**T.C**

**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İÇ HASTALIKLARI (VETERİNER) DOKTORA PROGRAMI**

**EHRLİCHİOSİSLİ ANEMİK KÖPEKLERDE BAZI KARDİYOPULMONER BELİRTEÇLERİN ARAŞTIRILMASI**

**YASİN PARLATIR**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Serdar PAŞA**

**AYDIN 2019**

**KABUL VE ONAY SAYFASI**

**TEŞEKKÜR**

Doktora eğitimimin her kademesinde, mesleki ahlakımın ve beceremin oluşması, hekimlik nosyonumun karakter kazanması, akademik çalışma disiplini edinmem ve hayata bakışımın her kademesinde engin bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, öğrencisi olma gururunu her zaman onurla taşıyacağım, tez çalışmamın her aşamasında engin sabrı ile bana yol gösteren danışmanım, değerli hocam Prof.Dr. Serdar PAŞA ya,

Eğitim sürecim boyunca mesleğime olan bağlılığımı, paylaştığım her an kat ve kat arttıran, eşsiz tecrübeleri ile her daim kılavuzluk eden, bana öğrettiği engin bilgilerini meslek hayatım boyunca gururla gelecek nesillere aktaracağım değerli hocam, sayın Prof. Dr. Kerem URAL’a

Bu süreçte mesleki bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her alanda sonsuz desteklerini gördüğüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nın değerli hocaları, sayın Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA ve Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ’a,

Bilinenin aksine bildiğimin bilmemekten geldiğini bana öğreten, eşsiz bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, başarılarını ve çalışma ahlakını hayatım boyunca kendime düstur edindiğim değerli hocam, sayın Doç. Dr. Buğrahan Bekir YAĞCI’ya,

Desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nın değerli hocaları, sayın Doç. Dr. Naci ÖCAL, Doç. Dr. Serkal GAZYAĞCI ve Doç.Dr. Sibel YASA DURU’ya,

Hem akademik, hem mesleki hem de hayat tecrübesi açısından her daim bana yol gösteren, meslektaşı ve öğrencisi olmaktan onur ve gurur duyduğum çok saygıdeğer hocam, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hasan ERDOĞAN’a,

Öğrencisi olmaktan ve aynı mesaiyi paylaşmaktan her daim onur duyduğum, mesleğim ve hayatımın her kademesinde varlığı ile gururlandığım, değerli meslek büyüğüm sayın Arş. Gör. Dr. Eyüp Hakan UÇAR’a,

Doktora sürecine beraber başladığımız, aynı mesleği ve arkadaşlığını paylaşmaktan her daim onur ve gurur duyduğum, her kademe yardımlarını benden esirgemeyen değerli meslektaşım sayın Araş. Gör. Dr. Cevdet PEKER’e,

Her daim desteklerini benden esirgemeyen, değerli meslektaşlarım ve mesai arkadaşlarım sayın Uzm. Veteriner Hekim Erhan AY, Veteriner Hekim Abdullah GÜNDÜZ’e

Doktora tezimin materyal ve metot aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım, meslektaşım ve sayın şefim Veteriner Hekim Görkem ÖNER’e, PZR uygulamalarımda bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen sayın Arş. Gör. Dr. Adnan AYAN’a, değerli yorumları ve tecrübeleri için Parazitoloji ABD öğretim üyesi Sayın Araş. Gör. Dr. Metin PEKAĞIRBAŞ’a

Mesleğime profesyonel bir bakış açısı kazanmamı sağlayan, bilgi ve tecrübelerini benden hiçbir zaman esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Mehmet GÜLTEKİN’e,

Doktora eğitimime başladığım yıllardan günümüze kadar birlikte çalıştığım her daim desteklerini benden esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Gülten Emek TUNA, Arş. Gör. Dr. Ceren DİNLER, Arş. Gör. Dr. Songül ERDOĞAN ile tüm lisansüstü arkadaşlarıma,

Her daim destekleri ile yanımda olan değerli mesai arkadaşım Araş. Gör. Dr. Erdal KARA’ya tez çalışmam için gerekli zamanı temin etmemde yardımlarını benden esirgemeyen Veteriner Hekim Talha SATIR, Veteriner Hekim Abdülkadir TAŞAN ve Veteriner Hekim Mustafa TEKNEKAYA’ya teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmayı, bu günlere gelmemin en büyük mimarı, sonsuz sabırlı, her daim destekçim olan ve en büyük teşekkürü hak eden aileme ithaf ederim.

**İÇİNDEKİLER**

KABUL VE ONAY SAYFASI i

TEŞEKKÜR ii

İÇİNDEKİLER iii

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ v

KABUL VE ONAY SAYFASI i

TEŞEKKÜR ii

İÇİNDEKİLER iii

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ v

ŞEKİLLER DİZİNİ vii

RESİMLER DİZİNİ viii

TABLOLAR DİZİNİ ix

ÖZET x

ABSTRACT xi

1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
   1. Taksonomi 4
   2. Etiyoloji 6
   3. Epidemiyoloji 9
   4. Patogenez 11
   5. Klinik Semptomlar 13
   6. Laboratuvar Bulguları 17
   7. D-Dimer ve YDPB (Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma Bozukluğu) 20
   8. Kardiyak Belirteçler 22
      1. Kardiyak Troponin (cTnI) 24
      2. Kreatin Kinaz Muscle Brain (CK-MB) 26
      3. Miyoglobin 28
   9. Anemi 28
3. GEREÇ VE YÖNTEM 32
   1. Gereç 32

3.1.1. Hayvan materyali 32

3.1.2. Klinik Muayene Protokolü 32

3.2. Yöntem 33

3.2.1. Çalışma Grupları 33

3.2.2. Laboratuvar Muayeneleri 36

3.2.2.1. Örneklerin Toplanması 36

3.2.2.2. Hematolojik Analizler (Tam Kan Sayımı) 37

3.2.2.3. Kardiyak Panel Ölçümü (cTnI, CK-MB, Miyoglobin) 38

3.2.2.4. D-Dimer Ölçümü 39

3.2.2.5. PZR Uygulaması 40

3.2.2.5.1. DNA ekstraksiyonu 40

3.2.2.5.2. Testin uygulanması 41

3.2.3. Diagnostik Uygulamalar 42

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme 45

1. BULGULAR 46
   1. Kontrol Grubu 46
   2. Klinik Bulgular 47
   3. Hematolojik Bulgular 50
   4. D-Dimer Bulguları 56
   5. Kardiyak Panel Bulguları 58
   6. Korelasyon ve Regresyon Analizleri 62
2. TARTIŞMA 70
3. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 80

KAYNAKLAR 81

ÖZGEÇMİŞ 104

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

**%**  : Yüzde

**<** : Küçüktür

**>**  : Büyüktür

**°C**  : Santigrat (Celsius)

**A.**  : Anaplasma

**ADP** : Adenozindifosfat

**ATP**  : Adenozintrifosfat

**CK**  : Kreatin Kinaz

**CK-BB** : Kreatin Kinaz Brain Brain

**CK-MB** : Kreatin Kinaz Muscle Brain

**CK-MM** : Kreatin Kinaz Muscle Muscle

**CME**  : Kanin Monositik Ehrlichiosis

**CSF**  : Cerebrospinal sıvı

**DIC** : Disseminate İntravascular Coagulation

**DNA**  : Deoksiribonükleik asit

**DSÖ**  : Dünya Sağlık Örgütü

**E.**  : Ehrlichia

**ELISA** : Enzyme Linken Immunosorbant Assay

**HCT**  : Hematokrit

**HGB**  : Hemoglobin

**HGE**  : İnsan Granulositik Ehrlichiosis

**HME**  : İnsan Monositik Ehrlichiosis

**IFAT**  : İmmuflorasan Antikor Testi

**MCHC** : Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu

**MCV**  : Ortalama Eritrosit Hacmi

**ng/ml**  : Nanogram/Mililitre

**PZR**  : Polimerize Zincir Reaksiyonu

**RBC**  : Eritrosit

**RNA**  : Ribonükleik Asit

**WBC**  : Total Lökosit

***x̄*** : Aritmetik ortalama

**YDPB**  : Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma Bozukluğu

**α**  : Alfa

**μ L**  : mikro/Litre

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

**Şekil 1.** Ehrlichia familya filogenezi 5

**Şekil 2.** Çalışma grupları 34

**Şekil 3.** Çalışma grubuna ait hayvanlardaki klinik bulgular 47

**Şekil 4.** Mono enfekte hayvanlara ait klinik bulgular 48

**Şekil 5.** Ko enfekte hayvanlara ait klinik bulgular 49

**Şekil 6.** Tanısal sınıflandırmaya göre olgu dağılımı 53

**Şekil 7.** Çalışma Grupları ve Kontrol Gruplarına Göre D-Dimer düzeyleri 58

**Şekil 8.** Çalışma Grupları ve Kontrol Gruplarına Göre cTnI Seviyeleri. 60

**Şekil 9.** Çalışma Grupları ve Kontrol Gruplarına Göre CK-MB Seviyeleri 61

**Şekil 10.** Çalışma grupları ve kontrol gruplarına göre MYG düzeyleri 61

**Şekil 11.** D-Dimer ve RBC korelasyon sonuçları 64

**Şekil 12.** D-Dimer ve HGB korelasyon sonuçları 64

**Şekil 13.** D-Dimer ve HCT korelasyon sonuçları 65

**Şekil 14.** D-Dimer ve PLT korelasyon sonuçları 65

**Şekil 15.** cTnI ve RBC korelasyon sonuçları 66

**Şekil 16.** cTnI ve HGB korelasyon sonuçları 66

**Şekil 17.** cTnI ve HCT korelasyon sonuçları 67

**Şekil 18.**  cTnI ve PLT korelasyon sonuçları 67

**Şekil 19.** CK-MB ve cTnI korelasyon sonuçları 68

**Şekil 20.** CK-MB ve MYG korelasyon sonuçları 68

**Şekil 21.** MYG ve cTnI korelasyon sonuçları 69

**RESİMLER DİZİNİ**

**Resim 1.** Tam Kan Sayımı Cihazı 37

**Resim 2.** Fluorescence İmmunoassay Rapid Quantitave Test Cihazı 38

**Resim 3.** Kardiak Panel ve D-Dimer ölçümü 39

**Resim 4.** Snap test kitlerinin uygulanması 42

**Resim 5.** Snap 4DX sonuç değerlendirilmesi 43

**Resim 6.** Snap Leishmania sonuç değerlendirilmesi 44

**TABLOLAR DİZİNİ**

**Tablo 1.** Ehrlichia türleri, vektörler ve etkilenen hayvan türleri 8

**Tablo 2.** *Ehrlichia canis* enfeksiyonunun Türkiye’deki prevalansı 10

**Tablo 3.** *Ehrlichia canis* enfeksiyonunun bazı ülkelerdeki prevalansı 11

**Tablo 4.** Ehrlichia enfeksiyonlarında görülen klinik bulgular 16

**Tablo 5.** Ehrlichiosis ile enfekte hayvanlarda görülen laboratuvar bulguları 18

**Tablo 6.** Kardiyak hasarın nedenleri ve kullanılan biyobelirteçler 23

**Tablo 7.** RBC ve HGB değerleri referans değerlerin altında

olan hayvanlarda anemi sınıflandırılması 30

**Tablo 8.** Serolojik ve moleküler sonuçlara göre Ehrlichia enfekte

sınıflandırması 35

**Tablo 9.** Analiz yöntemlerine göre alınan kan miktarları ve tüp çeşitleri 36

**Tablo 10.** Enfekte hayvanlara ait klinik bulgular 48

**Tablo 11.** Kontrol ve Enfekte grubuna ait

hematolojik bulgular ve istatistiksel önemi. 50

**Tablo 12.** Mono ve ko-enfeksiyonlu hayvanların

lökosit ve hemogram profili sonuçları 51

**Tablo 13.** Anemi sınıflandırılmasına göre hemogram profili sonuçları 52

**Tablo 14.** Tanısal sınıflandırmaya göre

mono ve ko enfeksiyonlu grupların olgu dağılımları 54

**Tablo 15.** Tanısal sonuçlara göre oluşturulan grupların hematolojik verileri 55

**Tablo 16.** Çalışma grupları ve kontrol gruplarına göre D-Dimer düzeyleri 57

**Tablo 17.** Kontrol ve çalışma gruplarına ait kardiyak panel düzeyleri 59

**Tablo 18.** Hematolojik ve biyokimyasal parametreler arası korelasyonlar 63

**ÖZET**

**EHRLİCHİOSİSLİ ANEMİK KÖPEKLERDE BAZI KARDİYOPULMONER BELİRTEÇLERİN ARAŞTIRILMASI**

**Parlatır Y. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları (Veteriner) Programı Doktora Tezi, Aydın, 2019.**

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından zoonotik, sağaltılamadığında şiddetli ve ölümcül seyreden önemli hastalıklar arasında gösterilen ehrlichiosis günümüzde gerek insanlarda gerekse köpeklerde oluşturduğu benzer hastalık tablosuyla öne çıkmaktadır. Köpeklerde ehrlichiosis, birçok doku ve organları etkileyerek çoklu organ yetmezliklerine neden olan sistemik bir hastalıktır. Bilinen klinik bulguların ve patogenezisinin yanında ehrlichia’nın son yüzyılda önemi giderek artan Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma Bozukluğu (YDPB) ve miyokardiyal hasar yönünden ne derece etkili olduğu tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada ehrlichiosisli anemik köpeklerde aneminin şiddeti ile miyokardiyal hasarın varlığı ve olası tromboembolik durumlar değerlendirilerek veteriner hekimliğin yanı sıra insan hekimliği için de yararlı olabilecek bulgulara ulaşılabilmesi hedeflenmiştir. Araştırmanın hayvan materyalini farklı ırk, yaş ve her iki cinsiyetten daha öncede kalp rahatsızlığı bulunmayan ehrlichiosis ile mono (n=24) enfekte, ko-enfekte (n=9) ve sağlıklı kontrol grubu (n=10) hayvanlar oluşturdu. Ayrıca enfekte olan hayvanlar serolojik ve moleküler analiz sonuçlarına göre aktif enfekte, enfekte, akut ve klinik hasta olarak değerlendirildi. Oluşturulan gruplarda kardiak hasarın tespiti amacı ile cTnI, CK-MB ve Miyoglobin seviyeleri ile birlikte, YDPB yönünden D-Dimer seviyeleri belirlendi. Yapılan ölçümler sonucunda aneminin şiddeti ile birlikte YDPB belirteci olan D-Dimer konsantrasyonlarında anlamlı artış tespit edildi. Aynı zamanda miyokardiyal hasar belirteçlerinde CK-MB ve Miyoglobin oranlarına göre daha spesifik olan cTnI seviyelerinde de anlamlı istatistiksel fark gözlemlendi. Diğer parametrelerde herhangi bir değişikliğe rastlanmadı. Sonuç olarak; ehrlichiosisli anemik köpeklerde aneminin şiddeti ile orantılı bir şekilde gelişen iskemi durumunun uzun vadede kalpte miyokardiyumda hasar meydana getirdiği ve YDPB’na sebebiyet verdiği gözlemlendi. Gerek insan hekimliği gerekse veteriner hekimlikte ehrlichia ile enfekte olan canlılarda oluşan pıhtılaşma bozukluğunun tespit edilmesinde ve miyokardiyal durumun gözlemlenmesinde bu biyobelirteçlerden yararlanabilineceği, aynı zamanda gelecekte yapılacak olan çalışmalarda referans olarak kullanılabileceği kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** CK-MB, cTnI, D-Dimer, Ehrlichia, Köpek, Miyoglobin.

**ABSTRACT**

**INVESTIGATION OF SOME CARDİOPULMONER MARKERS ANEMIC DOGS INFECTED WITH EHRLICHIOSIS**

**Parlatır Y. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Department of Internal Medicine (Veterinary) Ph.D. Thesis, Aydin, 2019.**

Ehrlichiosis is shown to be zoonoses, fatal and severe disorder when not to be treat by World Health Organisation (WHO). And also qualified important to could the same illness profile both human and animals. Ehrlichiosis in dogs affects a lot of tissues and organs causing multiple organ failure. Besides the known clinical findings and pathogenesis, it is not known exactly how Ehrlichia is effective and important in terms of Disseminate Intravascular Coagulation (DIC) and myocardial damage. In this study, it was aimed to evaluate the presence of myocardial damage with the severity of anemia and the possible thromboembolic conditions in dogs infected with ehrlichiosis and to find the results that may be useful for human medicine besides veterinary medicine. The animal material of this study consisted of 10 healthy, 24 mono-infected and 6 co-infected animals. Additionally animals are separated active ınfected, ınfected, acute and clinical ill according to serological and molecular results. In these groups cTnI, CK-MB and Myoglobin levels were calculated to detect myocardial damage, Accordingly, to find the potential of DIC profile, D-Dimer concentrations were established. As a result of data, D-Dimer concentrations have a significant increase with severity of anemia. Significant statistical difference was observed in cTnI levels which were more specific in terms of CK-MB and Myoglobin than myocardial damage markers. There is no difference in other parameters. As a result; It was observed that ischemia, which is proportional to the severity of anemia in dogs with ehrlichiosis, caused long-term damage to the myocardium in the heart and caused DIC profile. Both in human medicine and veterinary medicine, it is possible to use this biomarkers to detect the clotting disorder in infected animals with Ehrlichia and to observe the myocardial status, and also to be used as a reference in future studies.

**Key Words:** CK-MB, cTnI, D-Dimer, Dog, Ehrlichia, Myoglobin.

**EHRLİCHİOSİSLİ ANEMİK KÖPEKLERDE BAZI KARDİYOPULMONER BELİRTEÇLERİN ARAŞTIRILMASI**

1. **GİRİŞ**

Veteriner hekimlik ve insan hekimliğinde kene aracılı enfeksiyonlar, yıllardır çok iyi bilinmesine rağmen gerek tanı yöntemlerinde, gerek tedavi protokollerinde ve gerekse yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler ışığında, gelişmelere paralel olarak önemini yitirmeden, aksine daha önemli bir şekilde varlığını sürdürmektedir. Tüm canlı yaşamı üzerine yapılan araştırmalar göstermektedir ki, tahmin edilenin ötesinde patojenler gelişmekte, değişmekte ve türler arasında adaptasyon göstererek farklı şekillerde hastalık tablosu meydana getirebilmektedir. Ehrlichiosis, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak bulunmakta ve tüm canlı türlerinde enfeksiyon oluşturabildiği gibi her zamankinden daha önemli bir şekilde yaşamları tehdit etmektedir.

Ehrlichiosis; Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından insanlarda ve köpeklerde benzer hastalık tablosu meydana getirebilen, sağaltılmadığı takdirde şiddetli ve ölümcül seyredebilen bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Hastalık dünya çapında yaygın olarak görülmekte ve vektörler ile bulaşmaktadır. Vektörlerin yaşam siklusu ile paralel olarak tropik ve subtropik bölgeler ile birlikte uygun iklim şartlarına sahip olan bölgelerde daha yaygın olarak görülmektedir. Bu durum yapılan bazı çalışmalarda, hastalığın Asya’da %18 ile %30, Afrika’da %3,1 ile %67,8, Avrupa’da %2,2 ile %50; Amerika’da %15,4 ile %44,7 arasında değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir (Harrus ve ark, 2016). Sahip olduğu patojenite özelliklerinden dolayı etken hem insan, hem de hayvan sağlığını dünya genelinde tehdit etmektedir.

Ehrlichiosis’in bilinen etkilerinin yanında hayati önem arzeden kalp üzerine etkileri tam olarak bilinmemektedir. Son yüzyılda tanımlanmış olan Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma Bozukluğu (YDPB) ve tromboemboli riski yönünden hastalık etkenlerinin değerlendirilmesinin; hem insan, hem de hayvan sağlığı açısından önemli olduğu düşünülmektedir (Evermann ve ark, 2010). Kardiak Troponin I (cTnI), Kreatin Kinaz Muscle Brain (CK-MB) ve Miyoglobin (MYG) seviyeleri kalpte meydana gelen hasarı belirlemede kullanılmaktadır. (Feng ve ark, 1998). Aynı zamanda gelişen YDPB olgularında D-Dimer ölçümünün oluşacak tromboemboli risk potansiyelinin belirlenmesinde önemli bir indikatör olduğu bildirilmektedir (Nelson, 2005). Yapılan bu çalışmada, ehrlichiosisli anemik köpeklerde aneminin şiddeti ile miyokardiyal hasar belirteçlerinden olan cTn I, Miyoglobin, CK-MB ile koagülasyon eğilimininin belirteçi olarak gösterilen D-dimer düzeyleri arasında bir ilişkinin bulunup bulunmadığı, aynı zamanda önemli bulunabilen belirteçlerden hangisi ve/veya hangilerinin hastalığın prognozunda ve tedavinin takibinde kullanılabileceğinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

1. **GENEL BİLGİLER**

Ehrlichia etkenleri; kedi, köpek, koyun, keçi, at ve insanlarda farklı kan hücrelerini enfekte ederek hastalık tablosu meydana getirebilen, vektör aracılı, ölümcül seyredebilen patojenik ajanlardır (Donatien ve Lestoguard, 1937). Farklı hayvan türleri ve zoonotik potansiyel bakımından etkenlerin tarihi çeşitlilik arzetmektedir. Canine Monositik Ehrlichiosis (CME) Dr. Ehrlich tarafından ilk kez 1935’te Cezayir’de tanımlanmıştır. Amerika’da 1969 yılında atlarda görülen ehrlichiosis kaynağının *Ehrlichia equi* olduğu tespit edilmiştir. Köpeklerde ise 1971 yılında Granulositik Ehrlichiosis bildirilmiştir. Gordon ve ark (1932), 1932 yılında koyunlarda kene kaynaklı ateşi tanımlamışlardır. Benzer bir hastalık 1950’de Hudson tarafından sığırlarda da bildirilmiştir. Hastalığa neden olan etken ilk olarak ‘*’Cytoecetes phagocytophila*’’ olarak isimlendirilmiştir; ancak daha sonra ‘*’Ehrlichia Phocytphila*’’ adını almıştır. Bjoersdoff ve ark (1999); 1999 yılında kedilerde ilk doğal Granulositik Ehrlichiosis bazı klinik bulguları ile birlikte rapor edilmiştir (Paracıkoğlu, 2006). İnsanlarda ilk kez 1986 yılında *E. canis* olgusu kene ısırığını takip eden akut ateşli bir hastalık olarak tanımlanmıştır. İlk etkeni 1990 yılında izole edilmiştir. İzole edilen etkenin *Ehrlichia Canis* *(E. Canis)* olmadığı ancak ona benzeyen bir Ehrlichia türü olduğu saptanmış ve bulunduğu yerin adından dolayı *Ehrlichia chaffeensis* *(E. Chaffeensis)* adını almıştır (Anderson ve ark, 1992). İnsanlarda tespit edilen bu etkenden sonra farklı Ehrlichia etkenlerinin insanlarda hastalık tablosu meydana getirebileceği saptanmıştır (Dumler, 2005).

Son yıllarda zorunlu hücre içi parazitlerin (bakterilerin) neden olduğu ve keneler tarafından aktarılan hastalıklar dünyanın her yerinde memeli hayvanlar için önemlli tehditler oluşturmaktadır. İklim şartlarının değişiklik göstermesi nedeni ile vektörlerle geçen hastalıkların artması, bu hastalıkların önemini daha da arttırmaktadır. Köpek ve kedilerin sadece klinik olarak Ehrlichia enfeksiyonlarından etkilenmekle kalmayıp, insanlarda hastalık oluşturan türler için de rezervuar konak olabileceği bildirilmektedir (Paracıkoğlu, 2006).

Ehrlichiosis; (tropik pansitopeni) kene aracılı, köpek ve insanlara bulaşan, kanın şekilli elementlerinin azalmasıyla karakterize riketsiyal bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Eng ve Giles, 1989; Matthewman ve ark, 1993; Friedman ve ark, 1997). Hastalık ilk kez 1935 yılında Cezayir'de tanımlanmış, daha sonra dünyanın diğer bölgelerinde, Afrika ve Orta Doğunun bazı ülkelerinde görüldüğü rapor edilmiştir (Brouqui ve ark, 1991; Rikihisa ve ark, 1992). Vietnam savaşı boyunca 160 askeri köpeğin ölümünün gerçekleşmesinin ardından Amerika da ilk olarak 1962 yılında saptanmıştır (Rikihisa ve ark, 1992; Rand, 1996). Köpeklerdeki Ehrlichiosis vakalarına özellikle tropikal ve sub-tropikal bölgelerde rastlanıldığı ve dünya üzerinde yaygın olduğu belirtilmektedir (Eng ve Giles, 1989; Breitschwerdt, 1999).

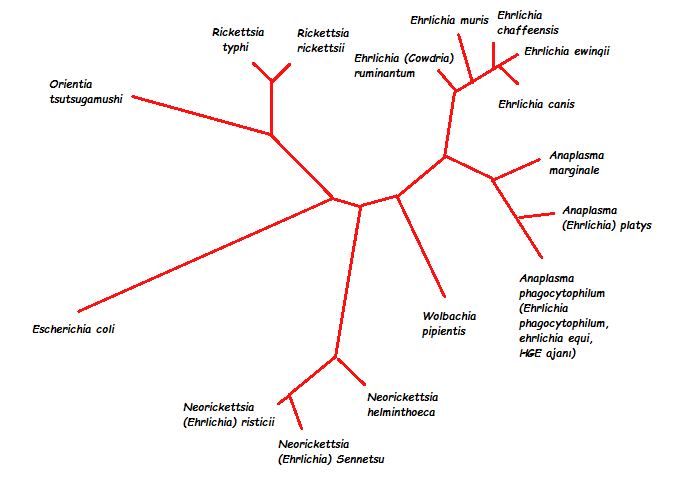
Önceki yıllarda riketsiyal hastalıklar arasında gösterilen ehrlichia türleri günümüzde ilerleyen moleküler metotlar ve diagnostik analiz yöntemleri ile taksonomileri değiştirilerek, bakteri olarak yeniden adlandırılmıştır (Engvall ve ark, 1996; Liddell ve ark, 2003; Melter ve ark, 2007). Ehrlichia, dünya üzerindeki tüm köpekgillerde yüksek morbidite ve mortalite ile birlikte seyredebileceği bildirilmektedir (Ristic ve Holland, 1993).

Etken insanlarda dahil olmak üzere birçok türde hastalık meydana getirebilmektedir. *E. chaffeensis* öncelikli olarak insanlarda hastalık oluşturmakla beraber, *E. canis* ve *E. ewingii’*nin ise özellikle köpeklerde patolojik bozukluklar şekillendirebilmektedir*. E. chaffeensis* İnsan Monositik Ehrlichiosis (HME) etkeni olarak adlandırılmaktadır (Maggi ve ark, 2014). Benzer bir durum etkenin affinite gösterdiği dokuya ilişkin olarak köpeklerde Kanin Monositik Ehrlilchiosis (CME) olarak *E. canis*, Kanin Granulositik Ehrlichiosis etkeni olarak da *Ehrlichia ewingii* sorumlu tutulmaktadır (Dagnone ve ark, 2003). Ehrlichianın 12 türü tanımlanmıştır*. Ehrlichia bovis, E. canis, E. chaffensis, E. equi, E. ewingii, E. muris, E. ondri, E. ovina, E. phogocytpholia, E. platys, E. restricii ve E. sennetsu* tanımlanan türleri oluşturmaktadır. Oluşturulacak her çalışmada bu fikrin mutlaka göz önünde bulundurulmasının gerekliliği önerilmiştir (Skotarczak, 2003).

* 1. **Taksonomi**

Ehrlichia ve Anaplasmalardan oluşan Riketsiyalar α–proteobacteria grubunda sınıflandırılırlar. Bakteri ve virüs arasında konuşlandırılırlar. Zorunlu hücre içi organizmalar yönünden virüslere; oksijen kullanmaları, metabolik enzimlere sahip olmaları, hücre duvarlarının olması ve antibiyotiklere cevap vermeleri yönünden bakterilere benzemektedirler. α–proteobacteria üyesi olan Riketsiya ve Anaplasma aileleri 2001 yılında yeniden sınıflandırılmıştır. Bu işlem 16sRNA ve groEL gen sekanslarının açıklığa kavuşturulması ile gerçekleştirilmiştir. Bazı ehrlichia türleri anaplasma ailesine, bazıları ise Neoriketsiya genusuna dahil edilmişlerdir. Ayrıca yeni türler de (*Candidatus, Neoehrlichia, Mikurensis*) keşfedilmiştir (Evermann ve ark, 2012).

Ehrlichia familyası kene aracılı, gram negatif, zorunlu hücre içi bakterilerdir. Öncelikli olarak lökositleri (monosit, makrofaj ve granülosit) enfekte ederler. Aside duyarlı, pleomorfik cocobasiller glikolitik metabolik yolu engellerler (Evermann ve ark, 2012). *E. canis, E. chaffeensis, E. ewingii,* ve *E. muris* bu ailede yer almakla beraber *Ehrlichia ruminantum* aileye sonradan eklenmiştir.



**Şekil 1.** Ehrlichia familya filogenezi (Dumler ve Walker, 2001).

Ehrlichia ailesi türleri arasında bulunan kesin genetik farklılıklardan dolayı üç alt genogruba ayrılmıştır. *E. canis, E. chaffeensis* ve *E. ewingii* genogrup I’de yer almaktadır. Genogrup II *E. phagocytpohila*, *E. equi* ve HGE etkeni ve genogrup III *E. sennetsu* ile *E. risticii* içermektedir. Her genogrup bünyesinde barındırdığı ilk etken ile isimlendirilmektedir (Alleman ve ark, 2001). Genetik araştırmalarda elde edilen sonuçlar ile bu durum farklılaşmakla beraber *E. phagocytpohila* yeniden adlandırılarak *A. phagocytpohila* adını almıştır.

Gelişen teknolojiye paralel olarak artan yararlanım oranı ve genetiksel sınıflandırmada varılan noktalar, birçok ajana sahip olan ‘’ehrlichiosis’’ familyasında sınıflandırma kriterlerinde çeşitliliğe neden olmuştur. Yapılan taksonomi çalışmaları subjektif özelliklere, morfolojiye, etkilenen hücrelere, enfekte olan hayvan türüne ve belirsiz çapraz reaksiyonlara dayandırılmıştır (Rikihisa, 1991). Moleküler filogenetik araçlardan elde edilen bilgilere göre ‘’*ehrlichia*’’ aile üyelerinde kayda değer oranda düzensizlikler mevcuttur. Bu yüzden iki farklı aile, beş veya beşten daha fazla cinse ve çoklu tür adlarına ayrılmıştır (Evermann ve ark, 2012).

Yapılan son sınıflandırmalar ile birlikte daha uygun bir terminoloji gerçekleştirilmiştir. Ricketsiaceae sınıfı yapılarına göre iki takıma ayrılmıştır. Ehrlichia, Neorickettsia ve Wolbachia türleri Riickettsiaceae sınıfı Ehrlichia Takımı Anaplasmataceae familyasında yer almıştır. *E. sennetsu* ve *E. ristcii* Neoricketsiae cinsinde, *Cowdria ruminantum* ise Ehrlichia cinsinin aynı türünün altına yerleştirilmiştir*. E. phagochytophila*, *E. equi* ve HGE ajanları tek tür olarak bulunmaktadır. Aynı zamanda yapılan yeni düzenleme ile birlikte *E. platys* ve *E. bovis* Anaplasma genusuna dahil edilmiştir. Bu ve buna benzer değişikliklere genetik filojenileri üzerinde yapılan çalışmalar sonucu sıkça rastlanılmaktadır. Bu durum özellikle klinisyenlere zorluk çıkarabilmekte ve hastalık isimlerinin sürekli değişmesine neden olabilmektedir (Dumler, 2005).

* 1. **Etiyoloji**

Ehrlichia zorunlu hücre içi, gram negatif, bir bakteri olup keneler ile nakledilen, hematolojik bozukluklarla karakterize ateşli, sistemik, tedavi edilmediğinde öldürücü bir hastalıktır (Harrus ve ark, 1997; Waner ve Harrus, 2000). Hastalık köpeklerin hemorajik ateşi, köpek rickettsiosisi, köpeklerin kene tifosu, tropikal pansitopeni ve Nairobi kanama bozukluğu olarak da adlandırılmaktadır (Waner ve Harrus, 2000). Köpeklerde, insanlarda ve vahşi yaşamda yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olduğu bildirilmektedir (Ristic, 1993).

