

Sinop yöresinde, klinik olarak sağlıklı görülen köpeklerde *Ehrlichia canis* ve *Rickettsia conorii*'nin seroepidemiolojik araştırılması

The seroepidemiologic survey of Ehrlichia canis and Rickettsia conorii in clinically healthy dogs from Sinop region

Turabi Güneş*, Ömer Poyraz, Adem Babacan

Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu (Yrd. Doç. Dr. T. Güneş), Cumhuriyet Üniversitesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (Prof. Dr. Ö. Poyraz), Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, TR-58140 Sivas, İşletme Bölümü (Yrd. Doç. Dr. A. Babacan), Bartın Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, TR-74100 Bartın

Özet

Amaç. Bu çalışmada, Sinop'un köylerinde yaşayan köpeklerde *Ehrlichia canis* (*E. canis*) ve *Rickettsia conorii*'nin (*R. conorii*) seroprevalansının saptanması ve her iki enfeksiyon etkeni arasındaki ko-seroprevalans oranının ortaya konulması amaçlanmıştır. **Yöntem.** 2007 Ağustos ayında Sinop'ta klinik olarak sağlıklı görünen 93 köpekten kan örneği alınmış olup, ELISA yöntemiyle *E. canis* ve *R. conorii* ile reaktif IgG antikorları araştırılmıştır. **Bulgular.** Doksan üç köpeğin 17'sinde (%18,28) *E. canis* ve 68'inde (%73,12) *R. conorii* IgG antikor pozitifliği saptanmıştır. Bir köpek'te (%1,08) sadece *E. canis*, 52 köpekte (%55,91) sadece *R. conorii* antikorları saptanmış olup, 16 köpekte (%17,20) ise *E. canis* ve *R. conorii* arasında ko-seroprevalans tespit edilmiştir. *E. canis* veya *R. conorii*'den birisinin seropozitif olduğu köpek grubunda diğerinin de seropozitif olma ihtimali yüksek bulunmuştur (Fisher kesin ki-kare testi, $p = 0,035$). **Sonuç.** Sinop ve benzer iklime sahip yörelerde yaşayan köpekler *E. canis* ve *R. conorii* enfeksiyonları riski altındadır. Bu doğrultuda, köpeklerin sağlık sorununun çözümünde kene kaynaklı enfeksiyonlar dikkate alınmalıdır. Ayrıca köpek ve insanlar arasındaki dostane yakınlık nedeniyle, *E. canis* ve *R. conorii*'ye karşı köpeklerde görülen antikor pozitifliği, bu enfeksiyonların insanlarda da görülebileceğini işaret etmektedir.

Anahtar sözcükler: Köpek Ehrlichiosis'i, köpek rickettsiosis'i, köpek, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii*.

Abstract

Aim. The aim of the present study was to determine seroprevalence of *Ehrlichia canis* and *Rickettsia conorii* in dogs living in the villages of Sinop and to establish co-seroprevalance rate between both infection agents. **Methods.** In August 2007, blood samples were obtained from 93 dogs which seemed clinically healthy in Sinop. IgG antibodies to *E. canis* and *R. conorii* were investigated in dogs by ELISA. **Results.** *E. canis* and *R. conorii* antibodies were determined in 17 (18.28%) and 68 (73.12%) of 93 dogs, respectively. Only *E. canis* antibodies in 1 (1.08%) of 93 dogs and only *R. conorii* antibodies in 52 (55.91%) of them were determined. And also, the co-seroprevalance between *E. canis* and *R. conorii* were determined in 16 (17.20%) of them. In the dog group in which one of *R. conorii* or *E. canis* was seropositive, the probability of being seropositive of other infection agent was high (Fisher's exact test, $p = 0.035$). **Conclusion.** Dogs living in Sinop and somewhere with similar climate are at risk in terms of *E. canis* and *R. conorii* infections. In this respect, tick borne infections should be considered in the solution of dog's health problems. In addition, because of the friendly relationship between dogs and humans, antibody positivities against *E. canis* and *R. conorii* in dogs can indicate that these infections can be seen in humans, too.

Keywords: Canine Ehrlichiosis, Canine rickettsiosis, Dog, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii*.

