

Thrombocyte indices in dogs infected with *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum*

Índices de trombocitos en perros infectados con *Ehrlichia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*

Funda Özata, M.Sc, Kerem Ural, Ph.D.

University of Adnan Menderes, Faculty of Veterinary, Department of Internal Medicine. Isikli, 09016. Aydin, Turkey. *Corresponding: uralkerem@gmail.com

Received: January 2014; Accepted: July 2014.

ABSTRACT

Objectives. In the present study alterations in thrombocyte numbers and thrombocyte indices were investigated in 51 dogs naturally infected with *E. canis* and/or *A. phagocytophilum*. Achieved results were compared to those of 20 healthy dogs comprising control group. **Materials and methods.** Naturally occurring vector borne diseases were diagnosed by use of a canine point-of-care ELISA kit (Snap 4Dx, Idexx). Dogs were enrolled into 3 groups as follows; II. group involved *A. phagocytophilum* infected dogs (n=10), III. group (n=13) *E. canis*+*A. phagocytophilum* co-infected, and IV. group (n=28) *E. canis* infected dogs. Healthy controls (n=20) were enrolled in group I. **Results.** Mean PLT counts were significantly decreased in II., III. and IV. groups (159.6±63.5, 142.3±44.3, 148.7±33.5, respectively) in comparison to control group (370.4±28.6) (p≤0.01). Mean PCT values in groups II., III. and IV. (0.1530±0.590, 0.1531±0.0441, 0.1450±0.314, respectively) were significantly decreased in contrast to control group (0.3695±0.0283) (p≤0.01). Between PLT and PCT values, statistically significant positive correlation (p≤0.01) (r=0.988, 0.990 and 0.981, respectively) was evident among groups II., III. and IV. **Conclusions.** Infected dogs showed significant alterations (p≤0.01) among mean PLT and PCT values and a positive correlation was evident between those 2 parameters (p≤0.01), whereas alterations on mean MPV and PDWc were not statistically significant. Finally it was suggested that according to the aforementioned results, PLT and PCT values may be used as valuable parameters for diagnosis and probably for monitorization and prognosis in infected dogs with Ehrlichiosis and/or Anaplasmosis.

Key words: *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, indices, thrombocyte (Source: CAB).

RESUMEN

Objetivos. Comparar las alteraciones en el número de trombocitos y en los índices de trombocitos en perros infectados naturalmente con *E. canis* y *A. phagocytophilum*. **Materiales y métodos.** Los perros fueron distribuidos en cuatro grupos: Grupo I; perros sanos (n=20), Grupo II; perros infectados con *A. phagocytophilum* (n=10), Grupo III; perros infectados con *E. canis* + *A. phagocytophilum* (n=13) y grupo IV; perros infectados con *E. Canis* (n=28). **Resultados.** Los recuentos de PLT se redujeron significativamente (p≤0.01) en los grupos II, III y IV (159.6±63.5, 142.3±44.3, 148.7±33.5, respectivamente) en comparación con el grupo control (370.4±28.6). La media de los valores de PCT en los grupos II, III y IV fue de 0.1530±0.590, 0.1531±0.0441 y 0.1450±0.314 respectivamente, cuyas reducciones fueron significativas (p≤0.01) en contraste con el grupo control (0.3695±0.0283). Entre los valores de PLT y el PCT la correlación fue positiva (r =0.988) y significativa (p≤0.01), 0.990 y 0.981, respectivamente, entre los grupos II, III y IV. **Conclusiones.** Los perros infectados

mostraron alteraciones significativas ($p \leq 0.01$) entre PLT y los valores del PCT, así como una correlación positiva entre esos dos parámetros ($p \leq 0.01$), mientras que las alteraciones de MPV y PDWc no fueron significativas. Se sugiere que de acuerdo con los resultados obtenidos, los valores de PLT y el PCT se pueden utilizar como parámetros valiosos para el diagnóstico y probablemente, para el monitoreo y el pronóstico en perros infectados con la Ehrlichiosis o la Anaplasmosis.

Palabras clave: *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, índices, trombocitos (Fuente: CAB).

INTRODUCTION

The Ehrlichial organisms *Ehrlichia canis* (*E. canis*) and *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) are both tick-borne obligate intracellular pathogens, presenting a tropism for leukocytes (1). Infection with the latter pathogens is characterized by thrombocytopenia, fever, depression, anorexia, and other relevant signs. Dogs are involved host range of *E. canis* and *A. phagocytophilum* (1).

Previous data support that platelet count may be a reliable screening test for canine monocytic ehrlichiosis (2) and canine granulocytic ehrlichiosis (3, 4) and that the severity of thrombocytopenia may increase the reliability of diagnosis (2). Albeit the diagnostic and prognostic importance of thrombocytopenia, alterations in values for platelet indices involving plateletcrit (PCT) and mean platelet volume (MPV) in response to aforementioned pathogens are still less recognized and underestimated because of scarcity information. Therefore the aim of the present study was to evaluate platelet, besides erythrocyte counts with their indices concerning cell volume and distribution, in naturally occurring *E. canis* and *A. phagocytophilum* infections among dogs in Turkey.

MATERIALS AND METHODS

Study design and subjects. The present study was enrolled among 71 dogs (32 male/39 female; aged from 1 to 9 years) referred to the Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary, Department of Internal Medicine and to those of privately owned small animal clinics in located in Aydın and İzmir provinces. The animals from different breeds (8 Terrier, 7 Golden Retriever, 4 Cocker spaniel, 3 Rottweiler, 2 Turkish shepherd dog, 1 for each Doberman, German shepherd dog, Jack Russel, Samoyed, Pointer, Setter, Daschund, Siberian Husky, and 39 crossbred) involved were selected to those of presenting clinical signs compatible with a susceptible Ehrlichial infection such as anorexia, weight loss, fever, generalized lymphadenopathy, splenomegalia, muscle weakness, petechiae and ecchymosis,

INTRODUCCIÓN

Los organismos de *Ehrlichia canis* (*E. canis*) y *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) son ambos patógenos intra-celulares producidos por garrapatas, presentando un tropismo para leucocitos (1). La infección con estos patógenos se caracteriza por trombocitopenia, fiebre, depresión, anorexia y otros signos relevantes. Los perros son una gama de huéspedes de *E. canis* y *A. phagocytophilum* (1).