*Ehrlichia* Rickettsiales takımında, Ricketsiaceae familyasında yer alan; küçük, intrasellular, pleomorfik, küresel, kokoidal yapıda, zorunlu hücre içi bir bakteri (parazit) dir (Buhles ve ark, 1974; Waner ve ark, 1999; Dumler ve ark, 2001). Etkenler dolaşımda monosit ve makrofajlarda intrasitoplazmik morula şeklinde görülürler. İlk başta 0.2-0.4 mikrometre çapında küçük, basit cisimcikler şeklindedir; daha sonra 0.5-4 mikrometre çapında başlangıç cisimciği ve en son 4-6 mikrometre çapında büyük inklüzyon cisimcikleri şeklindedir. Mikroskobik tanıda etken Romanowski boyası ile mavi, Machiavello ile açık kırmızı ve gümüş boyaları ile kahverengi-siyah renkte boyanır (Evermann ve ark, 2012).

*Ehrlichia* klasik bakteriler gibi lipopolisakkarit içermeyen hücre içi zorunlu bir bakteridir ve monosit ve makrofajlara tropizm gösterir (Buhles ve ark, 1974,). Dünya genelinde özellikle tropik ve subtropikal bölgelerde yüksek morbidite ve mortalite ile seyretmektedir (Ristic, 1993).

Etken vektörü olan yaşam siklusları gereği yılın sıcak aylarında aktif olmaktadırlar. Bu sebeple enfeksiyon genellikle bahar aylarında gerçekleşmekte ve ehrlichiosis olguları ile yılın sıcak aylarında daha fazla karşılaşılabilmektedir (Neer, 1995). Keneler hem barınak hem de evlerde yaşayabildiklerinden yıl boyunca konakçıları enfekte edebilirler. Vektörde etken beş ay boyunca canlı kalabilmektedir. Bu sebeple sonbaharda enfekte olan keneler etkeni ilkbaharda konakçılara bulaştırabilmektedir. Ayrıca konakçı etkeni aylar hatta yıllar sonra bulaştırabilmektedir (Leib ve Monnroe, 1997). Ehrlichia türleri, vektörler ve etkilenen hayvan türleri Tablo 1’degösterilmiştir.

**Tablo 1**. Ehrlichia türleri, vektörler ve etkilenen hayvan türleri (Evermann ve ark, 2012).

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Türler (Hastalık) | Coğrafik Dağılım | Etkilediği Hücre Türü | Vektör | Etkilenen Hayvan Türleri | | |
| Rezervuar | Doğal, Evcil | Deneysel |
| MONOCYTOTROPIC EHRLICHIA | | | | | | |
| *Ehrlichia canis* (Canine monocytotropic ehrlichiosis) | Dünya çapında | Mono, macro | *Rhipicephalus sanguineus, Dermacentor variables* | Vahşi ve evcil karnivorlar | Karnivorlar | Sadece köpekler bildirilmiştir |
| *Ehrlichia chaffeensis* (Human monocytotropic ehrlichiosis) | USA  Missouri  Kamerun | Mono, macro, nötrofil, lenf | *Amblyomma americanum, Ambylomma testudinarium, Dermacentor variables, Ixodes ovatus,*  *Haemophysalis yeni,*  *Haemophysalis flava,*  *Ixodes persulcatus* | Beyaz kuyruklu geyik, çakal, opposum  lar, rakun, voles | İnsanlar, köpekler, keçiler, evcil lemurlar. | Beyaz kuyruklu fareler, kırmızı tilki |
| *Ehrlichia ruminantum* (Heartwater) | Afrika | Endotel, mono, macro, nötrofil | *Amblyomma habreum* | Vahşi tek tırnaklılar | Sığır, koyun, keçi, köpekler | Köpekler |
| Ehrlichia spp. | USA  Fransa, Batı Hindistan, Brezilya, Kenya, Tayland | Mono | ? | ? | Kediler | ? |
| GRANULOCYTOTROPIC EHRLICHIA | | | | | | |
| *Ehrlichia ewingii* | Dünya çapında | Granulositler | *Ambyolemma americanum* | Köpekler, vahşi caninler | Köpekler, insanlar | ? |

Köpeklerde *E. canis’*in neden olduğu monocytic ehrlichiosis veya tropikal köpek pansitopenisi ilk kez 1935’te Fas’ta tanımlanmıştır. (Donatien ve Lestguard, 1935). Daha sonra 1963 yılından ABD’de bildirilmiş ve sonrasında özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak görüldüğü tespit edilmiştir (Pretorious ve ark, 1998; Little, 2010). Daha sonra Amerika Birleşik Devletlerinde vaka sayıları gidierek artarken Avrupa, Afrika, Meksika ve Avustralya’da varlığı bildirilmiştir. (Rikihisa, 1992; Skotarczak, 2003). Canine granulositik ehrlichiosise neden olan *E. ewingii* ilk defa 1971 yılında Arkansas’ta bir köpekte tarif edilmiştir (Eving ve ark, 1971; Anderson ve ark, 1992). Bildirilerin çoğu Amerika’dan yapılmış olmakla beraber Afrika ve Asya’dan da hastalığa ilişkin bildiriler bulunmaktadır (Rar ve Goovljava, 2011).

* 1. **Epidemiyoloji**

*E.* canis’in dünya üzerinde görülme dağılımı vektör aracılı yayılım potansiyaline sahip olduğundan direkt olarak vektörün yaygınlığıyla ilgilidir. Vakaların çoğu kenelerin yaşam siklusu ile bağıntılı olduğundan yaz aylarında ortaya çıkmaktadır (Harrus ve ark, 1997; Leib ve Monrea, 1997). Etken tropikal ve subtropikal bölgelerde geniş ve daha sık bir yayılım göstermektedir (Waner ve ark, 1996; Waner ve ark, 2001; Unver ve ark, 2001; Suto ve ark, 2001). Bazı çalışmalar, sağlıklı görülen köpeklerin endemik alanlarda büyük bir yüzdesinin, *E. canis* antikorları yönünden seropozitif olduğunu göstermektedir (Botros ve ark, 1995; Baneth ve ark, 1996).

Tüm dünyada her ülkede görülebildiği gibi vektörün yaşam alanlarından biri olan ülkemiz hastalığın varlığı yönünden hem insan hem de hayvan sağlığı için potansiyel teşkil etmektedir. Ülkemizin coğrafik konumu sebebi ile tropikal ve subtropikal iklim özelliklerine sahip olması etkenin yaşamı için uygun ortam hazırlamaktadır. Bu duruma rağmen ülkemizde Ehrlichia yönünden sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmaların prevalans yönünden yetersiz olduğu düşünülmektedir. Unver ve ark (2005*) E. canis* yönünden Ankara ilinde yapmış oldukları çalışma ile moleküler düzeyde ilk bildirimi gerçekleştirmişlerdir. Çalışmaya dahil edilen 12 köpeğin 3’ünde *E. canis’in* varlığı rapor edilmiştir. Ayrıca; Batmaz ve ark (2001), Bursa, Balıkesir, İzmir, Şanlıurfa, Adana ve Antalya illerini kapsayan araştırmasında *E. canis’in* prevalansını %20,8 (59/284) olarak rapor etmektedir. En yüksek prevalansa Adana (%65,3) ve İzmir (%40,6) illerinin sahip olduğunu bildirilmektedirler. Bu çalışmaların yanı sıra Erdeğer ve ark (2002), Ankara, Aydın ve Muğla illerindeki köpeklerden topladıkları kan örneklerinde %67,8’inin (162/239) *E. canis* yönünden pozitif bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise Karagenç ve ark (2005) tarafından Ege Bölgesinin çeşitli yerlerinde, 371 köpekte Nested PZR ile çeşitli ırk ve yaştaki köpeklerin 154’ünde (% 41, 5) *E. canis’in* pozitif olduğunu bildirmektedirler. Tuna (2013) çalışmaya dahil ettiği 224 köpekten 81’inde (%36,2) etkeni tespit etmiştir. Yağcı ve ark (2010) Kırıkkale ili ve çevresinde yapmış oldukları çalışmada *E.canis* enfeksiyonun prevalansının %14,75 olduğunu rapor etmişlerdir. Hastalığın prevalansına ilişkin bahsi geçen veriler Tablo 2 ’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** *Ehrlichia canis* enfeksiyonunun Türkiye’deki prevalansı.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Bölge | Hayvan Sayısı | Yöntem | Prevalans | Kaynak |
| Ege Bölgesi (İzmir)  Akdeniz (Adana, Antalya)  Marmara (Bursa, Balıkesir)  Güneydoğu Anadolu Bölgesi (Şanlıurfa) | 284 | IFAT | %20,8 | Batmaz ve ark. 2001 |
| İç Anadolu Bölgesi (Ankara)  Ege Bölgesi (Muğla, Aydın) | 239 | IFAT | %67,8 | Erdeğer ve ark 2003 |
| İç Anadolu Bölgesi (Kırıkkale) | 122 | IFAT | %14,75 | Yağcı ve ark 2010 |
| Ege Bölgesi (Aydın, Muğla, İzmir, Manisa) | 371 | PCR | %41,5 | Karagenç ve ark 2005 |
| Ege Bölgesi (Aydın , İzmir, Muğla) | 224 | IFAT | %36,2 | Tuna 2013 |

Hastalığın varlığı dünya genelinde Asya, Afrika, Avrupa ve Amerika kıtalarındaki pek çok ülkede bildirilmektedir (Tsachev ve ark, 2006). Hastalığın kıtalara göre Asya’da %18 ile %30, Afrika’da %3,1 ile %67,8, Avrupa’da %2,2 ile %50; Amerika’da %15,4 ile %44,7 prevalansa sahip olduğu rapor edilmektedir (Tablo 3).

**Tablo 3.** *Ehrlichia canis* enfeksiyonunun bazı ülkelerdeki prevalansı.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Kıta | Ülke | Hayvan sayısı | Yöntem | Prevalans | Kaynak |
| Asya | Japonya | 150 | İFAT | %18 | Watanabea ve ark, 2004 |
| İsrail | 410 | İFAT | %30 | [Baneth](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Baneth%20G%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) ve ark, 1996 |
| Afrika | Mısır | 374 | İFAT | %33 | [Botros](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Botros%20BA%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) ve ark, 1995 |
| Gabon | 253 | İFAT | %3,1 | Davoust ve ark, 2006 |
| Fildişi sahilleri | 137 | İFAT | %67,8 | Davoust ve ark, 2006 |
| Kamerun | 104 | İFAT | %32 | Ndip ve ark, 2005 |
| Zimbabwe | 93 | İFAT | %42 | [Matthewman](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Matthewman%20LA%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) ve ark, 1993 |
| Namibya | 600 | ELİSA | %10,2 | Stüben, 2004 |
| Tunus | 180 | İFAT | 42,8% | [Ghorbel](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Ghorbel%20A%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus)  ve ark, 2001 |
| Avrupa | İtalya | 601  1000 | PCR  İFAT | %2,9-%9,7  %50 | Solano-Gallego ve ark, 2006  Cocco ve 2003 |
| İsviçre | 996 | İFAT | %2,2 | Pusterla ve ark, 1998 |
| Polonya | 200 | İFAT | %8 | Płoneczka ve Śmielewska, 2003 |
| Portekiz | 104 | İFAT | %50 | [Bacellar](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Search&Term=%22Bacellar%20F%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) ve ark, 1995 |
| İspanya | 466 | İFAT | %16,7 | Letková ve ark, 2004 |
| Bulgaristan | 100 | İFAT | %50 | Tsachev ve ark, 2006 |
| Slovakya | 78 | İFAT | %29,2 | Laia ve ark, 2006 |
| Arnavutluk | 30 | İFAT | %50 | Hamel ve ark, 2009 |
| Finlandiya | 340 | 4DX ELİSA | %0,3 | Perez ve ark, 2014 |
| Almanya | 4681 | İFAT | %10,1 | Menn ve ark, 2010 |
|  | Fransa | 919 | 4DX ELİSA | %0,3 | Pantchev ve ark, 2009 |
| Amerika | Brezilya  Brezilya | 226  153 | İFAT  İFAT | %44,7  %37,9 | Costa ve ark, 2007  [Aguiar](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=PubMed&Cmd=Search&Term=%22Aguiar%20DM%22%5BAuthor%5D&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) ve ark, 2007 |
| ABD | 65  48 | PCR  İFAT | %15,4  %21 | George ve ark, 1998  Suksawat ve ark, 2000 |
| Meksika | 120 | ELİSA | %44,1 | Rodriguez-Vivas ve ark, 2005 |

* 1. **Patogenez**

Bütün ehrlichia türleri vertebralı canlılar arasında ixodid kenelerin beslenmesi ile bulaşmaktadır. Transovarial olarak naklinin olduğu tam bilinmemekle beraber larva ya da nimf olarak yeterli miktarda kanın alınması ile transstadial olarak nimf ya da erişkin formlarına aktarıldığı bilinmektedir (Nicholson ve ark, 2010). Etken; vektörde lizozomal füzyonun ve bakteriyel lizozomal aktivitenin yokluğunun sağlamış olduğu avantajdan yararlanarak hayatta kalabilmekte ve aylarca enfektivitesini koruyabilmektedir. İntrastadial bulaşma aynı zamanda *E. canis* için de rapor edilmiştir. Konaklar arasında erkek metastriate keneler yardımı ile bulaşma aktivitesine devam ettirir. (Bremer ve ark, 2005; Little, 2007). Aynı zamanda konaklarda kan ve organ nakilleri ile de bulaşmanın gerçekleştiği bildirilmektedir (Starkey, 2014).

Vektörün konağa tutunması ile ehrlichia enfeksiyonu hemen gerçekleşmez. Aktif naklin gerçekleşmesi için 4 ile 48 saatlik bir zaman zarfı gereklidir (Nicholson ve ark, 2010). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada Rhipicephalus türü bir kene ile enfeksiyon 3 ile 6 saatlik bir aralıkta gerçekleştiği bildirilmiştir (Fourie ve ark, 2013). Etken vektörün tükürük bezinde, hemositlerinde ve orta midelerinde bulunur (Smith ve ark, 1976). Tutunmadan sonra nakil etkenin vektörün tükürük bezinde bulunması ile gerçekleşir. Aynı zamanda Ehrlichia türleri bireysel vektörlere sahiptir. Yapılan son çalışmalar *Rhipicephalus Sanguineus*’un morfolojik olarak benzer birkaç türden oluştuğunu ve bu türlerin hepsini *E. Canis’e* vektörlük etmediğini bildirmiştir (Dantas-Torres, 2013; Cicuttin ve ark, 2015).

CME inkubasyon periyodu 8 ile 20 gündür. Vektör konağa tutunduktan sonra nakil hemen gerçekleşmez. (Nicholson ve ark, 2010). Uygun şartlar oluştuğunda genellikle vektörün tükürük bezinde bulunan etken, organizmanın kan dolaşımına girer. Buradan lenfatik sisteme ve oradan da makrofajlara lokalize olur. Makrofajlarda veya yerleştiği hücrelerde konağın savunma sisteminden membran ile sarılı vakuoller sayesinde korunur. İmmun sistemin etkeni yok etmek üzere kullandığı lizozomal ve oksijen reaktif ara ürünlerin etkisinden kurtulur. Adaptasyon mekanizması olarak konağın endoplazmik retikulumunda bir grup geni (ankyrin genleri) ile etkileşime geçerek spesifik protein-protein etkileşimlerini meydana getirir. (Evermann ve ark, 2012) Ankyrin proteinleri proinflamatorik sitokin uzamını etkilemekle beraber hücresel döngü regülatörlerini baskılamaktadır. Ehrlichia yerleştiği hücrede ikili çoğalma evresini geçirerek morula olarak adlandırılan formu kazanır. Morulanın son evresinde hücreyi patlatır ve yeni doku ya da hücrelere yayılımını gerçekleştirir (Harrus ve ark, 2016). Genel olarak ikili bölünmenin meydana geldiği dalak ve karaciğere yerleşirler. Buradan enfekte makrofajlar diğer organ sistemlerine yayılırlar. Inkubasyon periyodunu takiben akut, subklinik ve kronik faz şekillenir.

Akut faz 1-4 hafta sürebilmektedir. Etkin tedavi ile başarılı bir şekilde iyileşme gözlemlenebilir. Tedavi edilmeyen ya da yetersiz tedavi uygulanan hastalar subklinik faza girerler. Bu fazda etken persiste olarak aylar ve hatta yıllar boyunca taşınabilir. Ehrlichia organizmaları konakçı hücre gen transkripsiyonunu modüle edip, sinyalize yolları etkileyip antimikrobiyel aktiviteyi azaltmak sureti ile immun sistemden kaçmayı başarabilirler (Evermann ve ark, 2012). Diğer mekanizmalar birçok ehrlichia türü için bildirilmiştir (Codner ve ark, 1992). Konakçı hücre apoptozisinin engellenmesi; lizozomal füzyon (phagolizozom form) ve lizozomların bakteriyel trafiğinin blokajı, bakteriyel ölüm prosesinde reaktif oksijen türlerinin kullanılma durumunda reaktif oksijen üretiminin azaltılması, antijenik varyasyon ile sonuçlanan dış membran protein genlerinin rekombinasyonu, monosit ve makrofajlardaki temel doku uyuşum kompleksindeki sınıf III moleküllerin düzenlenmesini azaltarak antijen sunumunu engelleyip Ehrlichia türleri subklinik fazda ayakta kalmayı başarabilirler (Harrus ve ark, 2016).

Bazı persiste enfekte hayvanlar spontan olarak iyileşebilirler. İyileşmeyen hayvanlar ise kronik forma girerler. CME ile enfekte hayvanların hepsi kronik faza girmeyebilir. Bu durumun oluşmasını sağlayan nedenler ise hala bilinmemektedir. Kronik formda prognoz kötü olarak değerlendirilir ve ölüm hemoraji ya da sekonder enfeksiyonlar sonucu gerçekleşir (Mavromatis ve ark, 2006).

İmmunolojik mekanizma patogenezde rol oynar. Pozitif Coombs ve otoaglütinasyon testleri enfeksiyonda eritrosit membranlarına tutunan complement proteinlerin ve antikorların üretiminin azaldığını göstermektedir. Enfekte hayvanlarda plataletlere bağlanan antikorların zarar görmesinin trombositopenide rol oynadığı düşünülmektedir (Skyes, 2017). Bu durum kısa ömürlü platelet ve trombositopatiye yol açmakta ve patogenezin oluşumunda rol oynamaktadır. Aynı zamanda CME platelet yıkımını arttırıp dalakta sekester oluşumu ve platelet üretimini azalmasına neden olmaktadır. Enfekte köpeklerin serum örneklerinden yapılan çalışmalarda patogenezde ve klinik tablonun oluşumunda immun kompleksin rol oynadığı belirtilmektedir (Lappin, 2014).

* 1. **Klinik Semptomlar**

Köpeklerde enfeksiyon meydana getiren Ehrlichiatürleri açısında bulgular geniş bir dağılım göstermektedir. *E.canis,* CME etkeni olarak adlandırılmaktadır. *E. ewingii*, CGE nedeni, bunun yanında *E. chaffeensis* HME patojeni olarak nitelendirilmektedir. *E. chaffeensis* aynı zamanda köpeklerde de hastalığa neden olduğu bildirilmektedir. *E. chaffensis* ile deneysel enfekte edilen köpeklerde uzun süreli ateş, orta dereceli anemi ve trombositopeni gözlemlenmiştir. Aynı zamanda enfeksiyonun subklinik seyrettiği de rapor edilmiştir (Zhang ve ark, 2003; Nair ve ark, 2014). Doğal enfekte olan köpeklerde lenfadenopati ve epistaksis gözlemlenmiştir (Breitschwerdt ve ark, 1998). Köpekler enfeksiyona maruz kaldıktan aylar sonra bile antikor titresine ve PZR pozitif sonuçlarına sahiptir. Bu süre boyunca rezervuar özelliklerini de kaybetmemiştir (Zhang ve ark, 2003). Diğer ehrlichia türleri ise (*E. muris* ve *E. Ruminantum*) köpeklerdeki durumuna dair herhangi bir klinik bulgu tespit edilememiştir (Allsopp ve Allsopp 2001; Hegarty ve ark, 2012).

Ehrlichia enfeksiyonları geniş yelpazede klinik bulgulara sahiptir. Herhangi bir semptom görülmemesinin yanında, şiddetli bulgulardan, ölüme kadar gidebilir. Bu çeşitlilik etkilenen hayvanın bireysel duyarlılığından, ırk yatkınlığına; enfektif dozdan, sekonder bir patojenin bulunup bulunmadığına kadar değişir (Little, 2010). Köpeklerde birçok ehrlichial kökenli hastalık *Ehrlichia canis* tarafından meydana getirilmektedir. Akut, subklinik ve kronik seyreden ateşli bir hastalıktır (Little, 2017). Kanin monositik Ehrlichiosisin klinik bulguları geniş bir dağılım göstermektedir. Bu durumun, *E. canis’in* patojenitesi, köpeğin ırkı, birlikte seyreden hastalıklar ve köpeğin immun sisteminin durumu gibi bir dizi faktöre bağlı olduğu bildirilmektedir (Waner ve Harrus 2000). Etken tüm ırklarda görülebilmekle beraber Alman Çoban Köpeklerinin hastalığa karşı duyarlı olduğu vurgulanmaktadır. Ayrıca *E. canis* enfeksiyonlarının yaş veya cinsiyetle bir ilişkisinin olmadığı bildirilmektedir (Batmaz ve ark 2001).

Kanin Monositik Ehrlichiosis’te klinik açıdan akut, subklinik ve kronik olmak üzere üç dönem görülebilmektedir (Breitschwerdt, 2000; Waner ve Harrus, 2000) . Akut faz, enfekte kenelerle temastan 8–20 gün sonra başlar ve 2–4 hafta devam eder. Bu fazda görülen semptomlar orta şiddette, non-spesifik ve ölümcül olabilmektedir (Little, 2017). Ayrıca görülen klinik semptomların genellikle organizmada vaskulitis sonucu meydana geldiği düşünülmektedir (Brandao ve ark, 2006). Retiküloendotelial sistemde etkenin replikasyonu sonucu generalize lenfadenopati ve splenomegali gelişebilmektedir (Codner ve ark, 1992; Codner ve Maslin, 1992). Akut fazda depresyon, kilo kaybı, letarji, anoreksi, ateş, nadiren epistaksis, durgunluk, dispne, göz-burun akıntısı, lenfadenomegali, lenfadenopati, splenomegali, kanama eğiliminin artması, ekstiremiteler ve skrotumda ödem, deri ve mukozal membranlarda peteşi, ekimoz görülebilir (Castro ve ark, 2004). Epistaksis CME olgularında sıklıkla rapor edilmektedir (Boyce ve ark, 2018; Myolonuikas ve ark, 2019) . Fiziksel muayenede %20-%25 oranlarında lenfadenomegali ve splenomegalli görülmektedir (Evermann ve ark, 2012). Kraniyal sinir hasarını içeren merkezi sinir sistemi bulguları olarak aşırı duyarlılık ve tiklerin görülebildiği belirtilmektedir (Codner ve ark, 1985; Anderson ve ark, 1992; Neer, 1995; Batmaz ve ark, 2001). Okuler bulgular yaygın olmamakla birlikte gözlerin belirgin bir şekilde renkleri değişip, hifema, anterior üveitis ve/veya corneal opasite, retinal damarlaşma ve fokal korioretinal lezyonların görülebildiği rapor edilmiştir (Everman ve ark, 2012). Serözden purulente kadar değişen okulonasal akıntı, ataksi, topallık ve dispne ve kusma diğer klinik bulgulardır. Klinik belirtiler birçok olguda tedavi yapılmamasına rağmen kaybolmakta ve subklinik döneme girebilmektedir (Codner ve Farri-Smith, 1986; Waner ve ark, 1997).

Etkenin alınmasından 6-9 hafta sonra subklinik dönem oluşmaktadır. Bu dönem 40–120 gün sürebilmekte bazen 5 yıla kadar uzayabilmektedir. İştah azalması ve değişken bir ateş klinik bulgular normale dönmeye başlarken rastlanabilmektedir. Enfeksiyondan sonraki 7–21. günler arasında tespit edilebilir seviyede artan kandaki antikor düzeyi, subklinik dönemde de tespit edilebildiği bildirilmektedir (Rikihisa ve ark, 1992; Rand, 1996). Subklinik formda yeterli immun yanıt oluşturan köpeklerde etken elemine edilebilmektedir (Waner ve ark 1997).

Hastalığın tanısı konulmayıp ve tedavisi protokolleri uygulanmadığında kronik döneme ulaşıp, yıllarca sürebildiği rapor edilmektedir. Aynı zamanda akut veya subklinik fazda yakalanıp yeterli tedavi uygulanmadığı durumlarda da kronik faza geçiş olmaktadır (Breitschwerdt, 1995). Kronik dönemde bazı olgularda herhangi bir klinik semptom görülmeyebilir. Diğer taraftan görülen bulgular ırk, yaş ve bağışıklık sisteminin durumu ya da bağışıklık sisteminin ilaveten maruz kaldığı durumlara göre klinik safhadan çok daha ağır bir tablo ile de karşılaşılabilinmektedir (Rand, 1996; Breitschwerdt, 1999). Hastalığın her döneminde kemik iliği hipoplazisi ve buna bağlı klinik semptomlar ile laboratuvar bulguları görülebilmektedir. Hastalığın kronik dönemindeki görülen yaygın klinik bulgular; depresyon, güçsüzlük, anoreksi, solgun mukozal membranlar, ilerleyen kilo kaybı, ateş ve özellikle arka bacaklar ile skrotumda şekillenen ödemlerdir. Trombositopeni ile ilişkili deri ve mukozal membranlarda ki kanamalar ve epistaksis oldukça yaygındır (Huxsoll ve ark, 1970; Smith ve ark, 1975). Reprodüktif problemler, östrusta uzayan kanamalar, neonatal ölümler ve abortlar kronik KME ile ilişkili olarak ortaya çıkabilmektedir (Price ve Sayer, 1983; Rikihısa ve ark, 1992; Rand, 1996; Friedman ve ark, 1997; Breitschwerdt, 1999). Etkenin meydana getirdiği kronik evrenin ileri aşamalarında protozoal enfestasyonlar, sekonder bakteriyel enfeksiyonlar, intersititial pneumonie, renal yetmezlik, polimyositis ve artritis gelişebilir (Rikihısa ve ark, 1992; Rand, 1996; Friedman ve ark, 1997; Breitschwerdt, 1999). Antijenik uyarımın sürekliliğine bağlı olarak glomeruluslarda membranoproliferatif glomerulonefritis ve immunkompleks birikimi görülmektedir (Troy ve ark, 1980; Breitschwerdt, 1995). *E.canis* ile doğal enfekte köpeklerde yapılan çalışmada 18 köpeğin 12’sinde proteinüri ve membranöz glomerulonefritisin tespit edildiği rapor edilmektedir (Troy ve ark, 1980). Kranial sinir bozuklukları, meningoensefalitis, ataksi, paraparesis veya tetraparesis ve konvülziyonlar gibi nörolojik bulgular görülebilmektedir. Bu bulgular; hemoraji, yaygın plazma hücresi infiltrasyonu ve beyin zarlarındaki perivasküler kanamalar ile ilişkilendirilebilmektedir. KME’de meydana gelen ölüm tablosunun hemoraji veya sekonder enfeksiyonlara bağlı olarak geliştiği bildirilmektedir.( Hibler ve ark, 1986; Meinkoth ve ark, 1989; Rikihısa ve ark, 1992; Rand, 1996; Friedman ve ark, 1997; Breitschwerdt, 1999).

*E. ewingii* veya *E. Chaffeensis* tarafından meydana getirilen olgularda hastalık orta derecede klinik semptomlar göstermekte veya daha sıklıkla subklinik seyretmektedir (Little, 2010). Ateş ve nötrofilik poliartrit *E. Ewingii* enfeksiyonlarında gelişebilmektedir. Ehrlichia etkenleri ile enfekte hayvanlarda görülen klinik semptomlar Tablo 4’de özetlendi.

**Tablo 4.** Ehrlichia enfeksiyonlarında görülen klinik bulgular.

|  |  |
| --- | --- |
| Etken | Klinik Bulgular |
| *E. Canis* enfeksiyonu a | Ateş, Anoreksi, Kilo kaybı, Kardiak aritmi, Hemorajik Diatezis, CNS Bulguları, Lenfadenomegali, Splenomegali, Anterior uveitis, Poliartritis, subretinal veya retinal ödeme bağlı körlük, kanama veya yapışma |
| *E. Chaffeensis* enfeksiyonu b | Anterior üveitis, Kusma, Epistaksis, Eritema Multiform, Lenfadenomegali. |
| *E. ewingii* enfeksiyonu c | Ateş, Anoreksiya, Sertlik, İpliksi Salya, CNS bulguları, Nadiren Kanama, Kilo Kaybı, Uveitis, Kepeklenme, Kusma ve İshal |

CNS: Merkezi Sinir Sistemi

a.b.c: Evermann ve ark, 2012; Harrus ve ark, 2016; Skyes, 2016.

Ehrlichial enfeksiyonlar kene aracılı patojenlerdir. Keneler potansiyel olarak birçok hastalık etkenini bünyesinde barındırma ve nakletme özelliğine sahiptir. Ehrlichia ile enfekte olan hayvanlarda sekonder enfeksiyonlar sıklıkla görülmektedir. Bu durumda gözlemlenen klinik semptomlara ilaveten sekonder enfeksiyona neden olan patojene ilişkin klinik semptomlar da göz önünde bulundurulmalıdır (Evermann ve ark, 2012).

* 1. **Laboratuvar Bulguları**

Başta CME olmak üzere ehrlichiosisteki en önemli ve yaygın hematolojik bulgu trombositopenidir. Eş zamanlı olarak ortalama trombosit hacmindeki belirgin artış, genellikle aktif trombopoiesisi işaret etmektedir (Waner ve Harrus 2000, Dagnone ve ark 2003, Castro ve ark 2004).

Hastalığın akut döneminde çoğunlukla şiddetli trombositopeni, hafif ve orta dereceli anemi (genellikle normositik, normokromik, non-rejeneratif) ve hafif lökopeni gözlenmektedir (Kuehn ve Gaunt, 1985; Dagnone ve ark, 2003; Castro ve ark, 2004). Trombositopeni akut dönem ile karakterizedir ve bu dönemde megatrombositosis ile beraber seyreder (Evermann ve ark, 2012). Akut dönemde görülen anemi “yangısal hastalık anemisi” olarak nitelendirilir. Enfeksiyondan sonraki 10.–20. Günlerde trombositopeni ortaya çıkmakta ve makro, rejeneratif trombositler eş zamanlı olarak artabilmektedir. Enfeksiyondan sonraki 3-4 hafta boyunca lökopeni görülebilmekte ve bunu monositoz ve lökositozis takip etmektedir.

Tedavi edilmeyen, tam olarak iyileşmemiş ya da yetersiz tedavi protokolüne maruz bırakılan hastalar akut evreden sonra subklinik faza girerler. Trombositopeni bu fazda en önemli laboratuvar bulgusu olarak dikkati çekmektedir. Ortalama platelet hacminde düzensiz bir artış gözlemlenebilir. Yapılan deneysel çalışmalarda ko-enfekte olan hayvanların mono-enfekte hayvanlara göre daha düşük platelet miktarına sahip olduğu rapor edilmiştir (Evermann ve ark, 2012). Aynı çalışmada, değişen diğer parametre olarak total nötrofil miktarında da azalma gözlemlenmiştir (Evermann ve ark, 2012). Aynı zamanda hematokrit değer ve hemoglobin konsantrasyonunda da azalma belirlenmiştir. Hafif derecede bir trombositopeni hastalığın subklinik döneminde görülebilmektedir. Eritsosit parametrelerinin önemli derecede etkilenmediğinin rapor edildiği ve nötrofil sayısında bir azalmanın olduğunu bildiren çalışmalarda mevcuttur (Kuehn ve Gaunt, 1985).