Geliş tarihi/Received: 14 Temmuz 2011; **Kabul tarihi/Accepted:** 05 Kasım 2011

***İletişim adresi:**

Dr. Turabi Güneş, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Cumhuriyet Üniversitesi, TR-58140 Sivas. E-posta: turabigunes@hotmail.com

Giriş

Ehrlichia ve *Rickettsiya* cinsine ait türler köpeklerde hastalık oluşturan kene kaynaklı bakteriler içerisinde en ön sıralarda olup, bazı türleri insanlarda da klinik enfeksiyonlara yol açabilmektedirler [1]. *Ehrlichia* türleri monositler, granülositler ve trombositler içinde yerleşebilme kabiliyetindedirler. *Ehrlichia*'nın birkaç türü köpek ehrlichiosis etkeni olmakla birlikte, en önemlileri *Ehrlichia canis* ve *E. phagocytophila* (*Anaplasma phagocytophilum*)'dır. *E. canis* bütün dünyada, özellikle de *Rhipicephalus sanguineus* türü kenelerin dağılım gösterdiği coğrafyalarda görülmekte olup, köpeklerde akut, subklinik ve kronik tipte hastalıklar oluştururlar. Akut ehrlichiosis döneminde, köpeklerin trombositlerinin immünolojik yıkımına yol açtıkları saptanmıştır. Ayrıca köpeklerde merkezi sinir sistemi anormalliklerine de yol açmaktadır [1-3]. *A. phagocytophilum* ise köpeklerde hastalık oluşturabildiği gibi, insanlarda kene ısırmasından yaklaşık 8 gün sonra makülopapül, makül veya peteşi tipte kızarıklık ile seyreden Human Granulocit Ehrlichiosis (HGE) etkenidir. Bundan başka *E. chaffensis*, *E. sensetsu*, *E. ewingi* ve *E. canis*'in de insanlarda klinik enfeksiyonlara neden olabildiği belirtilmiştir [4]. Köpeklerde ve insanlarda görülen kene kaynaklı rickettsiosis, benek ateşi (spotted fever) grubuna ait riketsiyalar neden olmaktadır. Riketsiya türleri zorunlu hücre içi yerleşim gösteren basiller olup, köpeklerin özellikle küçük arter ve venlerindeki endotelial hücrelerine zarar vererek hastalık oluşturmaktadırlar. İnsanlarda kene ısırığından 6-10 gün sonra yüksek ateş, baş ağrısı, kas ağrısı gibi belirtiler ortaya çıkmakta olup yüksek ateşin görülmesinden yaklaşık 3 gün sonra hastaların %95'inde makülopapüler kızarıklık ortaya çıkar. Vakalarının %80'inde bu insanların köpek ile temas öyküleri tespit edilmiştir [5]. Avrupa'da en sık olarak *Rickettsia conarii*'nin neden olduğu Akdeniz benek ateşi rickettsiosis (MSF) görülmektedir. Bu hastalık Avrupa dışında Afrika ve Asya kıtasında da görülmekte olup, *R. sanguineus* türü keneler bu etkenin de en önemli vektörüdür [1-3]. Köpeklerin klinik görünümü, laboratuvar bulguları, direk yayma preparasyonları, kültür ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) sonuçları tanıda kullanılabilirlikle birlikte, bu enfeksiyonların tanısı genellikle serumda bulunan IgM ve IgG tipi özgül antikorların Enzim İmlenti İmmün Test (ELISA) veya İndirekt Floresan antikor testi (IFAT) ile ortaya konulması şeklindedir. Seropozitif serumların western immüno blot testiyle doğrulanması önerilmektedir [1]. *R. sanguineus* türü kenelere Türkiye'nin birçok iklim bölgesinde rastlanmaktadır [6]. Bu çalışmada, köpeklerde *E. canis* ve *R. conarii*'ye karşı oluşmuş antikorların prevalansının araştırılması ve ayrıca her iki enfeksiyon etkeni arasındaki ko-seroprevalans düzeyinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem**Çalışma alanı**

Sinop, Türkiye'nin Karadeniz kıyı şeridinin kuzeye doğru en çok sivrilerek uzanmış, 41°-42° kuzey enlemleri ile 34°-35° doğu boylamları arasında yer almaktadır. Engebeli bir arazi yapısına sahip olup, bütün bir yıl boyu nemli ve yağışlı bir iklim hüküm sürdüğünden Sinop'un büyük bir kısmı ormanlarla ve zengin bitki örtüsüyle kaplıdır [7].