Estadística anterior sirve de base de que el conteo de plaquetas puede ser una prueba confiable para cribar ehrlichiosis monolítica canina (2) y ehrlichiosis granulocítica canina (3, 4) y que la severidad de la trombocitopenia puede aumentar la fiabilidad del diagnóstico (2). A pesar de la importancia diagnóstica y de pronóstico de la trombocitopenia, alteraciones en los valores para índices de plaquetas que conllevan plateletcrit (PCT) y el volumen medio de plaquetas (MPV) en respuesta a los patógenos antes mencionados son todavía menos reconocidos y subestimados debido a la escasez de información. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio era el evaluar plaquetas, además de conteo de eritrocitos con sus índices relativos a volumen y distribución de células, en infecciones de *E. canis* y *A. phagocytophilum* que ocurren naturalmente en los perros en Turquía.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio y sujetos. El presente estudio fue realizado en 71 perros (32 machos/39 hembras; con edades de 1 a 9 años) remitidos a la Universidad Adnan Menderes, Facultad de Veterinaria. Departamento de Medicina Interna y aquellos de pequeñas clínicas veterinarias de pequeños animales de propiedad privada localizadas en las provincias de Aydın e İzmir. Los animales, de diferentes razas (8 Terrier, 7 Golden Retriever, 4 Cocker spaniel, 3 Rottweiler, 2 perros Pastor Turco, 1 por cada Doberman, perro Pastor alemán, Jack Russel, Samoyedo, Pointer, Setter, Daschund, Siberian Husky, y 39 de razas mixtas) que fueron involucradas fueron seleccionados para aquellos que presentaron signos clínicos compatibles con una posible infección de Ehrlichia, tales como anorexia, pérdida de peso, fiebre,

epistaxis, limb edema and/or polyarthritis. The study protocol was approved by the institutional laboratory animals ethics committee of Adnan Menderes University HADYEK (with no: B.30.2.ADÜ.0.00.00.00 - 0.50.0.4-2010-077). Besides informed written consent was obtained from all of the dogs owners prior to enrolment of the dogs participated in study. The dogs participated in the study were selected to those of 200 dogs (with or without thrombocytopenia) by use of a canine point-of-care ELISA kit for diagnosis of naturally occurring vector borne diseases (Snap 4Dx, Idexx).

Formation of study groups. Dogs with naturally occurring Ehrlichiosis and/or Anaplasmosis (n=51) were enrolled into 3 groups as follows; II. group involved *A. phagocytophilum* infected dogs (n=10) (7 crossbred, 1 for each Terrier, Setter and Golden Retriever), III. group (n=13) *E. canis*+ *A. phagocytophilum* co-infected (13 crossbred), and IV. group (n=28) *E. canis* infected dogs (10 crossbred, 5 Terrier, 3 Golden Retriever, 2 for each Rottweiler, Turkish shepherd dog and Cocker Spaniel, 1 for each Doberman, German shepherd dog, Jack Russel Terrier and Samoyed). Healthy controls (n=20), as detected by complete physical examination and were detected to be non-infected within the test kits, were enrolled in group I. All dogs enrolled were selected to those of untreated dogs against aforementioned diseases. All dogs underwent complete physical examination and related data were recorded along within necessary laboratory analysis. Written consent was obtained from all of the dogs owners prior to enrolment of the dogs participated in study.

Haematological and Biochemical examinations. Blood samples were withdrawn from *vena cephalica antebrachii* into anticoagulated (EDTA) tubes. Complete blood counts were performed on referral within Abacus Junior Vet hematology analyzer with special reference to thrombocyte indices Mean Platelet Volume (MPV), Plateletcrit (PCT) and Red Distribution Width (RDW).

Serological analysis. Each sample was tested by use of an ELISA kit (SNAP 4Dx, IDEXX Laboratories, USA) in an attempt to diagnose antigen of *Dirofilaria immitis*, and antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* according to the protocol listed in the product insert. This assay detects antibodies reacting to 2 immunodominant proteins (p30 and p30-1) of *E. canis*, immunodominant protein (msp2) of *A. phagocytophilum* and the C6 peptide for *B. burgdorferi*, along with a circulating carbohydrate

linfadenopatía generalizada, crecimiento del bazo, debilidad muscular, petequia y equimosis, epistaxis, edema de los miembros y/o poli artritis. El protocolo del estudio fue aprobado por el comité de ética de laboratorio institucional de animales de la Universidad de Adnan Menderes HADYEK (con el número: B.30.2.ADÜ.0.00.00.00 - 0.50.0.4-2010-077). Además se obtuvo el consentimiento informado escrito, de todos los propietarios de los perros antes de meterlos al estudio. Los perros que participaron en el estudio fueron seleccionados de aquellos 200 perros (con o sin trombocitopenia) mediante el uso de un kit de prueba canina ELISA para el diagnóstico del vector de enfermedades que ocurren naturalmente (Índice Snap 4Dx).

Formación de grupos de estudio. Los perros con Ehrlichiosis y/o Anaplasmosis (n=51) de ocurrencia natural, fueron incluidos en 3 grupos así; Grupo II que comprendía perros infectados con *A. phagocytophilum* (n=10) (7 de razas mixtas, 1 por cada Terrier, Setter y Golden Retriever), Grupo III (n=13) co-infectados de *E. canis*+ *A. phagocytophilum* (13 de raza mixta), y grupo IV. (n=28) perros infectados con *E. canis* (10 de raza mixta, 5 Terrier, 3 Golden Retriever, 2 de cada Rottweiler, pastor turco y Cocker Spaniel, 1 por cada Doberman, perro Pastor alemán, Jack Russel Terrier y Samoyedo). Los perros de control por estar saludables (n=20), detectados por examen físico completo y se detectó que no estaban infectados con los kit de detección, fueron metidos en el grupo I. Todos los perros incluidos fueron seleccionados entre los perros que no habían sido tratados contra las enfermedades arriba mencionadas. Todos los perros pasaron por un completo examen físico y la estadística relativa fue registrada junto con los análisis de laboratorio necesarios. Se obtuvo consentimiento escrito de todos los propietarios de perros, antes de hacerlos partícipes en el estudio.

Exámenes hematológicos y biológicos. Se tomaron muestras de sangre de la *vena cefálica antebrachii* en tubos anti-coagulados (EDTA). Se realizaron conteos completos de sangre en remisión dentro del Abaco Analista junior Veterinario con referencia especial a índices de trombocitos Volumen Medio Plaqueteadado (MPV), Plateletcrit (PCT) y grosor de distribución de rojos (RDW).

Análisis serológico. Cada muestra fue probada mediante el uso de un kit ELISA (SNAP 4Dx, IDEXX Laboratories, USA) en un intento de diagnosticar antígenos de *Dirofilaria immitis*, anticuerpos andan contra *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, y *Borrelia burgdorferi* de acuerdo con el protocolo listado en el informe del producto. Este ensayo detecta anticuerpos que reaccionan a 2 proteínas inmuno-dominantes (p30 y p30-1) de *E. canis*, proteína inmuno dominante (msp2)

antigen of *D. immitis*. The test results were recorded in an Excel spreadsheet.

Statistical analysis. Descriptive statistics were performed. Correlation coefficient among those parameters were calculated within Pearson test. Clinical signs obtained based on presence/absence such as nasal discharge, anorexia, weight loss, tick infestation, muscle weakness, dermal petechiae, epistaxis, polyarthritis and lymphadenopathy among groups were subjected to Chi square test of independence. One way analysis of variance (ANOVA) was employed for data involving hematological parameters. Thus differences for mean values among groups were detected. Moreover Tukey test was applied to determine significant differences existing among group means within variance analysis.

