos V and A Koutinas (1991). Caninehepatozoonosis: a review of 11 naturally occurring cases. *European Journal of Companion Animal Practice*, **2**, p: 26-30.

Küçük S, Şahinduran Ş (2018). Antalya İlinde Bulunan Köpeklerde *Dirofilariasis*, *Borreliozis*, *Ehrlichiosis* ve *Anaplazmozis*'in Hızlı Test Kitleri ile Teşhisi ve İnsidansı Üzerine Araştırmalar. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* **13(2)**, 191-200.

Kybicová K, Schánilec P, Hulínská D, Uherková L, Kurzová Z, Spejchalová, S (2009). Detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in dogs in the Czech Republic. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **9**, 655-661.

Lauzi S, Maia JP, Epis S, Marcos R, Pereira C, Luzzago C, Santos M, Puente-Payo P, Giordano A, Pajoro M, Sironi G, Faustino A (2016). Molecular detection of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis* and *Rickettsia monacensis* in dogs from Maio Island of Cape Verde archipelago. *Ticks Tick Borne Dis.* **7(5)**, 964-969.

Lepidi H, Bunnell JE, Martin ME, Madigan JE, Stuen S, Dumler JS (2000). Comparative pathology and immunohistology associated with clinical illness after *Ehrlichia phagocytophila*-group infections. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **62**, p: 29–37.

Li Y, Wang C, Allen KE, Little SE, Ahluwalia SK, Gao D, Macintire DK, Blagburn BL, Kaltenboeck B (2008). Diagnosis of canine *Hepatozoon* spp. infection by quantitative PCR. *Veterinary Parasitology* **157**, p: 50–58.

Little (2010). Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, **40**, p: 1121-1140

Liz JS, Anderes L, Sumner JW, Massung RF, Gern L, Rutti B, Brossard M (2000). PCR detection of granulocytic ehrlichia in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland. *J Clin Microbiol*, **39(2)**, 828.

Madewell BR, Gribble DH (1982). Infection in two dogs with an agent resembling *Ehrlichia equi*. *J Am Vet Med Assoc*, **180**, 512–514.

Maede Y and T Ohsugi (1982). *Hepatozoon* infection in a wild fox (*Vulpes vulpes schrencki* Kishida) in Japan. *Japan Journal of Veterinary Science*, **44**, p: 137- 142.

Massung RF, Slater KG (2003). Comparison of PCR assays for detection of the agent of human granulocytic ehrlichiosis, *Anaplasma phagocytophilum*. *J Clin Microbiol*, **41**, 717-722.

Mathew JS, Ewing SA, Panciera RJ, Woods JP (1998). Experimental transmission of *Hepatozoon americanum* Vincent-Johnson et al., 1997 to dogs by the Gulf Coast tick, *Amblyomma maculatum* Koch. *Vet. Parasitol.* **80**, 1-14.

Miterpáková M, Komjáti-Nagyová M, Hurníková Z, Víchová B (2017). Retrospective molecular study on canine hepatozoonosis in Slovakia - does infection risk for dogs really exist? *Ticks Tick Borne Dis*, **8(4)**, 567-573.

Mitková B, Hrazdilova K, Steinbauer V, D'Amico G, Mihalca AD, Modrý D (2016). Autochthonous *Hepatozoon* infection in hunting dogs and foxes from the Czech Republic. *Parasitol Res*, **115(11)**, 4167-4171.

Murata T, K Shiramizu, Y Hara, K Shimoda and S Nakama (1991). First case of *Hepatozoon canis* infection in a dog in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, **53**, p: 1097-1099.

Murata T, M Inoue, S Tateyama, Y Taura and S Nakama (1993). Vertical transmission of *Hepatozoon canis* in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, **55**, p: 867-868.

Mylonakis ME, AF Koutinas, G Baneth, Z Polizopoulou and A Fytianou (2004). Mixed Ehrlichia canis, Hepatozoon canis and Anaplasma phagocytophilum infection in a dog. *Veterinary Clinical Pathology*, **33**, 4, p: 249-251.