Kronik faz total tüm kemik iliklerindeki hücrelerde bozulma ve kemik iliği hipoplazisinden kaynaklanan pansitopeni ile karakterizedir. Ciddi trombositopeni, lökopeni ve anemi CME’nin kronik döneminde sıklıkla rastlanılan hematolojik değişikliklerdir. (Breitschwerdt 2000). Kronik fazda prognoz kötü olarak değerlendirilir. Yapılan tedavi girişimlerinden genellikle sonuç alınamamaktadır (Aroch ve Harrus, 2001; Myolanakis ve ark, 2019). Genellikle Alman Çoban Köpekleri ve Spitz Hound cinsi köpeklerde gözlemlenir (Nyindo ve ark, 1980). Kronik olarak enfekte durumlarda kemik iliğindeki hemosiderin tortuları azalmaktadır (Mylonakis ve ark, 2004). Bu durum kemik iliğinin baskılanması ya da yangısal sekerden daha önde olarak demik eksikliğine bağlı olarak aneminin nedeni olabileceği ileri sürülmektedir (Cohn, 2003). Monositozis ve lenfositozis görülebilmektedir. Endojen ve ekzojen glukokortikoitlere sekonder yanıt olarak eozinopeni ve lenfopeni görülebilmektedir. Ehrlichia ile enfekte köpeklerde görülebilen laboratuvar bulguları Tablo 5’de özetlenmiştir.

**Tablo 5.** Ehrlichiosisli köpeklerde görülebilen laboratuvar bulguları.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Etken | | Laboratuvar Bulguları |
| *E. Canis CME* (Sainz ve ark, 2015) | * Orta dereceden ılımlıya kadar normositik, normokromik non-rejeneratif anemi * Nötropeni * Nötrofili * Lenfopeni * Monositozis * Granular lenfositozis (nadir) * Trombositopeni * Trombositopati * Pansitopeni: medullar hipoplazi yada aplazi   (Kronik form, %15-20 klinik hasta)   * Hiperproteinemi * Hiperglobulinemi * Hipergamaglobulinemi (genellikle polyclonal) * Hipoalbunemi * Proteinüri * Renal azotemi * Orta derece artan karaciğer enzimleri (ALT,ALP) * Mononükleer yada nötrofilik pleositozis | |
| *E. Ewingii CGE* (Evarmann 2012) | * Trombositopeni * Orta derece anemi * Reaktif lenfosit * Poliartritis (Nötrofilik) * Spesifik olmayan değişken biyokimyasal panel * Prostat, CSF ve diğer organizma sıvılarında ve periferal kanda granulositler içerisinde morula tespiti | |

Kanin Monositik Ehrlichiosisli köpeklerde hiperglobinemi, hipoalbuminemi ve hipergammaglobinemi temel biyokimyasal anormalliklerdir. Hastalık süresince serum globulin konsantrasyonu belirgin olarak artmaktadır. Enfeksiyondan sonraki 1–3. Haftalarda bahsedilen artış sıklıkla gözlemlenmektedir (Wanner ve Harrus, 2000). Serum total protein ve globulin konsantrasyonlarının pansitopeni görülen köpeklerde (özellikle gammaglobulin) daha düşük olduğu bildirilmektedir. Bu durum *E. canis* ile enfekte pansitopenik köpeklerin sekonder enfeksiyonlara karşı daha duyarlı olmasından kaynaklanabilmektedir (Waner ve Harrus, 2000).

Akut dönemde CME’li köpeklerde alanin aminotransferaz (ALT) ve serum alkalen fosfataz (ALP) aktivitelerinde kalıcı olmayan hafif bir artış söz konusu olabilmektedir (Breitschwerdt, 2000; Yabsley ve ark, 2004). Akut dönemde *E.canis* ile deneysel enfekte köpeklerde geçici proteinüri görülebilmektedir. Ayrıca glomeruluslarda immunkompleks birikimi, kalıcı minimal glomerüler bozukluklar ve membranoproliferatif glomerulonefritis belirlenmektedir (Codner ve Farri-Smith, 1986; Codner ve Maslin, 1992; Codner ve ark, 1992; Iqbal ve Rikihisa, 1994). Glomeruluslarda artan immunkompleks birikimi ve membranoproliferatif glomerulonefritis kronik dönemde ilerlemektedir (Breitschwerdt, 1995). Bu durumun sürekli bulunan antijenik uyarımdan kaynaklandığı düşünülmektedir. Proteinüri, ehrlichiosisli köpeklerde %50 oranında bulunmaktadır. Deneysel enfeksiyonlarda etken inokule edildikten 2.5 ile 3.5 hafta sonra albümin başta olmak üzere idrar yolu ile protein kaybı rapor edilmiştir (Evermann ve ark, 2013). Bu zaman zarfında idrarda protein/kreatin oranının ise 4.5 ile 23.2 (referans değer < 1.0) arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Serum albümin düzeyinde ise kayda değer bir şekilde bir azalmanın şekillendiği gözlemlenmiştir. Merkezi sinir sisteminde gözlemlenen klinik tablonun artan protein konsantrasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Azotemi prerenal ya da sekonder olarak başlı başına renal hastalıklardan kaynaklanabilmektedir. Ehrlichiosisli köpeklerde gelişen glomerulonefritis ve renal interstitial plasmositozis sonucu esas renal azoteminin oluştuğu sonucu bildirilmektdir (Evermann ve ark 2013).

Diğer klinikopatolojik bulgularda ise uzayan kanama zamanı, radyografilerde orta hatta linear pulmoner intersitisyel opasite, peribronsiyal alanlardan intersitisyel alanlara doğru olan infiltrasyon sonucu oluşan opasite, hematuri ve proteinüri yer almaktadır (Harrus ve ark, 2016).

Ehrlichiosisli köpeklerin prognozunun belirlenmesinde bazı indikatörlerin önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Şiddetli lökopeni, şiddetli anemi, hipokalemi ve uzayan aPTT zamanı prognozun %100 oranında ölümle sonuçlanacağını gösteren parametreler olarak rapor edilmiştir (Sainz ve ark, 2015). Diğer taraftan 5.8 × 10 3/ μ L üzerindeki total lökosit, 89.5 × 10 3 μ L üzerindeki platelet miktarı, 33.5% yüksek hematokrit, 14,5 saniyenin altında aPTT değeri ve 4.75 mmol/L üzerindeki potasyum miktarı prognozun iyi olarak değerlendirilmesinde indikatör olarak rapor edilmiştir (Sainz ve ark, 2015).

* 1. **D- Dimer ve YDPB (Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma Bozukluğu)**

Hemostatik bozukluklar yıllardır veteriner hekimlikte çalışılmaktadır. Tarihsel olarak genellikle kanama problemleri ile ilişkilendirilmiştir (Monreal, 2003). Tromboembolik hastalıkların tanısı; klinik bulgular ve laboratuvar testlerinin birlikte yorumlanması ile konulur. Bu tip durumlarda Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma (YDP) terimi küçük damarlarda sekonder fibrinolizisin geliştiği ve diffuz trombozis ile oluşan sendromu tanımlamak için kullanılır (Ann, 2005). Yaygın Damar Pıhtılaşma primer bir bozukluk olmayıp altında yatan birincil etmenlerin bir yansıması sonucu gelişir (Feldman ve ark, 1981; Jain, 1993, Welles, 1996; Carr ve ark, 2002).

İnsan hekimliğinde atheroskleroz, derin ven trombozu, pulmoner thromboembolism gibi yüksek oranda mortalite ile trombotik durumlardan dolayı, hemostazis ve protrombik durumları erken teşhis edebilmek amacı ile çeşitli yöntemler geliştirilmektedir (Monreal, 2003). Aynı durum veteriner hekimlik içinde geçerli olmakla beraber hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığına katkıda bulunmak amacı ile gün geçtikçe önemli konuma gelmektedir.

Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma Bozuklukları’nın (YDPB) patogenezinde 4 ayrı mekanizma tanımlanmaktadır. (1) Trombin oluşumunda artma, (2) Doğal antikoagülasyonun baskılanması, (3) fibrinoliziste azalma ve (4) inflamatuvar sistemin aktivasyonu sonucunda YDPB gelişiminin tetiklendiği bildirilmektedir (Bayık, 2006).

YDPB olarak nitelendirilen durum fibrinolitik aktivitenin sağlıklı bir şekilde görevini yerine getirememesi patogenezde yer almakla beraber enfeksiyöz hastalık profillerinde YDPB profilini oluşturma yolu olduğu tahmin edilmektedir (Turgut, 2000). Normalde dolaşımdaki plazmin inhibitörleri tarafından kontrol edilir. Birçok durumda artabilir. Bunlara örnek olarak ısı çarpması, uygun olmayan kan transfüzyonu, yılan sokması, neoplasi, endotoksemi, cerrahi müdahale, dirofilariozis, gastrik torsiyon, şiddetli hepatik nekrozis, diaframatik hernia, pankreatitis, hemorajik enteritis ve polisitemi gibi değişik durumlar verilebilir (Ho ve ark, 2005; Franchini ve ark, 2006).

YDPB’nun patogenezinde yer alan fibrinolitik aktivite ve hiperkoagülasyon mekanizmasından dolayı olgu bir paradokstur. Bu iki olgunun eş zamanlı aktivasyonu, organlardaki küçük kan damarlarında intravasküler fibrin oluşumuna neden olur. Bunun sonucunda fazla miktarda trombosit, koagülasyon faktörleri ve fibrinojen tüketilir. Trombusları uzaklaştırmak için fibrinolitik sistem hemen aktive edilir (Levi ve ark, 2009; Di Nisio ve ark, 2012). Fibrin ve fibrinojenin uzaklaştırılması sonucu, hemorajik diatezleri ile fibrin yıkımlanma ürünlerini potansiye eden, potent antikoagülant maddeler üretilir (Toh ve Dennis, 2003). Oluşan bu olgularda fibrin yıkımlanma ürünleri açığa çıkar. D-Dimer fibrin yıkımlanma ürünleri ile birlikte dolaşıma salınır. Bu sebeple YDPB oluşumunda diagnostik amaç ile kullanılabileceği bildirilmektedir (Prisco ve ark, 1989).

Damarlarda trombus oluşumu ile doku hipoksisi ve organ hasarı oluşur. Koagülasyon faktörlerinin ve trombositlerin tüketimi sonucu kanama eğilimi oluşur. Hemoraji eğilimi daha sonra fibrinolizis ile arttırılır. Fibrinolizis sadece fibrin polimerizasyonuyla ilgili olan fibrin yıkımlanma ürünlerinin oluşumu ve normal trombosit kümelenmesi ile sonuçlanmaz. Aynı zamanda trombusu parçalayamaz (Wada, 2004).

YDPB hayati tehlike oluşturan bir durumdur. Çoklu organ yetmezlikleri ve hemoraji başlıca ölüm sebepleri arasında yer almaktadır (Hatada ve ark, 2005). Şiddetli klinik semptomlara yol açmayan kronik formuda oluşabilir (Kawasugi ve ark, 2011). YDPB yaygın vasküler hasar olan, yaygın trombosit aktivasyonuyla sonuçlanan durumlarda, dolaşıma doku faktörünün salındığı bozukluklarda ve kan akımının azalmasına neden olan durumlarda oluşabilir. Ayrıca karaciğer tarafından aktive edilmiş koagülasyon faktörlerinin bozulduğu durumlarda da görülebilir (Turgut 2000).

Oluşan bu tabloda görülecek olan klinik ve klinikopatolojik bulgular, en şiddetli etkilenen organa bağlı olarak değişiklik gösterir (Blick, 1996). YDPB erken dönemde hiperkoagülasyonla karakterizedir. Ancak, veteriner hekimler YDPB’nun erken dönemi ile çok nadir karşılaşırlar (Nelson, 2005). Tüketici faz trombositopeni, uzamış aktive protrombin zamanı (APTT) ve protrombin zamanı (PT) ile düşük fibrinojen konsantrasyonu veya uzamış trombin zamanı (TT) ile karakterizedir. Çoğunlukla değişik şekilli ve fragmanlara ayrılmış eritrositler ile birlikte, değişik hacimlerde trombositler kan frotisinde tespit edilir. Bu bozuklukları fibrin(ogen) yıkımlanma ürünleri (FDP) konsantrasyonunda artışın olması destekler (Stokol ve ark, 2000).

Trombositlerin ve koagülasyon faktörlerinin tüketimi, YDPB durumunda aşırı pıhtı oluşumu ile sonuçlanır. Bu durum pıhtıların parçalanmasına, pıhtılaşma ile ilgili olan antikoagülantlar olarak görev yapan FDP’nin artmasına ve trombosit fraksiyonunda azalmaya neden olur (Wilde ve ark, 1989; Stokol ve ark, 1999). Böylece hemostatik testlerden biri veya tümü normal olmayabilir. Ancak, trombositler ve koagülasyon faktörleri üretilerek değişik ölçülerde kompanse edilebildiğinden, hiçbir test her zaman negatif değildir. Teşhis için sadece 5 testten 3’ünün anormal olması yeterlidir (Nelson ve Andreasen, 2003). Trombosit sayısı normalden fazla ama kanama mevcuttur. Non-rejeneratif anemi, lökopeni/nötropeni görülür (Bick, 1996). Bu bulgular özellikle köpeklerde Ehrlichiosis’de görülür. Kemik iliği pansitopenisine yakalanılsa bile normal ya da artmış selularite gözlemlenebilir. Nötropeni sepsis gelişecek kadar şiddetli olabilir (Turgut, 2000).

D-Dimer çapraz bağlı saf fibrin degredasyon ürünüdür. D-Dimer fibrinolizis ve koagulasyon varlığında artmaktadır. Fibrin yıkımlanma ürünleri tek başlarına koagulasyonun varlığını gösterilmesinde yeterli olmamaktadır (Caldin ve ark, 2000; Boisvert ve ark, 2001). Bu durum fibrinojen yıkımlanma ürünlerinin hem fibrin hem de fibrinojen degredasyon ürünlerini kapsamasından ileri gelmektedir (Feldman ve ark, 1981; Green ve Thomas, 1955). D-Dimer ile birlikte fibrinojen yıkımlanma ürünlerinin koagulasyon eğilimleri ve YDPB gelişim durumları değerlendirilirken diagnostik amaç ile kullanılabileceği bildirilmektedir (Machida ve ark, 2009). Veteriner hekimlikte YDPB tanısı amacı ile D-Dimer ölçümünün kullanıldığı birçok çalışma mevcut olmakla beraber kullanışlı bir şekilde D-Dimer’ın YDPB’nun tanısı amacı ile kullanılabileceği bildirilmektedir (Caldin ve ark, 2000; Griffin ve ark, 2003).

**2.8. Kardiyak Belirteçler**

Köpeklerde kardiyojenik hasara bağlı şekillenen klinik bulgular birçok nedene bağlı olarak oluşabilir. Kalp dokusunda (miyokard ve intersitisyum); aşırı kardiyak yük ve yaralanmaların yanında genetik, nörohormonal mekanizma, yangı ve biyokimyasal değişiklikler hasara neden olabilir (Braunwald, 2008). Fonksiyon kaybı direkt olarak organın kendisinden veya çeşitli hastalıkların sonucu olarak gelişebilir. Son yüzyılda gerek beşeri hekimlikte, gerekse veteriner hekimlikte, kardiyak hasar nedenleri ve oluşan hasarın tespitinde kullanılacak yöntemlerin tespiti üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Oluşan kardiyak hasarın olabildiğince hızlı ve güvenilir olarak tespit edilmesinin, hayati tehlikeye sahip olan bu tablonun başarılı bir şekilde yönetilmesinde anahtar rol oynayabileceği düşünülmektedir (Tang ve ark, 2007). Kardiyak hasarın tespitinde kullanılan belirteçlerin; kalbin normal biyolojik süreci, patolojik durumu, farmakolojik cevabı ve tedavi yönetiminde kullanılabileceği bildirilmektedir (Atkinson ve ark, 2001; Horwich ve ark, 2002). Oluşan kardiyak hasarın tespitinde kullanılacak olan belirteçler; (1) Subklinik hastalıkların tespiti, (2) Akut ve kronik hastalıkların tanısı, (3) Hastaların risk gruplarına göre derecelendirilmesi, (4) Hastalığın prognozunun ve tedavinin monitörizasyonu, (5) Tedavi yönteminin tespit edilmesi amacı ile kullanılabilmektedir (Boswood, 2009).

Oluşan kardiyak hasar, myokardiyumda meydana gelen bir harabiyet sonucu proinflamatorik sitokinlerin (tümör nekrozis faktör alfa, interlöykin 1, 6 ve 18) üretilmesi ile başlar. Oluşan bu sitokinler sempatik sinir sistemini stimüle eder. Hasarlı miyokardiyum kardiyak outputa neden olur. Gelişen kardiyak output, iskelet kaslarında hipoperfuzyon ile sonuçlanır. Bu durum monositleri aktive eder ve aynı sitokinlerin üretilmesine neden olur. Bu sitokinler miyokardiyal fonksiyon üzerine olumsuz etki gösterir ve miyokardiyal hasarı daha da ilerletir. Sitokinler sadece kalp hasarında salınmazlar. Çeşitli proinflamatorik durumlarda da dolaşımda bulunur. Benzer şekilde myokardiyal stress durumları natriuretic peptitlerin salınımına neden olmakla beraber, dolaşım sistemi kaynaklı peptit üretimini de arttırır (Seta ve ark, 1996; Anker ve von Haehling, 2004).

Ehrlichiosis ile enfekte hayvanlardaki enfeksiyon kaynaklı şekillenen kalp hasarının patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Enfeksiyon sonucu meydana gelen trombositopeni, anemi sebebi ile yetersiz doku perfüzyonunun geliştiği ve buna bağlı olarak kalpte hasarın meydana geldiği düşünülmektedir (Diniz ve ark, 2008). Kardiyak hasarın tespitinde kullanılan biyobelirteçlerin patogenezinde kesin bir sınıflandırma bulunmamaktadır. Bazı araştırmacıların yapmış oldukları sınıflandırma Tablo 6’da özetlendi.

**Tablo 6.** Kardiyak hasarın nedenleri ve kullanılan biyobelirteçler (Braunwold, 2008; Boswood, 2009).

|  |  |
| --- | --- |
| Patogenez | Biyobelirteç |
| Yangı | C-Reaktif Protein  Tümör Nekrozis Faktör Alfa  Fas (APO-1)  Interlöykin 1,6 ve 18 |
| Oksidatif Stres | Oksidif düşük densiteli lipoproteinler  Myeloperoksidazlar  Üriner biyoprinler  Üriner ve plazma izoprostanlar  Plazma malondialdehitler |
| Ekstracellüler matriks remodelleri | Matriks metalloproteinazlar  Doku inhibitör metalloproteinazlar  Kollajen propeptidler  Propeptit prokollajen tip I  Propeptit prokollajen tip III |
| Nörohormonlar | Norepinefrin  Renin  Anjiyotensin II  Aldosteron  Arjinin vazopressin  Endotelin |
| Miyosit Hasarı | Kardiyak spesifik troponin I ve T  Miyozit zayıf zincir kinaz I  Kalp tipi yağ asit proteinleri  CK-MB |
| Miyosit stres | Beyin natriüretik peptit  N-terminal natriüretik peptit  Proadrenomedullin midregional fragmenti  ST2 |
| Yeni biyobelirteçler | Chromogranin  Galectin 3  Osteoprotegerin  Adinopectin  Growth differentiation factor 15 |

* 1. **1. Kardiak Troponin**

Kardiyak biyobelirteçlerden kardiyak troponin I ve kardiyak enzimlerden kreatin kinaz MB (CK-MB) insan hekimliğinde iskemi, travma ve septik miyokardiyal hasarın varlığının ortaya konulmasında tanı ve prognozun belirlenmesinde değerli bir belirteç olarak kullanılmaktadır (Slack ve ark, 2005). İnsan hekimliğinde iskemik hasara bağlı oluşan akut miyokardiyal hasarın tanısı ve prognozu için biyokimyasal belirteçler kullanılmaktadır (Braunwald ve ark, 2000; Apple ve ark, 2003).

Kardiak Troponin I (cTnI) kardiyomiyositlerin içerisinde bulunan kasılma ve gevşeme mekanizmalarında rol oynayan kalp spesifik bir proteindir (O’Brein ve ark, 2006). Kardiyomiyosit komplekslerin kasılma ve gevşeme hareketlerinde cTnI’nında içinde yer aldığı kardiak troponin kompleksler yer almaktadır. Troponin I aynı zamanda iskelet kasında da bulunmaktadır. Kalp kasında bulunan izoformundan amino asit sekansları yönünden farklılık gösterdiğinden çapraz reaksiyon verme durumu söz konusu değildir (O’Brein ve ark, 2006). Normalde kardiak troponin aktin filamentine bağlı olarak bulunmakta ve sitozol içerisinde düşük miktarlarda seyretmektedir. Herhangi bir neden ile kardiyomiyositlerde meydana gelen bir hasar sonucu kardiak troponin I hücre dışı alana salıverilir. Bu salınım sonucu kardiak tropononin tespiti kalpte bir hasarın meydana olduğu düşüncesini destekler niteliktedir. Karnivor ve insan kardiak troponinleri benzer aminoasit dizilimlerine sahiptir. Bu yüzden insan hekimliğinde kalp hasarında kullanılma durumu veteriner hekimliğinde karnivor hastalarda da benzer şekilde kullanılabilmesi için düzenlenmiştir (Rishniw ve ark, 2004). Birçok türde dolaşımdaki cTnI miktarının tespiti akut ve kronik miyokardiyal hasarın varlığının belirlenmesinde kullanılmaktadır ayrıca thoraks radyografisi, elektrokardiyografi ve ekokardiyografi gibi diğer tanı yöntemlerine yapılacak olan yönlendirmelerde öncülük etmekte ve yapılan bu testlere ek bilgi sağlamaktadır. Aynı zamanda dolaşımdaki cTnI miktarı kalpte meydana gelen hasarın ne derecede olduğu yönünde de bilgi vermektedir (Suzuki ve ark, 2012). İnsan hekimliğinde miyokardiyal infarktüslerde (Casals ve ark, 2007; Clerico ve ark, 2009), kronik kalp hastalıklarında (Nagarajan ve ark, 2012; Omland ve ark, 2013), konjenital kalp hastalıklarında (Correale ve ark, 2009; Sugimoto ve ark, 2011) ve klinik olarak belirlenebilen aritmilerde (Gupta ve ark, 2010; Conti ve ark, 2013) cTnI miktarının arttığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar ışığında köpeklerde myxomatous mitral kapak yetmezlikleri, dilate kardiyomiyopati, aritmogenik sağ ventriküler kardiyomiyopati ve konjenital kalp yetmezliklerinde (Oyama ve ark, 2004; Wess ve ark, 2010; Hezzell ve ark, 2012) cTnI belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Miyosit hasarı şiddetli iskemi sonucu meydana gelen bir oluşumdur. Aynı zamanda miyokardiyumda stresse neden olan yangı, oksidatif stress ve nörohormonal aktivasyonlar sonucuda meydana gelebilmektedir. Geçen son yirmi yılda miyofibriler protein olan kardiyak troponin I ve kardiyak troponin T duyarlı ve spesifik indikatörler olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar ile birlikte tanıda, risk sınıflandırılmalarında ve tedavi yorumlanmasında gelişerek kullanılmaya devam etmektedir (Braunwald, 2008).

Kardiyak troponin I, insan hekimliğinde miyokardiyal nekrozis olgularında en spesifik ve en duyarlı belirteç olarak bildirilmektedir (Adams ve ark, 1993; Sleeper ve ark, 2001). Aktin ve miyozinlerde kalsiyum aracılı interaksiyonları düzenleyen troponin komplekslerinin alt ünitesi olan kardiak troponin I kalp kasında bulunmasının yanı sıra iskelet kaslarında da bulunmaktadır. Kalp kasında bulunan troponinler tek tip aminoasit sekansları tarafından üretilir. Bu yüzden iskelet kasında üretilen kardiyak troponinler ile monoklonal antikorları sebebi ile kalpte üretilenler ile çapraz reaksiyon göstermemektedirler (Adams ve ark, 1993). Yapılan deneysel çalışmalarda, insanlarda tespit edilen serolojik testlerin kedi ve köpeklerde uyarlanmasında başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum kedi ve köpeklerdeki proteinlerin %95 oranında yapısal benzerlikleri ve homolog gen yapılarının saflığı sebebi ile filogenetik özelliklerinin korunmasının bir sonucu olarak görülmektedir (O´Brien ve ark 1997, Schober ve ark 2001).

**2.8.2. Creatin Kinaz Muscle Brain (CK-MB)**

Çoklu organ yetmezliği olan hastalar ile birlikte torakal bölgeye alınan travmatik nedenler sonucunda hem yapılacak olan müdahalelerin tespiti hem de oluşturulacak tedavi protokollerinin düzenlenmesi için hayati noktada kalpte meydana gelen hasarın tespiti önem arzetmektedir. Beşeri hekimlikte bu duruma çözüm üretmek amacı ile birçok öncü madde tespitine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Aspartat aminotransferaz, myoglobin, laktat dehidrogenaz gibi parametreler insan hekimliğinde çoğunlukla kullanılmaktadır (Adams ve ark, 1996). Ancak kullanılan bu parametrelerin kalbe yönelik duyarlılıklarının düşüktür. (Adams ve ark, 1993; Mair ve ark, 1995). Bu durum enfeksiyöz profiller direkt ya da dolaylı yoldan kalbe etki eden hastalıkları yönünden de önem arzetmektedir.

Akut miyokardiyal infarktüs olgularında CK-MB uzun süredir biyokimyasal belirteç olarak kullanılmaktadır (Lang 1981). Son yıllarda yapılan çalışmalar ile birlikte CK-MB’nin belirteç olarak kullanılmasında bazı şüpheler ortaya konulmuştur. Diğer parametrelerden kardiak-spesifik troponinler ile kıyaslandığında spesifite yönünden daha düşük değerlere sahip olduğu kanıtlanmıştır (Silvermann ve ark, 1974).

Kreatin kinaz organizmada fosfatın kısmi olarak kreatin fosfat ve ATP’ye dönüşümünde rol oynamaktadır (Hoffmann ve Solter, 2008). Miyokardiumda ve iskelet kaslarında kreatin kinaz enerji deposu olarak görev alır ve enerjiyi kreatin fosfat olarak muhafaza eder. Kas kasılmalarında enerji gerekli olduğunda CK yüksek enerjili kreatin fosfatı ADP’den ATP üretmek için kullanır. Veteriner hekimliğinde kreatin kinaz hakkında ki en geniş bilgi havuzu köpeklerde mevcuttur. Aynı zamanda elde edilen bu bilgiler insanlarda kalp hasarının tespitinde öncü çalışmalar olarak yer almaktadır (Aktaş ve ark, 1994). Kreatin kinaz aktivasyonun yoğun olduğu yerler sırası ile kalp kası, diyafram ve düz kaslar ve beyindir (Keller, 1981). İskelet kaslarında ise kalp kasının nerede ise 2 ila 4 katı oranında olduğu bildirilmektedir (Boyd, 1983). Beyin dokusunda kaslarda bulunan CK aktivitesenin yaklaşık % 10’u oranında bulunmaktadır ayrıca bazı köpek türlerindeki referans aralıkları da farklılık arzetmektedir (Guy ve Snow, 1981; Lindena ve ark, 1982).

Kreatin kinaz organizmada kassal aktivasyonun bir ürünü olarak bulunmaktadır. İki alt ünitesi vardır. Alt ünitelerin birbirleri ile yapmış oldukları iletişim sonucu üç izo-enzimi bulunmaktadır. M (kas) ve B (beyin) alt ünite olmak üzere; CK-MM, CK-MB ve CK-BB izo-enzimler olarak nitelendirilmektedir (Boyd, 1983). Organizmada farklı doku ve organlarda farklı oranlarda bulunmaktadır. Birçok türde iskelet kasında CK-MM %100 oranında tespit edilebilir. Kalp kasında CK-MM çoğunlukta olmak kaydı ile CK-MB köpeklerde %3, atlarda ise yaklaşık olarak %10 oranında bulunur (Aktaş ve ark, 1993). Beyin dokusunda ise CK-BB çoğunlukta iken az miktarda CK-MB ve CK-MM içermektedir. Köpeklerde dalak ve bağırsak dokusunda yoğunluk miktarına göre CK-BB başta olmak üzere sırası ile CK-MB ve CK-MM bulunmaktadır. Köpeklerde kreatin kinazın izoenzimlerinin dağılımları CK-MM %50, CK-BB %40 ve CK-MB %10 olarak bildirilmektedir (Aktaş ve ark, 1993). İnsan hekimliğinde kalpte meydana gelen özellikle akut hasarlarda CK-MB prognostik amaçla kullanılmaktadır. Veteriner hekimliğinde ise tam olarak etkinliği bilinmemekle beraber üzerinde çalışmaların yapılmasının gerekliliği tavsiye edilmektedir (Guan ve ark, 2014).

Akut Miyokardiyal infarktüslü hastalarda durumun ortaya konulabilmesi için erken tanı araçlarının geliştirilmesine gerek duyulmaktadır. Birkaç yıl öncesinde kadar akut miyokardial Hasar olgularında Kreatin Kinazın saflaştırılması ile elde edilen ve hasar durumlarında dokulardan salınan CK-MM izomerleri akut miyokardiyal hasar durumlarında kullanılmaktaydı (Morelli, ve ark 1983; Puleo ve ark, 1987). Hasarın erken safhalarında CK-MM plazma oranlarında ciddi bir artış gözlemlenmekle beraber miyokardiyal infarksiyon durumlarında erken tanı aracı olarak nitelendirilmekteydi. Bu duruma rağmen kalp hasarlarında kullanılan bu belirtecin kalbin dışında diğer kas hasarlarında da artmış olarak tespit edilmesi bu belirtecin spesifitesini düşürmektedir (Annesley ve ark, 1985; Clarkson ve ark, 1987). Yapılan araştırmalar sonucu insanlarda akut miyokardiyal hasar durumlarında yine CK izomeri olan CK-MB’nin daha önce kullanılan yöntemlere nazaran daha spesifik olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Puleo ve ark, 1990).

* + 1. **Miyoglobin**

Miyoglobin düz kaslar dışında iskelet ve kalp kasında bol miktarda bulunan düşük moleküler ağırlığa (17 800 D) sahip bir proteindir. Bu sebeple akut miyokardiyal yetmezliklerde, iskelet kaslarındaki hasarlarda göz önünde bulundurulduğunda, spesifik bir belirteç olarak yer almaktadır (Adams ve ark, 1993). Myoglobin myokardiyumda meydana gelen bir hasar durumunda yeterli renal perfüzyon mevcudiyetinde hızla dolaşıma salınır (Wu ve ark, 1996). Artan renal perfüzyon hızı, hızlı kinetiğe sahip olan miyoglobin miktarını yükseltebilmektedir (Yue ve ark, 2015). Ayrıca miyoglobin miktarı miyokardiyal olayların zamanı hakkında da bize ipuçları sunabilir. Coroner tıkanma durumlarında 2 saat içerisinde tespit edilebilen bir seviyeye ulaşmakla beraber 3 ile 15 saat içerisinde düşük seviyelere düşebilmektedir. Myoglobinin bu özelliği coroner reoklüzyonlarda spontan bir siklik döngüye ve iskemik miyokardiyumda myoglobin salınımına eğilime neden olmaktadır. Sahip olduğu zamansal döngü akut olgularda kalp kasında meydana gelen hasarlar yönünden tanımlayıcı olabilmektedir. Veteriner hekimlikte bu durum 30 dakika içerisinde gerçekleştirilmelidir (Yue ve ark, 2015). Myoglobinin sahip olduğu hızlı klerens 120 dakika içerisinde konsantrasyonun düşmesi ile sonuçlanabilmektedir. Artan miyoglobin istikrarsız angınaya, miyokardiyal alanda tespit edilemeyen hücre ölümlerine ya da kritik derecede hastalardaki iskelet kas hasarlarına belirteç olabilmektedir (Hoffman ve Solter, 2008).