RESULTS

Hematological analysis. Table 1 showed hematological variables obtained. Anemia, thrombocytopenia and leukocytosis were frequently detected among dogs co-infected with *E. canis* and *A. phagocytophilum* (group III) whereas leukopenia was significantly evident in dogs infected with *E. canis* (group IV) in contrast to other groups. Besides only 10% of dogs infected with *A. phagocytophilum* presented leukopenia.

Significant differences were observed in mean WBC [between control group and IV. (*E. canis*) group ($p \leq 0.05$)], and RBC values [among control group and groups III. and IV. ($p < 0.01$)] (Table 2). Variance analysis showed significant differences for mean Hb values among control group and groups III and IV ($p \leq 0.01$), and for mean Ht values among control group and groups III and IV ($p \leq 0.01$). Variance analysis showed significant differences for mean MCV values between control group and group IV ($p \leq 0.05$). Non-significant differences were detected for mean MCHC values among groups ($p > 0.05$) (Table 2).

Statistically significant differences were observed for mean values of PLT and PCT for groups II, III and IV in contrast to the control group at the level of $p \leq 0.01$, respectively (Table 3). Variance analysis showed that there was no significant

de *A. phagocytophilum* y el péptido C6 para *B. burgdorferi*, junto con un antígeno de carbohidrato circulante de *D. immitis*. Los resultados de las pruebas fueron registrados en una hoja de cálculo de Excel.

Análisis estadístico. Se realizaron estadísticas descriptivas. Se calcularon los coeficientes de correlación entre esos parámetros dentro de la prueba Pearson. Los signos clínicos obtenidos con base en la presencia/ausencia de síntomas como flujo nasal, anorexia, pérdida de peso, infestación de garrapatas, debilidad muscular, petequias en la piel, epistaxis, poliartrosis y linfadenopatía entre los grupos fueron sometidos a la prueba de independencia de Chi al cuadrado. Se empleó una forma de análisis de varianza (ANOVA) para estadísticas relacionadas con parámetros hematológicos. De esta forma, se detectaron las diferencias para valores medios entre los grupos. Más aún, se aplicó la prueba Tukey para determinar diferencias significativas existentes entre medias entre los grupos dentro de análisis de varianza.

RESULTADOS

Análisis hematológico. La tabla 1 mostró las variables hematológicas obtenidas. Se detectaron frecuentemente entre los perros co-infectados con *E. canis* y *A. phagocytophilum* (grupo III) anemia, trombocitopenia y leucocitosis mientras que la leucopenia fue significativamente evidente en perros infectados con *E. canis* (grupo IV) en contraste con otros grupos. Además, solo el 10% de los perros infectados con *A. phagocytophilum* presentaron leucopenia.

Se observaron diferencias significativas en la media WBC [entre el grupo de control y el grupo IV (*E. canis*) ($p \leq 0.05$)], y los valores RBC [entre el grupo de control y los grupos III. y IV. ($p < 0.01$)] (Tabla 2). El análisis de varianza mostró diferencias significativas para los valores medio de Hb entre el grupo de control y los grupos III y IV ($p \leq 0.01$) para los valores medios de Ht entre el grupo de control y los grupos III y IV ($p \leq 0.01$). El análisis de varianza mostró diferencias significativas para los valores medios de MCV entre el grupo de control y el grupo IV ($p \leq 0.05$). Se detectaron diferencias no significativas para los valores medios de MCHC entre los grupos ($p > 0.05$) (Tabla 2).

Table 1. Haematological abnormalities among *E. canis* and/or *A. phagocytophilum* infected dogs.

Haematological abnormality	<i>A. phagocytophilum</i> (n:10) (%)	<i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (n:13) (%)	<i>E. canis</i> (n:28) (%)
Anemia	6/10 (60)	10/13 (76)	19/28 (67)
Thrombocytopenia	5/10 (50)	8/13 (76.9)	20/28 (71.4)
Leukocytosis	4/10 (40)	5/13 (38)	4/28 (14)
Leukopenia	1/10 (10)	0/13 (0)	6/28 (21)

Table 2. Descriptive statistics relevant to leukocyte and erythrocyte parameters in all groups.

	Control (n: 20)	<i>A. phagocytophilum</i> (n:10)	<i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (n: 13)	<i>E. canis</i> (n: 28)	P
WBC	11.435±0.735 ^a	13.19±2.10 ^{ab}	15.73±1.82 ^{ab}	10.61±1.08 ^b	*
RBC	6.623±0.226 ^a	5.470±0.239 ^{ab}	4.845±0.356 ^b	4.671±0.296 ^b	**
HGB	15.069±0.485 ^a	11.870±0.639 ^{ab}	10.362±0.822 ^b	9.829±0.754 ^b	**
HCT	43.83±1.35 ^a	35.39±1.77 ^{ab}	30.96±2.34 ^b	29.36±1.97 ^b	**
MCV	66.000±0.557 ^a	64.60±1.19 ^{ab}	63.846±0.839 ^{ab}	62.679±0.911 ^b	*
MCHC	34.505±0.386	33.510±0.440	33.385±0.350	32.246±0.738	

Values were indicated as mean ± SE mean.

a, b: Parameters presented within different letters at the same row indicated statistical significance (*p≤0.05, **p≤0.01)

Table 3. Descriptive statistics relevant to thrombocyte parameters in all groups.

	Control (n: 20)	<i>A. phagocytophilum</i> (n: 10)	<i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (n: 13)	<i>E. canis</i> (n: 28)	P
PLT	370.4±28.6 ^a	159.6±63.5 ^b	142.3±44.3 ^b	148.7±33.5 ^b	**
PCT	0.3695±0.0283 ^a	0.1530±0.0590 ^b	0.1531±0.0441 ^b	0.1450±0.0314 ^b	**
MPV	9.807±0.232	9.080±0.647	10.123±0.982	8.921±0.578	
PDWc	38.755±0.510	37.84±1.46 ^b	34.40±4.33	36.30±2.02	

Values were indicated as mean ± SE mean. a, b: Parameters presented within different letters at the same row indicated statistical significance. (*p≤0.05, **p≤0.01).

difference between mean MPV and PDWc values of the four groups (p>0.05).

Serological results. *In vitro* diagnostic rapid test kits (Snap4Dx) revealed positivity against antibodies *E. canis* 28/200 (14%), *A. phagocytophilum* 10/200 (5%) and 13/200 (6.5%) both for *E. canis* and *A. phagocytophilum*.

Clinical signs. Chi-square test was used for independence controls among groups (I, II, III, IV) and clinical findings observed based on presence (1)- or absence (0) such as nasal discharge, anorexia, weight loss, tick infestation, fever, muscle weakness, petechiae and ecchymosis, epistaxis, polyarthritis, lymphadenopathy. Nasal discharge, anorexia, weight loss, tick infestation and lymphadenopathy were dependent variables among groups at the level of p≤0.01. Other clinical signs aforementioned did not reveal statistical significance among infected groups.