Kan örneklerinin toplanması

Bu çalışmada köpeklerden kan örneği temin etmeden önce, Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alınmıştır (Sayı no: B.30.2.Cum.0.01.00.00-50/133). 2007 Ağustos ayında, Sinop merkez ilçeye bağlı 8 köye ait toplam 93 köpekten kan örneği alınmıştır (Şekil). Kan örneklerinin yöntemine göre serumları elde edilerek ve etiket bilgileri yazılarak kullanılıncaya kadar derin

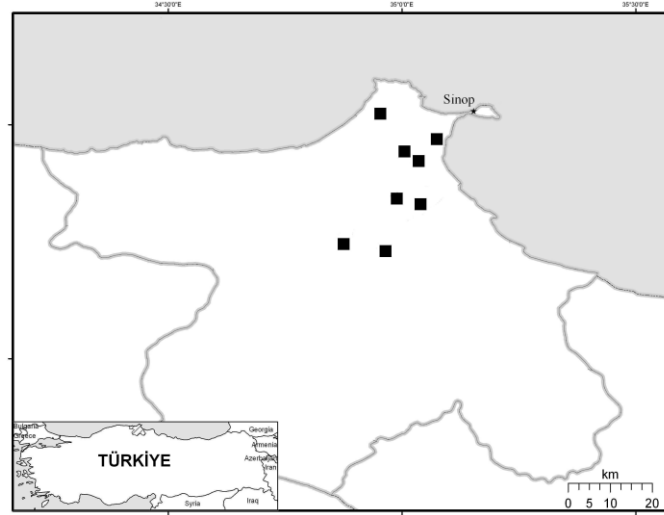
dondurucuda -20°C’de saklanmıştır.

ELISA testi

Köpek serumlarında *R. conorii* ve *E. canis*’e karşı oluşmuş IgG antikorlarının tayininde, sırasıyla “Helica Biosystema Inc” ve “DRG” ticari firmasına ait ELISA kitleri kullanılmıştır. Deneyde kullanılan substrat ve stop solüsyonları, pozitif ve negatif kontroller kit içeriklerinden temin edilmiştir. Kitler prospektusları doğrultusunda çalışılarak, test serumlarının optikal densiteleri 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Kit prospektüsünde izah edildiği gibi, renk skalasına göre pozitif ve negatif absorbans değerleri ortaya konulmuştur.

İstatistik

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS-14 programı kullanılmış (SPSS, Inc., Chicago, IL) olup, parametreler arasında fark olup olmadığını ortaya koymak için Ki-kare ve Fisher’in exact testi uygulanmıştır. *E. canis* ve *R. conorii* seropozitifliği arasındaki bağıntıyı araştırmak için Phi korelasyon testi uygulanmıştır. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



Şekil. Sinop’ta kan alınımının gerçekleştirildiği köyler.

Bulgular

Kategorik değişkenler açısından, serolojik bulgular Tablo’da verilmiş olup, Sinop’ta serum örneği toplanan 93 köpeğin 17’sinde (%18,28) *E. canis* ve 68’sinde (%73,12) *R. conorii*’ye karşı IgG seropozitifliği saptanmıştır. Köpeklerde *E. canis* ve *R. conorii* seroprevalansının cinsiyete göre dağılımlarında erkek ve dişi köpekler arasında istatistiksel açıdan bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$). *E. canis* seropozitifliği yönünden yaş grupları arasında fark gözükmezken ($\chi^2 = 0,15$, $p = 0,985$), *R. conorii* seropozitifliğinde yaş artışıyla birlikte istatistiksel anlamda bir artış saptanmıştır ($\chi^2 = 10,65$, $p = 0,014$). Bir köpek’te (%1,08) sadece *E. canis*, 52 köpekte (%55,91) ise sadece *R. conorii* antikorları saptanmış olup, 16 köpeğin (%17,20) ise her iki etkene karşı antikor pozitifliği taşıdığı (Ko-seroprevalans) tespit edilmiştir. *E. canis* veya *R. conorii*’den birisinin pozitif olduğu köpek grubunda diğerinin de pozitif olma ihtimali yüksek bulunmuştur (Fisher’in kesin testi, $p = 0,035$).