* 1. **Anemi**

Gerçek veya absolut anemi, organizmada eritrosit oranında azalma olarak ifade edilir. Değişik klinik semptomlara neden olmaklar beraber en yaygın eritrosit bozukluğudur. Subklinik seyredebilir ama sadece genel diagnostik çalışmalar sırasında tespit edilir (Squires, 1993; Smith 1990).

Anemi bir semptomdur. Anemi etkenin belirlenmesine yardımcı olmak ve etkili tedavi uygulamak amacı ile değişik yollar ile sınıflandırılır. Teşhise giden yolda laboratuvar bulguları ile beraber anamnez, radyolojik bulgular, diğer klinik semptomlar ve diğer test sonuçlarının bilinmesi önemlidir (Tangner, 1982). Aneminin sınıflandırılmasında RBC indeksleri, retikülosit sayımları, kan sürme preparatlarında RBC morfolojisi, plazma protein konsantrasyonu, plazmanın görünümü, serum demir ve biluribin konsantrasyonları, direkt antiglobulin testi ve kemik iliğinin değerlendirilmesi faydalıdır (Morris ve Dunn, 1987; Evans ve ark, 1987).

Kemik iliğinden yeterli eritrosit üretilememesi aneminin nedenleri arasında yer almaktadır. Bu durumdan farklı olarak anemi eritrositlerin vücuttan direkt olarak kaybı (kan kaybı veya eksternal hemoraji) ve vücutta oto mekanizmalar tarafından yıkımlanması sonucu oluşur (hemoliz veya internal hemoraji) (Gül, 1983; Gilmour ve ark, 1991). Dalak bu basit yaklaşımı karmaşık hale getirir. İhtiyaç halinde kontrakte olarak dolaşıma eritrositleri salar veya gevşeyerek dolaşımdaki eritrositleri uzaklaştırır. Eritrosit sayacı ile bağlı kontraktil bir süngere benzer. Eritrosit üretim mekanizmasında eritrosit üretimini ve eritrosit yaşam ömrünün belirlenmesinde etkin olarak rol oynar (Campell, 1990).

Anemide Hct, Hb ve RBC değerleri genellikle referans parametrelerinin altındadır. Değerlendirme yapılırken sayılan bu kriterler birbirlerine mutlak yol ile bağlıdır. Anemi dehidrasyon durumlarında dikkatlice değerlendirilmelidir. Hematokrit değerin düştüğü durumlarda anemi baskılanabilir. Aynı zamanda düşük RBC parametresine rağmen total vücut RBC kitlesi normal olabilir (Relatif anemi). Anemi başlangıçta mutlaka Hct değer ile ortaya konulmalıdır. Hct değerin anemi derecesini uygun şekilde gösterebilmesi için hayvanın dehidre olmaması gerekir (Weiss, 1992; Winter ve Clarkson, 1992).

Hidrasyon durumunun belirlenmesinde plazma protein konsantrasyonu Hct değer ile birlikte kullanılabilir. Klinik olarak hidrasyonun faydalı belirteci olarak, plazma protein konsantrasyonunu etkileyen faktörlerin yokluğunda (hemoraji veya hepatik, glomerular ve intestinal hastalıklar gibi) plazma protein konsantrasyonu kullanılabilir. Şiddetli dehidrasyon durumlarında plazma protein konsantrasyonunun artmış olması beklenir (Sodikof, 1995).

Tam kan sayımı sonuçlarını değerlendirirken aneminin şiddeti belirlenmelidir. Hafif şiddetteki anemiler diğer hastalıkların sonucunda ikincil olarak şekillenir ve etiyolojik nedenler ortadan kaldırıldığında anemi düzeltilebilir. Orta şiddetli anemilerde rutin diagnostik işlemlere ve uygun tedaviye ihtiyaç vardır. Aneminin değerlendirilmesinde referans değerin altında RBC sonucu, aynı şekilde azalmış Hgb miktarı ve Hct değer baz alınır. Referans değerlerin altında kalan RBC ve Hgb sonuçlarına ilaveten Hct değere göre aneminin şiddeti; (1) Hafif: %30-37, (2) Orta derece: %20-29, (3) Şiddetli %13-20 ve (4) Çok şiddetli: < %10 şeklinde sınıflandırılabilir (Turgut 2000). Anemi sınıflandırılması Tablo 7’de özetlenmiştir.

**Tablo 7.** RBC ve HGB değerleri referans değerlerin altında olan hayvanlarda anemi sınıflandırılması (Turgut 2000).

|  |  |
| --- | --- |
| Anemi Şiddeti | HCT (%) |
| Çok şiddetli anemi | < 10 |
| Şiddetli anemi | 13-20 |
| Orta derece anemi | 20-29 |
| Hafif | 30-37 |

Anemide yapılan sınıflandırmada bazı farklı parametreler göz önünde bulundurulabilir. Anemi ile birlikte kan yapımının aktif olup olmamasına göre; rejeneratif ve non-rejeneratif olarak sınıflandırılır. Rejeneratif anemiler; hemorajik ve hemolitik olarak nedenine göre ayrılabilir. Hemorajik anemilerde gerek internal veya eksternal dışarı aktif kan kaybı mevcuttur. Hemolitik olanlarda ise kan metabolizmasında yıkım olgusu artmıştır. Non-rejeneratif anemilerde ise çeşitli nedenler ile birlikte kan yapım siklusu engellenir. Kemik iliği hipoplazisi, iz element eksiklikleri (demir), hormonel problemler veya böbrek yetmezliği gibi durumlardan kaynaklanabilir (Turgut, 2000).

Anemi aynı zamanda alyuvar hacmine göre veya içeriklerinin özelliklerine göre sınıflandırmaya tabi tutulabilir. Ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonuna (MCHC) göre normositik (normal MCV), makrositik (yüksek MCV) veya mikrositik (düşük MCV) olarak sınıflandırılabilir. Ayrıca normokromik (normal MCHC) veya hipokromik (düşük MCHC) olarak hemoglobin konsantrasyonlarına göre ayrım yapılabilir (Squires, 1993).

Ehrlichiosisli köpeklerde akut ve kronik fazda sık rastlanılan hematolojik değişiklik normositik, normokromik ve non-rejeneratif anemidir (Kuehn ve Gaunt, 1985; Dagnone ve ark, 2003; Castro ve ark, 2004). Ehrlichiosis köpeklerde akut faz süresince görülen aneminin şekillenmesi yangısal hastalıklardaki anemiye benzer şekilde eritropoetik yanıtın azaltmasıyla ilişkilendirilebilmektedir (Waner ve Harrus, 2000). Nitekim yangısal hastalık olgularında, anemi eritrosit üretimin azalmasıyla birlikte erirtosit yaşam süresinin kısalması ile sonuçlanabilmektedir. Ehrlichiosis köpeklerde ehrlichia etkeninin dolaşımdaki eritrositler üzerine direkt etkisi eritropoiesisi baskılanması ile birlikte enfeksiyondan sonraki ilk birkaç gün içerisinde anemiyi şekillendirebilmektedir (Waner, 2008 ).

Anemi başlı başına bir hastalık olmayıp birçok hastalığın seyri veya sonucunda ortaya çıkan bir semptomdur. Çeşitli sebeplerle kan dolaşımında toplam alyuvar sayısının veya kan hacmine göre nispi alyuvar sayısının ya da hemoglobin konsantrasyonun fizyolojik alt sınırın altına düşmesi olarak tanımlanabilmektedir. Eritrosit sayısındaki azalma dokulardaki oksijen miktarının azalmasına ve sonuçta doku hipoksisine sebebiyet verebilmektedir. Hem insanlarda hem de hayvanlarda oluşan anemi kardiyovasküler sistem üzerine olumsuz etkilere neden olabilmektedir (Champion ve ark, 2013). Aneminin kalp üzerine olan etkisi anemili insanlarda tanımlandığı gibi miyokardiyal infarktus ve hipoksiye sebebiyet verdiği, bu durumunda kalbin artan metabolik gereksinimi ile açıklanabilmektedir (Portman ve ark, 1995). Aneminin kardiyak yetmezlikle seyreden hastalarda hemodinamik etkisi kalbin işlevsel mekanizmasının azalmasıyla ilişkilendirilebilmektedir (Komajda, 2004). Laboratuvar bulgusu olarak anemi; ilgili türde eritrosit sayısı veya hematokrit değer (HCT) ile hemoglobin (HGB) konsantrasyonu ile karakterize edilir (Reece, 2004). Köpeklerde birçok nedenden kaynaklanabilen aneminin şiddeti, aneminin meydana gelme zamanı, kardiyopulmoner adaptasyon ve büyüklüğü ile sınıflandırılabilmektedir (Aird, 2000). Vektör kaynaklı hastalıklardan ehrlichiosisde sıklıkla şekillenebilen anemi miyokarditis ve ilerleyen aritmi gibi miyokardiyal hasarların gelişimine öncülük etmesi ile kalp fonksiyonlarının daha kötüleşmesine neden olabilmektedir (Diniz, 2008).

1. **GEREÇ VE YÖNTEM**

**3.1. Gereç**

**3.1.1. Hayvan materyali**

Araştırmanın hayvan materyalini Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Kliniğine getirilen sahipli, farklı ırk, yaş ve cinsiyetten daha öncede kalp rahatsızlığı bulunmayan 43 adet köpek oluşturdu. Hastalığın klinik tablosundaki çeşitlilik göz önünde bulundurularak çalışma grubu öncelikle etken mono (n=24) ve ko-enfekte (n=9) toplam 33 hayvan oluşturdu. Mono enfekte hayvanlar anemi durumlarına göre anemik (n=18) ve non-anemik (n=6), ayrıca anemik hayvanlarda hafif (n=6), orta (n=6) ve şiddetli (n=6) olmak üzere kendi içinde bölümlenirken toplam 33 adet hasta köpek çalışma grubunu oluşturdu. Kontrol grubunu 10 adet sağlıklı köpek oluşturdu. Çalışmanın yürütülmesi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı’nın (ADÜ-HADYEK) 64583101/2016/60 sayılı kararı ile uygun bulundu.

**3.1.2. Klinik Muayene Protokolü**

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları Kliniğine getirilen köpeklerde etkenin akut, subakut ve kronik evrelerinin sahip olduğu özelliklerden dolayı çalışmaya dahil edilecek hayvanlarda öncelikli olarak klinik semptomlar yönünden şüphenilen hayvanlar etken yönünden tanı yöntemlerine tabi tutuldu. Çalışma grubu oluşturulurken etkenin sebep olduğu klinik belirtilerdeki çeşitlilik nedeni ile bazı kriteler ön planda tutuldu. Bu bakımdan epistaksis, periferal ödem, iştah kaybı, kilo kaybı, depresyon belirtilerine sahip olan hayvanların vücut ısıları ve mukoza muayeneleri yapılarak hemogram profilleri belirlendi. Trombositopeni ve anemi tablosu gösteren hayvanlara etkenin tespiti amacıyla hızlı tanı test kiti uygulandıktan sonra PZR analizleri gerçekleştirildi.

Çalışmanın kontrol grubunu ise kliniğe rutin aşı uygulamaları ve genel sağlık kontrolü amacı ile getirilen hayvanlar oluşturdu. Bu amaç doğrultusunda hastaneye başvuran hastaların hemogram bulguları, serum biyokimyasal analizleri, hızlı tanı test kitleri rutin olarak uygulandı ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda sağlıklı görülen hayvanlar kontrol grubuna dahil edildi.

Yapılan bu çalışmada her hayvanın fizyolojik parametreleri kayıt altına alındı. Vücut sıcaklığının tespiti, mukozal muayeneler, kapillar dolum zamanları, vücut kondüsyon durumu, kilo kaybı, iştah, depresyon durumu, paraziter mücadele ve kene enfestasyon geçmişleri veri havuzuna eklendi. Elde edilen bu bilgilerden sonra etken tespiti ve etkenin organizmada meydana getirdiği değişimlerin tespiti amacı ile rutin laboratuvar muayeneleri gerçekleştirildi.

**3.2. Yöntem**

**3.2.1. Çalışma Grupları**

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları kliniğine; epistaksis, periferal ödem, iştah kaybı, kilo kaybı, depresyon belirtileri ile getirilen hayvanların hemogram profilleri belirlendi. Trombositopeni ve anemi tablosu gösteren hayvanlarda etken tanısı amacıyla hızlı test kiti ve daha sonra PZR analizleri gerçekleştirildi. Pozitif olan hayvanlar çalışma grubuna dahil edildi (n=33). Çalışma grubu enfeksiyonun durumuna göre sadece ehrlichia pozitif olarak tespit edilen hayvanlar mono-enfekte (n=24) grubuna, diğer etkenler yönünden pozitivite teşkil eden hayvanlar ise ko-enfekte (n=9) grubuna ayrıldı. Mono-enfekte grubundaki hayvanlar anemi profillerine göre hafif (n=6), orta (n=6), şiddetli (n=6) ve non-anemik (n=6) olarak gruplandırıldı. Aneminin sınıflandırılmasına göre normal sınırların altında olan RBC ve HGB sonuçlarına ilaveten HCT değere göre sınıflandırma gerçekleştirildi. Diğer etkenler yönünden ko-enfeksiyon gösteren hayvanlar etken ayırımı yapılmaksızın ko-enfekte (n=9) grubuna dahil edildi. Çalışmaya alınan hayvanların gruplandırılması Şekil 2’de özetlendi.

Kontrol

(n=10)

Çalışma Grubu

(n=33)

Ko-Enfekte

(n=9)

Mono-Enfekte

(n=24)

Non-Anemik

(n=6)

Anemik

(n=18)

Hafif

(n=6)

Orta

(n=6)

Şiddetli

(n=6)

**Şekil 2.** Çalışma grupları

Ehrlichiosis ile enfekte hayvanların mono veya ko-enfekte olduklarının belirlenmesi için benzer klinik bulgulara ve kan tablosuna sebep olabilen diğer bazı enfeksiyöz hastalıkların (anaplasmosis ve borreliosis antikorları ve *D.immitis* antijeni) tanısı için ELISA prensibiyle çalışan ticari hızlı test kiti (Snap 4DX plus, Idexx, USA), leishmaniosisin tespit edilmesinde ELISA prensibiyle çalışan Snap Leishmania ticari hızlı test kiti ve/veya IFAT yöntemi kullanıldı. Bununla birlikte babesiosis, hepatozoonosis, leishmaniosis tanısı için lenf aspirasyonu ve kan örnekleri sitolojik muayeneyle değerlendirilerek olguların tüm bu enfeksiyöz hastalıklar yönünden mono veya ko-enfekte olup olmadığı belirlendi. Bu duruma göre sadece ehrlichia pozitif, diğer hastalıklar yönünden negatif olan hayvanlar mono enfekte grup altında incelenirken, ko-enfeksiyon grubunda ehrlichia pozitif sonuçlar ile birlikte yukarıda bahsi geçen tüm etmenler yönünden herhangi biri pozitif olarak değerlendirilen sonuçlar ko-enfekte gruba dahil edildi.

Çalışma süresinde kullanılan Ehrlichiosisli hayvanlar serolojik ve moleküler olarak aktif enfekte, enfekte ve akut enfekte olmak üzere 3 evrede sınıflandırıldı (Diniz ve ark, 2008). Serolojik olarak pozitif, PZR pozitif olanlar aktif enfekte ehrlichiosis; Serolojik olarak pozitif, PZR negatif olan hayvanlar enfekte ehrilichiosis; Ehrlichiosis serolojik olarak negatif, PZR pozitif olan hayvanlar akut ehlichiosis olarak evrelendirildi. Moleküler ve serolojik sonuçlara göre yapılan sınıflandırma Tablo 8’de özetlendi.

**Tablo 8.** Moleküler ve serolojik sonuçlara göre Ehrlichiosisin evrelendirilmesi.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Grup | Serolojik (SNAP 4DX) | Moleküler (PZR) |
| Aktif Enfekte | + | + |
| Enfekte | + | - |
| Akut Enfekte | - | - |

**3.2.2. Laboratuvar Muayeneleri**

**3.2.2.1. Örneklerin Toplanması**

Çalışma ve kontrol grubunda bulunan hayvanların laboratuvar (hematolojik, serolojik, moleküler ve biyokimyasal) analizlerinin yapılarak değerlendirilmesi amacıyla vena cephalica antrebrachii’den Etilendiamin Tetraasetik Asit’li (EDTA), %3,2 Sodyum sitratlı ve antikoagülansız tüplere tekniğine uygun şekilde kan örnekleri alındı (Tablo 9).

**Tablo 9.** Analiz yöntemlerine göre alınan kan miktarları ve tüp çeşitleri.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Uygulanan İşlem** | **Tüp** | **Miktar (ml)** |
| Hematoloji  Tam Biyokimya  Seroloji (Snap 4DX, Snap Leish)  Moleküler (PZR) | C:\Users\C-BOX\Downloads\foto¦şraf 12.JPG  EDTA | 2,5 |
| D-Dimer | C:\Users\C-BOX\Downloads\779213230396bb74a78853990f8760f1.jpg%3,2 Sodyum  Sitrat | 2 |
| Kardiyak Panel  (CK-MB, Miyoglobin, cTnI) | C:\Users\C-BOX\Downloads\201807140851116446792.png  Antikoagülansız  Tüp | 5 |

**3.2.2.2. Hematolojik Analizler (Tam Kan Sayımı)**

Hematolojik verilerin elde eidlmesi amacıyla çalışma (n=33) ve kontrol (n=10) grubunda bulunan hayvanların vena cephalica antebrachii’umlarından EDTA’lı tüplere 2,5 ml kan örneği alındı. Alınan kanlar bir saat içerisinde eritsosit (RBC), lökosit (WBC), hematokrit (HCT), ortalama eritrosit hacmi (MCV), hemoglobin (Hb), ortalama korpusküler hemoglobin (MCH), ortalama korpusküler hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), trombosit (Plt) değerleri Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda bulunan Veteriner Tam Kan Sayımı cihazında (Coulter –Abacus Junior Vet, Macaristan) belirlendi. Hematolojik ölçümlerin belirlenmesinde kullanılan tam kan sayım cihazı Resim 1’de gösterildi.



**Resim 1.** Tam Kan Sayımı Cihazı (Coulter –Abacus Junior Vet, Macaristan).

**3.2.2.3. Kardiyak Panel Ölçümü (cTnI, CK-MB, Miyoglobin).**

Çalışmada kardiyak panelin belirlenmesi amacıyla çalışma ve kontrol grubunda bulunan köpeklerin vena cephalica antebrachii’lerinden antikoagulan içermeyen tüplere 5 ml kan örneği toplandı. Toplanan örneklerin pıhtılaşmalarının akabinde 3000 devirde 10 dakika santrifüj (Hettich Unıversal 16A, Almanya) edilerek serum örnekleri elde edildi. Elde edilen serum örneklerinden bir pipet yardımı ile 10 mikrolitre alınıp, 1 ml dilue solüsyon ile yavaşça karıştırıldı. Hazırlanan karışımdan kardiyak panle test kiti üzerine 120 mikrolitre dilue edilmiş solüsyon döküldü. Hazırlanmış olan test kiti fluorescence immunoassay rapid quantitave test cihazına (Finecare, Wondfo Biotech, Çin) yerleştirildi. Yaklaşık 15 dakika sonra örneklere ait cTnI, Miyoglobin ve CK-MB değerleri okundu. Çalışmada Kardiyak Panelin belirlenmesinde kullanılan cihaz Resim 2’de gösterildi.



**Resim 2.** Fluorescence immunoassay rapid quantitave test cihazı (Finecare, Wondfo Biotech, Çin).

**3.2.2.4. D-Dimer Ölçümü**

Çalışma ve kontrol grubunda bulunan hayvanların D-Dimer seviyelerinin belirlenmesi amacıyla vena cephalica antebrachii’den 2 ml’lik %3,2 sodium sitrat içeren tüplere kan örneği alındı. Alınan örneklerin plazmalarını elde etmek amacıyla 3000 devirde 10 dakikada santrifüj (Hettich Unıversal 16A, Almanya) edildi. Hiç vakit kaybetmeden elde edilen plazma örneklerini 18 mikrolitre 1 ml dilue solüsyon ile karıştırılıp hazırlanan solüsyondan 120 mikrolitre D-Dimer test kiti üzerine döküldü. Hazırlanmış olan test kiti fluorescence immunoassay rapid quantitave test cihazında (Finecare, Wondfo Biotech, Çin) yaklaşık 3 dakika içerisinde D-dimer seviyeleri okundu. Kardiyak panel ve D-Dimer ölçümleri için takip edilen yöntem Resim 3’de özetlendi.





****

**Resim 3.** Kardiak Panel ve D-Dimer ölçümü.

**3.2.2.5. PZR Uygulaması**

**3.2.2.5.1. DNA ekstraksiyonu**

Her bir EDTA’lı kan örneğinin 200µl’sinden DNA, QiaGen® Genomik DNA Purifikasyon Kiti ( Qiagen Company, Germany) kullanılarak hazırlandı. Tam kandan kite dayanarak genomik DNA izolasyonu aşağıda belirtildiği gibi yapıldı.

1,5 ml’lik ependorf tüplerine steril bir şekilde her bir kan örneğinden 200 µl kondu. 600 µl Cell Lysis üzerlerine eklendi. 10 dk oda sıcaklığında inkubasyona bırakıldı. Tüpler inkubasyon boyunca 2-3 kez alt-üst edildi. Örnekler işlem gerçekleştirildikten 10 dk sonra 13 000–16 000 × g’de 20 süresince santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant atıldı. Kan örnekleri -40 º C’de muhafaza edildiği için buraya kadar anlatılan işlemler iki kez tekrarlandı. Süspansiyon haline getirmek amacı ile dipte kalan beyaz kan hücreleri 10–15 s. hafifçe karıştırıldı. Beyaz kan hücrelerinin parçalanması 5–6 kez pipete edilen örnek üzerine 200 µl Nuclei Lysis Solüsyonu eklenerek işleme tabi tutuldu. 1 saat boyunca 37 ºC’de inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon periyodu sonucunda 1 µl RNAse solüsyonu eklendi. Tüpler 2–5 kez alt-üst edildi. Oda sıcaklığında 15 dk inkubasyon için bekletildi. Inkubasyon süresi sonucunda 70 µl Protein Presipitasyon Solüsyonu eklenen karışım 10–20 s. vortekslendi. 3 dk 13 000–16 000 × g’de santrifüj işlemine tabi tutuldu. Süpernatant dipteki koyu kahverengi protein peletine dokunulmadan ayrıldı. 200µl isopropanol eklendi. Bu karışım hafifçe içerisinde yüzen beyaz küçük bulut görülünceye kadar sallandı. 1 dk 13 000–16 000 × g ‘de santrifüj edildi. Dipte kalan DNA yerinden oynatılmadan isopropanol döküldü. DNA peleti etanolde yıkandı. 1 dk boyunca 13 000–16 000 × g’de santrifüj edildi. Etanol DNA peletine dokunulmadan bir pipet yardımı ile atıldı. Tüplerin 10-15 dk temiz kurutma kağıdı üzerinde kuruması beklendi. 65 ºC’de 1 saat süresince tüplere 70µl DNA Rehidrasyon Solüsyonu eklenerek inkubasyona bırakıldı. DNA kullanım aşamasına kadar +4 ºC’de saklandı.

**3.2.2.5.2. Testin uygulanması**

Bu çalışmada Ehrlichia spesifik, genin 455 bp amplifiye eden iki adet PCR primeri 18S ssrRNA gen dizilimine dayanarılarak hazırlanmış şekilde seçilerek kullanıldı (Inokuma ve ark 2004). Ehrlichia spesifik primerleri reverse olarak (Thermo electron, GmnH, Germany): Can 172F (5’-GTT TAT TAG TTT GAA ACC CGC\_3’) forwad, Can 626R (5’ GAA CTC GAA AAA GCC AAA CGA\_3’) kullanıldı. Her bir ependorf tüpünde 5 µl hedef DNA içeren 40 µl reaksiyon karışımı PZR için hazırlandı. Bu karışımda 100 µM dNTP (deoksinükleosid trifosfat: dATP, dCTP, dGTP, dTTP, dUTP) (Fermantas Life Sciences, Germany), 25 pmol forward-reverse primerleri (100pmol/µl), 1.25 U Hot Start Taq DNA Polymerase (Fermantas Life Sciences Taq DNA Polymerase, Germany), 1.50 mM MgCl2 (Promega, Madison, WI, USA), 10 × PCR buffer (200 mM Tris-HCL, pH 8,3 (25 ºC); 200mM KCl; 50mM (NH4)2SO4) (Fermantas Life Sciences, Germany) kullanıldı. Amplifikasyon aşamasında GeneAmp PCR sistem 2400 Thermal Cycler cihazı kullanıldı (Perkin Emler, Foster City, California). PCR şartlarında ise;

95 ºC 15 dk 1 siklus başlangıç denaturasyon aşaması;

94 ºC 30 s denaturasyon,

55 ºC 30 s primer annealing,

72 ºC 90 s ekstensiyon aşamaları 40 siklus;

72 ºC 10 dk final ekstensiyon aşaması 1 siklus uygulandı.

Pozitif DNA örneği Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları kliniğine getirilen ELISA tabanlı hızlı tanı test kitleri ile ehrlichia tanısı konulan hayvandan elde edildi. Her PZR reksiyonu negatif ve pozitif kontrol DNA örnekleri içerdi. Ethidium bromide içeren % 2’lik agaroz jelde elde edilen PCR ürünleri elektroforez yöntemiyle koşturuldu. jelin en başına konan DNA belirleyicisi yardımıyla gözlenen bantların baz çifti belirlenerek jel ultra viyole (UV) ışık altında incelenerek pozitif örnekler tespit edildi.

**3.2.3. Diagnostik Uygulamalar**

Mono ve ko-enfekte ehrlichiosisin tanısında ELISA tabanlı hızlı tanı test kitleri kullanıldı (IDEXX, SNAP 4DX plus, Westbrook USA). Bu çalışmada, +4 °C saklanan hızlı tanı test kitleri çalışma ısısına getirmek amacı ile 10 dakika boyunca oda sıcaklığında tutuldu. Hastalığın tanısı amacı ile vena cephalica antebrachii’den EDTA’lı tüplere 2,5 ml kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 10-30 dakika içerisinde hızlı tanı test kitleri ile işlendi. Kitin içerisinden çıkan efendorf tüpünün içerisine 4 damla konjugat ve 3 damla EDTA’lı kan örneği konuldu. Yavaşça karıştırılıp 10 dakika oda sıcaklığında bekletilen test kitinin solüsyon boşaltma haznesine tüm solüsyon yerleştirildi. Düz bir zeminde gerçekleştirilen işlem sırasında dökülen sıvı yavaş yavaş aktivasyon alanına gelene kadar beklendi. Bu aşamalar yerine getirildikten sonra işlemi aktive etmek amacıyla ‘’Klick’’ sesi duyulacak şekilde üst kısımdan baskı uygulandı. Sonuçlar 8-10 dakika içinde okundu. İşlemin yapım aşamaları Resim 4’de gösterildi.



b.

a.



c.



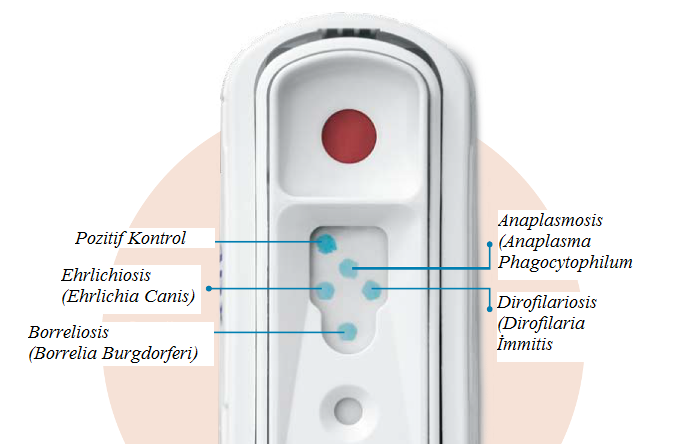
e.

d.

**Resim 4.** Snap test kitlerinin uygulanması.

a. 3 damla EDTA’lı kar örneği alınımı, b. 4 damla konjugat eklenmesi, c. Konjugat ve kan örneğinin karıştırılması, d. Karışımın test kiti üzerine dökülmesi, e. Karışımın aktivasyon alanına ulaşması, f. Aktivasyon işleminin gerçekleştirilmesi.

Çalışma kapsamına alınan hayvanların her birine ait kan örnekleri hızlı tanı test kitinde *Ehrlichia Canis, Ehrlichia Ewingii*’nin yanısıra *A. phagocytophilum, Anaplasma platys, Borrelia burgdorferi ve Dirofilaria immitis* etkenleri yönünden araştırıldı. Testin okunmasında öncelikli olarak işlemin doğruluğunun teyidi amacıyla pozitif kontrol bölmesinde beyaz zemin üzerine mavi yuvarlak alanın oluştuğu görüldü. Daha sonra pozitif kontrol bölmesi ile birlikte her etkenin kendisine ait olan bölmesinde meydana gelen beyaz zemin üzerinde mavi yuvarlak renk oluşumunun görülmesi ile ilgili hastalık/hastalıkların pozitif olduğu sonucuna varıldı (Resim 5).



**Resim 5.** Snap 4DX sonuç değerlendirilmesi.

Ko-enfeksiyonlardan leishmaniosisin tespiti amacı ile ELISA tabanlı hızlı tanı test kitleri kullanıldı (IDEXX SNAP Leishmania, Westbrook, USA). Testin uygulanması amacı ile vena cephalica antebrachii’den EDTA’lı tüplere alınan 2,5 ml kan örneklerinden damlalık ile 3 damla, Leishmania konjugat solüsyonundan 4 damla ephendorf tüpünde yavaşça karıştırıldı. +4’de muhafaza edilen SNAP Leishmania hızlı tanı test kiti 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra solüsyon boşaltma haznesine karışım boşaltıldı. 8-10 dakika beklenildikten sonra pozitif kontrol bölmesi ile birlikte beyaz zemin üzerine mavi yuvarlak alanın görülmesi leishmaniosis pozitif olarak değerlendirildi (Resim 6).



**Resim 6.** Snap Leishmania sonuç değerlendirilmesi.

Testlerin doğru değerlendirilebilmesi için mutlaka pozitif kontrol bölmesi kontrol edildi. Pozitif kontrol bölmesindeki beyaz zemin üzerine mavi yuvarlak alanla beraber herhangi bir tepkimenin olmamasından dolayı mavi yansımaların görülmemesi durumları negatif olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol bölmesinde mavi renk değişimi olmamasına rağmen hastalık bölmelerine ait kısımlarda mavi renk reaksiyonu olduğu durumlarda test yenilendi.

Ko-enfeksiyon gruplarında ehrlichiosis ile birlikte seyreden babesiosis, hepatozoonozis için ayrıca tanı yöntemleri kullanıldı. Babesiosisin tanısı için klasik olarak (Etilendiamin Tetraasetik Asit) Gimsa boyama yöntemi ile boyanarak intra-eritrositik trofozoitlerin varlığı araştırıldı.

**3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme**

Yapılan araştırmada her bir grup için elde edilen hematolojik değerlerin analizlerinde parametrelerin aritmetik ortalaması (*x̄),* standart sapması (s) ve minimal maksimal değerleri (Xmin-Xmax) hesaplanarak, değerlerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov yöntemi ile belirlendi. Elde edilen değerlerin normal dağılım göstermemesi üzerine non-parametrik testler uygulandı. Bu amaçla grupların birbirleri ile bağıntılarının belirlenmesi için Kruskal-Walles testi uygulandı. Tüm analizlerde olasılık (p değeri) < 0,05 anlamlı kabul edildi.

Yapılan korelasyon analizlerinde tüm veriler gruplardan bağımsız olarak değerlendirildi. Birbirleri ile olan ilişkilendirilmelerinde Pearson yöntemine başvuruldu. Sonuçlarda olasılık (p değeri)< 0,05 ve (p değeri)<0,01 anlamlı olarak kabul edildi. Tüm istatistiksel değerlendirmeler, SPSS 15.0 programı kullanılarak yapıldı.