Taking into account the probable transmission is through the bite of ticks for Ehrlichial organisms, active tick infestation was evident among 90%, 53.85%, and 71.43% of dogs infected with *A. phagocytophilum*, mixed *E. canis* and *A. phagocytophilum* and *E. canis*, respectively. When cases were deemed individually, a Boxer dog infected with *E. canis* presented distal limb edema, whereas *A. phagocytophilum* infected Rottweiler dog showed lameness and central nervous system signs. Dogs infected with *E. canis* or *A. phagocytophilum* showed bleeding tendency.

Correlation analysis for relevant hematological variables. In the present study correlation among

Se observaron diferencias estadísticamente significativas para los valores medios de PLT y PCT para los grupos II, III y IV en contraste con el grupo de control al nivel de p≤0.01, respectivamente (Tabla 3). El análisis de varianza mostró que no diferencia significativa entre los valores medios de MPV y PDWc para los cuatro grupos (p>0.05).

Resultados serológicos. Los kits de pruebas diagnósticas rápidas *In vitro* (Snap4Dx) revelaron positividad contra anticuerpos *E. canis* 28/200 (14%), *A. phagocytophilum* 10/200 (5%) y 13/200 (6.5%) ambos para *E. canis* y *A. phagocytophilum*.

Signos clínicos. Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para controles de independencia entre grupos (I, II, III, IV) y los resultados clínicos observados, basados en la presencia (1)- o ausencia (0) tales como flujo nasal, anorexia, pérdida de peso, infestación de garrapatas, fiebre, debilidad muscular, petequias y equimosis, apitaxis, poliartrosis, linfadenopatías. El flujo nasal, anorexia, pérdida de peso, infestación de garrapatas y linfadenopatías fueron variables dependientes entre los grupos al nivel de p≤0.01. Los otros signos clínicos, arriba mencionados, no revelaron significancia estadística entre grupos infectados.

Teniendo en cuenta que la posible transmisión se da a través de picadas de garrapatas para organismos Ehrlichiales, la infestación activa de garrapatas fue evidente entre el 90%, 53.85%, y 71.43% de los perros infectados con *A. phagocytophilum*, *E. canis* y *A. phagocytophilum* mezcladas y *E. canis*, respectivamente. Cuando se consideraron casos individualmente, un perro Boxer infectado con *E. canis* presentó edema distal de miembro,

those three thrombocyte indices (PCT, MPV and PDWc) and parallel red blood cell parameters (HCT, MCV and RDW) were investigated for all groups and for intragroup comparison. When all groups were evaluated completely Pearson correlation analysis revealed positive strong ($r:0.383$) significant ($p \leq 0.01$) correlation between PCT and HCT. Besides a positive strong ($r:0.372$) significant ($p \leq 0.01$) correlation was also evident between PLT and RBC. Between MPV and MCV a positive but nonsignificant correlation ($r=0.220$; $p > 0.05$) was found (Table 4).

Taking into account PLT and relevant thrombocyte indices, a positive strong significant correlation between PLT and PCT ($r= 0.983$; $p \leq 0.01$), indeed a positive but nonsignificant correlation among PLT and MPV, and PLT and PDWc ($p > 0.05$, both) were found (Table 4).

mientras que un perro Rottweiler infectado con *A. Phagocytophilum* mostró cojera y signos del sistema nervioso central. Perros infectados con *E. canis* o *A. phagocytophilum* mostraron tendencia a sangrar.

Análisis de correlación para variables hematológicas relevantes.

En el presente estudio, se estudiaron la correlación entre tres índices trombocíticos (PCT, MPV y PDWc) y parámetros paralelos de células de sangre rojas (HCT, MCV and RDW) para todos los grupos y para una comparación intra grupo. Cuando todos los grupos fueron evaluados completamente, el análisis de correlación de Pearson reveló fuerte y positiva ($r:0.383$), significativa ($p \leq 0.01$) correlación entre PCT y HCT. Además una correlación positiva y fuerte ($r:0.372$) significativa ($p \leq 0.01$) también fue evidente entre PLT y RBC. Entre MPV y MCV se encontró una correlación positiva pero no significativa ($r=0.220$; $p > 0.05$) (Tabla 4).

Table 4. Correlation coefficients and statistical analysis among thrombocyte indices (PCT, MPV and PDWc) and parallel erythrocyte parameters for all groups.

	WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	MCHC	PLT	PCT	MPV
RBC	0.084 0.484								
HGB	0.096 0.426	0.966 0.000							
HCT	0.096 0.427	0.978 0.000	0.991 0.000						
MCV	0.080 0.478	0.234 0.050	0.425 0.000	0.422 0.000					
MCHC	0.167 0.163	0.518 0.000	0.616 0.000	0.549 0.000	0.283 0.017				
PLT	0.080 0.509	0.372 0.001	0.376 0.001	0.376 0.001	0.134 0.267	0.265 0.026			
PCT	0.061 0.611	0.365 0.002	0.385 0.001	0.383 0.001	0.183 0.127	0.283 0.017	0.983 0.000		
MPV	0.043 0.724	0.001 0.992	0.068 0.572	0.044 0.717	0.220 0.066	0.103 0.391	0.162 0.176	0.247 0.038	
PDWc	0.071 0.556	0.050 0.467	0.088 0.467	0.066 0.585	0.112 0.352	0.076 0.527	0.229 0.055	0.272 0.022	0.848 0.000

Cell content; Pearson correlation coefficient (r)
P value.

Intragroup comparison revealed a strong negative significant correlation between PCT and HCT ($r:-0.512$; $p \leq 0.05$) for control group. Comparative correlation among PLT and thrombocyte indices revealed a positive significant correlation between PLT and PCT ($r=0.943$; $p \leq 0.01$), whereas negative significant correlations among PLT and MPV ($r:-0.554$; $p \leq 0.05$) and PLT and PDWc ($r:-0.548$, $p \leq 0.05$) (Table 5).

In group II. of dogs infected with *A. phagocytophilum*, positive but nonsignificant ($p > 0.05$) correlations were found among PCT and HCT ($r:0.361$), MPV and MCV ($r:0.085$), PLT and RBC ($r:0.391$). Within this group a positive strong ($r:0.988$) significant ($p \leq 0.01$) correlation

Teniendo en cuenta índices relevantes de PLT y trombocíticos, se encontraron una correlación positiva y significativa entre PLT y PCT ($r= 0.983$; $p \leq 0.01$), una correlación realmente positiva pero insignificante entre PLT y MPV, y entre PLT y PDWc ($p > 0.05$, ambas) (Tabla 4).