Dumanlı N, Karaer KZ (2015). *Veteriner Protozooloji*. 2, Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, s:244.

Nordgren RM and TM (1984). Experimentally transmission of the Texas strain of *Hepatozoon canis*. *Veterinary Parasitology*. **16**, p: 207-214.

O'Dwyer LH, CL Massard and JC Pereira de Souza (2001). *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, **94**, p: 143-150.

Oğuz B, Değer S (2019). PCR detection of *Anaplasma phagocytophilum* in stray dogs in Batman, Turkey. *Van Veterinary Journal*, **30(3)**, 183-185.

Oğuz B, Değer MS, El-ashram S (2022). Molecular investigation of canine hepatozoonosis in Batman and Van Provinces of Türkiye. *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi- C Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, **11(2)**, 50-56.

Otranto D, Dantas-Torres F, Weigl S, Latrofa MS, Stanneck D, de Caprariis D, Capelli G, Baneth G (2011). Diagnosis of *Hepatozoon canis* in young dogs by cytology and PCR. *Parasit Vectors*, **4**, 55.

Orkun Ö, Koç N, Sürsal N, Çakmak A, Nalbantoğlu S, Karaer Z (2018). Molecular Characterization of Tick-Borne Blood Protozoa in Stray Dogs from Central Anatolia Region of Turkey with a High-Rate *Hepatozoon* Infection. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **24(2)**, 227-232.

Pacifico L, Braff J, Buono F, Beall M, Neola B, Buch J, Sgroi G, Piantedosi D, Santoro M, Tyrrell P, Fioretti A, Breitschwerdt EB, Chandrashekar R, Veneziano V (2020). *Hepatozoon canis* in hunting dogs from Southern Italy: distribution and risk factors. *Parasitol Res.*, **119(9)**, 3023-3031.

Pasa S, Kiral F, Karagenc T, Atasoy A, Seyrek K (2009). Description of dogs naturally infected with *Hepatozoon canis* in the Aegean region of Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **33(4)**, 289-295.

Passamonti F, Veronesi F, Cappelli K, Capomaccio S, Coppola G, Marenzoni ML, Piergili FD, Verini SA, Coletti M (2010) . *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks: a preliminary survey of Central Italy. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, **33**, 73–83.

Petrovec M, Lotric Furlan S, Zupanc TA, Strle F, Brouqui P, Roux V, et al. . (1997). Human disease in Europe caused by a granulocytic *Ehrlichia* species. *J Clin Microbiol* **35**, 1556-1559.

Piantedosi D, Neola B, D'Alessio N, Di Prisco F, Santoro M, Pacifico L, Sgroi G, Auletta L, Buch J, Breitschwerdt EB, Veneziano V (2017). Seroprevalence and risk factors associated with *Ehrlichia canis*, *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *D. immitis* in hunting dogs from southern Italy. *Parasitol Res*, **116(10)**, 2651-2660.

Popov VL, Han VC, Chen SM, Dumler JS, Feng HM, Andreadis TG, Tesh RB Walker DH (1998). Ultrastructural differentiation of the genogroups in the genus *Ehrlichia*. *J. Med. Microbiol.*, **47**, 235-251.

Rajamanickam C, E Weisenhutter, FMD Zin and J Hamid (1985). *The incidence of canine hematozoa in peninsular Malaysia. Veterinary Parasitology*, **17**, p: 151-157.

Rikihisa Y (1991). The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* **4**, p: 286–308.

Rioux JA, YJ Golvan and R Honin (1964). *Mixed Hepatozoon canis and Leishmania canis infection in a dog in the Sets area, France. Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **39**, p: 131-135.

Rojas A, Rojas D, Montenegro V, Gutiérrez R, Yasur-Landau D, Baneth G (2014). Vector-borne pathogens in dogs from Costa Rica: first molecular description of *Babesia vogeli* and *Hepatozoon canis* infections with a high prevalence of monocytic ehrlichiosis and the manifestations of co-infection. *Vet Parasitol.*, **199(3-4)**, 121-128.