**4. BULGULAR**

**4.1. Kontrol Grubu**

Yapılan bu çalışmada; kontrol grubu, kliniklere genel kontrol ve aşı uygulamaları amacı ile getirilen hayvanlardan elde edilen laboratuvar sonuçları ve enfeksiyöz ajanlara yönelik yapılan tanı testlerinin sonuçlarına göre oluşturuldu. Yapılan tetkikler sonucunda rutin hemogram sonuçları sağlıklı köpeklerde bildirilen referans parametre sınırları içerisinde olup serum biyokimyasal sonuçlarında da benzer sonuçların olduğu belirlendi. Tüm kontrol grubu hayvanlarında etkene yönelik yapılan hızlı tanı test kitleri (SNAP 4DX, SNAP Leishmania) ve Gimsa boyama yöntemi ile boyanan sürme preparatlar negatif olarak tespit edildi. Aynı zamanda diğer etkenlere yönelik yapılan serolojik yöntemlerde de herhangi bir etkene rastlanılmadı.

Kontrol grubunun hematolojik verileri incelendiğinde (*sx±s,* (min-max))*;* WBC değerinin 9.03±1,91 (6,02-11,94), RBC 5,89±0,41 (5,21-6,40), Hb 15,16±2,08 (12,00-18,00), HCT 41,99±3,27 (12,00-18,00), MCV 66,00±5,03 (60,00-75,00), MCH 19,50±1,65 (19,50-24,20), MCHC 32,06±1,19 (30,10-33,50) ve PLT 327,7±97,63 (216,00-498,00) değerlerinin literatür bilgileri ile uyumlu bir şekilde normal sınırlar içerisinde olduğu görüldü. Aynı durum D-Dimer ve Kardiyak Panel parametreleri içinde geçerli olmakla beraber elde edilen veriler D-Dimer için 0,49±0,51 mg/l (0,1-1,12), cTnI için 0,11±0,01 ng/ml (0,1-0,15), CK-MB için 0,77±0,86 ng/ml (0,3-3,12) ve miyoglobin için 10,90±5,39 ng/ml (2,24-18,45) olarak tespit edildi.

**4.2. Klinik Bulgular**

Çalışmada kontrol grubu ve çalışma gruplarına ait klinik bulgular hastalığın şiddetine ve tipine göre oldukça değişiklik gösterdiği belirlendi (Şekil 3). Buna göre anoreksi (19/33) ve kilo kaybı (16/33) hastalıkta baskın klinik tabloyu oluşturdu. Bununla beraber çalışma grubunda bulunan hayvanlarda periferal ödem (5/33), epistaksis (4/33), halsizlik (3/33), tüylerde karışıklık (2/33) egzersiz intolerans (2/33) belirlendi. Çalışma grubu bütün olarak değerlendirildiğinde elde edilen klinik bulgular Tablo 10’da gösterildi.

**Şekil 3.** Çalışma grubuna ait hayvanlardaki klinik bulgular.

Çalışma grubunda ehrlichiosis mono enfekte hayvanlara ait klinik bulgular incelendiğinde çalışma grubunda bulunan hayvanlarda anoreksia (12/24), kilo kaybı (10/24), epistaksis (4/24), periferal ödem (3/24), halsizlik (3/24), tüylerde karışıklık (2/24) egzersiz intolerans (1/24) saptandı (Şekil 4).

**Şekil 4.** Mono enfekte hayvanlara ait klinik bulgular.

Aynı zamanda çalışma grubundaki hayvanlar anemik duruma göre sınıflandırıldığında oluşan klinik bulgular ise Tablo 10’da özetlenmiştir.

**Tablo 10.** Enfekte hayvanlara ait klinik bulgular.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Klinik Bulgu  (n=24) | Non Anemik (n=6) | Hafif Anemi  (n=6) | Orta Derece Anemi (n=6) | Şiddetli Anemi  (n=6) |
| Anoreksi | - | 3 (%50) | 3 (%50) | 6 (%100) |
| Kilo kaybı | 3 (%50) | 1 (%16,67) | - | 6 (%100) |
| Periferal ödem | 1 (%16,67) | - | - | 2 (%33,33) |
| Epistaksis | 1 (%16,67) | - | 1 (%16,67) | 1 (%16,67) |
| Halsizlik | - | 2 (%33,33) | 1 (%16,67) | - |
| Tüylerde karışıklık | - | 1 (%16,67) | 1 (%16,67) | - |
| Egzersiz intolerans | 1 (%16,67) | - | - | - |
| Normal | 2 (%33,33) | - | 3 (%50) | - |

Çalışma grubunda incelenen ko-enfekte alt grupta bulunan 9 hayvanda ise klinik tabloya eşlik eden sekonder enfeksiyonun etkisi ile diğer farklı bulgular eklendi. Bunlar özellikle 4 hayvanın leishmaniosis olması nedeni ile onkogriphozis (3/9), lenfadenopati (3/9), dermatoz (3/9) ve kusma (1/9) şeklinde saptandı (Şekil 5).

(

**Şekil 5.** Ko enfekte hayvanlara ait klinik bulgular.

**4.3. Hematolojik Bulgular**

Kontrol ve çalışma grubunda bulunan hayvanlardan elde edilen hematolojik veriler Tablo 11’de gösterildi.

**Tablo 11.** Kontrol ve Enfekte grubuna ait hematolojik bulgular ve istatistiksel önemi.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Kontrol Grubu**  **(n=10)**  *x̄±*sx (min-max) | **Çalışma Grubu**  **(n=33)**  *x̄±*sx (min-max) | **P Değeri** |
| WBC (109/l) | 9,03±1,91  (6,02-11,94) | 12,20±9,60  (2,81-56,19) | p>0,05 |
| RBC (1012/l) | 5,89±0,41  (5,21-6,40) | 4,69±1,29  (1,76-6,30) | p<0,01\*\* |
| HGB (g/dl) | 15,16±2,08  (12,00-18,00) | 11,13±4,55  (2,24-20,12) | p<0,01\*\* |
| HCT (%) | 41,99±3,27  (38,45-48,24) | 30,66±9,89  (5,56-46,00) | p<0,001\*\*\* |
| MCV (fl) | 66,00±5,03  (60,00-75,00) | 67,25±4,72  (55,00-75,00) | p>0,05 |
| MCH (pg) | 19,50±1,65  (19,50-24,20) | 23,88±3,31  (19,50-35,70) | p<0,05\* |
| MCHC (g/dl) | 32,06±1,19  (30,10-33,50) | 35,65±5,08  (29,20-52,50) | p<0,05\* |
| PLT (109/l) | 327,7±97,63  (216,00-498,00) | 119,21±108,56  (6,00-498,00) | p<0,001\*\*\* |

Hematolojik muaeyene yönünden kontrol ve çalışma grubu arasında yapılan karşılaştırmada MCV ve WBC değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05). Buna karşılık diğer parametreler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak çeşitli derecelerde anlamlı bulundu (Tablo XX).

Çalışma grubunda bulunan hayvanların ehrlichiosis ve bu hastalık ile birlikte seyredebilen hastalıklar yönünden hematolojik değerleri incelendiğinde WBC, MCV, MCH ve MCHC verileri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı (p>0,05) tespit edildi. RBC için, kontrol grubu ve mono enfekte hayvanlar arasındaki istatistiksel farkın (p<0,01) önemli olduğu, benzer şekilde kontrol grubu ve mono enfekte hayvanların HGB değerlerinin anlamlı düzeyde farklı (p<0,01) olduğu belirlendi. Mono ve ko-enfeksiyonlu hayvanların HGB sonuçlarının da istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05) olduğu saptandı. HCT değerlerinin yorumlanmasında kontrol grubu verilerinin mono enfeksiyonlu hayvanlara göre farklı (p<0,001) olduğu, PLT miktarlarının ise kontrol grubu ile ko-enfeksiyonlu ve mono enfeksiyonlu hayvanların sonuçlarının istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05, p<0,001) olduğu görüldü (Tablo 12).

**Tablo 12.** Mono ve ko-enfeksiyonlu hayvanların lökosit ve hemogram profili sonuçları.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Kontrol Grubu**  **(n=10)**  *x̄±*sx (min-max) | **Mono enfekte**  **Grup (n=24)**  *x̄±*sx (min-max) | **Ko enfekte**  **Grup (n=9)**  *x̄±*sx (min-max) | **İst. Önem** |
| WBC (109/l) | 9,03±1,90a  (6,02-11,94) | 11,49±5,48a  (2,81-24,00) | 14,09±16,63a  (4,29-56,19) | - |
| RBC (1012/l) | 5,89±0,41a  (5,21-6,40) | 4,49±1,35b  (1,76-6,30) | 5,22±0,98ab  (3,50-6,24) | a-b:\*\* |
| HGB (g/dl) | 15,16±2,08a  (12,00-18,00) | 9,77±4,14b  (2,24-18,22) | 14,75±3,64ac  (10,12-20,12) | a-b:\*\*  b-c:\* |
| HCT (%) | 41,99±3,27a  (38,45-48,24) | 28,58±10,38b  (5,56-42,12) | 36,19±5,85ab  (28,75-46,00) | a-b:\*\*\* |
| MCV (fl) | 66,00±5,03a  (60,00-75,00) | 67,51±4,52a  (58,00-75,00) | 66,55±5,45a  (55,00-73,00) | - |
| MCH (pg) | 19,50±1,65a  (19,50-24,20) | 23,72±3,50a  (19,50-35,70) | 24,32±2,92a  (20,10-28,20) | - |
| MCHC (g/dl) | 32,06±1,19a  (30,10-33,50) | 35,19±4,74a  (30,90-52,50) | 36,87±6,04a  (29,20-47,60) | - |
| PLT (109/l) | 327,7±97,63a  (216,00-498,00) | 112,79±109,14bc  (13,00-498,00) | 136,33±111,55c  (6,00-379) | a-c:\*\*\*  a-b:\* |

a,b,c :Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasında istatistiksel bakımdan fark önemlidir. Harfler arası istatistiksel önemler \*:p<0,05, \*\*:p<0,01, \*\*\*:p<0,001.

Çalışma grubunda mono enfeksiyonlu (n=24) olarak tespit edilen hayvanlar aneminin durumlarına göre sınıflandırıldı. Referans değerlerin altında RBC ve HGB değerlerine sahip olan hayvanlar, HCT sonuçlarına göre şiddetli (n=6), orta derece (n=6), hafif (n=6) anemi olarak nitelendirildi. Anemi profili göstermeyen hayvanlar ise non anemik olarak gruplandırıldı (n=6). Çalışmada, mono enfeksiyonlu hayvanların anemi şiddetine göre hematolojik verileri incelendiğinde; WBC, MCV, MCH, MCHC ve PLT değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı (p>0,05) belirlendi. RBC sonuçları incelendiğinde anemik olmayan grup ile orta ve şiddetli derece anemik olan hayvanlar arasındaki farkın anlamlı (p<0,001, p<0,01) olduğu tespit edildi. Benzer şekilde hafif anemik ile şiddetli anemik hayvanların RBC değerleri arasındaki fark (p<0,05) istatistiksel olarak anlamlı bulundu. HGB değerlerinin non anemik ve şiddetli anemik hayvanlardaki farkın ise istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001) olduğu görüldü. HCT değerler incelendiğinde ise şiddetli anemi grubu ile anemi göstermeyen ve hafif anemik olan hayvanların sonuçlarının anlamlı düzeyde farklı (p<0,01) olduğu belirlendi. Mono enfeksiyonlu hayvanlar (n=24) anemi durumları göz önüne alınarak sınıflandırıldığında elde edilen hematolojik veriler tablo 13’ de sunuldu.

**Tablo 13.** Anemi sınıflandırılmasına göre hemogram profili sonuçları.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Non Anemi**  **Grubu (n=6)**  *x̄±*sx  (min-max) | **Hafif Anemi**  **Grubu (n=6)**  *x̄±*sx  (min-max) | **Orta Anemi**  **Grubu (n=6)**  *x̄±*sx  (min-max) | **Şiddetli Anemi**  **Grubu (n=6)**  *x̄±*sx  (min-max) | **İst.**  **Önem** |
| WBC (109/l) | 14,33±5,71a  (6,02-21,49) | 13,54±5,88a  (7,70-24,00) | 9,35±3,04a  (3,94-12,22) | 8,76±5,73a  (2,81-16,27) | - |
| RBC (1012/l) | 5,88±0,33a  (5,52-6,30) | 5,38±0,11ab  (5,22-5,49) | 3,79±0,47bc  (3,42-4,71) | 2,90±1,07c  (1,76-4,70) | a-c:\*\*\*  a-b:\*\*  b-c:\* |
| HGB (g/dl) | 14,83±2,10a  (12,11-18,22) | 9,75±0,96ab  (8,64-11,12) | 9,15±2,79ab  (5,12-11,98) | 5,35±3,34b  (10,12-20,12) | a-b:\*\*\* |
| HCT (%) | 37,17±4,21a  (30,12-42,12) | 37,34±3,64a  (30,41-40,70) | 25,26±2,38ab  (22,66-29,33) | 14,56±5,42b  (5,56-19,90) | a-b:\*\* |
| MCV (fl) | 67,83±5,11a  (60,00-75,00) | 67,90±4,75a  (61,00-73,40) | 67,33±2,65a  (65,00-71,00) | 67,00±6,13a  (58,00-75,00) | - |
| MCH (pg) | 22,78±1,56a  (20,70-25,40) | 23,43±2,39a  (20,40-27,70) | 23,23±2,15a  (20,60-26,10) | 25,45±6,20a  (19,50-35,70) | - |
| MCHC (g/dl) | 33,73±1,19a  (31,80-34,90) | 34,56±4,12a  (31,80-42,70) | 34,51±3,34a  (30,90-38,00) | 37,95±7,81a  (31,10-52,50) | - |
| PLT (109/l) | 159,66±97,64a  (38,00-333,00) | 85,33±53,74a  (19,00-145,00) | 42,50±31,22a  (13,00-95,00) | 163,66±169,77a  (22,00-498) | - |

a,b,c :Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasında istatistiksel bakımdan fark önemlidir. Harfler arası istatistiksel önemler \*:p<0,05, \*\*:p<0,01, \*\*\*:p<0,001.

Çalışmada ehrlichiosis yönünden klinik olarak şüpheli hayvanlarda iki farklı yöntem ile hastalıkğın tanısı belirlendi. Çalışmaya dahil edilen hayvanlar hızlı tanı test kiti (Snap 4Dx veya Snap Leishmania) ve PZR sonuçlarına göre tanısal sınıflandırmaya tabi tutuldu. Hızlı tanı test kiti (Snap 4Dx) ile pozitif ve negatif örnekler gösterildi. Ayrıca PZR değerlendirilmeside gösterildi.

Buna göre ehrlichosisli hayvanlar serolojik olarak pozitif, PZR pozitif olanlar aktif enfekte; Serolojik olarak pozitif, PZR negatif olan hayvanlar enfekte; Ehrlichiosis serolojik olarak negatif, PZR pozitif olan hayvanlar akut evre olarak değerlendirildi (Tablo 7).

Çalışma grubu (n=33) seroloji (SNAP 4DX) ve moleküler (PZR) sonuçlarına göre oluşturulan tanısal sınıflandırmaya göre oluşan gruplar şekil 6’da gösterildi. Buna göre; aktif enfekte 12 (%36), enfekte 15 (%46), akut enfekte 6 (%18) olarak değerlendirildi.

**Şekil 6.** Tanısal sınıflandırmaya göre olgu dağılımı.

Tanı yöntemlerinden elde edilen sonuçlara göre yapılan sınıflandırma sonucu gruplara dağılan hayvan sayısının mono ve ko-enfeksiyonlu olma durumu ile beraber anemi sınıflandırılması yönünden değerlendirilmesi Tablo 14’de özetlendi.

**Tablo 14.** Tanısal sınıflandırmaya göre mono ve ko enfeksiyonlu grupların olgu dağılımları.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Mono-Enfeksiyon | | | | Ko-Enfeksiyon | Toplam |
|  | Şiddetli | Orta | Hafif | Non-Anemik |
| Aktif Enfekte | 1 | - | 4 | 4 | 3 | 12 |
| Enfekte | 3 | 3 | 1 | 2 | 6 | 15 |
| Akut Enfekte | 2 | 3 | 1 | - | - | 6 |

Ehrlichiosis yönünden aktif enfekte hayvanların %75’inin mono enfeksiyonlu (9/12), %25’ inin ise ko-enfeksiyonlu (3/12) hayvanlardan oluştuğu belirlendi. Mono enfeksiyonlu hayvanların %11’inin şiddetli anemik, %44’ünün hafif, geriye kalan %44’ünün ise non-anemik hayvanlar olduğu tespit edildi.

Ehrlichiosis ile enfekte hayvanların %60’ının mono enfeksiyonlu (9/15), %40’ının ko- enfeksiyonlu (6/15) olduğu saptandı. Mono enfekte hayvanların anemi profiline göre dağılımının %20’si şiddetli (3/15), %20’si orta şiddetli (3/15), %6,67’si hafif (1/15) ve %13,33 non anemik (2/15) olduğu görüldü.

Ehrlichiosis ile akut enfekte köpeklerin ise tamamının mono enfeksiyonlu hayvanlardan oluştuğu tespit edildi. Anemi profiline göre oluşum yüzdeleri yönünden incelendiğinde, hayvanların %33,33 oranında şiddetli anemik (2/6), %50 orta derecede (3/6) anemik hayvanlardan ve %16,66’sının hafif derece anemili hayvanlardan oluştuğu belirlendi.

Çalışma grubu tanısal sınıflandırılmaya göre gruplandırıldığında oluşan grupların hematolojik parametrelerin ortalama ve standart sapma değerleri ile birlikte minimum ve maksimum değerleri Tablo 15’de sunulmuştur.

**Tablo 15.** Tanısal sonuçlara göre oluşturulan grupların hematolojik verileri.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Kontrol**  **Grubu (n=10)**  *x̄±*sx  (min-max) | **Aktif Enfekte**  **Grubu (n=12)**  *x̄±*sx  (min-max) | **Enfekte**  **Grubu (n=15)**  *x̄±*sx  (min-max) | **Akut Enfekte**  **Grubu (n=6)**  *x̄±*sx  (min-max) | **İst.**  **Önem** |
| WBC (109/l) | 9,03±1,91a  (6,02-11,94) | 9,42±5,99a  (4,11-21,49) | 13,33±12,69a  (4,29-56,19) | 9,48±5,35a  (2,81-15,45) | - |
| RBC (1012/l) | 5,89±0,41a  (5,21-6,40) | 5,15±1,22ab  (1,76-5,15) | 4,76±1,16ab  (2,94-6,24) | 3,56±1,22b  (2,03-5,22) | a-b:\*\* |
| HGB (g/dl) | 15,16±2,08a  (12,00-18,00) | 11,98±4,63ab  (2,24-18,25) | 11,46±4,95ab  (2,25-20,12) | 8,59±2,61b  (5,12-11,98) | a-b:\*\* |
| HCT (%) | 41,99±3,27a  (38,45-48,24) | 35,36±8,28ab  (12,62-42,24) | 29,64±10,16b  (5,56-46,00) | 23,79±8,56bc  (12,70-36,79) | a-b:\*\*  a-c:\*\* |
| MCV (fl) | 66,00±5,03a  (60,00-75,00) | 67,20±5,53a  (55,00-75,00) | 68,00±4,53a  (58,00-75,00) | 65,50±3,56a  (61,00-71,00) | - |
| MCH (pg) | 19,50±1,65a  (19,50-24,20) | 24,55±2,54a  (20,70-29,30) | 22,94±2,71a  (19,50-28,20) | 24,90±5,53a  (20,40-35,70) | - |
| MCHC (g/dl) | 32,06±1,19a  (30,10-33,50) | 36,83±4,88b  (31,80-47,60) | 33,80±3,63ab  (29,20-43,60) | 37,90±7,51ab  (31,70-52,50) | a-b:\* |
| PLT (109/l) | 327,7±97,63a  (216,00-498,00) | 108,41±92,71b  (6,00-333,00) | 149,67±130,12 bc  (16,00-498,00) | 64,66±49,77 bcd  (13,00-142,00) | a-b:\*\*  a-c:\*  a-d:\*\* |

a,b,c,d:Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasında istatistiksel bakımdan fark önemlidir. Harfler arası istatistiksel önemler \*:p<0,05, \*\*:p<0,01.

Tanısal sınıflandırmaya göre oluşturulan gruplar arasında WBC, MCV, MCH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

Kontrol grubu ile akut enfekte hayvanların RBC sonuçları arasında ki fark (p<0,01) istatistiksel olarak önemli bulundu.

Benzer şekilde kontrol grubu ile akut enfekte hayvanların HGB değerleri karşılaştırıldığında aralarındaki fark (p<0,01) anlamlı olarak tespit edildi.

HCT sonuçları için akut ve enfekte hayvanların kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı (p<0,01) olduğu belirlendi.

MCHC düzeyleri incelendiğinde ise kontrol grubu ve aktif enfekte hayvanların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık (p<0,05) olduğu görüldü.

Aktif ve akut enfekte hayvanların her ikisinde PLT miktarlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0,01) sonuçların saptandığı, kontrol grubu ile enfekte hayvanlar arasında da anlamlı farklılıkların (p<0,05) olduğu tespit edildi.

**4.3. D-Dimer Bulguları**

Çalışma grubu, mono ve ko enfekte grup, anemi durumuna göre sınıflandırılan hayvanlar ve tanısal sınıflandırma sonucu oluşturulan grupların D-Dimer ortalamaları, minimum ve maksimum değerleri ile birlikte istatistiksel anlamları Tablo 16’da verildi.

Kontrol grubunda elde edilen verilerin minimum ve maksimum değerleri ile birlikte referans aralıkları arasında olduğu tespit edildi. Ehrlichiosis ile ko-enfeksiyonlu hayvanların D-Dimer sonuçlarının ortalama değerleri tüm hayvanların sonuçlarının referans değerlerin üzerinde olduğu görüldü. Anemi sınıflandırması gerçekleştirilen hayvanlarda şiddetli anemi ve orta derece anemik hayvanlarda D-Dimer için tüm veriler referans aralıkların üzerinde tespit edildi. Hafif anemik grupta sadece bir hayvanda D-Dimer oranı standart verilerin altında olduğu (0,3 mg/l) görüldü. Non-anemik hayvanlarda ise bir enfekte hayvanın sonucu referans aralıkların üzerinde bulundu (2,6 mg/l). Aynı şekilde gruplardaki hayvanların ortalama değerleri referans aralıkların üzerinde olduğu görüldü. Sadece non anemik hayvanlardan elde edilen sonuçların kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli (p>0,05) olmadığı belirlendi. Buna göre çalışma grubundaki D-Dimer değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde farklı (p<0,001) olduğu tespit edildi. Benzer durumun ehrlichiosis mono enfeksiyonlu ve ko-enfeksiyonlu hayvanlarda da oluştuğu belirlendi. Mono enfeksiyonlu ve ko-enfeksiyonlu hayvanların kontrol grubu ile yapılan kıyaslamasında D-Dimer düzeylerinin istatistiksel olarak önemli derecede farklılık (p<0,01) gösterdiği tespit edildi.

Anemi durumuna göre sınıflandırılan şiddetli, orta ve hafif anemik hayvanların D-Dimer sonuçlarının kontrol grubu ile ilişkilendirilmesinde anlamlı düzeyde farklılık (p<0,05) olduğu saptandı. Serolojik ve moleküler olarak sınıflandırmaya tabi tutulan hayvanlarda D-Dimer için tespit edilen ortalama değerlerin üst limitlerin üzerinde olduğu görüldü.

Tanısal sınıflandırma grubunu oluşturan aktif enfekte, enfekte ve akut enfekte hayvanların her birinin D-Dimer düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı (p<0,05; p<0,01; p<0,01) olduğu görüldü.

**Tablo 16.** Çalışma grupları ve kontrol gruplarına göre D-Dimer düzeyleri.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Gruplar** |  |  | **D-Dimer (mg/l)**  *x̄±*sx  (min-max) | **İst. Önemi** |
| Kontrol  (n=10) |  |  | 0,49±0,16  (0,10-1,20) | - |
| Çalışma  (n=33) |  |  | 5,30±0,70  (0,10-10,00) | p<0,001 |
| Enfeksiyon  Durumu | Mono Enfeksiyonlu  (n=24) |  | 4,92±0,86  (0,10-10,00) | p<0,01 |
| Ko Enfeksiyonlu  (n=9) |  | 6,28±1,23  (1,10-10,00) | p<0,01 |
|  | Anemik Sınıflandırma | Non Anemik  (n=6) | 0,80±0,39  (0,10-2,60) | - |
| Şiddetli  (n=6) | 5,71±1,51  (1,60-10,00) | P<0,05 |
| Orta  (n=6) | 6,11±1,73  (2,00-10,00) | p<0,05 |
| Hafif  (n=6) | 7,08±1,86  (0,3-10,00) | p<0,05 |
|  | Tanısal Sınıflandırma | Aktif Enfekte  (n=12) | 4,99±1,24  (0,10-10,00) | p<0,05 |
| Enfekte  (n=15) | 5,10±1,06  (0,10-10,00) | p<0,01 |
| Akut Enfekte  (n=6) | 6,41±1,60  (2,40-10,00) | p<0,01 |

**Şekil 7.** Çalışma grupları ve kontrol gruplarına göre D-Dimer düzeyleri.

**4.4. Kardiyak Panel Bulguları**

Bu çalışmada, cTnI, CK-MB ve MYG sonuçlarının ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri Tablo 17’de gösterilmiştir.

CK-MB ve miyoglobin düzeyleri gruplar arasında incelendiğinde bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi (p>0,05).

Bununla birlikte cTnI sonuçlarında durumun farklı olduğu görüldü. Buna göre kontrol ve çalışma grubunun cTnI değerlerinin arasındaki farkın (p<0,001) istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi. Kontrol ve tanısal sınıflandırma sonucu enfekte olarak belirlenen hayvanların cTnI sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05) bulundu. Kontrol ve şiddetli anemik hayvanların cTnI sonuçlarının istatistiksel olarak önemli (p<0,01) olduğu saptandı. Orta derece anemik hayvanlar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise cTnI değerlerinin arasındaki farkın anlamlı (p<0,001) olduğu belirlendi. Benzer şekilde kontrol grubu ile ko-enfeksiyonlu hayvanların cTnI seviyeleri ilişkilendirildiğinde ise istatistiksel olarak farkın (p<0,05) önemli olduğu saptandı.

**Tablo 17.** Kontrol ve çalışma gruplarına ait kardiyak panel düzeyleri.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Grup | cTnI (ng/ml)  *x̄±*sx  (min-max) | CK-MB (ng/ml)  *x̄±*sx  (min-max) | Miyoglobin (ng/ml)  *x̄±*sx  (min-max) |
| Kontrol | 0,04±0,01a  (0,03-0,07) | 0,74±0,88a  (0,00-3,12) | 10,90±5,39a  (2,24-18,45) |
| Çalışma | 0,75±0,78b  (0,10-2,86) | 3,37±5,92a  (0,30-33,36) | 10,05±7,68a  (2,00-41,85) |
| Ko-enfeksiyon | 0,61±0,79bc  (0,10-1,93) | 2,27±2,36a  (0,30-7,34) | 8,22±3,83a  (3,14-13,73) |
| Mono enfeksiyon | 0,81±0,78bcd  (0,10-2,86) | 3,78±6,80a  (0,30-33,36) | 10,74±8,67a  (2,00-41,85) |
| Non Anemik | 0,70±1,07abcd  (0,10-2,81) | 1,34±1,23a  (0,30-3,45) | 9,42±7,43a  (2,00-19,70) |
| Şiddetli Anemik | 0,91±0,42bcde  (0,10-1,38) | 2,00±2,84a  (0,30-7,36) | 6,92±4,86a  (2,29-15,78) |
| Orta Anemik | 0,99±0,44bcdef  (0,43-1,65) | 8,73±12,30a  (0,98-33,36) | 14,35±13,51a  (7,45-41,85) |
| Hafif Anemik | 0,63±1,09abcdef  (0,10-2,86) | 3,06±3,31a  (0,30-9,11) | 12,26±6,81a  (4,82-19,02) |
| Aktif Enfekte | 0,63±1,04abcdef  (0,10-2,86) | 2,19±2,45a  (0,30-9,11) | 10,65±6,88a  (2,00-19,70) |
| Enfekte | 0,69±0,70bcdefg  (0,10-1,93) | 2,57±2,57a  (0,30-7,34) | 8,26±4,41a  (2,00-15,78) |
| Akut Enfekte | 0,43±0,48abcdefg  (0,10-1,38) | 7,71±12,85a  (0,30-33,36) | 13,35±13,98a  (6,71-41,85) |
| İst. Önem | a-b:\*\*\*, a-c:\* ,a-d:\*\*\*  a-e:\*\*, a-f:\*\*\*, a-g:\*\* | - | - |

a,b,c,d,e,f,g:Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasında istatistiksel bakımdan fark önemlidir. Harfler arası istatistiksel önemler \*:p<0,05, \*\*:p<0,01, \*\*\*:p<0,001.

Anemi derecesine göre sınıflandırılan hayvanlarda cTnI için elde edilen tüm verilerin referans aralıkların üzerinde olduğu tespit edildi.

CK-MB için üst sınır olan 3,17 ng/ml değerini şiddetli anemik grubunda iki birim aştığı görüldü. Orta derece anemik hayvanlarda 2 değer referans aralıklar içerisinde olduğu, hafif anemik hayvanlarda iki hayvandan elde edilen sonuçların üst limitin üzerinde olduğu tespit edildi. Ortalama değerlerinin ise referans aralıklarda olduğu görüldü. Tüm gruplara ait cTnI düzeyleri Şekil 8’de gösterildi.

**Şekil 8.** Çalışma grupları ve kontrol gruplarına göre cTnI seviyeleri.

CK-MB için 3 değer, üst limitlerin üzerinde tespit edildi. Bunların orta anemik, akut enfekte ve mono enfekte gruplarında olduğu belirlendi. Diğer değerlerin ise referans sınırları içerisinde olduğu saptandı. Tüm gruplara ait CK-MB ortalama seviyeleri Şekil 9’de gösterildi.

**Şekil 9.** Çalışma grupları ve kontrol gruplarına göre CK-MB seviyeleri.

Miyoglobin sonuçları diğer gruplara paralel bir şekilde referans aralıklarının altında olduğu görüldü. sonuçlarında anemi sınıflandırılmasına tabi tutulan tüm hayvanların miyoglobin değerleri referans aralıklarının altında olduğu tespit edildi. Sadece orta derece anemik hayvanlardan elde edilen veriler değerlendirildiğinde yanlızca bir hayvandaki MYG değerinin referans aralıkları içerisinde olduğu (41,85 ng/ml) belirlendi. Tanısal grupta miyoglobin düzeyinin ise düşük olduğu tespit edildi (Şekil 10).

**Şekil 10.** Çalışma grupları ve kontrol gruplarına göre MYG düzeyleri.

**4.5. Korelasyon Ve Regresyon Analizleri**

Çalışmaya dahil edilen tüm hayvanların ve grupların birbirleri ile olan ilişkilerinde çeşitli farklılıklar gözlemlendi. Korelasyon analizleri gerçekleştirilirken grup farkı gözetmeksizin tüm veriler üzerinde sonuçlar değerlendirildi. Bütün verilerin, gruplandırma kriterleri göz önüne alınmadığında normal olmayan bir dağılıma sahip olduğu görüldü. Non-parametrik olarak uygun şekilde birbirleri ile ilişkileri Pearson yöntemine göre korelasyon arandı. Çalışma ve kontrol grubuna ait hematolojik ve biyokimyasal parametreleri arasındaki korelasyonlar Tablo 18’ de gösterildi.