La comparación intra grupos reveló una correlación fuerte negativa entre PCT y HCT ($r:-0.512$; $p \leq 0.05$) para el grupo de control. Una correlación comparativa entre los índices de PLT y trombocítico mostró una correlación positiva significativa PLT y PCT ($r=0.943$; $p \leq 0.01$), mientras que [resultaron] correlaciones negativas significativas entre PLT y MPV ($r:-0.554$; $p \leq 0.05$) y entre PLT y PDWc ($r:-0.548$, $p \leq 0.05$) (Tabla 5).

Table 5. Correlation among thrombocyte indices (PLT, PCT, MPV) and anemia parameters (RBC, HCT, MCV).

	PCT-HCT	MPV-MCV	PLT-RBC	PLT-PCT	PLT-MPV	PLT-PDWc
I. Control	-0.512 0.021*	0.100 0.676	-0.503 0.024*	0.943 0.000**	-0.554 0.011*	-0.548 0.012*
II. <i>A. phagocytophilum</i>	0.361 0.305	0.085 0.815	0.391 0.264	0.988 0.000**	0.208 0.564	0.178 0.623
III. <i>E. canis</i> + <i>A. phagocytophilum</i>	0.069 0.824	0.514 0.072	0.019 0.951	0.990 0.000**	0.175 0.567	0.361 0.225
IV. <i>E. canis</i>	0.265 0.173	0.134 0.498	0.334 0.082	0.981 0.000**	0.235 0.229	0.221 0.258

Cell content; Pearson correlation coefficient (r)

P value

* $p \leq 0.05$

** $p \leq 0.01$

was evident between PLT and PCT. Similarly in groups III. and IV. positive correlations, ($r:0.990$; $p \leq 0.01$) and ($r:0.981$; $p \leq 0.01$), respectively, were found between PLT and PCT, whereas other parameters showed non-significant correlations (Table 5).

DISCUSSION

The most commonly detected hematological alteration was thrombocytopenia, which was observed in 71.4, 90 and 76.9% of dogs infected with *E. canis* (IV group), *A. phagocytophilum* (II group) and *E. canis*+ *A. phagocytophilum* (III group). Among total population enrolled, 71.8% were infected with *E. canis* and/or *A. phagocytophilum*, and to those of 51 animals, bleeding tendency (petechia/echimoses) was determined in 13 dogs.

Thrombocytopenia is also consistent feature of *A. phagocytophilum* infection (5,6). Antibody-mediated haemolytic anaemia accompanying thrombocytopenia has been detected in relation to *A. phagocytophilum* infection in a dog (3). Indeed there is no proof of antibody-mediated immune-mediated disease. Mouse model of infection suggested that neither splenic sequestration of platelets nor antibody-mediated destruction did not have a direct effect for the acute thrombocytopenia seen with infection (5). Although haematopoietic cells including megakaryocytes were found susceptible to *A. phagocytophilum*, infection-induced thrombocytopenia was not suggested to be in relation with a direct effect of intracellular pathogen (7).

Taking into account all infected *E. canis* and/or *A. phagocytophilum* dogs significant differences ($p \leq 0.01$) were observed among clinical findings such as nasal discharge, appetite, tick infestation, muscle weakness, dermal petechia/echimoses, polyarthritis and lymphadenopathy in contrast to the control group. Moreover cases involved in groups II, III and IV. were dependent to the presence/

En el grupo II de perros infectados con *A. phagocytophilum*, se encontraron correlaciones positivas pero no significativas ($p > 0.05$) entre PCT y HCT ($r:0.361$), MPV y MCV ($r:0.085$), PLT y RBC ($r:0.391$). Dentro de este grupo, se hizo evidente una correlación positiva fuerte ($r:0.988$) significativa ($p \leq 0.01$) entre PLT y PCT. En forma similar, en los grupos III y IV se encontraron correlaciones positivas ($r:0.990$; $p \leq 0.01$) y ($r:0.981$; $p \leq 0.01$), respectivamente, entre PLT y PCT, mientras que otros parámetros mostraron correlaciones no significativas (Tabla 5).

DISCUSIÓN

La alteración hematológica más comúnmente detectada fue la trombocitopenia, que se observó en 71.4, 90 y 76.9% de los perros infectados con *E. canis* (grupo IV), *A. phagocytophilum* (grupo II) y *E. canis*+ *A. phagocytophilum* (grupo III). Entre la población total involucrada, 71.8% se infectaron con *E. canis* y/o *A. phagocytophilum*, y para ellos, se determinó tendencia al sangrado (petequia/equimosis) en 13 perros de un total de 51 animales.

La trombocitopenia también es una característica consistente de la infección de *A. phagocytophilum* (5,6). Se detectó anemia hemolítica mediada por anti cuerpos acompañando la trombocitopenia, en relación con la infección de *A. phagocytophilum* en un perro (3). En realidad, no hay prueba de enfermedad mediada por anticuerpos o por inmunidad. El modelo de infección de Mouse sugirió que, ni la retención de plaquetas por el vaso, ni la destrucción mediada por anti cuerpos, tuvieron un efecto directo en la trombocitopenia aguda observada con la infección (5). Aunque se encontraron células hematopoyéticas incluyendo megacariocitos susceptibles a *A. phagocytophilum*, la trombocitopenia inducida por la infección no se sugirió que tuviera relación con un efecto directo de patógeno intracelular (7).

Teniendo en cuenta todos los perros infectados con *E. canis* y/o *A. Phagocytophilum*, se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.01$) entre resultados clínicos tales como fluido nasal, apetito, infestación de garrapatas, debilidad muscular, petequia de la

absence of clinical signs aforementioned. In *E. canis* infected dogs (group IV.) the mean values for leukocyte responses significantly decreased in contrast to control group. In groups II and IV mean values for RBC, Hb and HCT were significantly decreased in contrast to control group ($p \leq 0.01$).

A common pattern of the hemopathological effects of CME may be variable during different phases of the disease (8). The effects of CME on the circulating blood cells may be accompanied by bone marrow suppression depending of the stage of the disease, thus may result with deficient production of one or more of the blood elements (8). Another research indicated that in the acute or chronic phases of CME leukopenia accompanied anemia and thrombocytopenia (9). It was suggested that a significant percentage of pancytopenic or anemic dogs with CME were serologically positive and PCR negative (9). Pancytopenia, anemia and leukopenia were already described in acute and chronic stages of CME (10). Serology positive however PCR negative dogs may be at a chronic stage, even cells are reduced due to bone marrow damage and *E. canis* is in the tissue, thus may not be PCR detectable. All dogs with leukocytosis were PCR positive, and 50% were also serologically positive in the latter study (9). The latter cases could be involved in acute stage of CME, as leukocytosis exist in the first 2- 3 weeks due to bone marrow hyperplasia (9). In the present study among *E. canis* infected dogs 14% presented leukocytosis, whereas 21% leukopenia. *A. phagocytophilum* infected dogs showed 40% leukocytosis, whereas 10% leukopenia. Aforementioned hematological results may be relevant to the different stages of the infection.