Sonuçlar western blot gibi doğrulama testleriyle doğrulanmamış olup, *E. canis* ve *R. conorii* IgG ELISA ile alınabilecek yalancı pozitif sonuç olasılığının dışlanamaması nedeniyle bu olgular “olası” olarak değerlendirilmiştir.

Tablo. Sinop yöresinde yaşayan köpeklerde risk kategorilerine göre *E. canis*. and *R. conorii* seroprevalansı.

Risk faktörü kategorileri	n	Ortalama (%)	
		<i>E. canis</i>	<i>R. conorii</i>
Genel seroprevalans	93	17 (18,28)	68 (73,12)
Cinsiyet			
Dişi	76	15 (19,73)	57 (75,00)
Erkek	17	2 (11,76)	11 (64,71)
χ^2 (p)		(0,729)*	0.75 (0,387)
Yaş grupları (Ay)			
0-11	4	1 (25,00)	2 (50,00)
12-23	34	6 (17,65)	19 (55,88)
24-36	23	4 (17,39)	19 (82,61)
>37	32	6 (18,75)	28 (87,50)
χ^2 (p)		0,15 (0,985)	10,65 (0,014)
Co-seroprevalans	93	16 (17,20)	19 (17,20)
<i>E. canis</i>			
Negatif	76		52 (68,42)
Pozitif	17		16 (94,12)
Fisher kesin χ^2 testi			(p: 0,035)

* Fisher kesin χ^2 testi uygulandı

Tartışma

R. sanguineus, *R. bursa* ve *R. turanicus* türü kenelere Türkiye'nin birçok iklim bölgesinde rastlanmaktadır. *E. canis* ve *R. conorii*'nin temel vektörü olan *R. sanguineus* türü keneler köpeklerde önemli düzeylerde enfestasyon yapmaktadır [8, 9]. Köpeklerde *E. canis* seroprevalansı farklı coğrafyalarda genellikle %20-50 arasında değişmektedir [10-13]. Türkiye'de, Batmaz ve ark. [14]'nin gerçekleştirdikleri bir çalışmada Marmara, Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinden 249 köpeğin %20,77'inden *E. canis* antikorları tespit edilmiştir. Unver ve ark. [15]'nin PCR testi ile yaptıkları çalışmalarında, Ankara'da klinik görünüm olarak ehrlichiosis'le uyumlu 12 köpeğin 3'ü *E. canis* yönünden pozitif bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise Sinop'ta klinik olarak sağlıklı görülen köpeklerin %18,28'inde *E. canis* antikorları saptanmış olup, bu çalışma köpeklerde *E. canis* enfeksiyonlarının Karadeniz Bölgesinde de görülebileceğinin serolojik bulgusu niteliğindedir. İnsanlarda *E. canis* enfeksiyonu çok nadir görülmekte olup, şu ana kadar Türkiye'de herhangi bir insan olgu sunumuna rastlanamamıştır. Ülkeden ülkeye farklılık göstermekle birlikte, köpeklerde *R. conorii* seroprevalansı genellikle %20 düzeyinin üstünde dağılım göstermektedir [16-18]. Türkiye'de köpekler üzerinde *R. conori* konusunda serolojik ve kapsamlı bir moleküler düzeyde çalışmaya rastlanılmamış olmakla birlikte, köpek ile temas öyküsü olan insanlarda olgu sunumları bulunmaktadır [19, 20]. İnsanlarda rastlanılan bu olgular, Türkiye'de köpeklerin *R. conorii* enfeksiyonlarına sıklıkla maruz kalmış olabileceğini işaret etmektedir. Harrus ve ark. [21]'i Türkiye'ye yakın bir coğrafyada olan, İsrail'de 85 köpeğin %81'inde *R. conorii* antikoru saptamışlardır. Bizim bu çalışmamızda Sinop'ta 93 köpeğin %73,12'sinde *R. conorii* antikor pozitifliği saptanmıştır. Bulgularımız yurdumuza yakın coğrafyada yer alan İsrail köpekleriyle *R. conorii* seroprevalansı açısından paralellik göstermekte olup, bu çalışma *R. conorii* enfeksiyonlarının Karadeniz Bölgesindeki köpeklerde sıklıkla görülebileceğinin serolojik delilidir. *E. canis* ve *R. conorii*'nin cinsiyete göre dağılımların arasında bir fark görülmemesine, erkek ve dişi köpeklerin kenelerce aynı düzeyde enfestasyona uğramış olabileceği gerekçe gösterilebilir. Yaş grupları bakımından ise, *R. conori*'de oldu gibi, *E. canis*'in de yaşlı köpeklerde daha yüksek seroprevalans göstermesi beklenirdi. Köpeklerde *E. canis*'e karşı oluşan antikor titrelerinde 6-9 ay sonra düşüş olduğu belirtilmektedir [22]. *E. canis*'e karşı köpeklerde