Santos HA, Pires MS, Vilela JA, Sanotos TM, Facinni JL, Baldani CD, Thome SM, Sanavria A, Massard CL (2011). Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Brazilian dogs by real-time polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest*, **23**, 770-774

Schaefer JJ, Kahn J, Needham GR, Rikihisa Y, Ewing sa, Stich RW (2008). Antibiotic clearance of *Ehrlichia canis* from dogs infected by intravenous inoculation of carrier blood. *Ann N Y Acad Sci*, **1149**, p: 263-269

Sen E, Uchishima Y, Okamoto Y, Fukui T, Kadosaka T, Ohashi N, Masuzawa T (2011). Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks from Istanbul metropolitan area and rural Trakya (Thrace) region of north- western Turkey. *Ticks Tick-borne Dis*, **2(2)**, 94-98.

Shaw SE, Day MJ, Birtles RJ, Breitschwerdt EB (2001). Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends Parasitol.*, **17**, 74-80.

Smith TG (1991) The genus Hepatozoon (Apicomplexa: Adeleina). *Journal of Parasitology*. **82**, p: 565-585

Taylor MA, Coop RL, Wall RL (2007). *Veterinary Parasitology (Veteriner Parazitoloji)*. Çev: Yıldız K, 3, Baskı, Malatya: Medipress Yayıncılık, s:377-378

Tsachev I (2009). Canine granulocytic anaplasmosis. *Trakia J. Sci.*, **7**, 68-72.

Tsachev I, Ivanov A, Dinev I, Simeonova G, Kanakov D, (2008). Clinical Ehrlichia canis and Hepatozoon canis coinfection in a dog in Bulgaria Revue. *Medical Veterinary*, **159**, p: 68-73.

Tuncer D, Ögünç D, Çolak D, Öngüt G, Sayın F, Ergin Ç, Tuncer B, Mutlu G (1999). Prevalence of *Borrelia burgdorferi* antibodies in urban and high risk areas. *İnfeksiyon Dergisi*, **13(3)**, 325-328.

Tuncer D, Mutlu G, Karaer Z, Sayın F, Tuncer LB (2004). Seasonal Occurrence of Ticks on Goats and *Borrelia burgdorferi* Influence in *Ixodes ricinus* in Antalya Region. *Türkiye Parazitol Derg*, **28(3)**, 158-160.

Tuomi J, von Bonsdorff CH (1966). Electron microscopy of tick-borne fever agent in bovine and ovine phagocytizing leukocytes. *J. Bacteriol.* **92**, p: 1478–1492.

Tüzdil AN (1933). Bizde ilk defa görülen bir *Hepatozoon canis* vakası. *Türk. Bay. Cem. Mec.* **13**, 35.

Ulutas B, Bayramli G, Karagenc T (2007). First case of *Anaplasma (Ehrlichia) platys* infection in a dog in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, **31(4)**, 279-282.

Vargas-Hernandez MR, André DM, Cendales KCM, de Sousa LR, Gonçalves MCH, Rondelli, Machado RZ, Tinucci-Costa M (2016). Molecular detection of *Anaplasma* species in dogs in Colombia, *Rev. Bras. Parasitol Veterinária*, **25**, 459-464.

Voyvoda H, Paşa S, Üner A (2004). Clinical *Hepatozoon canis* infection in a dog in Turkey. *J Small Anim Pract*, **45**, 613-617.

Wenyon CM (1911). Oriental sore in Baghdad, together with observations on a gregarine in *Stegomyia fasciata*, the haemoegregarine of dogs, and the flagellates of house flies. *Parasitology*, **4**, p: 273-343.

Wenyon,CM (1931). *Experimental infection of dogs with hepatozoon canis.* *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 25, 6.

Woldehiwet Z (2010). The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. *Vet Parasitol*, **167(2-4)**, 108-22.