Automated blood cell analyzers recently are of beneficial in an attempt to provide novel data about platelets via the measurement of platelet indices, involving MPV, PDW and PCT (11, 12). Platelet indices may be of beneficial and suggests clinical data relevant to the underlying causes of thrombocytopenia in humanbeing (12), and in dogs (13, 14).

MPV has also been reported to be an indirect marker of alterations in platelet production and activity and of bone marrow response in septic patients (13-15) and inflammatory diseases in dogs (12). In a canine model of endotoxemia, elevated MPV values were reported whereas PLT and PCT decreased (16). In the latter study thrombocytopenia was significantly associated with alterations in MPV, and to those

piel/ equimosis, poliartritis y linfadenopatías, en contraste con el grupo de control. Por otra parte, casos involucrados en los grupos II, III y IV fueron dependientes de la presencia/ausencia de los signos clínicos antes mencionados. En perros infectados con *E. canis* (grupo IV.) los valores medios para respuestas de leucocitos disminuyeron significativamente en contraste con el grupo de control. En los grupos II y IV los valores medios de RBC, Hb y HCT fueron significativamente disminuidos en contraste con el grupo de control ($p \leq 0.01$).

Un patrón común de los efectos hemopatológicos de CME puede ser variable durante las diferentes fases de la enfermedad (8). Los efectos de CME en las células de la sangre circulante, pueden estar acompañados por supresión de la médula ósea, dependiendo de la fase de la enfermedad, y así puede resultar con una deficiente producción de uno o más de los elementos de la sangre (8). Otra investigación indicó que, en las fases agudas o crónicas de CME la leucopenia acompañó a la anemia y trombocitopenia (9). Se sugirió que un porcentaje significativo de pancitopénicos o perros anémicos con CME eran serológicamente positivos y PCR negativos (9). La pancitopenia, anemia y leucopenia ya estaban descritas en etapas aguda y crónica de CME (10). Los perros con serología positiva pero con PCR negativa pueden estar en la etapa crónica, las células pares se reducen debido a daños en la medula y a que *E. canis* se encuentra en el tejido, y por ello puede no ser detectable el PCR. Todos los perros con leucocitosis fueron positivos para PCR y 50% también fueron serológicamente positivos en el último estudio (9). Los últimos casos pueden estar involucrados en una etapa aguda de CME, puesto que la leucocitosis existe en las primeras 2- 3 semanas debido a hiperplasia de la medula (9). En el presente estudio, entre los perros infectados con *E. Canis*, 14% presentaron leucocitosis, mientras que 21% presentaron leucopenia. Los perros infectados con *A. phagocytophilum* mostraron 40% leucocitosis, mientras que el 10% tenían leucopenia. Los resultados hematológicos arriba mencionados pueden ser relevantes a las diferentes etapas de la infección.

Analizadores automatizados de las células de la sangre, son un intento reciente para proveer estadística novedosa sobre plaquetas vía la medición de índices de plaquetas que involucran MPV, PDW y PCT (11, 12). Los índices de plaquetas pueden ser beneficiosos y sugieren estadísticas clínicas relevantes a los casos subyacentes de trombocitopenia en humanos (12), y en perros (13, 14).

También se ha reportado que MPV puede ser un marcador indirecto de alteraciones en la producción y actividad de las plaquetas y de las respuestas de la medula en pacientes sépticos (13-15) y enfermedades inflamatorias en perros (12). En un modelo canino

of findings may be attributable to changes in platelet production and reactivity, furthermore platelet indices may be used for diagnosis and monitoring of dogs with endotoxemia (16).

For healthy dogs Yilmaz et al (16) detected mean MPV values as 9.3 ± 0.5 , whereas in a prior study min-max values of 7.9-13.5 fL (17) was detected. In 2 different studies performed among dogs infected with Babesiosis, Poland side reported MPV values of 6.1-10.1 fL in 248 dogs naturally infected with large *Babesia* form (18), indeed Croatian research revealed MPV min-max values of 5-13.1 fL for diseased dogs (17). For both of the studies MPV values above reference ranges may be attributable to release of immature platelets from the bone marrow due to responsive thrombopoiesis occurring in Babesiosis or because of immune-mediated thrombocytopenia.

In the present study indeed expectations, mean MPV values did not present significant alterations in dogs infected with *E. canis* and/or *A. phagocytophilum* in contrast to the control group, therefore MPV may not be a sensitive platelet index in those dogs or it should be suggested that it may be an independent index at least for infected dogs involved.

The quantitation of thrombocytes in peripheral blood is well known and recognized tool. Recently, new indices related to platelet counts are provided within the use of automated hematologic analyzers (19). As platelet indices are relatively novel parameters for veterinary medicine, the scientific literature is lacking expected and expanded knowledge. The correlation between the platelet indices and parallel RBC parameters has been the subject of some studies (19).

PCT denotes the term for the percentage of blood volume occupied within the thrombocytes (20). Surfaces of cells are required for clotting alterations taking place, therefore the present authors examined PCT, as was also reported (17). In healthy dogs Yilmaz et al (16) reported PCT values of 0.33 ± 0.01 . In dogs with Babesiosis PCT values were significantly decreased before and after therapy, in contrast to the healthy dogs (17). In the latter study the reference ranges changed from 0.01 to 0.08% in dogs infected with Babesiosis, prior to therapy (17). In the present study among healthy dogs PCT was 0.3695 ± 0.0283 , however the latter parameter was decreased significantly in other 3 groups with infected dogs.

de endotoxemia, se reportaron valores elevados de MPV mientras que los de PLT y PCT decrecieron (16). En el último estudio, la trombocitopenia estaba significativamente asociada con alteraciones en MPV, y para ellos, esas observaciones pueden ser atribuibles a cambios en la producción y reactividad de las plaquetas. Más aún, los índices de plaquetas pueden ser utilizados para diagnóstico y monitoreo de perros con endotoxemia (16).

Para perros sanos, Yilmaz y otros (16) detectaron valores medios de MPV como 9.3 ± 0.5 , mientras que en un estudio previo los valores mínimos y máximos detectados fueron de 7.9-13.5 fL (17). En 2 estudios diferentes realizados en perros infectados con Babesiosis, el lado de Polonia reportó valores de MPV de 6.1-10.1 fL en 248 perros infectados naturalmente con una forma grande de *Babesia* (18), por cierto que la investigación Croata reveló valores mínimo y máximo de MPV de 5-13.1 fL para perros enfermos (17). Para ambos estudios, los valores de referencia de MPV arriba señalados pueden ser atribuidos a una descarga de plaquetas inmaduras de la medula debido a trombopoesis de respuesta que ocurre en Babesiosis o por trombocitopenia mediada por inmunidad.

En el presente estudio, ciertamente las expectativas, los valores medios de MPV no presentaron alteraciones significativas en perros infectados con *E. canis* y/o *A. phagocytophilum* en contraste con el grupo de control, por lo tanto, MPV puede no ser un índice sensible de plaqueta en esos perros o puede sugerirse que puede ser un índice independiente al menos para perros infectados involucrados.