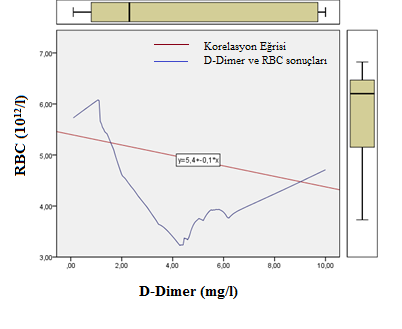
**Tablo 18.** Hematolojik ve biyokimyasal parametreler arası korelasyonlar.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | **WBC** | **RBC** | **HGB** | **HCT** | **MCV** | **MCH** | **MCHC** | **PLT** | **D-DIMER** | **CTNI** | **CK-MB** | **Mg** |
| **WBC** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | 1  0.49 | 0,271  0,079 | 0,279  0,070 | 0,258  0,095 | -0,080  0,611 | 0,268  0,082 | 0,342\*  0,025 | 0,000  0,999 | 0,210  0,176 | 0,002  0,911 | -0,138  0,379 | -0,024  0,878 |
| **RBC** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | 0,271  0,079 | 1 | 0,744\*\*  0,000 | 0,844\*\*  0,000 | -0,098  0,531 | -0,328\*  0,032 | -0,281  0,068 | 0,411\*\*  0,006 | -0,337\*  0,027 | -0,334\*  0,028 | -0,208  0,180 | -0,029  0,853 |
| **HGB** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | 0,279  0,070 | 0,744\*\*  0,000 | 1 | 0,795\*\*  0,000 | -0,279  0,070 | -0,241  0,120 | -0,071  0,652 | 0,439\*\*  0,003 | -0,414\*\*  0,006 | -0,269  0,082 | -0,064  0,683 | 0,128  0,415 |
| **HCT** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | 0,258  0,095 | 0,844\*\*  0,000 | 0,795\*\*  0,000 | 1 | -0,180  0,248 | -0,322\*  0,035 | -0,231  0,136 | 0,404\*\*  0,007 | -0,396\*\*  0,009 | -0,336\*  0,027 | -0,215  0,165 | 0,083  0,598 |
| **MCV** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | -0,080  0,611 | -0,098  0,531 | -0,279  0,070 | -0,180  0,248 | 1 | 0,309\*  0,044 | -0,299  0,139 | -0,134  0,393 | 0,024  0,879 | 0,166  0,286 | -0,041  0,794 | -0,244  0,115 |
| **MCH** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | 0,268  0,082 | -0,328\*  0,032 | -0,241  0,120 | -0,322\*  0,035 | 0,309\*  0,044 | 1 | 0,828\*  0,000 | -0,286  0,063 | 0,229  0,139 | 0,119  0,447 | 0,023  0,886 | -0,072  0,646 |
| **MCHC** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | 0,342\*  0,025 | -0,281  0,068 | -0,071  0,652 | -0,231  0,136 | -0,299  0,139 | 0,828\*  0,000 | 1 | -0,231  0,137 | 0,251  0,104 | 0,043  0,782 | 0,047  0,764 | 0,046  0,769 |
| **PLT** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | 0,000  0,999 | 0,411\*\*  0,006 | 0,439\*\*  0,003 | 0,404\*\*  0,007 | -0,134  0,393 | -0,286  0,063 | -0,231  0,137 | 1 | -0,393\*\*  0,009 | -0,343\*  0,024 | -0,204  0,189 | -0,019  0,904 |
| **D-DIMER** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | 0,210  0,176 | -0,337\*  0,027 | -0,414\*\*  0,006 | -0,396\*\*  0,009 | 0,024  0,879 | 0,229  0,139 | 0,251  0,104 | -0,393\*\*  0,009 | 1 | 0,086  0,582 | 0,209  0,059 | 0,184  0,236 |
| **CTNI** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | 0,002  0,911 | -0,334\*  0,028 | -0,269  0,082 | -0,336\*  0,027 | 0,166  0,286 | 0,119  0,447 | 0,043  0,782 | -0,343\*  0,024 | 0,086  0,582 | 1 | 0,380\*  0,012 | 0,318\*  0,037 |
| **CK-MB** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | -0,138  0,379 | -0,208  0,180 | -0,064  0,683 | -0,215  0,165 | -0,041  0,794 | 0,023  0,886 | 0,047  0,764 | -0,204  0,189 | 0,209  0,059 | 0,380\*  0,012 | 1 | 0,700\*\*  0,000 |
| **MG** | Pearson Korelasyon  Sig. (2-tailed) | -0,024  0,878 | -0,029  0,853 | 0,128  0,415 | 0,083  0,598 | -0,244  0,115 | -0,072  0,646 | 0,046  0,769 | -0,019  0,904 | 0,184  0,236 | 0,318\*  0,037 | 0,700\*\*  0,000 | 1 |

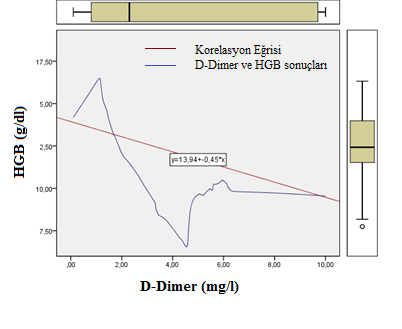
\*:Korelasyon 0,05 düzeyinde anlamlı (2-tailed)

\*\*:Korelasyon 0,01 düzeyinde anlamlı (2-tailed)

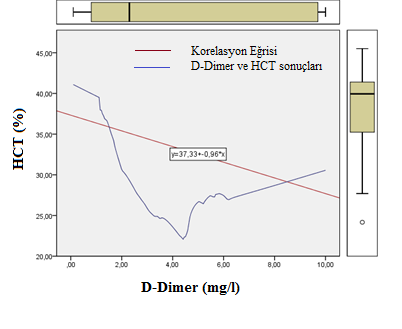
D-Dimer için elde edilen hemogram sonuçları ile ilişkilerine bakıldığında RBC, HGB HCT ve PLT değerleri ile birlikte D-Dimer seviyelerinin negatif yönde bir ilişkiye sahip olduğu görüldü. Aneminin geliştiği tüm hayvanlarda D-Dimer düzeyleri üst limit değerinin üzerinde tespit edildi. D-Dimer ve bazı hematolojik parametreler arasındaki korelasyonlar Şekil 11, 12, 13 ve 14’de gösterilmiştir.



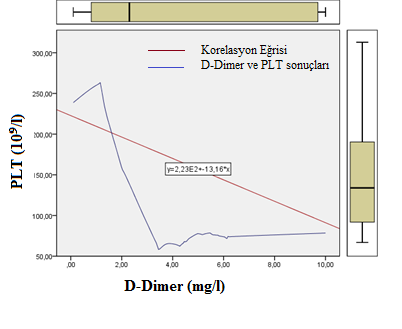
**Şekil 11.** D-Dimer ve RBC korelasyon sonuçları (p<0,05).



**Şekil 12.** D-Dimer ve HGB korelasyon sonuçları (p<0,01).

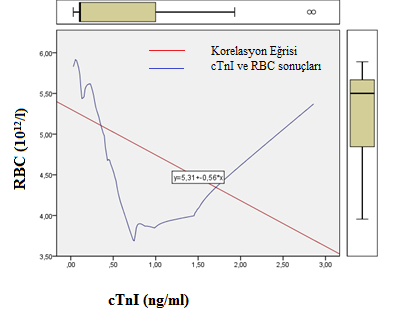


**Şekil 13:** D-Dimer ve HCT korelasyon sonuçları (p<0,01).

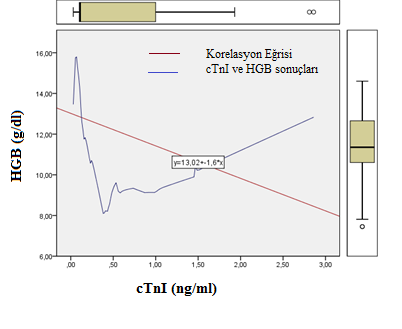


**Şekil 14.** D-Dimer ve PLT korelasyon sonuçları (p<0,01).

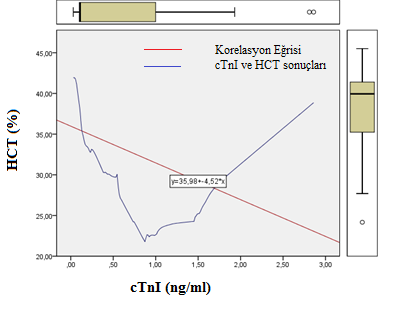
Benzer şekilde cTnI ile RBC, HGB, HCT ve PLT değerleri arasında istatistiksel olarak negatif korelasyon görüldü (Şekil 15, 16, 17, 18).



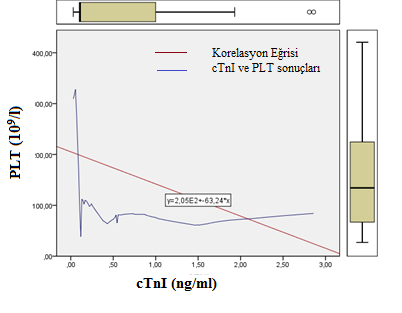
**Şekil 15**. cTnI ve RBC korelasyon sonuçları (p<0,05).



**Şekil 16**. cTnI ve HGB korelasyon sonuçları (p<0,05).

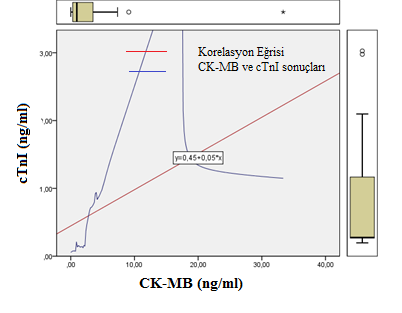


**Şekil 17.** cTnI ve HCT korelasyon sonuçları (p<0,01).

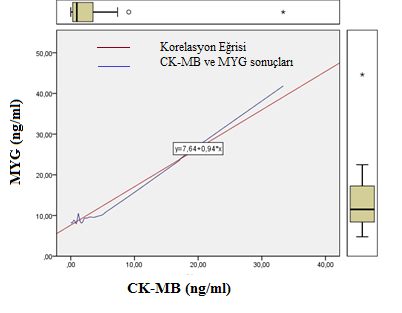


**Şekil 18.** cTnI ve PLT korelasyon sonuçları (p<0,01).

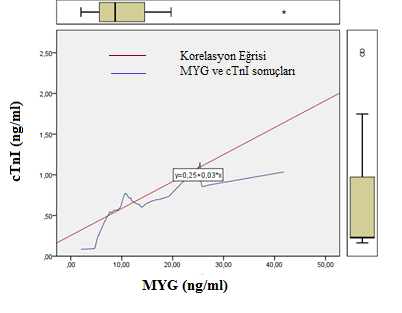
CK-MB sonuçları ile diğer parametreler istatiksel olarak ilişkilendirildiklerinde cTnI ve MYG değerleri ile pozitif yönde anlamlı olduğu görüldü. Benzer şekilde MYG sonuçlarının cTnI ile istatistiksel olarak pozitif yönde korelasyona sahip olduğu belirlendi. Kardiyak belirteçlerden cTnI, CK-MB ve MYG arasındaki korelasyonlar Şekil 19, 20, 21’de özetlenmiştir.



**Şekil 19.** CK-MB ve cTnI korelasyon sonuçları (p<0,05).



**Şekil 20.** CK-MB ve Mg korelasyon sonuçları (p<0,05).



**Şekil 21.** Mg ve cTnI korelasyon sonuçları (p<0,05).

1. **TARTIŞMA**

Ehrlichiosis, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından zoonotik, sağaltılmadığında şiddetli ve ölümcül seyreden önemli hastalıklar arasında gösterilmektedir. Dünya genelinde Asya, Afrika, Avrupa ve Amerika kıtalarında %50 oranında Ehrlichia enfeksiyonunun görülebildiği bildirilmektedir (Tsachev ve ark, 2006). Ülkemizde de görülmekle beraber hastalığın prevalansı konusunda çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Özellikle tropikal iklim kuşağı özelliklerine sahip bölgelerimizde yapılan çalışmalarda köpeklerde hastalığın prevalansının %67’lere ulaşabildiği rapor edilmiştir (Karagenç ve ark, 2005). Hastalık hem ülkemizde hem de dünyada yaygın olarak görüldüğünden dolayı gerek veteriner hekimlikte ve gerekse insan sağlığında meydana getirdiği benzer hastalık tablosu ile öne çıkmaktadır. Köpekler ehrlichiosis ile mono ve ko-enfekte olabilmektedirler.

Ehrlichiosis köpeklerde birçok doku ve organları etkileyerek çoklu organ yetmezliklerine neden olabilmektedir. Köpek ehrlichiosisi klinik olarak akut, subklinik ve kronik olmak üzere üç dönem göstermektedir (Wanner ve Harrus, 2000). Akut faz, enfekte kenelerle temastan 8 ile 20 gün sonra başlar ve 2 ile 4 hafta devam eder. Bu fazda hastalığa ait klinik bulgular hafif düzeyde seyredebildiği gibi yaşamı tehdit edebilecek nitelikte de olabilmektedir. Köpek ehrlichiosisin akut fazında anoreksi, kilo kaybı, letarji, lenfadenopati, splenomegali, ekstremiteler ve skrotumda ödem, solunum güçlüğü, kanama eğiliminin artması, deri ve mukozalarda peteşiyel ve ekimotik kanamalar ve ender olarak da epistaksis görülebilmektedir (Eng ve Giles, 1989; Rand, 1996). Bu fazdaki ehrlichiosisli köpeklerde aşırı duyarlılık ve tiklerin yanı sıra kraniyal sinir hasarını içeren merkezi sinir sistemi bulgularının ve yaygın olmayan anterior üveitis, korneal opasite ve retinal damarlaşma gibi bulguların da ortaya çıktığı belirtilmiştir (Codner ve ark, 1985; Anderson ve ark, 1992; Panciera ve ark 2001). Hastalığın subklinik fazındaki köpekler klinik bulgular göstermeden aylarca veya yıllarca enfekte kalabilmektedirler (Little, 2010; Rar ve Golovljia, 2011). Kronik fazdaki köpeklerin bazısı hastalıkla ilişkili klinik bulgu göstermezken bazı ehrlichiosisli köpeklerde ise hastalığın akut formundan daha şiddette klinik bulguların görüldüğü ve bu bulguların şiddetinin ırk, yaş ve bağışıklık sistemini etkileyen diğer bir hastalığın varlığına göre de değişkenlik gösterdiği belirtilmektedir. Kronik fazdaki ehrlichiosis köpeklerde anoreksi, kilo kaybı, güçsüzlük, depresyon, mukozal membranlarda solgunluk, ateş, arka bacak ve skrotumda ödem, deri ve mukozal membranlarda kanamalar ve epistaksis en sık görülen bulgulardır (Harrus ve Waner, 2011). Bu çalışmada, ehrlichosisli köpeklerin yapılan klinik muayenesinde anoreksi, kilo kaybı, periferal ödem, epistaksis, halsizlik, tüylerde karışıklık ve egzersiz intolerans en sık görülen klinik bulgulardandı. Bu durum araştırıcaların klinik bulgularıyla benzerlik göstermekteydi.

Yapılan bu çalışmada, zoonotik hastalıklar arasında yer alan, önemi her geçen gün daha da artan vektörle taşınabilen ehrlichiosisli anemik köpeklerde aneminin şiddeti ile miyokardiyal hasarın varlığı ve olası tromboembolik durumları değerlendirilerek veteriner hekimliğin yanı sıra insan hekimliği için de yararlı olabilecek bulgulara ulaşılabilmesi hedeflenmiştir.

Kontrol grubu oluşturulur iken kliniklere kontrol ve aşı amacı ile getirilen hastalar tercih edildi. Aşı uygulamaları öncesi ve genel kontrol amacı ile yapılan rutin hemogram muayenesinde alınan sonuçlar doğrultusunda sağlıklı grubu kriterleri oluşturuldu. Yapılan fiziksel muayenelerde vital fonksiyonların hepsinin sağlıklı hayvan profiline uyulmasına özen gösterildi. Hastalık *Rhipicephalus Sanguineus* adı verilen kahverengi keneler ile ve hatta yapılan son çalışmalar ile kene başta olmak üzere vektör aracılı bulaştığı bildirilmektedir (Baneth ve ark, 2015). Aynı zamanda bir diğer bulaşma yönteminin kan nakli olduğu ifade edilmektedir (Rand, 1996, Breitshwerdt, 1999). Her hayvanın kene ile temas ve kan nakli yönünden bilgileri alındı. Kontrol grubuna dahil edilecek olan hayvanlar akut ve subklinik fazda yaygın olarak görülen anemi, lökopeni ve trombositopeni yönünden incelendi (Castro ve ark, 2004; Evermann, 2012). Hemogram bulguları ile birlikte, klinik semptom yönünden tamamen sağlıklı bulunan hayvanlar kontrol grubuna dahil edildi. Şüphelenilen bulguların hiçbirini barındırmayan bu hayvanlara SNAP 4Dx ve Snap Leishmania testleri uygulandı ve tüm sonuçların negatif olduğu görüldü.

Kontrol grubuna dahil edilen hayvanların tamamen sağlıklı olarak nitelendirilmesinde etkenler yönünden ELISA tabanlı hızlı tanı test kitlerinin kullanımında (SNAP 4DX) bazı soru işaretleri bulunmaktadır. Klinik tablo olarak herhangi bir bulguya rastlanılmamış; akut, subklinik ve kronik seyreden ehrlichiosis olgularında bulunan trombositopeni, anemi ve leukopeni olgularını göstermeyen ve hızlı tanı test kiti ile işleme tabi tutulan hayvanlarda test yorumlanmasında yanlış negativite ve etkenin herhangi bir semptom göstermeden organizmada bulunabilme durumu mevcuttur. Bu testlerde yanlış negatif sonuç elde edilebilmesinin en önemli nedeni antikor cut off değerinin 160’dan düşük olmasıdır (Evermann, 2012). Klinik olarak sağlıklı fakat enfekte hayvanların varlığı *E.canis* yönünden reservuar olarak değerlendirmelerine sebep olmaktadır. Kontrol grubunda etkenlerin tespiti yönünden hızlı tanı test kitleri kullanıldı ve negatif olanların çalışmaya dahil edilmesi uygun görüldü.

Ehrlichia ile enfekte hayvanlarda hastalığın çok geniş bir yelpazede klinik tablosu, normalden şiddetliye kadar değişen laboratuvar bulguların görülebileceği bildirilmiştir (Breitschwerdt, 2007). Hemogram tablosu değerlendirilirken literatür bilgileri de göz önüne alınarak herhangi bir klinik tablo göstermeyen, yapılan laboratuvar analizlerinde de anormal duruma rastlanmamış ve ehrlichia veya vektör kaynaklı diğer hastalıklar yönünden pozitif durumların tespit edildiği bildirilmiştir. Hastalıkla ilişkili yapılan çalışmalarda sadece enfekte hayvanların %25’inde pansitopeni ile karşılaşıldığı rapor edilmiştir (Breitschwerdt, 2007). Bu çalışmada ise 33 ehrlichosisli köpeğin 6’sında pansitopeni varlığı tespit edildi. Bu durom araştırıcıların bulgularıyla paralellik götermekteydi (Breitschwerdt, 2007).

Ehrlichianın organizmada meydana getirdiği patolojik olgularda inkubasyon periyodu ve takibinde akut, subklinik ve kronik faz mevcuttur. İnkubasyon periyodunda makrofajlara penetre olan etken organizmada yayılma evrelerini tamamlar ve 1-4 hafta sürebilen akut faza girerler (Evermann, 2012). Akut fazda görülen en yaygın laboratuvar bulguları şiddetli trombositopeni, hafif ve orta dereceli anemi (genellikle normositik, normokromik, non-rejeneratif) ve hafif lökopenidir (Kuehn ve Gaunt, 1985; Dagnone ve ark, 2003; Castro ve ark, 2004). Bu çalışmada anemi sınıflandırmasına tabi tutulan bütün hayvanlarda bahsedilen klinik tablo ve laboratuvar bulguları gözlenmekle beraber şiddetli, orta derece anemi ve hafif anemi tablosu gösteren hayvanların akut fazda olduğu düşünüldü.

Akut fazın devamında tedavi edilmeyen ya da yetersiz tedavi protokolüne maruz bırakılan hastalar subklinik faza girerler. Trombositopeni bu fazda en önemli laboratuvar bulgusu olarak dikkati çekmektedir. Bu fazda etken persiste olarak aylar ve hatta yıllar boyunca organizmada varlığını sürdürebilir. Ehrlichia organizmaları konakçı hücre gen transkripsiyonunu modüle edip, sinyalize yolları etkileyip antimikrobiyel aktiviteyi azaltmak sureti ile immun sistemden kaçmayı başarabilirler (Evermann, 2012). Bunun sonucunda herhangi bir klinik semptom göstermeden laboratuvar bulgularında tahmin edilen etkileri göstererek etken varlığını sürdürmeye devam edebilir. Non-anemik ehrlichia grubuna dahil edilen bütün hayvanlarda farklı trombositopeni tabloları gözlenmekle beraber, belirli bir farkındalık göstermeden değişen derecelerde lökogram tablosu gözlendi ve bu grup hastalığın subklinik evresi ile ilişkilendirildi.

Vektör aracılı hastalıklarda vektörün birden fazla patolojik etkeni bünyelerinde bulundurmaları sebebi ile ko-enfeksiyon durumu sıklıkla görülmektedir. Yapılan çalışmalar ve gözlemlenen durumlar sonucunda hem insanlarda hem de hayvanlarda Ehrlichia ile birlikte *Anaplasma, Borrelia, Bartonella, Rickettsia, Babesia* ve arboviral enfeksiyonların görülebileceği bildirilmektedir (Harrus ve Waner, 2016). Bu etkenlerin herhangi biri ya da bir kaçı ile enfekte olan organizmalarda çok geniş yelpazede klinik ve patolojik bulgular görülebileceği gibi asemptomatik seyretmenin yanında ani ölüme kadar değişen çerçevede bulgular gözlenebileceği rapor edilmiştir (Harrus ve Waner, 2016). Bir etkenin varlığı konakçı yönünden diğer etkenin alınabilmesi yönünden herhangi bir engel teşkil etmediği tespit edilmiştir. Aynı zamanda ko-enfeksiyon durumlarında etkenlerinin patogenezlerinin birbirleri üzerine etkileri tam olarak bilinmemektedir (Maggi ve ark, 2014). Yapılan bu çalışmada yukarıda bahsedilen literatür bilgilerine uyumlu olarak ehrlichiosis ile birlikte 9 ko-enfeksiyonlu hayvan tespit edilerek çalışma grubuna dahil edildi.

Ko-enfeksiyon çalışma grubunda yapılan deneysel çalışmalarda ko-enfeksiyona sahip olan hayvanların mono-enfeksiyonlu hayvanlara göre daha düşük trombosit sayısına sahip olduğu rapor edilmiştir (Evermann, 2012). Ko-enfeksiyonu olarak tespit edilen tüm hayvanlarda ehrlichiosis ile birlikte anaplasmosis tespit edildi. Ayrıca 4 hayvanın leishmania ile enfekte olduğu görüldü. Literatür bilgilerine paralel bir şekilde ko-enfeksiyonlu hayvanlarda mono-enfeksiyonlu hayvanlara göere daha şiddetli trombositopeninin varlığı belirlendi. Diğer hematolojik parametrelerin beraber seyreden sekonder hastalıkların patogenezine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği görüldü. Leishmania ile enfekte olan hayvanların hepsinde onkogriphozis, generalize lenfadenopati, kilo kaybı ve püstüler dermatitis tespit edildi. Elde edilen bu klinik bulguların literatür bilgileri ile uyuştuğu görüldü (Baneth ve ark, 2008). Leishmania üzerinde yapılan çalışmalarda görülmektedir ki ehrlichiosis ile bağlantılı olarak trombositopenin şiddetini arttırdığı (Solano-Gallego ve ark, 2011), ve aynı zamanda trombositopeni tablosuna anaplasmosisinde katkı sağladığı düşünülmektedir. Anaplasma etkenlerinin daha çok nötrofiller üzerinden etkisini meydana getirmesi dolayısı ile (Harrus ve Waner, 2016) trombositopeni meydana getirip trombosit sayısı normale dönmeden önce birkaç gün perisiste seyredebileceğide bildirilmektedir (Sainz ve ark, 2015). Leishmaniosisde laboratuvar bulgularında bildirildiği gibi normokromik, normositik, nonrejeneratif aneminin görüldüğü rapor edilmiştir (Shaw ve ark 2009). Bu çalışmada, ko-enfeksiyonlu hayvanlarda aneminin sınıflandırılması yapılamadı. Bu durum çalışma kapsamına alınan ko-enfeksiyonlu hayvan sayısının yeterli sayıda bulunmamasıyla ilişkilendirilebilir.

Tanısal sınıflandırmaya tabi tutulan gruplarda hemogram profillerinde kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmalarda akut enfekte hayvanların RBC sonuçlarının anlamlı olduğu görüldü (p<0,05). Bu farkın grubu oluşturan hayvanların %33’ünün şiddetli anemik mono enfeksiyonlu, %50’sinin orta derece anemik mono-enfeksiyonlu ve geriye kalan kısmını hafif anemik (%16,66) mono-enfeksiyonlu hayvanların oluşturmasından ileri geldiği kanısındayız. Serolojik ve moleküler duruma göre sınıflandırılan diğer gruplarda herhangi istatistiksel bir anlam tespit edilmedi (p>0,05).

Hemoglobin değerlerinde akut enfekte hayvanlarda kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde değişim gözlenmekle beraber, HCT değerlerinde ise akut enfekte ve enfekte gruplarının kontrol grubuna göre benzer durum gösterdiği tespit edildi (p<0,05). Aktif enfekte hayvanların HCT değer için ortalama ve standart sapma değerleri 35,36±8,28 olarak tespit edildi. Referans değerlere yakın olmakla beraber bu durum HCT değer için şiddetli anemik grup ile istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Serolojik olarak negatif, PZR pozitif olan bu enfekte grubun HCT değerinin normale yakın olması çoğunlukla hafif, non-anemikve orta anemili hayvanlardan oluşması ile ilişkilendirildi.

Anemi başlı başına bir hastalık olmayıp birçok hastalığın seyri veya sonucunda ortaya çıkan bir semptomdur. Çeşitli sebeplerle kan dolaşımında toplam alyuvar sayısının veya kan hacmine göre nispi alyuvar sayısının ya da hemoglobin konsantrasyonun fizyolojik alt sınırın altına düşmesi olarak tanımlanabilmektedir. Eritrosit sayısındaki azalma dokulardaki oksijen miktarının azalmasına ve sonuçta doku hipoksisine sebebiyet verebilmektedir. Hem insanlarda hem de hayvanlarda oluşan anemi kardiyovasküler sistem üzerine olumsuz etkilere neden olabilmektedir (Champion ve ark, 2013). Aneminin kalp üzerine olan etkisi anemili insanlarda tanımlandığı gibi miyokardiyal infarktus ve hipoksiye sebebiyet verdiği, bu durumunda kalbin artan metabolik gereksinimi ile açıklanabilmektedir (Portman ve ark, 1995). Aneminin kardiyak yetmezlikle seyreden hastalarda hemodinamik etkisi kalbin işlevsel mekanizmasının azalmasıyla ilişkilendirilebilmektedir (Komajda, 2004). Laboratuvar bulgusu olarak anemi; ilgili türde eritrosit sayısı veya hematokrit değer (HCT) ile hemoglobin (HGB) konsantrasyonu ile karakterize edilir (Mills, 2012, Furman, 2014). Köpeklerde birçok nedenden kaynaklanabilen aneminin şiddeti, aneminin meydana gelme zamanı, kardiyopulmoner adaptasyon ve büyüklüğü ile sınıflandırılabilmektedir (Aird, 2000). Vektör kaynaklı hastalıklardan ehrlichiosisde sıkılıkla şekillenebilen anemi miyokarditis ve ilerleyen aritmi gibi miyokardiyal hasarların gelişimine öncülük etmesi ile kalp fonksiyonlarının daha kötüleşmesine neden olabilmektedir (Diniz, 2008).

Troponinler ve MYB kalp kökenli proteinler olup miyokardiyal hasarın varlığı ve derecelendirilmesinde kullanılan biyokimyasal belirteçlerdir. İnsanlarda miyokardiyal iskemi ve nekrozisin belirlenmesinde cTn I konsantrasyonlarının önemli bir belirteç olduğu, bununla birlikte primer veya sekonder kardiyak bozukluğu bulunan hayvanlarda da yüksek sensitivite ve spesifitiveye sahip olduğu rapor edilmiştir (Schober ve ark, 2002; Oyama ve ark, 2004; Q Brien ve ark, 2006; Sharkey ve ark, 2009; Langhorn ve Willesen, 2015.). Bununla birlikte cTn I enfeksiyon hastalıklarda miyokardiyal hasarın belirlenmesinde kullanılabilmektedir. Myoglobin iskelet ve kalp kasında oksijen bağlayan protein olarak görev yapar. Myoglobin yetersiz doku perfüzyonu yada travma durumlarında meydana gelen hücresel hasar nedeniyle dolaşıma salınır (Longhorn ve Willesen 2015). İnsan hekimliğinde akut miyokardiyal infarktusun erken tanısında kullanılan önemli bir belirteçtir (Collinson ve ark 2003).

Artan cTnI konsantrasyonları genellikle akut kalp hasarları ile meydana gelen miyosit dejenerasyonları ile ilişkilendirilmektedir (Diniz ve ark, 2007; Braunwald, 2008). Oluşan miyosit hasarının çoğunlukla şiddetli iskemi sonucu geliştiği de rapor edilmektedir (Braunwald, 2008). Horwich ve ark, 240 insan üzerinde yapmış oldukları çalışmada iskemi gelişmeden de cTn I seviyesinin artabileceğini rapor etmişlerdir (Horwich ve ark, 2003). İnsan hekimliğinde cTnI seviyeleri miyokardiyal infarktüs (Casals ve ark, 2007; Clerico ve ark, 2009) gibi akut hastalıklarının tespitinin yanı sıra kronik (Nagarajan ve ark, 2012; Omland ve ark, 2013), konjenital (Correale ve ark, 2009; Sugimoto ve ark, 2011) kalp hastalıkları ile klinik olarak da belirlenebilen aritmi hastalıklarında (Gupta ve ark, 2010; Conti ve ark, 2013) kullanıldığı bildirilmektedir. Veteriner hekimliğinde yapılan çalışmalarda cTnI’nın myxomatous mitral kapak hastalıkları (MMVD), dilate kardiyomiyopati, aritmogenik sağ ventriküler kardiyomiyopati ve kongenital kalp rahatsızlıkların tespitinde kullanıldığı rapor edilmiştir (Oyama ve Sisson, 2004; Baumwart ve ark 2007; Wess ve ark, 2010; Hezzell ve ark, 2012). Sleeper ve ark (2001) yılında yapmış oldukları bir çalışmada, sağlıklı köpeklerin cTnI değerinin alt sınırını <0,03 ng/ml, üst limitini de 0,07 ng/ml olarak rapor etmektedir (Sleeper ve ark, 2001). Ortalama ve standart sapma değerlerini 0,02±0,01 ng/ml olarak bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada, kontrol grubunun ortalama ve standart sapma değerleri 0,04±0,01 ng/ml olduğu tespit edildi ve literatür bilgileri ile uyumlu olduğu görüldü. Bu çalışmada, cTn I düzeylerinin hafif anemik, non-anemik, aktif ve akut enfekte hayvanların dışında tüm gruplarda istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulundu (p<0,05). Aneminin kalp üzerine olan etkisi anemili insanlarda tanımlandığı gibi hipoksiye neden olduğu ve kalbin artan metabolik ihtiyacından ileri geldiği yönünde açıklanabilmektedir (Diniz ve ark, 2008). Bu çalışmada, gerek mono ve gerek ko-enfeksiyonlu hayvanlarda oluşan anemi tablosunun kalbin yetersiz perfüzyonu sebebi ile miyosit dejenerasyonuna ve buna bağlı olarak cTn I düzeylerindeki artışla ilişkilendirilebileceği düşünesindeyiz. Yapılan istatistiksel yorumlama sonucunda anemi profilinin gelişmediği ya da hafif düzeyde oluştuğu hayvanlarda anlamlı bir fark oluşmaması bu düşünceyi destekler nitelikte olarak değerlendirildi. Bu çalışmada, cTn I düzeyinin aktif ve akut enfekte hayvanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç oluşturmadığı belirlendi. (p>0,05). Domuzlar üzerinde yapılmış bir çalışmada, akut iskemik miyokardiyal hasar durumlarında cTnI, kreatin kinaz MB ve miyoglobin konsantrasyonlarını karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda akut gelişen hasar sonrası cTnI değerlerinin %100 spesifite ve sensivite ile miyokardiyal hasar noktasında belirteç olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Feng ve ark, 1998). Çalışmanın sonucunda kalpte meydana gelen miyokardiyal hasar tespitinde cTnI’nın miyoglobin ve kreatin kinaz MB’ye göre daha etkin olduğu tespit edilmiştir (Feng ve ark 1998).