oluşan kısa süreli bağışıklık, köpeklerde yaş grupları arasında *E. canis*'in benzer seroprevalansta görülmesine yol açabilir.

Bu çalışmada, köpeklerde *R. conori* ve *E. canis*'e karşı gelişmiş olan ko-seroprevalans oranı %17,20 düzeyinde saptanmıştır. Ki-kare testine göre, *E. canis* veya *R. conorii*'den birisinin pozitif olduğu köpek grubunda diğer etkenin de pozitif olma ihtimali daha yüksek bulunmuştur ($p = 0,035$). Bu durum *E. canis* ve *R. conorii* arasında çapraz reaksiyonu düşündürse de, bu konudaki bilimsel veriler *Ehrlichia* ve *Rickettsia* türleri arasında çapraz reaksiyonun pek görülmediği yönündedir [12, 23]. Her iki bakteri arasındaki bu serolojik bağıntı, ko-seroprevalansa sahip olan köpeklerin kene enfestasyonuna daha sıklıkla maruz kalmış olabileceğini akla getirir. Her iki enfeksiyon etkeni vektörünün de aynı kene türü olması aralarındaki seroepidemiolojik bağın başka bir nedeni olabilir.

Bu sonuçlar, klinik olarak sağlıklı görülen köpeklerin sıklıkla *R. conorii* ve *E. canis*'le karşılaşmış olabileceğinin göstergesidir. İnsan ve köpekler arasında binlerce yıldan beri var olan tarihsel dostluk ve doğal yaşam alanlarında kesişimler bulunmaktadır. Hem köpeklerin sağlık gerekçeleri, hem de enfeksiyon etkenlerine rezervuar olmaları yönünden insan vakalarını da ilgilendirdiklerinden, köpekler özellikle yaz dönemlerinde kene enfestasyonuna karşı korunmalı ve kene kaynaklı enfeksiyonlar yönünden çok daha dikkate alınmalıdır.

Teşekkür

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı (CUBAP) tarafından desteklenmiştir (Proje no = SHMYO-005). Köpeklerin klinik olarak değerlendirilmesi ve kan örneklerinin alınması, Sinop'ta Veteriner hekim Hakkı APAYDIN tarafından gerçekleştirilmiştir. Teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Shaw SE, Day MJ, Birtles RJ, Breitschwerdt EB. Tick-borne infectious diseases of dogs. Trends Parasitol 2001; 17: 74-80.
2. Skotarczak B. Canine ehrlichiosis. Ann Agric Environ Med 2003; 10: 137-141.
3. Varela AS. Tick-borne Ehrlichiae and Rickettsiae of Dogs. In: Bowman, D.W., Eds. Companion and Exotic Animal Parasitology. International Veterinary Information Services. [IVIS], New York. 2003. www.ivis.org
4. Dumler JS, Madigan JE, Pusterla N, Bakken JS. Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. Clin Infect Dis 2007; 45: S45-51.
5. Buckingham SC. Tick-borne infections in children: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management strategies. Paediatr Drugs 2005; 7: 163-76.
6. Aydın L, Bakirci S. Geographical distribution of ticks in Turkey. Parasitol Res 2007; 101: S163-6.
7. Türkiye Cumhuriyeti Sinop Valiliği. <http://www.sinop.gov.tr> (Erişim tarihi 13 Mart 2012)
8. Guberman D, Mumcuoglu KY, Keysary A, Ioffe-Uspensky I, Miller J, Galun R. Prevalence of spotted fever group rickettsiae in ticks from southern Israel. J Med Entomol 1996; 33: 979-82.
9. Papazahariadou MG, Saridomichelakis MN, Koutinas AF, Papadopoulos EG, Leontides L. Tick infestation of dogs in Thessaloniki, northern Greece. Med Vet Entomol 2003; 17: 110-113.
10. Aguiar DM, Cavalcante GT, Pinter A, Gennari SM, Camargo LM, Labruna MB. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. J Med Entomol 2007; 44: 126-32.
11. Botros BA, Elmolla MS, Salib AW, Calamaio CA, Dasch GA, Arthur RR.