La cuantificación de trombocitos en la sangre periférica es una herramienta bien conocida y reconocida. Recientemente, nuevos índices relativos al conteo de plaquetas se proveen dentro del uso de los analistas hematológicos automatizados (19). Puesto que los índices de plaquetas son unos parámetros relativamente novedosos para la medicina veterinaria, a la literatura científica le faltan conocimientos esperados y expandidos. La correlación entre los índices de plaquetas y parámetros paralelos de RBC ha sido objeto de algunos estudios (19).

PCT es el término para el porcentaje del volumen de la sangre ocupado por los trombocitos (20). Se requieren superficies de células para alteraciones en coagulación que toman plac. Por lo tanto los autores de este artículo examinaron los valores de PCT, dado que también fueron reportados (17). En perros sanos, Yilmaz y otros (16) reportaron valores de PCT de 0.33 ± 0.01 . En perros con Babesiosis los valores de PCT habían disminuidos significativamente antes y después de la terapia, en contraste con los perros sanos (17). En este estudio, los rangos de referencia cambiaron de 0.01 a 0.08% en perros infectados con

In the present study mean MPV values were decreased in II and IV groups along with decreases in PCT values, indeed alterations among mean MPV and PDWc values did not show any differences compared with the control group. Furthermore thrombocytopenia was significantly correlated with the alterations in PCT. Those findings might show alterations in PLT production and reactivation or the percent of blood volume occupied within the thrombocytes, therefore we concluded that PCT, as a PLT index, may have potential value in the interpretation, diagnosis and monitorization of dogs infected with *E. canis* and/or *A. phagocytophilum*.

Taking into account the platelet indices, as aforementioned above PCT, MPV and PDW may be interpreted from the blood analysis (19). Albeit there is scarcity and lacking data reported in the literature regarding those parameters. MPV, actually the best recognized parameter in contrast to other relevant ones, is an index of platelet function and activation (15,). In our study mean MPV values did not show statistical differences among groups. Moreover no statistical correlation was presented between mean MPV values and parallel red blood cell parameter, MCV. In general elevated MPV should be observed in regenerative thrombocytopenia (increased peripheral loss, destruction/utilization of platelets and elevated production of platelets by marrow)(15,19). In our study as infected dogs in groups II, II and IV. did not show significant changes among mean MPV values, it might be attributable to lacking regenerative thrombocytopenia or the duration of the diseases. The present authors did not evaluate antigenic status, solely examined antibodies against *E. canis* and/or *A. phagocytophilum*. Especially for *E. canis* antigenic load was not evaluated therefore active or acute stages of the disease were not determined, not allowing for entirely interpreting megakaryocytic alterations in bone marrow.

The correlation between PLT count and the three parameters and those among the three parameters and parallel RBC indices were studied. In the present study correlation among those three PLT indices (PCT, MPV and PDWc) and parallel RBC parameters (HCT, MCV and RDW) were investigated for all groups and for intragroup comparison. When all groups were evaluated completely Pearson correlation analysis revealed positive strong ($r:0.383$) significant ($p \leq 0.01$) correlation between PCT and HCT. Besides a positive strong ($r:0.372$) significant ($p \leq 0.01$) correlation was also evident between PLT and RBC.

Babesiosis, antes de la terapia (17). En el presente estudio entre perros sanos, los valores de PCT fueron 0.3695 ± 0.0283 . Sin embargo, este último parámetro se disminuyó significativamente en otros 3 grupos con perros infectados.

En el presente estudio, los valores medios de MPV decrecieron en los grupos II y IV al mismo tiempo que disminuyeron los valores en PCT. Ciertamente, las alteraciones entre los valores medios de MPV y PDWc, no mostraron diferencia alguna comparada con el grupo de control. Más aún, la trombocitopenia estaba significativamente correlacionada con las alteraciones en PCT. Esas observaciones pueden mostrar alteraciones en la producción y reactivación de PLT o el porcentaje de volumen de sangre ocupado dentro de los trombocitos. Por lo tanto nosotros concluimos que PCT, como el índice PLT pueden tener un valor potencial en la interpretación, diagnóstico y monitoreo de perros infectados con *E. canis* y/o *A. phagocytophilum*.

Teniendo en cuenta los índices de plaquetas, como se mencionó antes, PCT, MPV y PDW pueden ser interpretados desde el análisis de la sangre (19). Aunque hay escases y falta de información repostada en la literatura relativa a esos parámetros. MPV, actualmente el parámetro mejor reconocido, en contraste con otros relevantes, es un índice de función y activación de plaquetas (15,). En nuestro estudio, los valores medios de MPV no mostraron diferencias estadísticas entre grupos. Más aún, no se presentó correlación estadística entre los valores medios de MPV y parámetros paralelos de células de sangre rojas, MCV. En general debe observarse un valor elevado de MPV en trombocitopenia regenerativa (pérdida periférica incrementada, destrucción/utilización de plaquetas y elevada producción de plaquetas por la medula (15,19). En nuestro estudio, comoquiera que los perros infectados en los grupos II, II y IV no mostraron cambios significativos entre valores medios de MPV, esto puede ser atribuido a la falta de trombocitopenia regenerativa o a la duración de las enfermedades. Los autores de este artículo, no evaluamos el estatus antigénico, solamente examinamos anticuerpos contra *E. canis* y/o *A. phagocytophilum*. Especialmente para *E. canis*, no se evaluó la carga de antígenos. Por lo tanto, no se determinaron etapas activas o agudas de la enfermedad, no permitiendo la interpretación completa de alteraciones megacariocíticas en la medula.

Se estudiaron las correlaciones entre el conteo de PLT y los tres parámetros y aquella entre los tres parámetros y los índices RBC paralelos. En el presente estudio, se investigaron las correlaciones entre esos tres índices PLT (PCT, MPV y PDWc) y parámetros RBC paralelos (HCT, MCV y RDW) para todos los grupos y para una comparación intra grupo. Cuando se evaluaron todos los grupos completamente, el análisis

Taking into account PLT and relevant PLT indices, a positive strong significant correlation between PLT and PCT ($r=0.983$; $p<0.01$), intragroup comparison revealed a strong negative significant correlation between PCT and HCT ($r:-0.512$; $p\leq 0.05$) for control group. Comparative correlation among PLT and PLT indices revealed a positive significant correlation between PLT and PCT ($r=0.943$; $p\leq 0.01$), whereas negative significant correlations among PLT and MPV ($r:-0.554$; $p\leq 0.05$), besides PLT and PDWc ($r:-0.548$; $p\leq 0.05$) (Table 5). Similarly a positive significant correlation between PLT and PCT was detected in groups II, III and IV.