Yapılan çalışmada kontrol grubu ve diğer oluşturulan tüm gruplar arasında MYG yönünden herhangi bir farklılık tespit edilmediği saptandı (p>0,05). Holmgren ve Valbergin 1992 yılında yapmış olduğu bir çalışmada myonecrosis olgularında MYG plazma klirensinin tespitinin efektif bir metot olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Holmgren and Valberg, 1992). Aynı zamanda yapılan başka bir çalışmada, gastrik dilatasyon volvuluslu ve kör göğüs travmalı hayvanlarda kademeli olarak gerçekleştirilen ölçümlerde ilk MYG düzeylerinin anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiş, 24. ve 48. saatlerde yapılan tekrarlı ölçümlerde plazma MYG seviyelerinin düştüğü bildirilmektedir (Iwan ve ark, 2006). Bu durumun en önemli sebebinin plazma miyoglobin konsantrasyonunun yarılanma ömrünün 9 dakika olarak belirtilmesi olduğu düşünülmektedir (Klocke ve ark, 1982). Ayrıca diğer yandan Mair ve ark (1992, 1994) yıllarında yapmış oldukları çalışmada plazma miyoglobin konsantrasyonunun iskelet kaslarından mı yoksa kalpten mi kaynaklandığının ayırımının yapılmasının mümkün olmadığı belirtilmektedirler (Mair ve ark, 1992; Mair ve ark, 1994). Oksijenizasyon durumlarında da miyoglobin oksijenin kaslara yetersiz ulaştığı durumlarda kasın çalışması için gerekli olan oksijeni sağladığı bildirilmektedir (Karagül ve ark, 2000). Ehrlichiosisli hayvanlarda anemiye bağlı olarak şekillenen yetersiz doku perfüzyonu sonucu kalp kasında hasarın oluşabileceği rapor edilmiştir (Langhorn ve Willesen, 2015). Belirtilen bu bilgiler ışığında gruplar arasında MYB düzeylerinin anlamlı bulunamaması ehrlichianın anemi profili yönünden klinik olarak patogenezindeki farklılıklar, miyoglobinin kalpten kaynaklanma durumunun tam netleştirilememesi ve yarılanma ömrünün kısa olması ile ilişkilendirilebilir.

Akut miyokardiyal infarktüs olgularında CK-MB uzun süredir biyokimyasal belirteç olarak kullanılmaktadır (Lang, 1981). Son yıllarda yapılan çalışmalar ile birlikte CK-MB’nin belirteç olarak kullanılmasında bazı şüpheler ortaya konulmuştur. Kardiak-spesifik troponinler ile kıyaslandığında spesifite yönünden daha düşük değerlere sahip olduğu kanıtlanmıştır (Silverman ve ark, 1974; Adams ve ark, 1993).

Kreatin kinaz organizmada fosfatın kısmi olarak kreatin fosfat ve ATP’ye dönüşümünde rol oynamaktadır (Hofmann ve Solter, 2008). Miyokardiumda ve iskelet kaslarında kreatin kinaz enerji deposu olarak görev alır. CK enerjiyi kreatin fosfat olarak muhafaza eder. Kas kasılmalarında enerji gerekli olduğunda CK yüksek enerjili kreatin fosfatı ADP’den ATP üretmek için kullanır. Veteriner hekimliğinde kreatin kinaz hakkında ki en geniş bilgi havuzu köpeklerde mevcuttur. Aynı zamanda elde edilen bu bilgiler insanlarda kalp hasarının tespitinde öncü çalışmalar olarak yer almaktadır (Aktaş ve ark, 1994). Kreatin kinaz aktivasyonun yoğun olduğu yerler sırası ile kalp kası, diyafram ve düz kaslar ve beyindir (Keller, 1981). İskelet kaslarında ise kalp kasının nerede ise 2 ila 4 katı oranında olduğu bildirilmektedir (Boyd, 1983). Beyin dokusunda kaslarda bulunan CK aktivetisenin yaklaşık % 10’u oranında bulunmaktadır ayrıca bazı köpek türlerindeki referans aralıkları da farklılık arzetmektedir (Guy ve Snow, 1981; Lindena ve ark, 1982).

Kreatin kinazın; M (kas) ve B (beyin) olmak üzere birbirinden farklı iki alt ünitesi bulunmaktadır. Bu alt ünitelerin birbirleri ile yaptıkları etkileşimler sonucu CK-MB, CK-MM ve CK-BB olmak üzere üç izoenzimi bulunmaktadır. Birçok türde iskelet kasında CK-MM %100 oranında tespit edilebilir. Kalp kasında CK-MM çoğunlukta olmak kaydı ile CK-MB köpeklerde %3, atlarda ise yaklaşık olarak %10 oranında bulunur (Aktaş ve ark, 1993; Boyd, 1983). Beyin dokusunda ise CK-BB çoğunlukta iken az miktarda CK-MB ve CK-MM içermektedir. Köpeklerde dalak ve bağırsak dokusunda yoğunluk miktarına göre CK-BB başta olmak üzere sırası ile CK-MB ve CK-MM bulunmaktadır. Köpeklerde kreatin kinaz izoenzimlerinin normal dağılımları belirtilecek olur ise CK-MM %50, CK-BB %40 ve CK-MB geri kalanını oluşturur (Aktaş ve ark, 1993). İnsan hekimliğinde kalpte meydana gelen hasarların tespitinde belirtilen indikatörler hali hazırda kullanılmakta veteriner hekimliğinde ise tam olarak etkinliği bilinmemektedir. Bu kulvarda yapılan bazı çalışmalarda sol ventriküler hipertrofisi bulunan köpeklerde CK-MM oranında %50 azalma olduğu, CK-MB’de ise %10 oranında bir artışın olduğu bildirilmiştir (Ye ve ark 2001). Yapılan başka bir çalışmada sepsisli taylarda serum CK-MB oranında bir artış gözlenmiş fakat yaşayan yada yaşa kabiliyetine erişemeyen hayvanlarda herhangi bir farklılığın olmadığı bu sebeple prognoz açısından bir indikatör olarak kullanılamayacağı bildirilmiştir (Slack ve ark, 2005).

Akut Miyokardiyal infarktüslü hastalarda durumun ortaya konulabilmesi için erken tanı araçlarının geliştirilmesine gerek duyulmaktadır. Birkaç yıl öncesinde kadar Akut Miyokardial Hasar olgularında Kreatin Kinazın saflaştırılması ile elde edilen ve hasar durumlarında dokulardan salınan CK-MM izomerleri akut miyokardiyal hasar durumlarında kullanılmaktaydı (Morelli ve ark, 1983; Puleo ve ark, 1987). Hasarın erken safhalarında CK-MM plazma oranlarında ciddi bir artış gözlemlenmekle beraber miyokardiyal infarksiyon durumlarında erken tanı aracı olarak nitelendirilmekteydi. Bu duruma rağmen kalp hasarlarında kullanılan bu belirtecin kalbin dışında diğer kas hasarlarında da artmış olarak tespit edilmesi bu belirtecin spesifitesini düşürmektedir (Annesley ve ark, 1985; Clarkson ve ark, 1987). Yapılan araştırmalar sonucu insanlarda akut miyokardiyal hasar durumlarında yine CK izomeri olan CK-MB’nin daha önce kullanılan yöntemlere nazaran daha spesifik olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Puleo ve ark, 1990). Aynı zamanda organlarda bulunma oranlarına göre miyocardiumda bulunan CK-MB oranı bağırsak, böbrek ve dalakta bulunduğu oranların neredeyse 10 katı miktarında daha az olduğu bildirilmektedir (Aktaş ve ark, 1993). Kreatin kinazın salınımını kontrol mekanizması daha tam olarak netlik kazanmamıştır. Kısa süreli anoxia olgularının karşılaşıldığı durumda iskemi sonucu CK izomeri sentezinde M-mRNA üretiminde azalmaya ve B-mRNA konsantrasyonunda artışa sebebiyet verdiği rapor edilmektedir. Bu durum total CK-MB oranında %35 ile %100 oranında artışa neden olduğunu göstermiştir (Mehta ve ark, 1988). Puleo ve ark yapmış olduğu çalışmada akut miyokardiyal enfeksiyonlu hastalarda miyokardiyal hasar geliştikten 2-4 saat içerisinde anlamlı düzeyde CK-MB düzeylerini yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Semptomlar kontrol altına alındıktan 12 saat sonrasında konvansiyonel CK-MB düzeylerinin normal seviyelere indiğini ve çalışmaya dahil edilen hayvanların sadece %27’sinde tespit edilebildiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada CK-MB izomerlerinin (CK-MB1, CK-MB2) %98 oranında güvenilirlik ifade ettiğini rapor etmişlerdir (Puleo ve ark, 1990). Yapılan başka bir çalışmada plazmada bulunan CK-MB konsantrasyonunun yarılanma ömrü 2 saat olarak nitelendirilmiştir (Burgener ve ark, 2006). CK izomeri olan CK-MB’nin organlarda bulunma oranı kalbe yönelik hasarın tespitinde engel teşkil etmekle beraber, geri dönüşümsel olması ve yarılanma ömrünün kısa olması sebebi ile elde edilen verilerde anlamlı farkın bulunmaması olası ihtimaller ile ilişkilendirildi (p<0,05).

Plazmada şekillenen fibrinolitik aktivitenin önemli bir belirteci olan D-dimer düzeyleri travma, cerrahi, enfeksiyon, yangı, gebelik, Yaygın Damar içi Pıhtılaşma Bozukluğu (YDPB), venöz tromboemboli, iskemik kardiyomyopati ve trombosis gibi birçok klinik durumda artabilir. Çapraz bağlı fibrinin, plazmin vasıtası ile enzimatik yıkımının ürünü olan D-dimer, trombüsün ana komponenti olan fibrin, koagülasyonun aktive oluşuyla şekillenir (Sadosty ve ark, 2001; Wakai ve ark, 2003). Fibrinin plazminojen kanalıyla çözünmesi, D-dimer’i de içerisine alan spesifik yıkımlanma ürünlerinin oluşumuyla sonuçlanmaktadır (Marder ve Francis, 1983). D-dimer çapraz bağlı bazı parçalar plazmin enziminin aktive olmasıyla pıhtıdan salınırlar ve kan akımına katılırlar. Normal yara iyileşme süreci ve kanın pıhtı oluşumunun bir parçası olarak D-Dimer üretilir. Patolojik olarak herhangi bir nedene bağlı pıhtılaşma meydana geldiğinde; D-dimer analizi istem dışı trombozisi gösteren değerli belirteç halini alır (Lee and Gingsberg, 1998). Bu sebepten ötürü özellikle derin ven trombozu ya da YDPB olan olguların tanısında önemli belirteçlerden birisidir (Monreal, 2003; Nelson ve Andreasen, 2003). YDPB, pıhtılaşma ve fibrin yıkımının aktivasyonu esnasında ve takiben tüketim koagülopatisine yol açan, enfeksiyon, sepsis, tümör, travma, ve ilişkili hastalıklar gibi altta yatan etmenlere bağlı gelişebilen kompleks bir sendromdur (Levi, 2005). Klinik olarak D-dimer, YDPB ve venöz tromboembolinin tanısında kullanılan önemli belirteçlerdendir (Angstwurm ve ark, 2004).

Yapılan bu çalışmada kontrol grubundaki hayvanların D-Dimer oranları literatür bilgileri ile uyumlu bulundu. Gerçekleştirilen analizler sonucunda non anemik hayvanların dışında tüm çalışma gruplarının D-Dimer sonuçlarının kontrol grubu ile anlamlı bir şekilde farklılık gösterdiği tespit edildi (p<0,05). İntravasküler hemoliz, septisemi, viremi, paraziter enfestasyonlar, neoplazi, büyük doku hasarları, toksinler, hepatik hasarlar, pankreatitis ve GDV gibi bozuklılarda YDPB’unun belirteci olarak D-Dimer yer almaktadır (Caldin ve ark 2000). Nedenler arasında YDPB’in koagulasyon ve fibrinolitik aktivasyon üzerindeki kompleks patofizyoloji sebebi ile ehrlichiosis ile enfekte hayvanların nasıl bir mekanizma ile YDPB’na yatkınlık oluşturduğunun bilinmesi konusu üzerine daha fazla çalışmanın yapılmasını gerekliliği tavsiye edilmektedir (Caldin ve ark, 2000) . Nitekim Caldin ve ark (2002) tarafından yapılan çalışmada YDPB gelişme profilinde D-Dimer’ın sensivitesi %100, spesifitesi ise %97 olarak bildirilmiştir. Paşa ve ark (2017) tarafından köpekler üzerinde yapılan vektör kaynaklı hastalıklardan ehrlichiosiste sağlıklı köpeklere göre D-Dimer düzeyinin arttığı rapor edilmiştir. Nitekim bu çalışmada D-Dimer üzeriner elde edilen bulgular araştırıcıların (Paşa ve ark, 2017) çalışmalarıyla paralellik göstermekteydi. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ehrlichia ile enfekte hayvanlarda YDPB ve venöz tromboembolinin gelişme potansiyelinin oluştuğu kanısına varıldı.

1. **SONUÇLAR VE ÖNERİLER**

Ehrlichiosis, tüm dünyada yaygın olarak bulunan, geniş çapta klinik semptomlar ile seyreden, birçok doku ve organı etkileyerek çoklu organ yetmezliklerine neden olabilen bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda bu etkilerinin yanı sıra patogenezisinin çeşitliliği sebebi ile kalpte hasar meydana getirebileceği bildirilmektedir. Bununla birlikte son zamanlarda önem kazanan YDPB yönünden etkisi tam olarak bilinmemektedir. Ehrlichiosisli anemik köpeklerde aneminin şiddeti ile miyokardiyal hasarın belirteçlerinden olan CTn I, Miyoglobin, CK-MB ile koagülasyon eğilimininin belirteçi olarak gösterilen D-dimer düzeyleri arasında bir ilişkinin bulunup bulunmaması, aynı zamanda önemli bulunabilen belirteçlerden hangisi veya hangilerinin hastalığın prognozu ve tedavisinin takibinde kullanılabileceği hedeflenen bu çalışmada;

* Oluşan anemi profili ve aneminin şiddetine paralel bir şekilde cTnI seviyelerinin arttığı ve oluşan hasarın tespitinde cTnI değerlerinin biyobelirteç olarak kullanılabileceği,
* Aneminin şiddeti ile orantılı bir şekilde YDPB belirteci olan D-Dimer konsantrasyonunun arttığı,
* Gelişen anemi sonucu kalpte meydana gelen iskemi nedeni ile miyokardiyal hasarın meydana geldiği,
* CK-MB ve Miyoglobinin organizmadaki dağılımlarının ve yarılanma ömürlerinin kısa olması sebebi ile uzun süreli olgularda kalp hasarının tespitinde biyobelirteç olarak kullanılmasının uygun olmadığı,
* İnsan hekimliği ve veteriner hekimlikte Ehrlichia enfeksiyonları ile karşılaşıldığında kalpte meydana gelen hasar ve oluşan YDBP dikkate alınabileceği ve ileride yapılacak olan çalışmalarda hastalığın prognozu ve tedavisinin takibinde bu belirteçlerden faydalanılabileceği,
* Elde edilen tüm verilerin ileride gerçekleştirilecek olan çalışmalarda referans olarak kullanılabileceği kanısına varıldı.

**KAYNAKLAR**

**Acedo-Sánchez C, Morillas-Márquez F, Sanchíz-Marín MC, Martín-Sánchez J.** Changes in antibody titers against Leishmania infantum in naturally infected dogs in Southern Spain. *Veterinary Parasitology* 1998, 75, 1–8.

**Adamik KN, Burgener IA, Kovacevic A, Schulze SP, Kohn B.** Myoglobin as a prognostic indicator for outcome in dogs with gastric dilatation-volvulus. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2009, 19(3), 247-253.

**Adams JE, Bodor GS, Dávılaromán VG. et al.** Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993, 88, 101-106.

**Adams JE, Abendschein DR, Jaffe AS.** Biochemical markers of myocardial injury. *Circulation* 1993, 88, 750-763.

**Adams JE, Davila-Roman VG, Bessey PQ, et al.** Improved detection of cardiac contusion with cardiac troponin I. *American Heart Journal* 1996, 131, 308-312.

**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. *Journal of Medical Entomology* 2007, 44(1), 126–132.

**Aird B.** Clinical and haematological Manifestations of anaemia In: Schalm’s Veterinary Hematology, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2000, 140-142.

**Aktas M, Auguste D, Concordet D, Vinclair P, Lefebvre H, Toutain PL, Braun JP.** Creatine kinase in dog plasma: preanalytical factors of variation, reference values and diagnostic significance. *Research in Veterinary Science* 1994, 56, 30–36.

**Alleman AR, McSherry LJ, Barbet AF**. Recombinant major antigenic protein 2 of *Ehrlichia canis*: a potential diagnostic tool. *Journal of Clinical Microbiology* 2001, 39, 2494-2499.

**Allsopp MT, Allsopp BA**. Novel Ehrlichia Genotype detected in dogs in South Africa *Journal of Clinical Microbiology* 2001, 39, 4204.

**Anderson BE, Greene CE, Jones DC, Dawson JE.** NOTES: Ehrlichia ewingii sp. nov., the Etiologic Agent of Canine Granulocytic Ehrlichiosis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 1992, 42, 299-302.

**Anker SD, von Haehling S**. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart* 2004, 90, 464-70.

**Ann E.** How good is D-Dimer. The North American Veterinary Conference. Jan 8-12, Orlando Florida, 2005.

**Annesley TM, Strongwater SL, Schnitzer TJ**. MM subisoenzymes of creatine kinase as an index of disease activity in polymyositis. *Clinical Chemistry* 1985, 31, 402-406.

**Apple FS, Quist H, Doyle PJ, et al**. Plasma 99th percentile reference limits for cardiac troponin and creatine kinase MB mass use with European Society of Cardiology/American College of Cardiology Consensus Recommendations. *Clinical Chemistry* 2003, 49(8), 1331–1336.

**Aroch I, Harrus S.** The use of recombinant human colony stimulating factor and recombinant human erythropoietin in the treatment of severe pancytopenia due to canine monocytic ehrlichiosis. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 2001, 56(2), 65–9.

**Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, Oates JA, Peck CC, Schooley RT, Spilker BA, Woodcock J, Zeger SL.** Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology Thereupatics* 2001, 69, 89-95.

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

**Baneth G, Harrus S, Gal A, Aroch I.** Canine vector borne co infections: Ehrlichia canis and hepatozoon canis in the same host monocytes. *Veterinary Parasitology* 2015, 208, 30-34.

**Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L.** Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in Parasitology* 2008, 24(7), 324-330.

**Baneth G, Waner T, Koplah A, Weinstain S, Keysary A**. Survey of Ehrlichia canis Antibodies among Dogs in Israel, *Veterinary Record* 1996, 138, 257–259.

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

**Bayık M.** Yaygın damar içi pıhtılaşma. *Türk Hematoloji Derneği 9. Mezuniyet Sonrası Eğitim Seminerleri* 2006, 18-23.

**Baumwart RD, Orvalho J, Meurs KM.** Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in Boxers with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *American Journal of Veterinary Research* 2007, 68, 524-528.

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

**Bick R.** Disseminated intravascular coagulation: objective clinical and laboratory diagnosis, treatment, and assessment of therapeutic response. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 1996, 22, 69–88.

**Boisvert AM, Swenson CL, Haines CJ.** Serum and plasma latex agglutinastion tests for detection of fbirin(ogen) degredation products in clinically ill dogs. *Veterinary Clinical Pathology* 2001, 30, 133-136.

**Boswood A.** Biomarkers in cardiovascular disease: Beyond natriuretic peptides. *Journal of Veterinary Cardiology* 2009, 11, 523-532.

**Botros BA, Elmolla MS, Salib AW, Calamaio CA, Dasch GA, Arthur RR**. Canine ehrlichiosis in Egypt: seroepidemiological survey, *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 1995, 62, 41–43.

**Boyd JW.** The mechanisms relating to increases in plasma enzymes and isoenzymes in diseases of animals. *Veterinary Clinical Pathology* 1983, 12, 9–24.

**Boyce RM, Sanfilippo AM, Boulos JM, Cleinmark M, Schimitz J, Meshnick S.** Ehrlichia Infectıous, North Carolina, USA, 2016. *Emergency Infectıous Dısease.* 2018, 24(11), 2087-2090.

**Brandao LP et al**: Platelet aggregation studies in acute experimental canine ehrlichiosis, *Veterinary Clinical Pathology* 2006, 35, 78.

**Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, et al**. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST segment elevation myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology* 2000, 36, 970–1062.

**Braunwald E,** Biomarkers in Hearth Failure. *The New England Journal of Medicine.* 2008, 358, 2148-59.

**Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Hancock SI**. Sequential Evaluation of dogs naturally infected with 2360 Ehrlichia canis, Ehrlichia chaffeensis, Ehrlichia equi, Ehrlichia ewingii, or Bartonella Vinsonii. *Journal of Clinical Microbiology* 1998, 36, 2645–2651.

**Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Qurollo BA et al,** Intravascular persistence of Anaplasma platys, Ehrlichia chaffeensis and ehrlichia ewingii DNA in the blood of a dog and two family members *Parasites and Vectors* 2014, 7, 298.

**Breitschwerdt EB.** Canine and Feline Anaplasmosis. CVBD Symposium 25-28 April 2007, 7-15.

**Breitsherdt EB.** Rickettsial Disease in Dogs. http://nbb. Embory.edu/Saint/Ricketsiall disease.html.1999.

**Bremer WG, Schaefer JJ, Wagner ER et al**. Transstadial and intrastadial experimental transmission of Ehrlichia canis by male Rhipicephalus sanguineus. *Veterinary Parasitology* 2005, 131, 95–105.

**Brouqui P, Davotust B, Haddad S, Vidor E, Raoult D.** Serological evaluation of Ehrlichia canis infeclion in military dogs in Africa and Reunion Island. *Veterinary Microbiology* 1991, 26, 103¬105.

**Buhles WC, Ruxsoll DL, Rıstıc M.** Tropical Canine Pancitopenia: clinical, haemotologic and serologic response of dogs to E.Canis infection, tetracycline therapy and challange inoculaiton. *Journal of infecitous disease* 1974, 130, 358-367.

**Burgener IA, Kovacevic A, Mauldin GN, Lombard CW**. Cardiac troponins as ındıcators of acute myocardial damage in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2006, 20, 277-283.

**Caldin M, Furlanello T, Lubas G.** Validation of an immunoturbidimetric D-Dimer assay in canine citrated plasma. *Veterinary Clinical Pathology* 2000, 29, 51-54.

**Campell KL.** Diagnosis and management of polisitemia in dogs. *The Compendium Continuing Education Article* 1990, 12(4), 543-549.

**Carr AP, Panciera DL, Kidd L.** Prognostic factors for mortality and thromboembolism in canine immunemediated hemolytic anemia: a retrospective study of 72 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2002, 16, 504–509.

**Casals G, Filella X, Bedinin JL**. Evaluation of a new ultrasensitive assay for cardiac troponin I. *Clinical Biochemistry* 2007, 40, 406-1413.

**Castagnaro M, Crotti A, Fondati A, Gradoni L, Lubas G, Maroli M, Oliva G, Paltrinieri S, Solano-Gallego L, Roura X.** Leishmaniosi canina: Linee guida su diagnosi, stadiazione, terapia, monitoraggio e prevenzione. ParteI: Approccio diagnostico e classificazione del paziente leishmaniotico e gestione del paziente proteinurico. *Veterinaria* 2007, 21, 19–32.

**Castro MB, Machado RZ, Aquino LPCT, Alessi AC, Costa MT**. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. *Veterinary Parasitology* 2004, 119(1), 73-86.

**Champion T, Francoy C, Neto GBP, Camacho AA.** Electrocardiographic evaluation and serum cardiac troponin I levels in anemic dogs with blood parasitosis. *The Journal of Agricultural Science* 2013, (34), 2915–2924.

**Cicuttin GL, Tarragona EL, De Salvo MN et al**. Infection with Ehrlichia canis and Anaplasma platys (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in two lineages of Rhipicephalus sanguineus sensu lato (Acari: Ixodidae) from Argentina. *Ticks and Tick-borne Diseases* 2015, 6, 724–729.

**Clarkson PM, Apple FS, Byrnes WC, McCormick KM, Triffletti P.** Creatine kinase isoforms following isometric exercise. *Muscle Nerve* 1987, 10, 41-44.

**Clerico A, Giannoni A, Prontera C, Giovanni S**. High-sensitivity troponin: a new tool for pathophysiological investigation and clinical practice. *Advances in Clinical Chemistry* 2009, 49, 1-30.

**Cocco R, Sanna G, Cıllara MG, Tola S, Xımenes L, Pınnaparpaglıa ML, Masala G**. Ehrlichiosis and Rickettsiosis in a Canine Population of Northern Sardinia *Annals of the New York Academy of Sciences* 2003, 990, 126–130.

**Codner EC, Caceci T, Saunders GK, Et al**. Investigation Of glomerular lesions in dogs with acute experimentally induced Ehrlichia Canis infection. *American Journal of Veterinary Research* 1992, 53, 2286–2291.

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

**Codner EC, Maslin WR.** Investigation Of renal protein loss in dogs with acute experimentally induced Ehrlichia Canis infection. *American Journal of Veterinary Research* 1992, 53, 294–299.

**Codner EC, Roberts RE, Ainsworth AG**. Atypical findings in 16 cases of canine ehrlichiosis, *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1985, 186, 166–169.

**Cohn LA.** Ehrlichiosis and related infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 2003, 33(4), 863–84.

**Collinson PO, Stubbs PJ, Kessler AC.** Multicentre evaluation of the diagnostic value of cardiac troponin T CK-MBmass, and myoglobin for assessing patients with suspected acute coronary syndromes inroutine clinical practice. *Heart* 2003, 89, 280–286.

**Conti A, Mariannini Y, Viviani G, Poggioni C, Cerini G, Luzzi M, Zanobetti M, Innocenti F, Padeletti L, Gensini GF.** Abnormal troponin level as short-term predictor of poor outcome in acute atrial fibrillation. *American Journal of Emergency Medicine* 2013, 31, 699-704.

**Conti A, Mariannini Y, Viviani G, Poggioni C, Cerini G, Luzzi M, Zanobetti M, Innocenti F, Padeletti L, Gensini GF.** Abnormal troponin level as short-term predictor of poor outcome in acute atrial fibrillation. *American Journal of Emergency Medicine* 2013, 31, 699-704.

**Correale M, Nunno L, Ieva R, Rinaldi M, Maffei G, Magaldi R, Di Biase M**. Troponin in newborns and pediatric patients. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry* 2009, 7, 270-278.

**Correale M, Nunno L, Ieva R, Rinaldi M, Maffei G, Magaldi R, Di Biase M.** Troponin in newborns and pediatric patients. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry* 2009, 7, 270-278.

**Costa LM, Rembeck K, Ribeiro MFB, Beelitz P, Pfister K, Passos LMF.** Sero-prevalence and risk indicators for canine Ehrlichiosis in three rural areas of Brazil. *The Veterinary Journal* 2007, 174, 673–676.

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

**Dantas-Torres F, Latrofa MS, Annoscia G et al.** Morphological and genetic diversity of Rhipicephalus sanguineus sensu lato from the New and Old Worlds. *Parasites and Vectors* 2013, 6, 213.

**Davoust B, Bourry O, Gomez J, Lafay L, Casali F, Leroy** **E.** Daniel Parzy Surveys on Seroprevalence of Canine Monocytic Ehrlichiosis among Dogs Living in the Ivory Coast and Gabon and Evaluation of a Quick Commercial Test Kit Dot-ELISA. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006, 1078, 464–469.

**Di Nisio M, Baudo F, Cosmi B, D’Angelo A, De Gasperi A, Malato A, Schiavoni M, Squizzato A.** Italian Society for Thrombosis and Haemostasis: Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation: guidelines of the Italian society for haemostasis and thrombosis (SISET). *Thrombosis Research* 2012, 129, 177–184.

**Diniz PPVP, Schwartz DS, Collicchio-Zuanaze RC. Cardiac** Trauma confirmed by cardiac markers in dogs: two case reports. *Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science* 2007, 59(1), 85-89.

**Diniz SA, Silva FL, Carvalho Neta AV, Bueno R, Guerra RMSNC, Abreu-Silva AL, Santos RL.** Animal reservoirs for visceral leishmaniasis in densely populated urban areas. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2008, 2, 24–33.

**Donatien A, Lestoquard A.** Existence en Algerie d’une rikettsia du chien. *Bulletin de la Société de Pathologie* *Exotique* 1935, 28, 418-419.

**Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, Rikihisa Y, Rurangirwa RF.** Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2001, 51, 2145-2165.

**Dumler JS, Walker DH**. Tick-borne ehrlichioses. *The Lancet Infectious Diseases* 2001, 21-28.

**Dumler JS.** Anaplasma ve Ehrlichia Infection. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2005, 1063, 361-373.

**Eng TR, Giles R.** Ehrlichiosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1989,194, (4), 497-500.

**Engvall EO, Petterssonn B, Persson M, Artursson K, Johansson KEA**. 16S rRNA-based PCR assay for detection and identification of granulocytic Ehrlichia species in dogs, horses, and cattle. *Journal of Clinical Microbiology* 1996, 34(9), 2170–2174.

**Erdeğer J, Sancak A, Ataseven L.** Köpeklerde *Ehrlichia canis*’in İndirekt Fluoresan Antikor (IFA) Testi ve Dot-ELISA ile Saptanması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2003, 27, 767-773.

**Evans RJ, Gruffydd-Jones TJ, Jones DRE.** Anemia in dogs. *The Veterinary Annual* 1987,27, 243-256.

**Evermann FJ, Sellon KR, Sykes E.** Viral, Rickettsial and Chlamydila Diseases. In: Greene CE (eds), Infectıous Diseases of the dog and cat. Elsevier Saunders, Missouri USA, 2012, 227.

**Ewing SA, Roberson WR, Buckner RG, Hayat CS**. A new strain of Ehrlichia canis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1971, 159(12), 1771-4.

**Feldman BF, Madewell BR, O’Neill S.** Disseminated intravascular coagulation: antithrombin, plasminogen, and coagulation abnormalities in 41 dogs *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1981, 179, 151–154.

**Feng YJ, Chen C, Fallon JT, Lai T, Chen L, Knibbs DR, Waters DD, Alan HB.** Comparison of Cardiac Troponin I, Creatine Kinase-MB, and Myoglobin for Detection of Acute Ischemic Myocardial Injury in a Swine Model. *Clinical Chemistry* 1998, 110, 70-77.

**Fourie JJ, Stanneck D, Luus HG et al**. Transmission of Ehrlichia canis by Rhipicephalus sanguineus ticks feeding on dogs and on artifi cial membranes. *Veterinary Parasitology* 2013, 197, 595–603.

**Franchini M, Lippi G, Manzato F.** Recent acquisitions in the pathophysiology, diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation. *Thrombosis Journal* 2006, 4, 1-9.

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

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

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

**Gilmour M, Lappin MR, Thrall MA.** İnvesitgating primary acquired pure red cell aplasia in dogs. *Veterinary Medicine* December. 1991,1194-1204.

**Gordon W S, Brownlee A, Wilson DR, MacLeod J.** Tick-borne fever (a hitherto undescribed disease of sheep). *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* 1932, 45, 301-312.

**Green RA and Thomas JS.** Hemostatic Disorders: coagulapaties and thrombosis. In: Ettinger SJ, Feldman EC (eds) Text Book of Veterinary İnternal Medicine, 4’th ed. Saunders, Philedelphia. 1995, 1946-1963.