- Canine ehrlichiosis in Egypt: sero-epidemiological survey. Onderstepoort. J Vet Res 1995; 62: 41-3.
12. Hoskins JD, Breitschwerdt EB, Gaunt SD, French TW, Burgdorfer W. Antibodies to *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia platys*, and spotted fever group rickettsiae in Louisiana dogs. J Vet Intern Med 1988; 2: 55-9.
 13. M'ghirbi Y, Ghorbel A, Amouri M, Nebaoui A, Haddad S, Bouattour A. Clinical, serological, and molecular evidence of ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs in Tunisia. Parasitol Res 2009; 104: 767-74.
 14. Batmaz H, Nevo E, Waner T, Sentürk S, Yilmaz Z, Harrus S. Seroprevalence of *Ehrlichia canis* antibodies among dogs in Turkey. Vet Rec 2001; 148: 665-6.
 15. Unver A, Rikihisa Y, Borku K, Ozkanlar Y, Hanedan B. Molecular detection and characterization of *Ehrlichia canis* from dogs in Turkey. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2005; 118: 300-4.
 16. Delgado S, Carmenes P. Canine seroprevalence of *Rickettsia conorii* infection (Mediterranean spotted fever) in Castilla y Leon (northwest Spain). Eur J Epidemiol 1995; 11: 597-600.
 17. Herrero C, Pelaz C, Avlar J, Molina R, Vazquez J, Anda P, Casal J, Martin-Bourgon C. Evidence of the presence of spotted fever group rickettsiae in dogs and dog ticks of the central provinces in Spain. Eur J Epidemiol 1992; 8: 575-9.
 18. Keysary A, Torton DN, GrossEM, Torton M. Prevalence of antibodies to *Rickettsia conorii* in dogs in Israel and its relation to outbreaks in man. Isr J Vet Med 1988; 44: 103-7.
 19. Oztoprak N, Celebi G, Aydemir H, Pişkin N, Bektaş S, Koca R, Kuloğlu F. Mediterranean spotted fever due to contact with dog-tick. Mikrobiyol Bul 2008; 42: 701-6.
 20. Erten N, Karan MA, Taşcıoğlu C, Yurci A, Dilmener M, Kaysı A. *Rickettsia conorii* İnfeksiyonu: Olgu Sunusu. Klimik Dergisi 2000; 13: 36-8.
 21. Harrus S, Lior Y, Ephros M, Grisaru-Soen G, Keysary A, Strenger C, Jongejan F, Waner T, Baneth G. *Rickettsia conorii* in humans and dogs: a seroepidemiologic survey of two rural villages in Israel. Am J Trop Med Hyg 2007; 77: 133-5.
 22. Neer TM, Breitschwerdt EB, Grene RT, Lappin M. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. American College of Veterinary Internal Medicine. J Vet Intern Med 2002; 16: 309-15.
 23. Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, Krusell A, Sexton DJ, Buckingham SC, Marshall GS, Storch GA, Dasch GA, McQuiston JH, Swerdlow DL, Dumler SJ, Nicholson WL, Walker DH, Eremeeva ME, Ohl CA; Tickborne Rickettsial Diseases Working Group; CDC. Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis--United States: a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. MMWR Recomm Rep 2006; 55: 1-27.