In conclusion, regarding to the data achieved from the present study, it may be suggested that in dogs infected with *E. canis* and/or *A. phagocytophilum*, RBC and PLT indices should be interpreted along, in an attempt to scrutinize anemia and/or trombocytopenia. Infected dogs showed significant alterations ($p\leq 0.01$) among mean PLT and PCT values and a positive correlation was evident between those 2 parameters ($p\leq 0.01$), whereas alterations on mean MPV and PDWc were not statistically significant. Finally it was suggested that according to the aforementioned results, PLT and PCT values may be used as valuable parameters for diagnosis and probably for monitorization and prognosis in infected dogs with mentioned agents.

Acknowledgement

This study was summarized paritally from the master thesis of Funda OZATA, M.Sc., DVM, under the advisory of Dr. Kerem URAL, DVM and was funded by Adnan Menderes University Research Projects Funding Unit with project number VTF-11025.

de correlación de Pearson reveló una correlación positiva y fuerte ($r:0.383$) significativa ($p\leq 0.01$) entre PCT y HCT. Además, también fue evidente una correlación positiva y fuerte ($r:0.372$) significativa ($p\leq 0.01$) entre PLT y RBC.

Teniendo en cuenta PLT e índices relevantes de PLT, en una comparación intra-grupo, una correlación positiva, fuerte y significativa entre PLT y PCT ($r=0.983$; $p<0.01$), reveló una correlación fuerte negativa y significativa entre PCT y HCT ($r:-0.512$; $p\leq 0.05$) para el grupo de control. Una correlación comparativa entre PLT e índices de PLT mostró una correlación positiva y significativa entre PLT y PCT ($r=0.943$; $p\leq 0.01$), al paso que se presentaron correlaciones negativas significativas entre PLT y MPV ($r:-0.554$; $p\leq 0.05$), además de PLT y PDWc ($r:-0.548$; $p\leq 0.05$) (Tabla 5). En forma similar, se detectó una correlación positiva significativa entre PLT y PCT en los grupos II, III y IV.

En conclusión, en relación con las estadísticas logradas por el presente estudio, se puede sugerir que en perros infectados con *E. canis* y/o *A. phagocytophilum*, los índices RBC y PLT deben ser interpretados al tiempo, en un intento de escrutar anemia y/o trombocitopenia. Los perros infectaos mostraron alteraciones significativas ($p\leq 0.01$) entre los valores medios de PLT y PCT y fue evidente una correlación positiva entre esos dos parámetros ($p\leq 0.01$), mientras que las alteraciones en las medias de MPV y PDWc no eran estadísticamente significativas. Finalmente, se sugirió que, de acuerdo con los resultados antes mencionados, los valores de PLT y PCT pueden ser utilizados como parámetros valiosos para el diagnóstico y probablemente para el monitoreo prognosis en perros infectados con los agentes mencionados.

Agradecimientos

Este estudio fue parte de la tesis de maestria de Funda Ozata, M.Sc., bajo la asesoria del Dr. Kerem URAL, DVM y financiado por Adnan Menderes University Research Projects, proyecto número VTF-11025.

REFERENCES

1. Rikihisa Y. The tribe *Ehrlichieae* and ehrlichial diseases. Clin Microbiol Rev 1991; 4:286-308.
2. Bulla C, Takahira RK, Araújo JP, Trinca AL, Lopes SR, Wiedmeyer CE. The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. Vet Res 2004; 35(1):141-146.
3. Bexfield NH, Villiers EJ, Herrtage ME. Immune-mediated haemolytic anaemia and thrombocytopenia associated with *Anaplasma phagocytophilum* in a dog. J Small Anim Pract 2005; 46:543-548.
4. Mazepa AW, Kidd LB, Young KM, Trepanier LA. Clinical presentation of 26 *Anaplasma phagocytophilum* seropositive dogs residing in an endemic area. J Am Anim Hosp Assoc 2010; 46(6):405-412.

5. Borjesson DL, Simon SI, Tablin F, Barthold SW. Thrombocytopenia in a mouse model of human granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis* 2001; 184:1475-1479.
6. Lester SJ, Breitschwerdt EB, Collis CD, Hegarty BC. *Anaplasma phagocytophilum* infection (granulocytic anaplasmosis) in a dog from Vancouver Island. *Can Vet J* 2005; 46:825-827.
7. Granick JL, Reneer DV, Carlyon JA. *Anaplasma phagocytophilum* infects cells of the megakaryocyte lineage through sialylated ligands but fails to alter platelet production. *J Med Microbiol* 2008; 57:416-423.
8. Waner T. Hematological changes in dogs infected with *Ehrlichia canis*. *Isr J Vet Med* 2008; 63:1.
9. Nakaghi HCA, Machado ZR, Costa TM, Andre RM, Baldani DC. Canine ehrlichiosis: clinical, hamatological, serological and molecular aspect. *Cien Rural* 2008; 38(3):776-770.
10. Castro MB, Machado RZ, de Aquino LP, Alessi AC, Costa MT. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. *Vet Pathol* 2004; 119(1):73-86.
11. Boudreaux, M.K. & Ebbe, S. Comparison of platelet number, mean platelet volume and platelet mass in five mammalian species. *Comp Clin Pathol* 1998; 8:16-20.
12. Moritz, A., Walcheck, B.K. & Weiss, D.J. Evaluation of flow cytometric and automated methods for detection of activated platelets in dogs with inflammatory disease. *Am J Vet Res* 2005; 66:325-329.
13. Sullivan PS, Manning KL, Mcdonald TP. Association of mean platelet volume and bone marrow megakaryocytopoiesis in thrombocytopenic dogs: 60 cases (1984-1993). *J Am Vet Med Assoc* 1995; 206:332-334.
14. Rafaj RB, Mrljak V, Guelfi JF. Number of thrombocytes and mean platelet volume in canine babesiosis. *Rev Med Vet* 2005; 156:95-98.
15. Bath PMW, Butterworth RJ. Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coagul Fibrin* 1996; 7:157-161.
16. Yilmaz Z, Eralp O, Ilcol Y. Evaluation of platelet count and its association with plateletcrit, mean platelet volume and platelet size distribution width in a canine model of endotoxemia. *Vet Clin Pathol* 2008; 159-163.
17. Zvorc Z, Rafaj R B, Mrljak V. Erythrocyte and platelet indices in babesiosis of dogs. *Vet Arhiv* 2010; 80(2):259-267.
18. Zygner W, Gojska O, Rapacka G, Jaros D, Wedrychowicz H. Hematological changes during the course of canine babesiosis caused by large Babesia in domestic dogs in Warsaw (Poland). *Vet Parasitol*; 2007; 145,146-15
19. Wiwanitkit V. Plateletcrit, mean platelet volume, platelet distribution width: Its expected values and correlation with parallel red blood cell parameters. *Clin Appl Thromb Hemost* 2004; 10(2):175. 50.
20. Khandekar MM, Khuruana AS, Deshmukh SD, Kakrani AL, Katdare AD, Inamdar AK. Platelet volume indices in patients with coronary artery disease and acute myocardial infarction: an Indian scenario. *J Clin Pathol* 2006; 59:146-149.