**Griffin A, Callan MB, Shofer FS, Giger U.** Evaluation of a canine D-Dimer point of care test kit for use in samples obtained from dogs with disseminated intravascular coagulation, thromboembolic disease and heamorrhagie. *American Journal of Veterinary Research* 2003, 64, 1562-1569.

**Guan X, Mack DL, Moreno CM, Strande JL, et al.** Dystrophin-deficient cardiomyctes derived from human urine: New biologic reagents for dug discovery. *Stemm Cell Research* 2014, 12, 467-480.

**Gupta S, Pressman GS, Figueredo VM.** Incidence of, predictors for, and mortality associated with malignant ventricular arrhythmias in non-ST elevation myocardial infarction patients. *Coronary Artery Disease* 2010, 21, 460-465.

**Guy P S, Snow DH.** Skeletal muscle fi bre composition in the dog and its relationship to athletic ability. *Research in Veterinary Science* 1981, 31, 244–248.

**Gül Y.** Kan transfüzyonu. *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* VII, 1983,1(2), 19-26.

**Hamel D, Silaghi C, Knaus M, Visser M, Kusi I, Rapti D, et al.** Detection of Babesia canis subspecies and other arthropod-borne diseases in dogs from Tirana, Albania. *Wiener klinische Wochenschrift* 2009, 121, 3,42–5.

**Harrus S, Bark H, Waner T**. Canine Monocytic Ehrlichiosis: An Update, *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* 1997, 19, 431–441.

**Harrus S, Waner T, Bjöersdorff.** Ehrlichiosis and Anaplasmosis. In: Day MJ (edt), Arthropod-Borne Infectıous Diseases of the Dog and Cat. 2 nd ed. CRC Press, New York. 2016.

**Harrus S, Waner T.** Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (Ehrlichia canis): An overview. *The Veterinary Journal* 2011, 187(3), 292-296.

**Hatada T, Wada H, Nobori T, Okabayashi K, Maruyama K, Abe Y, Uemoto S, Yamada S, Maruyama I.** Plasma concentrations and importance of high mobility group box protein in the prognosis of organ failure in patients with disseminated intravascular coagulation. *Thrombosis and Haemostasis* 2005, 94, 975–979.

**Hegarty BC, Maggi RG, Koskinen P, Et al.** Ehrlichia Muris infection in a dog from Minnesota. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2012, 26, 1217–1220.

**Hezzell MJ, Boswood A, Chang YM, Moonarmart W, Souttar K, Elliott J.** The combined prognostic potential of serum high-sensitivity cardiac troponin I and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in dogs with degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2012, 26, 302-311.

**Hibler SC, Hoskins JD, Grene CE.**  Rickettsial Infections in Dogs. Part II. Ehrlichiosis & Infectious Cyclic Thrombocytopenia. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian.* 1986, 8, 106–113.

**Ho LWW, Kam PCA, Thong et al.** Disseminated intravascular coagulation. *Current Anaesthesia & Critical Care* 2005, 16, 151-161.

**Hoffman WE, Solter PF.** Diagnostik Enzymology of Domestıc Animals. (in) Clinical Biochemistry of Domestic Animals 6th (ed), Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (Edt), Elsevier USA, 2008, 368-370.

**Horwich TB, Fonarow GC, Hamilton MA, MacLellan WR, Borenstein J.** Anemia is associated with worse symptoms, greater impairment in functional capacity and a significant increase in mortality in patients with advanced heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* 2002, 39, 1780-1786.

**Horwich TB, Patel J, MacLellan WR, Fonarow GC.** Cardiac Troponin I is associated with impaired hemodynamics, progressive left ventricular dysfunction and increased mortality rates in advanced heart failure. *Circulation* 2003, 108, 833-8.

**Huxsoll DL, Hildebrandt PK, Nims RM, Walker JS.** Tropical canine pancytopenia, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1970, 157, 1627-1632.

**Iqbal Z, Rikihisa Y.** Aplication of the polymerase chain rection for the detection of Ehrlichia canis in tissues of dogs, *Veterinary Microbiology* 1994, 42(4), 281–287.

**Jain NC.** Coagulation and its disorders. pp. 82–104. In: Essentials of Veterinary Hematology, Lea & Febiger, Philadelphia. 1993.

**Karagenç T, Hoşgör M, Bilgiç HB, Paşa S, Kırlı G, Eren H.** Ege Bölgesinde Köpeklerde E. canis, A. phagocytophila ve A. platys’ in Prevalansının Nested-PCR ile Tespiti. *Ulusal Parazitoloji Kongresi* 2005.

**Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T.** Klinik Biyokimya. Medisan, ANKARA, 2000.

**Kawasugi K, Wada H, Hatada T, Okamoto K, Uchiyama T, Kushimoto S, Seki Y, Okamura T, Nobori T, Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/DIC subcommittee.** Prospective evaluation of hemostatic abnormalities in overt DIC due to various underlying diseases. *Thrombosis Research* 2011, 128, 186–190.

**Keller P.** Enzyme activities in the dog: tissue analysis, plasma values, and intracellular distribution. *American Journal of Veterinary Research* 1981, 42, 575–582.

**Klocke FJ, Copley DP, Krawczyk JA, Reichlin M.** Rapid renal clearance of ımmunoreactive canine plasma myoglobin. *Circulation* 1982, 65, 1522-1528.

**Komajda M.** Prevalance of anemia in Patients with chronic hearth failure and their clinical characteristics. *Journal of Cardiac Failure* 2004, 10, 1.

**Kuehn NF, Gaunt SD**. Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1985, 186(4), 355–358.

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

**Lang H.** In: Creatine kinase isoenzymes, Springer, Berlin, 1981.

**Langhorn R, Willesen JL.** Cardiac Troponins in Dogs and Cats. *Journal of Veterinary İnternal Medicine*. 2015. DOI: 10.1111/jvim.13801.

**Lappin MR.** Infectıous Diseases. In: Nelson RW, Couto CG. (eds) Small Animal Internal Medicine 5th Edition, Elsevier, Elsevier, Missouri USA 2014.

**Lee AYY, Gingberg JS.** The Role of D-Dimer in the diagnosis of venous thromboembolism. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 1997, 3(4).

**Leıb MS, Monrroe WE.** Ehrlichiosis, Practical Small Animal Internal Medicine. W.B. Saunders, 1997, 864–869, Philadelphia.

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

**Levi M.** Pathogenesis and treatment of DIC. *Thrombosis Research* 2005, 115(1), 54 –5.

**Levi M, Toh CH, Thachil J, Watson HG.** Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. British Committee for Standards in Haematology. *British Journal of Haematology* 2009, 145, 24–33.

**Li HT, Sun LS, Chen ZM et al**. Detection of Anaplasma Platys in dogs using real time loop-mediated isothermal amplification. *Veterinary Journal* 2014, 199, 468-470.

**Liddell AM, Stockham LS, Scott MA, Sumner JW, Paddock CD, Gaudreault-Keener M, Arens MQ, Storch GA.** Predominance of *Ehrlichia ewingii* in Missouri Dogs. *Journal of Clinical Microbiology* 2003, 41(10), 4617–4622.

**Lindena J, Kupper W, Trautschold I.** Effect of transient hypoxia in skeletal muscle on enzyme activities in lymph and plasma. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry* 1982, 20, 95–102.

**Little SE, Hostetler J, Kocan KM**. Movement of Rhipicephalus sanguineus adults between co-housed dogs during active feeding. *Veterinary Parasitology* 2007,150, 139–145.

**Little SE.** Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2010, 40, 1121–1140.

**Little SE.** Ehrlichiosis. In: Marcondes CB (eds). Arthropod Borne Diseases. Springer, Switzerland. 2017.

**Machida T, Kokubu H, Matsuda K, Mıyoshı K, Uchida E.** Clinical use of D-Dimer Measurement fort he diagnosis of disseminated ıntravascular coagulation in dogs. *Journal of Veterinary Medicine Science* 2010, 72(10), 1301-1306.

**Maeda K, Markowitz N, Hawley RC, Ristic M, Cox D, McDade JE**. Human Infection with Ehrlichia canis, a Leukocytic Rickettsia. *The New England Journal of Medicine* 1987, 316, 853-856.

**Maggi RG, Birkenheuer AJ, Hegarty BC et al**. Comparison of serological and moleculer panels for diagnosis of vector-borne diseases in dogs. *Parasites and Vectors* 2014, 7, 127.

**Mair J, Artner-Dworzak E, Lechleitner P, et al.** Early diagnosis of acute myocardial infarction by newly developed rapid immunoturbidimetric assay for myoglobin. *Heart* 1992, 68, 311-317.

**Mair J, Morandell D, Genser N, et al.** Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatine kinase MB mass, creatine kinase isoform ratios, and cardiac troponins I and T for acute myocardial infarction. *Clinical Chemistry* 1995, 41, 1266-1272.

**Mair J, Puschendorf B, Michel G.** Clinical significance of cardial contractile proteins for the diagnosis of myocardial injury. *Advances in Clinical Chemistry* 1994,31, 63-98.

**Marder VJ, Francis CW.** Plasmin Degradation of Cross Linked Fıbrın. Hematology Unit Department of Medicine University of Rochester of Medicine and Dentistry Rochester, New York 1983, 14642, 397-406.

**Matthewman LA, Kelly PJ, Bobade PA, Tagwira M, Mason PR, Majok A, Brouqui P, Rouit D.** Infections with Babesia canis and Ehrlichia canis in dogs Zimbabwe. *Veterinary Record* 1993, 133, 344-346.

**Mavromatis K, Doyle CK, Lykidis A, Et al.** The Genome of the obligately intracellular bacterium Ehrlichia Canis reveals themes of complex membrane structure and immune evasion strategies *Journal of Bacteriology* 2006, 188, 4015–4023.

**Mehta HB, Popovich BK, Dşllmann WH.** Ischemia ınduces changes in the level of mRNAs coding for stress protein 71 and creatin kinase M. *Circulation Research* 1988, 63, 512-517.

**Meinkoth JH, Hoover JP, Cowell RL, Tyler RD, Link J.** Ehrlichiosis in a dog with seizures and non regenerative anemia *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1989, 195(12), 1754–1755.

**Melter O, Stehlık I, Kınska H, Volfova I, Tıcha V, Hulınska D.** Infection with Anaplasma phagocytophilum in a young dog: a case report. *Veterinaria Medicina* 2007, 52(5), 207–212.

**Menn B, Lorentz S, Naucke TJ.** Imported and travelling dogs as carriers of canine vector-borne pathogens in Germany. *Parasite and Vectors* 2010, 3, 34.

**Monreal L** Editorial: D-Dimer as a new test for the diagnosis of DIC and thromboembolic disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2003, 17, 757-759.

**Morelli RL, Carlson CJ, Emilson B, Abendschein DR, Rapaport E**. Serum creatine kinase isoenzyme sub-bands after acute myocardial infarction in man. *Circulation* 1983, 67, 1283-1289.

**Morrow DA, de Lemos JA.** Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. *Circulation* 2007, 115, 949-52.

**Morris JS, Dunn JK.** Hameatology*. In Practıce* 1992, 67-72.

**Mylonakis ME, Koutinas AF, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Billinis CD, Leontides LS, et al.** Chronic canine ehrlichiosis (Ehrlichia canis): a retrospective study of 19 natural cases. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2004, 40(3), 174–84.

**Mylonakis ME, Harrus S, Breitschwerdt EB.** An update on the treatment of canine monocytic ehrlichiosis (Ehrlichia canis). *The Veterinary Journal* 2019, 246, 45-53.

**Nagarajan V, Hernandez AV, Tang WHW**. Prognostic value of cardiac troponin in chronic stable heart failure: a systematic review. *Heart* 2012, 98, 1778-1786.

**Nair AD, Cheng C, Jaworski DC, Et al.** Ehrlichia Chaffeensis infection in the reservoir host (white-tailed deer) and in an incidental host (dog) İs impacted by its prior growth in macrophage and tick cell environments. *PLoS One* 2014, 9, 109056.

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

**Neer TM**. Ehrlichiosis update. Proceedings of the 13th Annual Congress of the American College of Veterinary Internal Medicine. San Diego, California, Proceedings, 1995, 822–826. USA.

**Nelson OL, Andreasen C.** The Utility of Plasma D-dimer to Identify Thromboembolic Disease in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2003, 17(6), 757-759.

**Nelson OL.** Use of D-Dimer assay for Diagnosin Thromboembolic Disease in the Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2005, 41, 145-149.

**Nicholson WL, Allen KE, McQuiston JH et al**. The increasing recognition of rickettsial pathogens in dogs and people. *Trends Parasitology* 2010, 26, 205–212.

**Nyindo M, Huxsoll DL, Ristic M, Kakoma I, Brown JL, Carson CA, et al**. Cell-mediated and humoral immune responses of German Shepherd Dogs and Beagles to experimental infection with Ehrlichia canis. *American Journal of Veterinary Research* 1980, 41(2), 250–4.

**O’Brien PJ, Smith DEC, Knechtel TJ, Marchak MA, Pruimboom- Brees I, Brees DJ, Spratt DP, Archer FJ, Butler P, Potter AN, Provost JP, Richard J, Snyder PA, Reagan WJ.** Cardiac troponin is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Laboratory Animals* 2006, 40, 153-171.

**Oliva G, Roura X, Crotti A, Zini E, Maroli M, Castagnaro M, Gradoni L, Lubas G, Paltrinieri S, Zatelli A.** Leishmaniosi canina: Linee guida su diagnosi, stadiazione, terapia, monitoraggio e prevenzione. Parte II: Approccio terapeutico. *Veterinaria* 2008, 22, 9–20.

**Omland T, Pfeffer MA, Solomon SD, de Lomos JA, Rosjo H, Saltyte BJ, Maggioni A, Domanski MJ, Rouleau JL, Sabatine MS, Braunwald E**, PEACE Investigators. Prognostic value of cardiac troponin I measured with a highly sensitive assay in patients with stable coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology* 2013, 61, 1240-1249.

**Otranto D, Paradies P, de Caprariis D, Stanneck D, Testini G, Grimm F, Deplazes P, Capelli G.** Toward diagnosing Leishmania infantum infection in asymptomatic dogs in endemic area**.** *Clinical and Vaccine Immunology* 2009, 16, 337–343.

**Oyama MA, Sisson DD.** Cardiac troponin I concentration in dogs with cardiac disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2004, 18, 831-839.

**Paltrinieri S, Solano-Gallego L, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Castagnaro M, Crotti A, Maroli M, Oliva G, Roura X.** Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 20101, 236, 1184–1191.

**Panciera RJ, Mathew JS, Cummings CA, Duffy JC, Ewing SA, Kocan AA.** Comparison of tissue stages of Hepatozoon americanum in the dog using immunohistochemical and routine histologic methods. *Veterinary Pathology* 2001, 38, 422-426.

**Pantchev N, Schaper R, Limousin S, Norden N, Weise M, Lorentzen L.** Occurrence of Dirofilaria immitis and tick-borne infections caused by Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi sensu lato and Ehrlichia canis in domestic dogs in France: results of a countrywide serologic survey. *Parasitology Research* 2009, 105, 101–14.

**Paracıkoğlu J.** Rickettsia İnfeksiyonları. In: Aydın N, Paracıkoğlu J (edt), Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). İlke Emek Yayınları, Ankara, 2006.

**Paşa S, Ural K, Gültekin M.** Interpretation of Coagulation Tendency Contributing to Thrombosis in Vector-Borne Diseases(Ehrlichiosis, Anaplasmosis, Leishmaniosis, and Dirofilariasis) among Dogs. *Acta Scientiae Veterinariae* 2017, 45, 1451.

**Perez Vera C, Kapiainen S, Junnikkala S, Aaltonen K, Spillmann T, Vapalahti O.** Survey of selected tick-borne diseases in dogs in Finland. *Parasite and Vectors* 2014, 7, 285.

**Płoneczka K, Śmielewska-Łoś E**. Występowanie przeciwciał swoistych dla Ehrlichia canis u psów z terenu południowo-zachodniej Polski. *Medicinaria Weterinaria* 2003, 59(11), 1005–1008.

**Portman MA, Standaert TA, Nıng X.** Relation of myocardial oxygen consumption and function to high energy phosphate utilization during graded hypoxia and reoxygenation in sheep in vivo*. Journal of Clinical Investigation* 1995, 95(5), 2134.

**Pretorius AM, Kelly PJ.** Serological survey for antibodies reactive with Ehrlichia canis and E. chaffeensis in dogs from the Bloemfontein area, South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association* 1998, 69(4), 126-128.

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

**Prisco D, Paniccia R, Bonechi F, Francalanci I, Abbate R, Gensini GF.** Evaluation of new methods for the selective measurement of fibrin and fibrinogen degradation products. *Thrombosis Research* 1989, 56, 547–551.

**Puleo PR, Guadagno PA, Roberts R, Scheel MV, Marian AJ, Churchill D, Perryman MB.** Early diagnosis of acute myocardial ınfarction based on assay for subforms of ceratine kinase-MB. *Circulation* 1990, 82(3), 759-764.

**Puleo PR, Perryman MB, Bresser MA, Rokey R, Pratt CM, Roberts R.** Creatine kinase isoform analysis in the detection and assessment of thrombolysis in man. *Circulation* 1987, 75, 1162-1169.

**Pusterla N, Pusterla JB, Deplazes P, Wolfensberger C,1 Ller WM, Rauf AH, Reusch C and Lutz H**. Seroprevalence of Ehrlichia canis and of Canine Granulocytic Ehrlichia Infection in Dogs in Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology* 1998, 36(12), 3460–3462.

**Rand MS.** Infectious Disease of Cats and Dogs. University of Arizona. 1996 Http:/Microvet. arizona.ed....s/MIC443/notes/rand/cat\_dog.htm. p: 20-21.

**Rar V, Golovljova I.** Anaplasma, Ehrlichia, and “Candidatus Neoehrlichia” bacteria: Pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infection, Genetics and Evolution* 2011, 11(8), 1842-1861.

**Reece WO.** Blood and Fluids. In: Reece WO (eds), Dukes Physiology of Domestic Animals. 12’th ed. Cornall University Press. USA. 2010.

**Rıstıc M. & Holland CJ.** Canine ehrlichiosis. In Z. Woldehiwet & M. Ristic, (Edt) Rickettsial and Chlamy-dial Diseases of Domestic Animals. 1993, 169–186.Pergamon Press. Oxford, UK.

**Rikihisa Y, Ewing SA, Fox JC, Siregar Pasaribu, FH, Malûle BM.** Analyses of Ehrlichia canis and Canine Granulotic Ehrlichia infection. *Journal of Clinical Microbiology* 1992, 30, 143-149.

**Rikihisa Y**. The tribe Ehrlichiae and ehrlichial diseases. *Clinical Microbiology Rewievs* 1991, 286-308.

**Rishniw M, Barr SC, Simpson KW, Winand NJ, Wootton JA**. Cloning and sequencing of the canine and feline cardiac troponin I genes. *American Journal of Veterinary Research* 2004, 65, 53-58.

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

**Rodriguez-Vivas RI, Albornoz REF, Bolio GME**. Ehrlichia canis in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors, *Veterinary Parasitology* 2005, 127, 75–79.

**Roura X, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Maroli M, Oliva G, Paltrinieri S, Zatelli A, Zini E.** Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: A working group report *The Veterinary Journal* 2013, 198, 43-47.

**Sadosty AT, Goyal DG, Boie ET, Chiu CK.** Emergency department D-dimer testing. *The Journal of Emergency Medicine* 2011, 21, 423-429.

**Sainz A, Roura X, Miro G, Estrada-Pena A, Kohn B, Harrus S, Solano-Gallego L.** Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasites and Vectors* 2015, 8(75).

**Schober BK, Kırbach B, Cornand C. Et Al.** Circulating cardiac troponins in small animal. In: ANNUAL VETERINARY MEDICAL FORUM, 19, 2001, Denver. Proceedings... Denver: *American College of Veterinary Internal Medicine* 2001, 91-92.

**Seta Y, Shan K, Bozkurt B, Oral H, Mann DL.** Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis. *Journal of Cardic Failure* 1996,2, 243-9.

**Schober KE.** Noninvasive assessment of myocardial cell injury in dogs with suspected cardiac contusion. *Journal of Veterinary Cardiology* 1999, 1(2), 17-25.

**Schober KE, Cornand C, Kirbach B, et al.** Serum cardiac troponin I and cardiac troponin T concentrations in dogs with gastric dilatation-volvulus. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2002, 221, 381–388.

**Sharkey C, Berzına I, Ferasın l, Tobıas AH, Lulıch JP. Hegstad-Davıes R.** Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in dogs with renal failure. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2009, 234, 767-770.

**Shaw, SE, Langton DA, Hillman TJ.** Canine leishmaniosis in the United Kingdom: A zoonotic disease waiting for a vector? *Veterinary Parasitology* 2009, 163, 281–285.

**Silverman LM, Mendell JR, Greumer HD.** Creatine kinase isoenzymes in muscular dystrophies. *Clinical Chemistry* 1974, 20, 865–9.

**Skotarczak B.** Canine ehrlichiosis. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 2003, 10, 137–141.

**Skyes JE.** Ehrlichiosis, Anaplasmosis, Rocky Mountain Spotted Fever, And Neorickettsiosis. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Cote E (eds). Textbook Of Veterinary Internal Medicine dıseases of the dog and the cat. 8th edition, Elsevier, Missouri USA 2017.

**Slack JO, McGuirk SM, Erb HN, Lien L, Coombs D, Semrad SD, Riseberg A, Marques F, Darien B, Fallon L, Burns P, Murakami MA, Apple FS, Peek SF**. Biochemical Markers of Cardiac Injury in Normal, Surviving Septic, or Nonsurviving Septic Neonatal Foals. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2005,19, 577–580.

**Sleeper MM, Clıfford CA, Laster LL.** Cardiac troponin I in the normal dog and cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2001, 15, 501-503.

**Smith B.** Large Animal Internal Medıcıne. The CV. Mosby Company St. Louis. 1990.

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

**Smith RD, Sells DM, Stephenson EH et al**. Development of Ehrlichia canis, causative agent of canine ehrlichiosis, in the tick Rhipicephalus sanguineus and its differentiation from a symbiotic Rickettsia . *American Journal of Veterinary Research* 1976, 37, 119–126.

**Sodikof CH**. Laboratory profiles of small animal disease. A Guide to Laboratory Diagnosis. Second Edition, Mosby, London, 1995.

**Solano-Gallego L, Miro G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G**. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors* 2011, 4, 86.

**Solano-Gallego L, Trotta M, Razıa L, Furlanello T,** **Caldın M**. Molecular Survey of Ehrlichia canis and Anaplasma phagocytophilum from Blood of Dogs in Italy. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006, 1078, 515–518.

**Squires R.** Management of anemia in dogs*. In Practice* 1993, 92-94.

**Starkey LA, Barrett AW, Chandrashekar R et al.** Development of antibodies to and PCR detection of Ehrlichia spp. in dogs following natural tick exposure. *Veterinary Microbiology* 2014,173, 379–384.

**Stillman BA, Monn N, Liu J et al.** Performance of a commercially available in-clinic ELISA for detextion of antibodies against Anaplasma phagocytophilum, anaplasma platys, Borrelia burgdorferi, Ehrlichia Canis, Ehrlichia Ewingii and Drofilaria immitis antigen in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2014, 245, 80-86.

**Stokol T, Brooks MB, Erb HN, Mauldin GE.** D-Dimer concentraitons in helath dogs and dogs with disseminated intravascular coagulation. *American Journal of Veterinary Research* 2000, 61(4), 393-398.

**Stokol T, Brooks M, Erb H et al.** Evaluation of kits fort he detection of fibrin(ogen) degredation products in dogs. *Journal of Veterinary İnternal Medicine* 1999, 13, 478-484.

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

**Sugimoto M, Ota K, Kajihama A, Nakau K, Manabe H, Kajino H.** Volume overload and pressure overload due to left-to-right shunt-induced myocardial injury: evaluation using a highly sensitive cardiac troponin I assay in children with congenital heart disease. *Circulation Journal* 2011, 75, 2213-2219.

**Suksawat J, Hegarty BC, Breitschwerdt EB.** Seroprevalence of Ehrlichia canis, Ehrlichia equi, and Ehrlichia risticii in sick dogs from North Carolina and Virginia. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2000,14(1), 50–55.

**Suto Y, Suto A, Inokuma H, Obayashhi H, Hayashi T**. First confirme canine of Ehrlichia canis infection in Japan, *Veterinary Record* 2001, 148, 809-811.

**Suzuki K, Uchida E, Schober KE, Niehaus A, Rings MD, Lakritz J**. Cardiac troponin I in calves with congenital heart disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2012, 26, 1056-1060.

**Tang WH, Francis GS, Morrow DA, Newby LK, Cannon CP, Jesse RL, Storrow AB, Christenson RH, Apple FS, Ravkilde J, Wu AH.** National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine practice guidelines: clinical utilization of cardiac biomarker testing in heart failure. *Circulation* 2007, 116, 99-109.

**Tangner CH**. Transfusion therapy for the dog and cats. *The Compendium Continuing Education Article* 1982, 4(6), 521-527.

**Toh CH, Dennis M**. Disseminated intravascular coagulation, old disease, new hope. *British Medical Journal* 2003, 327, 974–977.

**Troy GC, Vulgamott JC, Turnwald GH** Canine ehrlichiosis: a retrospective study of 30 naturally occurring cases, *Journal of the American Animal Hospital Association* 1980, 16, 181-187.

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

**Tuna E.** Trombositopenili köpeklerde ehrlichia canis ve babesia canis enfeksiyonlarının prevalansı 2008.

**Turgut K.** Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Bahçıvanlar Basımevi, Konya,2000 ISBN:975-94595-1-5.

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

**Wada H.** Disseminated intravascular coagulation. *Clinica Chimica Acta* 2004, 344, 13–21.

**Wakai A, Gleeson A, Winter D.** Role of fibrin D-dimer testing in emergency medicine. *Emergency Medicine Journal* 2003, 20, 319-325.

**Waner T, Harrus S, Bark H.** Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs, *Veterinary Parasitology* 1997, 69, 307–317.

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

**Waner T, Keysary A, Bark H, Sharabani E, Harrus S.** Canine monocytic ehrlichiosis an owerviev. *Israel Journal Of Veterinary Medicine* 1999, 54, 103-107.

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

**Waner T.** Hematopathological changes in dogs infected with Ehrlichia canis. *Israel Journal of Veterinary Journal* 2008,63, 1.

**Watanabea M, Okudaa M, Tsujib M, Inokumaa H.** Seroepidemiological study of canine ehrlichial infections in Yamaguchi prefecture and surrounding areas of Japan. *Veterinary Parasitology* 2004, 124, 101–107.

**Weiss DJ.** Uniform evaluation and semiquantative reporting of hematologic data in veterinary laboratories. *Veterinary Clinical Pathology* XIII, 1992, II, 27-31.

**Welles EG.** Antithrombotic and fibrinolytic factors. A review. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 1996, 26, 1111– 1127.

**Wess G, Simak J, Mahling M, Hartmann K**. Cardiac troponin I in Doberman pinschers with cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2010,24,843-849.

**Wilde JT, Kitchen S, Kinsey S, et al.** Plasma D-Dimer levels and their relationship to serum fibrinogen/fibrin degredation products in hypercoagulable states. *British Journal of Haematology.* 1989, 71, 65-70.

**Winter A, Clarkson M.** Anemia in lambs and kids caused by feding cow colostrum. *In Practıce.* November. 1992, 283-286.

**Wu AHB, Feng YJ, Contois JH, et al**. Comparison of myoglobin, creatine kinase-M and cardiac troponin I for diagnosis of acute myocardial infarction. *Annals of Clinical and Laboratory* Science 1996,26, 291-300.

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

**Yağcı BB, Yasa Duru S, Yıldız K, Öcal N, Gazyağcı AN.** The spread of canine monocytic ehrlichiosis in Turkey to central Anatolia. *Israel Journal of Veterinary Medicine.* 2010, 65(1),15-18.

**Ye Y, Wang C, Zhang J, Cho YK, Gong G, Murakami Y, Bache RJ.** Myocardial creatine kinase kinetics and isoform expression in hearts with severe LV hypertrophy . *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2001,28,376–386.

**Zhang XF, Zhang JZ, Long SW, Et al**. Experimental Ehrlichia Chaffeensis infection in beagles. *Journal of Medical Microbiology*. 2003;52:1021–1026.

**ÖZGEÇMİŞ**

**Soyadı Adı :**Parlatır Yasin

**Uyruk :**TC

**Doğum Yeri :**Ankara

**Doğum Tarihi :**25/05/1989

**Telefon :**0505 935 45 72

**E-Mail :**yasin.parlatir@adu.edu.tr

**Yabancı Dil :**İngilizce

**EĞİTİM**

|  |  |
| --- | --- |
| **Derece** | **Kurum** |
| **Lisans** | Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi |
| **Doktora** | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi |

**İŞ DENEYİMİ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Yıl** | **Yer/Kurum** | **Ünvan** |
| **2012-2013** | Bursa Yenişehir Erginler Çiftliği Sorumlu Veteriner Hekimi | Veteriner Hekim |
| **2013-2017** | Aydın ADÜ Veteriner Fakültesi | Araş. Gör. |
| **2018-2019** | Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi | Araş. Gör. |

**AKADEMİK YAYINLAR**

**1. MAKALELER**

Erdoğan H, Paşa S, Ural K, Gültekin M, Parlatır Y, Toplu Y, Balıkçı C. Ehrlichiosis’li Köpeklerde D-dimer/Fibrinojen Oranı. Atatürk Üni. Vet. Bil. Derg. 2018; 13(1): 28-33.

Yasa Duru S, Parlatır Y. Distemper. J Vet Sci İntern Med. 2018:4(1):63-8

Parlatır Y. Erdogan H. Bir Köpekte Eroziv Ülseratif Stomatitis: Çam Kesesi Böceği Toksikasyonu. JAVST, 2018:3(1), 44-49.

**2. PROJELER**

Köpeklerde vektörlerle bulaşan hastalıklarda Ehrlichiosis, Anaplasmosis, Borreliosis ve Drofilaria İmmitiste trombosize zemin hazırlayan koagulasyon eğiliminin araştırılması. ADÜ BAP. Araştırmacı 2015-2017

**3. SUNUM VE KONGRELER**

Evaluation of Published Articles İnvestigating Haematological Parameters in Dromedary Camels. SEDEVEKS II 2018

Koyunlarda doğal ensefalitik listeriozis tedavisinde seftriakson kullanımı: klinik, serolojik ve patolojik izleme. IX. VET. PAT. KONGRE (Sözlü Sunum) 2018

Microalbumınurıa due to dıfferent dıseases among dogs ICAVST. (Sözlü Sunum) 2017

D-Dİmer-Fıbrınogen ratıo in dogs with ehrlichiosis ICAVST. (Sözlü Sunum) 2017

Moleculer typing of acute and active ehrlichia canis infected dogs in Aydın region ICAVST. (Sözlü Sunum) 2017

A clinical perspective to visceral lesihmaniasis in dogs in Aegean Region in Turkey ICAVST. (Sözlü Sunum) 2017

Golden Retriever ırkı bir köpekte iktiyozis’in klinikopatolojiik Görünümü. I. Uluslararası Türk. Vet. İç Hast. Kongresi. (Poster) 2017

Yeni Doğan Develerde Pasif Transfer Yemezliği SEDEVEKS. (Sözlü Sunum) 2016

2013-2016 yılları arasında adnan menderes üniversitesi veteriner fakültesi hayvan hastanesine getirilen develerin iç hastalıkları yönünden değerlendirilmesi SEDEVEKS. (Sözlü Sunum) 2016

Gebe Kedilerde Serum Akut Faz Protein Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi: Ön Bulgular. 11. Ulusal Veteriner İç Hast. Kong. (Poster) 2015

**4. KİTAP**

DONOLEY B (2016). Bacak, Ayak ve Parmak Hastalıkları. In: Kuş Hastalıkları Ev, Yetiştirme ve Bakımevi Kuşlarında Tanı, Tedavi ve Operasyon. Ed. KURTDEDE A, BÖRKÜ MK. 2. Baskı (2018) Güneş Tıp, Ankara. p: 207-219. 2018